

This article was downloaded by:

On: 28 January 2011

Access details: Access Details: Free Access

Publisher Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713618290>

SYNTHÈSE ET ÉTUDE COMPARÉE DES PROPRIÉTÉS COMPLEXANTES DE DÉRIVÉS DE L'ACIDE METHYLÈNE DIPHOSPHONIQUE

M. Étienne^a; P. Rubini^b; J. Bessière^a; A. Walcarius^a; C. Grison^c; Ph. Coutrot^c

^a Laboratoire de Chimie Physique pour l'Environnement, UMR 7564 CNRS, Université Henri Poincaré, Vandoeuvre-lès-Nancy Cédex, France ^b Laboratoire de chimie physique organique et colloïdale, UMR 7565 CNRS, Institut Nancéien de Chimie Moléculaire, Vandoeuvre-lès-Nancy Cédex, France ^c Laboratoire de Chimie Organique II, UMR 7565 CNRS, Institut Nancéien de Chimie Moléculaire, Vandoeuvre-lès-Nancy Cédex, France

To cite this Article Étienne, M. , Rubini, P. , Bessière, J. , Walcarius, A. , Grison, C. and Coutrot, Ph.(2000) 'SYNTHÈSE ET ÉTUDE COMPARÉE DES PROPRIÉTÉS COMPLEXANTES DE DÉRIVÉS DE L'ACIDE METHYLÈNE DIPHOSPHONIQUE', Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 161: 1, 75 — 96

To link to this Article: DOI: 10.1080/10426500008042097

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/10426500008042097>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

SYNTHÈSE ET ÉTUDE COMPARÉE DES PROPRIÉTÉS COMPLEXANTES DE DÉRIVÉS DE L'ACIDE METHYLÈNE DIPHOSPHONIQUE

M. ÉTIENNE^a, P. RUBINI^b, J. BESSIÈRE^a, A. WALCARIUS^a,
C. GRISON^c et PH. COUTROT^{c*}

^aLaboratoire de Chimie Physique pour l'Environnement, UMR 7564 CNRS,

^bLaboratoire de chimie physique organique et colloïdale et ^cLaboratoire de Chimie Organique II, UMR 7565 CNRS, Institut Nancéien de Chimie Moléculaire, FR CNRS 1742, Université Henri Poincaré, Nancy I, BP 239, 54506, Vandœuvre-lès-Nancy Cédex, France

(soumis le 23 juillet 1999 ; accepté le 14 septembre 1999)

Two original acid derivatives of methylene diphosphonic acid (MDP) with two inequivalent phosphorus atoms have been synthesised: [(thiophosphonato)-methyl] phosphonic acid, (MDPS), and [(isopropylamido phosphonato)-methyl] phosphonic acid, (MDPN). A potentiometric study allowed to define the stoichiometry of the complex formed between MDP and magnesium (II) in alkaline medium and a ³¹P NMR study proved the dissymmetric structure of this MDPMg²⁺ complex. The displacement of the coordination equilibrium between Black Eriochrome T and magnesium (II) permitted to compare the coordination strength of MDP, MDPS and MDPN with the cation Mg²⁺.

Keywords: methylene diphosphonic acid; magnesium (II); [(thiophosphonato)-methyl] phosphonic acid; [(isopropylamido phosphonato)-methyl] phosphonic acid; alkylidene diphosphonic acid

INTRODUCTION

La modulation des propriétés complexantes du motif méthylène diphosphonique vis-à-vis de cations alcalinoterreux, par introduction de substituants différents sur les atomes de phosphore, est très peu décrite à notre connaissance et paraît donc intéressante à ce titre compte tenu des nom-

* Correspondance auteur.

breuses applications existantes de l'acide méthylène diphosphonique (MDP) et de certains de ses dérivés substitués sur le carbone médian, comme l'acide 1-hydroxyéthane-1,1-diphosphonique (HEDP ou etidronate), l'acide dichlorométhylène-diphosphonique (chlorodronate) ou l'acide 3-amino-1-hydroxypropane-1,1-diphosphonique (ADP ou pamidronate)¹⁻⁸.

Ayant récemment décrit une méthode générale d'accès à des composés méthylènediphosphorylés, présentant notamment un des deux atomes de phosphore chiral avec des substituants variés (R, OR, SR, NR₂, -Asp-OMe), il devient maintenant utile de pouvoir évaluer de façon précise les propriétés complexantes de ces nouveaux produits^{9,10}.

Nous présentons ici nos premiers résultats combinant plusieurs approches analytiques pour l'étude de la complexation du cation Mg²⁺ en milieu aqueux par deux dérivés simples (MDPN et MDPS) de l'acide méthylène diphosphonique (MDP) pris comme modèles (schéma I). Le but ultérieur est d'utiliser ces méthodes pour mesurer le pouvoir complexant d'autres molécules de ce type mais plus difficile d'accès, notamment vis-à-vis de Mg²⁺, afin d'obtenir un guide dans la recherche rationnelle d'analogues di- ou triphosphorylés nucléotidiques dont le mécanisme d'action suppose la complexation préalable du motif di- ou triphosphorylé par Mg²⁺ (analogues d'ADP ou d'ATP)¹¹⁻¹⁴. Cette recherche est également l'amorce de la description de toute une gamme de molécules diphosphorylées à pouvoir complexant modulé pour l'extraction sélective ou le transport de cations métalliques en milieu aqueux.

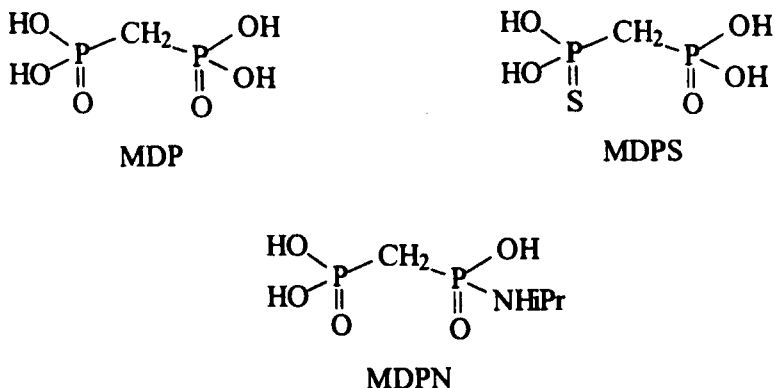


SCHÉMA 1

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Préparation de MDP, MDPS et MDPN

Les esters diphosphorylés, **5b** et **5c** sont d'abord préparés (Schémas II et III) puis sont déprotégés dans un second temps en sels de sodium **9b** et **9c** des acides MDPS et MDPN correspondants (Schéma IV).

Bien que l'acide **9a** (MDP) soit disponible dans le commerce, la préparation en a été réalisée à titre de modèle par la même voie d'accès que celle conduisant à **9b**¹⁵. La méthode consiste à traiter respectivement le méthylphosphonate de diéthyle **1a** (X = O, R = Et) ou le méthyl thiophosphonate de diméthyle **1b** (X = S, R = Me) par deux équivalents de LDA à -78°C dans le THF. Le chlorure diéthylphosphonique **3** est alors ajouté au carbanion phosphonate **2a** (X = O, R = Et) ou **2b** (X = S, R = Me) à -78°C . Ce dernier substitue l'atome de chlore de **3** et conduit, sous l'influence de l'excès de LDA présent dans le milieu, au carbanion lithien, **4a** ou **4b** selon le cas, dérivé du composé méthylène disphosphorylé attendu. Le composé méthylènediphosphorylé **5a** (78 %) ou **5b** (80 %) est obtenu après hydrolyse.

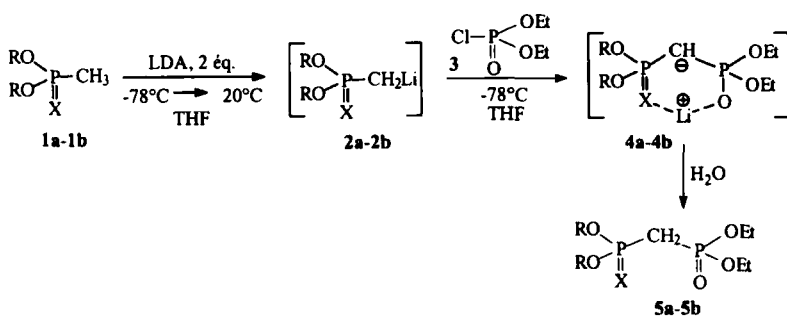


SCHÉMA II

La préparation de **5c** se fait par la méthode d'alkylidène diphosphorylation de nucléophiles que nous avons récemment décrite¹⁰ (schéma III) qui s'inspire de la précédente méthode, mais qui utilise le dichlorure éthylphosphonique **6** comme électrophile, et qui tire parti de l'atome de chlore présent dans l'intermédiaire **7** pour que ce dernier puisse être substitué par

réaction avec l'isopropylamine alors ajoutée au milieu réactionnel. Le produit **5c** est ensuite obtenu après hydrolyse avec un rendement global de 88 %.

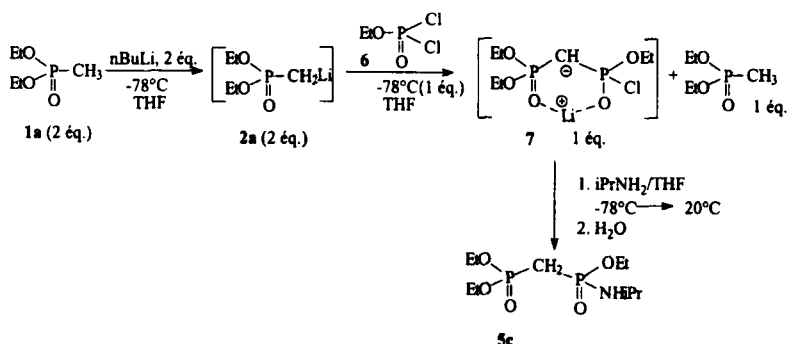


SCHÉMA III

La déprotection des esters méthylènediphosphorylés **5a-5c** a ensuite été étudiée par réaction avec Me_3SiBr suivie de méthanolyse¹⁶ (Schéma IV).

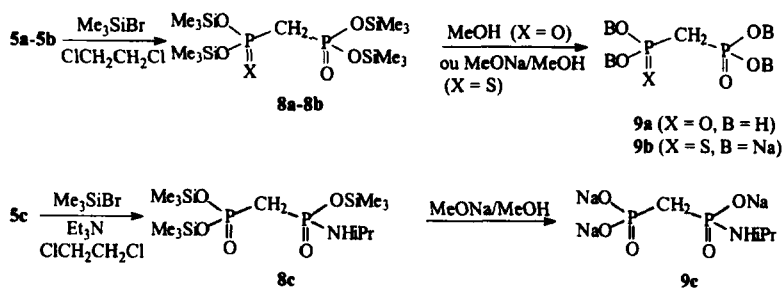


SCHÉMA IV

Avec **5a** la réaction est connue et ne pose aucun problème. Elle se fait dans le 1,2-dichloroéthane comme solvant, en utilisant un léger excès de Me_3SiBr . Après 3 heures d'agitation à température ambiante le méthylènediphosphonate de tétraméthylsilyle **8a** est obtenu à 100 %. La réaction est suivie par RMN ^{31}P et est considérée comme terminée quand le signal à 17,0 ppm de **5a** a totalement disparu au profit du signal à 2,0 ppm caractéristique du méthylènediphosphonate de tetraméthylsilyle **8a** (X = O). La méthanolyse ultérieure est ensuite réalisée en 16 h de réaction à tempéra-

ture ambiante. L'acide méthylène diphosphonique **9a** est alors obtenu par simple évaporation sous pression réduite des sous-produits silylés volatils et du méthanol. La pureté du produit brut évaluée en RMN ^{31}P est excellente (>98 %). Le rendement global obtenu en acide méthylène diphosphonique **9a** évalué à partir du méthylphosphonate de diéthyle **1a** de départ est de 69 %.

Les déprotections de **5c** et de **5b** sont en revanche plus difficiles. La liaison P-N de **5c** est en effet fragile et est coupée assez facilement en milieu acide. Il est donc nécessaire dans ce cas d'effectuer la silylation en présence d'un large excès de triéthylamine. Dans ces conditions la réaction devient plus longue. Environ 170 heures à température ambiante sont nécessaires pour que les signaux de **5c**, en RMN ^{31}P , qui se situent respectivement à 19,1 ppm et 19,0 ppm sous forme de doublets ($J = 18 \text{ Hz}$), disparaissent au profit de deux signaux, également sous forme de doublets, centrés respectivement à 12,0 ppm et à -1,0 ppm ($J = 11 \text{ Hz}$) caractéristiques du produit silylé **8c** ($X = \text{O}$, $A = \text{NH}i\text{Pr}$). La désilylation est rapide (1 h à température ambiante) mais doit être effectuée en milieu basique, par le méthylate de sodium pour éviter toute dégradation du produit formé. Dans ces conditions le sel trisodique **9c** précipite dans le milieu réactionnel et est facilement récupéré par centrifugation (53 % à partir de **5c**, 47 % global à partir de **1a**).

La molécule **5b** est stable en milieu acide et peut être traitée par Me_3SiBr dans le dichloroéthane sans ajout de triéthylamine. Cependant le motif thiophosphonate devient beaucoup plus difficile à silyler, et il est nécessaire alors d'effectuer la silylation à reflux du dichloroéthane en additionnant à intervalles réguliers Me_3SiBr en excès (13 équivalents) jusqu'à disparition complète du système AX de doublets observés en RMN ^{31}P , caractéristiques de **5b**, et centrés à 15,6 ppm et 85,7 ppm ($J = 6 \text{ Hz}$), en même temps qu'est observée l'apparition d'un autre système de doublets AX à -2,0 ppm et 55,0 ppm ($J = 15 \text{ Hz}$) caractéristique du produit silylé **8b** ($X = \text{S}$). La désilylation est effectuée avec MeONa/MeOH , le sel de sodium **9b** précipite alors dans le milieu réactionnel et est facilement récupéré par centrifugation (60 % à partir de **5b**, 48 % global à partir de **1b**).

Etude de la stabilité de MDP, MDPN et MDPS en phase aqueuse

L'étude des propriétés complexantes de MDPN et MDPS en milieu aqueux suppose que ces molécules soient stables en présence d'eau, dans le

domaine de pH où se fera l'étude. Comme la préparation de ces molécules a montré pour MDPN notamment une fragilité en milieu acide, une étude de la stabilité dans l'eau des trois molécules MDP, MDPN et MDPS a été entreprise avec un suivi par RMN ^{31}P . Si la solution aqueuse de MDP est parfaitement stable dans le temps, en revanche les solutions aqueuses des sels de sodium **9b** et **9c** évoluent lentement respectivement à pH9 et pH10 en donnant comme produit l'acide méthylène diphosphonique MDP. La figure 1 illustre l'évolution de ces transformations en fonction du temps. On constate que **9c** est nettement plus fragile que **9b**, puisqu'après 30 heures, 55 % environ de **9c** sont hydrolysés tandis que 18 % seulement d'échange soufre/oxygène sont réalisés dans le même temps sur **9b**. La dégradation de **9b** en milieu tamponné $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ montre également que la proportion en **9a** atteint 13 % après 2 heures.

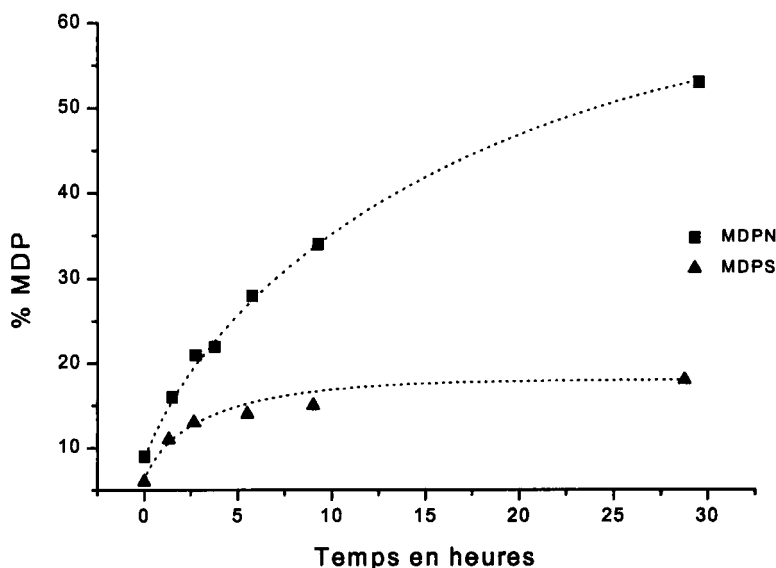


FIGURE 1 Evolution dans H_2O de MDPS (pH=10) et de MDPN (pH=9):

La dégradation des sels de sodium de MDPN et de MDPS est donc assez lente et permet de considérer que la composition de leur solution aqueuse ne varie sensiblement pas en 30 mn à pH 9–10, ce qui autorise l'étude de leurs propriétés complexantes par des techniques suffisamment rapides et

qui ne nécessitent pas un pH acide. Remarquons simplement que la dégradation en solution aqueuse est une contrainte inhérente à ce type de molécules. Cette dégradation existe en effet pour une molécule comme l'ATP, ce qui n'a pas empêché de nombreux auteurs d'en faire l'étude potentiométrique¹⁷⁻²².

Complexation

La molécule d'ATP a souvent été étudiée en complexation et les techniques les plus souvent utilisées pour la caractériser sont la potentiométrie et la résonance magnétique nucléaire¹⁷⁻³². Des études potentiométriques et RMN ont donc été menées avec le composé MDP. Une étude par spectroscopie d'absorption a également permis de comparer le pouvoir complexant de MDP, MDPN et MDPS vis-à-vis du magnésium(II).

Le tableau I présente les constantes de protonation du MDP pour différentes forces ioniques, et le tableau II présente les constantes de complexation du MDP et du HEDP (acide 1-hydroxyéthane-1,1-diphosphonique) avec le calcium ou le magnésium, mesurées par potentiométrie à différentes forces ioniques par plusieurs auteurs.

Les constantes β répertoriées dans les tableaux I et II correspondent à l'équilibre suivant où M représente le cation métallique et L le ligand (MDP ou HEDP) totalement ionisé :

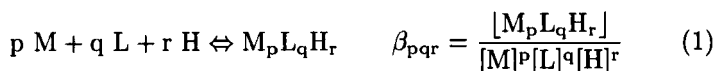


TABLEAU I Propriétés acido-basiques de MDP à 25°C

Composition du milieu	$\log\beta_{014}$	$\log\beta_{013}$	$\log\beta_{012}$	$\log\beta_{011}$	Référence
KCl 0,1 M	22,20	20,50	17,75	10,42	37
NMe ₄ Cl 0,1 M	—	20,35	17,57	10,57	35
NMe ₄ Br 0,1 M	22,20	20,50	17,75	10,42	33
NMe ₄ NO ₃ 0,1 M	—	20,60	17,85	10,75	3
KCl 0,2 M	—	17,98	16,78	10,00	34
NMe ₄ Cl 0,5 M	—	19,9	17,41	10,54	1
NaClO ₄ 0,1 M	20,70	19,62	16,95	10,09	Ce travail

TABLEAU II Constantes de complexation du MDP et du HEDP mesurée par potentiométrie à 25°C

Ligand	Composition du milieu	M	$\log\beta_{110}$	$\log\beta_{111}$	$\log\beta_{112}$	$\log\beta_{210}$	Référence
MDP	KCl 0,1 M	Mg	6,39	14,44			37
MDP	KCl 0,1 M	Ca	6,03	14,30			37
MDP	NMe ₄ NO ₃ 0,1 M	Ca	5,97	13,64		9,81	3
MDP	NMe ₄ Cl 0,5 M	Na	1,13	10,93			1
HEDP	NMe ₄ NO ₃ 0,1 M	Ca	6,18	13,87		10,81	3
HEDP	KCl 0,15 M	Ca	5,48	12,65	17,74	9,09	36
HEDP	KCl 0,15 M	Mg	6,43	13,56	19,09	9,35	36
MDP	NaClO ₄ 0,1 M	Mg	5,31	12,93		8,64	Ce travail
MDP	NaClO ₄ 0,1 M	Mg	5,49	13,20	19,01	8,92	Ce travail

De cette étude bibliographique il ressort que ML et MLH ont toujours été identifiés pour le système MDP-magnésium^{2,37}. Nous voyons que le calcium et le magnésium ont des propriétés complexantes relativement proches, cependant le complexe M₂L n'a pas été observé pour le système MDP-magnésium alors qu'il l'a été pour le système MDP-calcium³. Avec HEDP, molécule aux propriétés complexantes proches de MDP, différents auteurs ont déterminé pour le calcium(II) et le magnésium(II) des systèmes à trois ou quatre espèces. Ils font alors intervenir les complexes M₂L et MLH₂^{3,36}.

Par ailleurs, à notre connaissance aucune étude RMN n'a été effectuée pour étudier la complexation de MDP.

En fonction de tous ces résultats, une étude potentiométrique avec un traitement informatique performant des données a été effectuée et a été couplée à la RMN, afin d'obtenir des renseignements supplémentaires d'ordre structural.

Potentiométrie

Dans un premier temps, les constantes d'acidité de MDP ont été redéterminées (tableau I) et le système MDP-Mg a ensuite été étudié (tableau II).

Les complexes cités dans la littérature ont été retrouvés, soit ML et MLH, et deux nouveaux complexes ont été identifiés : M₂L et MLH₂. Les

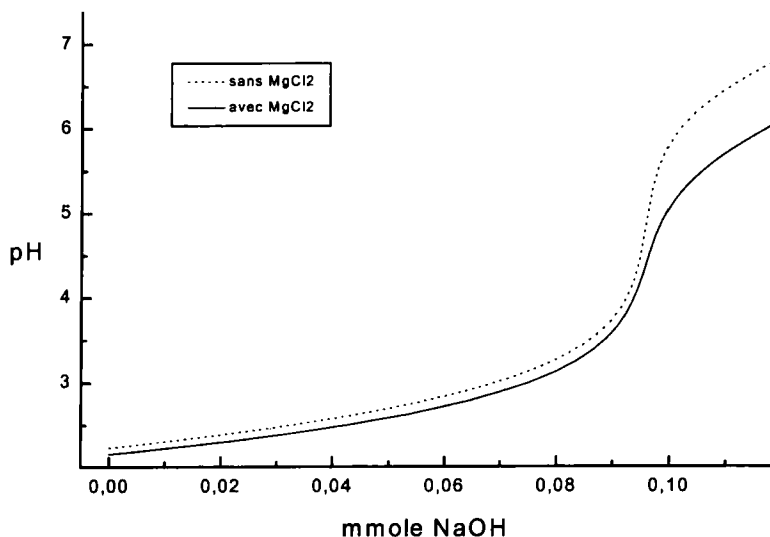


FIGURE 2 Dosages acide-base de MDP, avec et sans Mg. $[\text{NaClO}_4] = 10^{-1} \text{ M}$ et $[\text{MDP}] = [\text{Mg}^{++}] = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

paramètres d'ajustement des simulations faisant ou ne faisant pas intervenir MLH_2 sont très proches, mais ce même paramètre est meilleur si on considère l'existence de MLH_2 . La superposition de deux dosages du MDP, à une même concentration, avec et sans métal, fait apparaître un décalage des deux courbes dès les pH acides (figure 2). Nous avons montré par simulation que ce décalage en pH ne peut apparaître que si le complexe MLH_2 se forme. Bien que cette différence reste faible, c'est un argument qui plaide pour l'existence de MLH_2 . A partir de ces constantes, il est possible de construire les courbes de répartition de chaque espèce en fonction du pH. La figure 3 représente la répartition des espèces métalliques en fonction du pH.

Résonance magnétique nucléaire

Le déplacement chimique du signal en RMN ^{31}P du MDP est sensible au pH (figure 4). On note des variations remarquables de déplacement chimique autour des valeurs $\text{pH} = \text{pK}_1$.

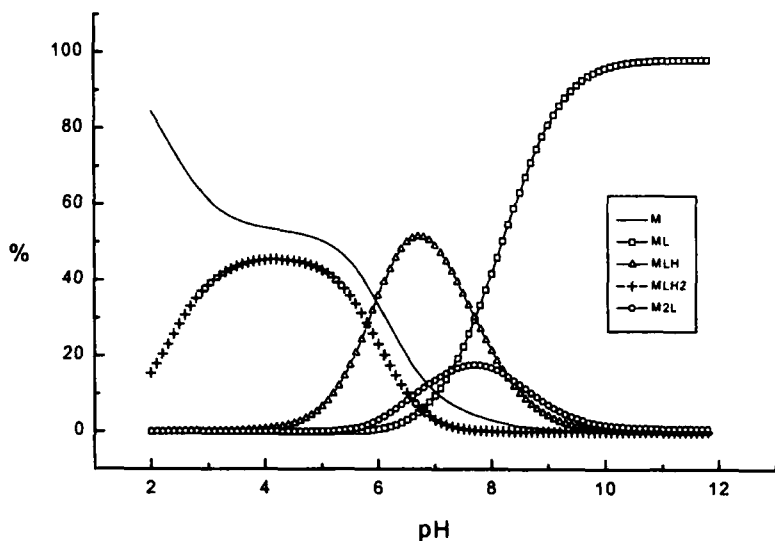


FIGURE 3 Diagramme de répartition des espèces métalliques $[MDP] = 10^{-2} M$, $[Mg^{++}] = 5 \cdot 10^{-3} M$, $[NaClO_4] = 0,1 M$

La RMN ^{31}P a par ailleurs été utilisée pour obtenir des informations structurales sur les complexes identifiés par potentiométrie. Le spectre de la figure 5 enregistré à $pH = 10,2$ montre l'inéquivalence des deux phosphores ($\delta = 17,8$ et $20,3$) dans le complexe ML . La complexation de Mg^{++} par L^4 se fait selon toute vraisemblance préférentiellement sur un des deux groupes phosphonate, introduisant une dissymétrie dans le complexe responsable de l'observation de deux groupes de signaux. Les deux ^{31}P étant inéquivalents, un couplage apparaît ($^2J = 8$ Hz). L'échange d'un groupe à l'autre et l'échange entre ligand libre et lié sont lents à l'échelle de temps RMN. D'autre part on note que le déplacement chimique d'un des deux phosphores est proche de celui du ligand libre ($\delta = 17,4$ ppm), ce qui permet de proposer la structure de la figure 5.

Un complexe symétrique en très faible quantité est également visible à 22,2 ppm; ce pourrait être M_2L .

Les autres complexes n'ont pu être observés en raison vraisemblablement de vitesses d'échange entre le ligand libre et lié trop rapides.

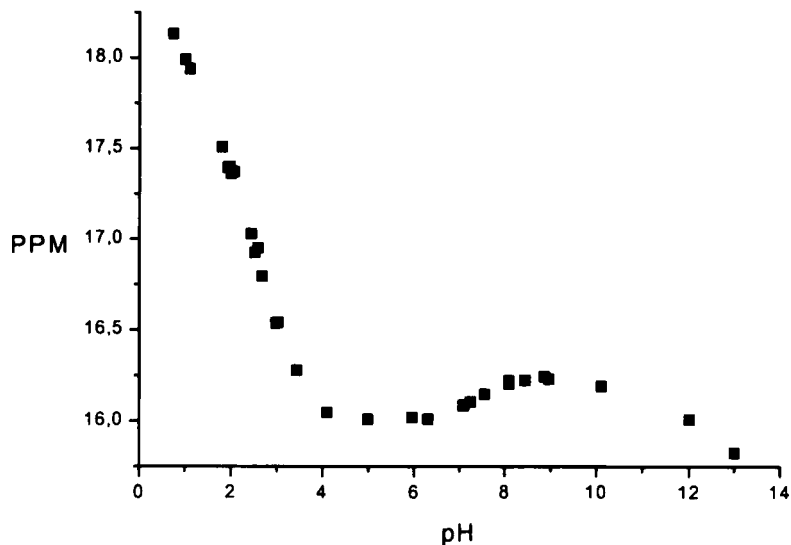


FIGURE 4 Variation du déplacement chimique, exprimé en ppm, des deux phosphores symétriques de MDP en fonction du pH. [MDP] = 10^{-2} M

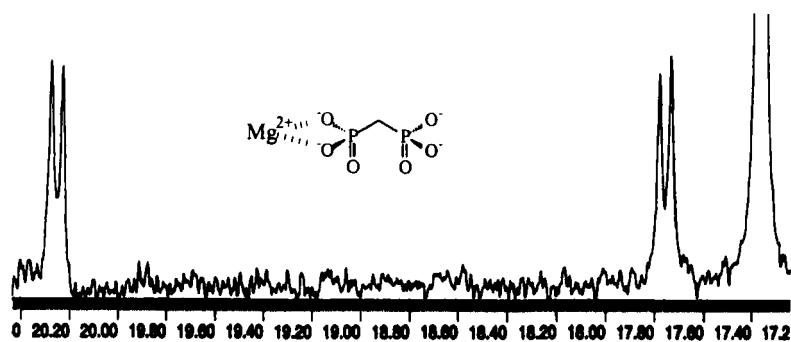


FIGURE 5 Signal RMN du complexe dissymétrique. [MDP] = 10^{-1} M, $[Mg^{++}] = 5.10^{-2}$ M, pH = 10,2. Spectre enregistré à $10^{\circ}C$

Spectroscopie ultra violet – visible

MDP montre une absorption large autour de 250 nm. Ce signal n'est ni sensible au pH, ni à la complexation avec Mg^{++} . La spectroscopie d'absorption est alors utilisée de façon indirecte. Nous mettons en compé-

tition en milieu basique les complexes avec le magnésium (II) d'un indicateur coloré et des molécules MDP, MDPN et MDPS.

Le noir ériochrome T (NET) est un indicateur coloré utilisé pour le dosage du magnésium³⁹. L'étude potentiométrique faite sur le système MDP/magnésium a montré la prédominance du complexe ML au-delà de pH = 8 (figure 2). On sait que la transition entre la forme NET libre (HI^{2-} , bleu) et la forme NET complexé avec le magnésium (MgI^- , rouge) ne se fait qu'en milieu basique³⁹. Des essais préliminaires ont par ailleurs montré un chevauchement moins marqué des profils d'absorptions du NET et du NETMg à pH = 9,2 qu'à des pH plus basiques. L'ensemble de cette étude a pour ces raisons été fait dans un tampon ammoniacal de pH = 9,2.

Dans ces conditions, les maxima des profils d'absorption du NET et du complexe NETMg sont respectivement situés à 618 et à 558 nm (figure 6). Les deux bandes se chevauchant, il est nécessaire de définir les coefficients d'extinction molaire à 618 et 558 nm avec et sans magnésium(II). Les droites de calibration du NET et du NETMg à 618 et 558 nm sont représentées sur la figure 7. Elles ont été construites à partir de solutions tamponnées $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ $2 \cdot 10^{-2}$ M, pH=9,2.

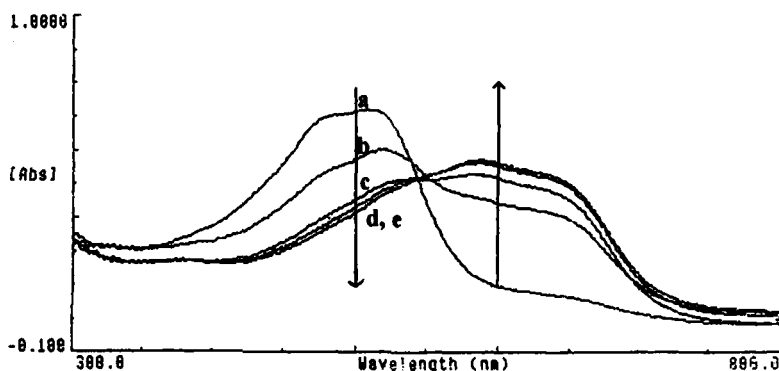


FIGURE 6 Evolution du profil d'absorption du système NET-Mg avec la concentration en MDP: a : absence de MDP; b : 1 équivalent de MDP; c : 2 équivalents de MDP; d : 3 équivalents de MDP; e : 4 équivalents de MDP

Les concentrations du NET et du NETMg varient de 10^{-4} à 10^{-5} M et le magnésium est présent en excès. Les coefficients d'extinction molaire sont égaux à 10765, 18165, 16413 et 4366 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, respectivement pour

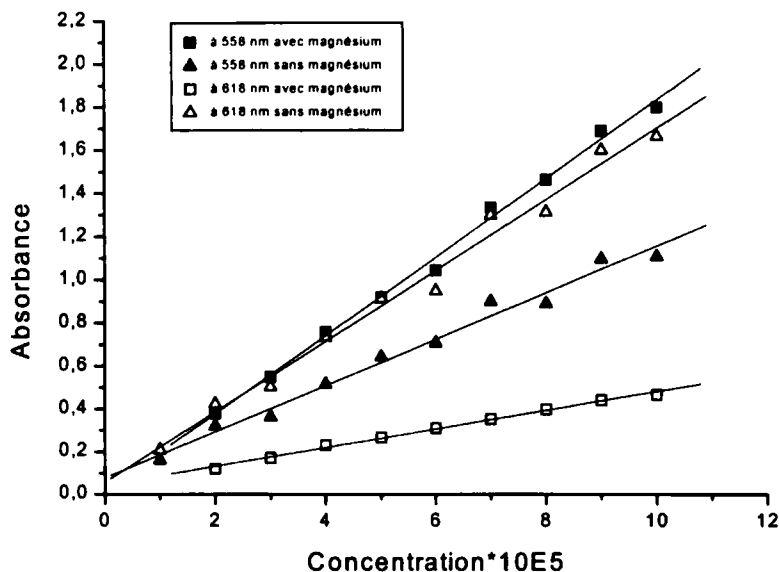


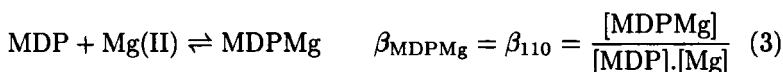
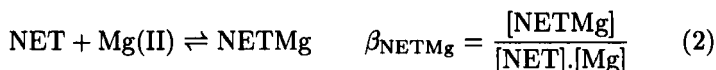
FIGURE 7 Droites d'étalonnages du NET et du complexe NETMg à 558 et 618 nm en milieu tamponné $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ $2 \cdot 10^{-2}$ M, pH = 9,2

les formes NET et NETMg à 558 nm et pour les formes NET et NETMg à 618 nm.

L'évolution au cours du temps de solutions basiques de NET et de NETMg a été suivie. Le NET complexé au magnésium est stable pendant plusieurs heures, et le NET seul ne subit qu'une faible dégradation pendant une heure. Le NET en milieu basique complexé ou non est donc suffisamment stable pour effectuer des manipulations de compétition durant environ trente minutes.

La mesure de la force de complexation entre le magnésium(II) et les ligands MDP, MDPN et MDPS se fait par compétition avec la réaction de complexation entre le NET et le magnésium, à partir de solutions tamponnées $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ ($2 \cdot 10^{-2}$ M) de NET de concentration proche de $5 \cdot 10^{-5}$ M, déterminée précisément à partir des mesures d'absorption. La concentration du magnésium (MgCl_2) est elle aussi déterminée précisément. Le produit complexant est additionné progressivement à partir d'une solution de concentration 10^{-2} M. Après chaque addition, les concentrations de NET et NETMg sont mesurées.

Les complexes et les équilibres considérés sont décrit ci-dessous. Pour simplifier l'écriture nous omettons d'écrire les charges et les protons portés par les espèces considérées.



Dans nos conditions expérimentales, la valeur mesurée de $\log \beta_{\text{NETMg}}$ vaut $5,3 \pm 0,1$. Les absorbances à 618 et 558 nm sont mesurées sur des courbes comme celle de la figure 6 et corrigées par rapport à une même ligne de base. Chaque absorbance est le résultat de la somme des absorbances relatives à chaque espèce en solution (équations 4 et 5).

$$A_{558} = \varepsilon_{\text{NET}558} \cdot [\text{NET}] + \varepsilon_{\text{NETMg}558} \cdot [\text{NETMg}] \quad (4)$$

$$A_{618} = \varepsilon_{\text{NET}618} \cdot [\text{NET}] + \varepsilon_{\text{NETMg}618} \cdot [\text{NETMg}] \quad (5)$$

Les concentrations initiales $[\text{Mg}]_i$ et $[\text{MDP}]_i$ sont connues. On déduit $[\text{NETMg}]$ et $[\text{NET}]$ des mesures d'absorption grâce aux équations (6) et (7).

$$[\text{NETMg}] = \frac{A_{618} - \frac{\varepsilon_{\text{NET}618}}{\varepsilon_{\text{NET}558}} \cdot A_{558}}{\varepsilon_{\text{NETMg}618} - \frac{\varepsilon_{\text{NETMg}618}}{\varepsilon_{\text{NET}558}} \cdot \varepsilon_{\text{NETMg}558}} \quad (6)$$

$$[\text{NET}] = \frac{A_{558} - \varepsilon_{\text{NETMg}558} \cdot [\text{NETMg}]}{\varepsilon_{\text{NET}558}} \quad (7)$$

$[\text{Mg}]$, $[\text{MDPMg}]$ et $[\text{MDP}]$ sont alors calculées à partir des équations (8), (9) et (10).

$$[\text{Mg}] = [\text{NETMg}] / \{[\text{NET}] \cdot \beta_{\text{NETMg}}\} \quad (8)$$

$$[\text{MDPMg}] = [\text{Mg}]_i - [\text{NETMg}] - [\text{Mg}] \quad (9)$$

$$[\text{MDP}] = [\text{MDP}]_i - [\text{MDPMg}] \quad (10)$$

β_{MDPMg} est enfin déduite de l'équation (3) et des concentrations du MDP, du MDPMg et du Mg^{++} libre dans le milieu.

Il ressort du tableau III que la constante β_{LM} déterminée en utilisant la spectroscopie UV-visible est du même ordre de grandeur que celle déterminée par potentiométrie (tableau II) et que MDP complexe plus fortement le magnésium que MDPN et MDPS. La méthode est donc bien

adaptée à ce que nous cherchions, c'est-à-dire comparer les pouvoirs complexants des molécules synthétisées.

TABLEAU III Comparaison des constantes β_{LM} pour MDP, MDPS et MDPN

<i>Complexe LM</i>	<i>log β_{LM}</i>
MDPMg	5,5 \pm 0,1
MDPSMg	4,6 \pm 0,2
MDPNMg	4,2 \pm 0,1

On constate que, lorsqu'une dissymétrie est introduite dans la molécule (atome de soufre ou substituant aminé), la constante d'équilibre de formation du complexe ML décroît mais l'ampleur modérée de cette diminution renforce l'hypothèse d'une complexation dissymétrique sur la partie $-\text{PO}_3^{2-}$, ce qui serait à confirmer par RMN dans des études ultérieures.

L'étude qui vient d'être faite, montre également que le choix de l'indicateur coloré est essentiel pour la détermination de la constante de complexation. Si les forces de complexation vis-à-vis du magnésium(II) de la molécule que nous voulons étudier et de l'indicateur coloré sont proches, nous aurons un point isobestique plus marqué et une meilleure qualité de la constante mesurée. Pour cette raison, il est intéressant de disposer d'une gamme d'indicateurs colorés permettant de couvrir une zone de force de complexation aussi large que possible.

CONCLUSION

Les molécules recherchées ont été synthétisées totalement déprotégées, ce qui a donné lieu à la mise au point des conditions opératoires de déalkylation de fonctions esters phosphoniques, délicates à maîtriser. L'instabilité en phase aqueuse des produits dissymétriques déprotégés, difficilement prévisible a priori, a été suivie et a permis de définir les conditions nécessaires à l'étude de leur complexation. La potentiométrie, les spectroscopies RMN et UV-visible ont montré leur complémentarité pour la détermination des propriétés complexantes de ces molécules. Nous avons trouvé que la substitution d'une fonction hydroxyle par une fonction amine sur un des deux phosphores de l'acide méthylène diphosphonique ou le changement

d'une fonction phosphoryle en thiophosphoryle sur ce dernier entraîne une légère diminution du pouvoir complexant par rapport à la molécule symétrique acide méthylène diphosphonique. Ces changements structuraux permettent d'envisager une certaine sélectivité dans la complexation de différents cations métalliques. Un autre résultat intéressant, qui demande cependant des confirmations ultérieures, est le mode de complexation du cation magnésium par ce type de molécules (mis en évidence par RMN avec l'acide méthylène diphosphonique), qui se ferait par les oxygènes d'une seule fonction phosphonique. Si ce résultat pouvait être confirmé, celui-ci serait alors à notre connaissance, un mode de complexation nouveau dans la mesure où les données de la littérature sur ce type de complexe métallique symétrique impliquent les deux motifs phosphorylés de la molécule comme ligands.

Les méthodes complémentaires utilisées nous semblent bien adaptées pour étendre cette étude à des pH physiologiques et à l'analyse de la complexation du Mg(II) par d'autres biomolécules.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Synthèse

Les solvants sont séchés et distillés avant toute utilisation et toutes les réactions sont faites sous un courant d'azote. Les spectres IR sont enregistrés sur un spectromètre Nicolet 250 FT-IR. Les spectres ^1H , ^{13}C , et ^{31}P sont enregistrés sur un appareil Bruker AC250. Les spectres RMN pour l'étude de la complexation ont été enregistrés sur un appareil Bruker 400 Mhz. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm. Le solvant utilisé pour la mesure est indiqué entre parenthèses. Les déplacements chimiques ^1H sont donnés par rapport au tétraméthylsilane. Les déplacements chimiques ^{13}C sont donnés par rapport au chloroforme. Les déplacements chimiques ^{31}P sont donnés par rapport à l'acide phosphorique à 85 % dans l'eau. Les abréviations suivantes sont utilisées : s, singulet; d, doublet; dd, doublet de doublet; t, triplet; m, multiplet. J est la constante de couplage exprimé en Hz. Les spectres d'absorption UV-visible ont été obtenus grâce à un spectrophotomètre Beckman DU 7500. Les solutions tamponnées $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ ont été préparées avec NH_4NO_3 et NaOH et nous avons utilisé MgCl_2 pour l'étude de complexation.

Méthylène diphosphonate de tétraéthyle 5a
et [(diméthoxyphosphonothioyl)-méthyl] phosphonate de diéthyle 5b

Dans un tétacol de 1 litre équipé d'une agitation mécanique, d'une ampoule isobare, d'un thermomètre et d'une arrivée d'azote on introduit une solution de BuLi (93 ml, 147 mmol, 1,58 M dans l'hexane) dans du THF fraîchement distillé (100 ml) à -78°C . Une solution de diisopropylamine (15,6 g, 154 mmol) dans le THF (75 ml) est alors additionnée goutte à goutte à -78°C , puis le mélange est agité 1 h à température ambiante avant d'être refroidi à nouveau à -78°C . Une solution de méthylphosphonate de diéthyle **1a** (11,2 g, 74 mmol) ou de méthyl thiophosphonate de méthyle **1b** (10,7 g, 74 mmol) dans du THF (90 ml) est alors ajoutée goutte à goutte à -78°C puis l'agitation est maintenue 1 h à cette température. Une solution de chlorure diéthylphosphonique **3** (12,1 g, 70 mmol) dans le THF (45 ml) est alors additionnée à -78°C et le mélange est agité à cette température pendant 1 h, puis à -50°C pendant 1 h encore avant d'être réchauffé jusqu'à la température ambiante. 100 ml d'eau sont alors additionnés. La phase aqueuse est extraite à CH_2Cl_2 (2×30 ml). Les phases organiques sont réunies puis sont lavées avec H_2SO_4 1N (3×100 ml), puis lavées successivement avec des solutions aqueuses saturées en NaHCO_3 (1×100 ml) et en NaCl (1×100 ml) avant d'être séchées sur MgSO_4 . Après filtration, le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par distillation sous pression réduite (10^{-2} mm Hg, $98\text{--}114^{\circ}\text{C}$) pour **5a** tandis qu'il est obtenu sous forme d'une huile jaune brute pour **5b**.

5a : Rendement : 78 %. Huile jaune. IR : ν (P = O) 1253; ν (P-O) 1027. RMN ^{31}P (CDCl_3) δ (ppm) : 17,0 (s, 2 P). RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) : 1,29 (t, 12 H) ^3J (H-H) 7 Hz, OCH_2CH_3 ; 2,38 (t, 2 H) ^2J (H-P) 21 Hz, PCH_2P ; 4,05–4,18 (m, 8 H), OCH_2CH_3 . RMN ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) : 16,5 (s, 4 C), OCH_2CH_3 ; 25,8 (t, 1C) ^1J (C-P) 144 Hz, PCH_2P ; 62,8 (s, 4 C), OCH_2CH_3 .

5b : Rendement : 80 %. Huile jaune. IR : ν (P = O) 1226; ν (P-O) 1037. RMN ^{31}P (CDCl_3) δ (ppm) : 15,6 (d, 1 P) ^2J (P-P) 6 Hz, P=O; 85,7 (d, 1 P) ^2J (P-P) 6 Hz, P=S. RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) : 1,36 (t, 6 H) ^3J (H-H) 7 Hz, OCH_2CH_3 ; 2,75 (dd, 2 H) ^2J (H-P) 19 Hz, ^2J (H-P) 20 Hz, PCH_2P ; 3,80 (d, 6 H) ^3J (H-P) 14 Hz, OCH_3 ; 4,18 (m, 4 H), OCH_2CH_3 . RMN ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) : 15,8 (d, 2 C) ^3J (C-P) 6 Hz, OCH_2CH_3 ; 32,9 (dd, 1 C) ^1J (C-P) 107 Hz, ^1J (C-P) 136 Hz, PCH_2P ; 52,9 (d, 2 C) ^2J (C-P) 6 Hz, OCH_3 ; 62,1 (d, 2 C) ^2J (C-P) 6 Hz, OCH_2CH_3 .

**[(Ethoxy(isopropylamino)phosphonyl)-méthyl]
phosphonate de diéthyle 5c**

A une solution de BuLi (21,5 ml, 34 mmol, 1,6 M dans l'hexane) dans le THF (40 ml) refroidie à -78°C , on ajoute goutte-à-goutte une solution de méthylphosphonate de diéthyle **1a** (5,2 g, 34 mmol) dilué dans le THF (40 ml). Après 30 mn d'agitation à -78°C , on ajoute goutte à goutte une solution de dichlorure éthylphosphonique **6** (2,8 g, 17 mmol) dans le THF (40 ml). Après 3 h d'agitation à -78°C , une solution d'isopropylamine (1,0 g, 18 mmol) dans le THF (40 ml) est additionnée à cette température. Après 1 h à -78°C , le mélange réactionnel est réchauffé progressivement en 1h30 à température ambiante avant d'être traité par 40 ml d'eau. Après décantation et extraction par CH_2Cl_2 (3×100 ml) les phases organiques sont réunies et séchées sur MgSO_4 puis filtrées et évaporées à l'évaporateur rotatif, puis sous un vide de 10^{-2} mm Hg à 50°C jusqu'à disparition complète en RMN ^{31}P du signal relatif au phosphonate **1a**.

Rendement : 88 %. Huile jaune. IR : ν (N-H) 3275 (3100–3450); ν (P=O) 1230; ν (P-O) 1025. RMN ^{31}P (CDCl_3) δ (ppm) : 19,1 (d, 1P) ^2J (P-P) 18 Hz; 19,0 (d, 1P) ^2J (P-P) 18 Hz. RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) : 0,93 (d, 6 H) ^3J (H-H) 6 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; 1,08 (t, 9 H) ^3J (H-H) 7 Hz, OCH_2CH_3 ; 2,13 (m, 2 H), PCH_2P ; 3,28 (m, 2 H), NH et CH; 3,89 (m, 6 H), OCH_2CH_3 . RMN ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) : 15,8 (d, 3 C) ^3J (C-P) 5 Hz, OCH_2CH_3 ; 25,0 (d, 1 C) ^3J (C-P) 4 Hz, CHCH_3 ; 25,2 (d, 1 C) ^3J (C-P) 4 Hz, CHCH_3 ; 26,8 (dd, 1 C) ^1J (C-P) 118 Hz, ^1J (C-P) 131 Hz, PCH_2P ; 42,6 (s, 1 C), $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; 59,8 (d, 1 C) ^2J (C-P) 6 Hz, OCH_2CH_3 ; 61,6 (d, 1 C) ^2J (C-P) 6 Hz, OCH_2CH_3 ; 62,1 (d, 1 C) ^2J (C-P) 6 Hz, OCH_2CH_3 .

Acide méthylène diphosphonique (MDP) 9a

Dans un tétracol de 250 ml muni d'une agitation magnétique, d'une arrivée d'azote, d'un thermomètre et d'une ampoule isobare, on introduit l'équivalent de **5a** (9,61 g; 33,4 mmol) dissous dans du 1,2-dichloroéthane (95 ml). Le tétracol est plongé dans un bain de glace. 6 équivalents de Me_3SiBr (30,9 g; 201,9 mmol) dilués dans le 1,2-dichloroéthane (90 ml) sont additionnés goutte à goutte pendant 1h30. Le mélange est agité pendant 3 h à température ambiante puis évaporé avant d'être repris dans un monocol de 250 ml muni d'une agitation magnétique par 90 ml de méthana-

nol. Le mélange est alors agité 16 h à température ambiante puis évaporé sous pression réduite à l'évaporateur rotatif.

Rendement : 88 %. Poudre blanche. $F = 195^{\circ}\text{C}$. RMN ^{31}P (CD_3OD) δ (ppm) : 19,4 (s, 2 P). RMN ^1H (CD_3OD) δ (ppm) : 2,57 (t, 2 H) ^2J (H-P) 21 Hz, PCH_2P ; 5,10 (s, 4 H), OH. RMN ^{13}C (CD_3OD) δ (ppm) : 2,46 (t, 1 C) $^1\text{J} = 5$ Hz.

[(Thiophosphonato)-méthyl] phosphonate de sodium (MDPS) 9b

Dans un monocol de 25 ml équipé d'une agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'une arrivée d'azote on introduit 1 équivalent de **5b** (0,5 g; 1,8 mmol) dilués dans du 1,2-dichloroéthane (10 ml). Le ballon est placé dans un bain de glace et 6 équivalents de Me_3SiBr (1,4 ml; 10,8 mmol) sont additionnés rapidement. Le mélange réactionnel est porté à reflux (110°C). Me_3SiBr (13 équivalents au total) est régulièrement additionné dans le milieu réactionnel de manière à entretenir la réaction de silylation qui dure environ 170 h. L'avancement de la réaction est suivi par RMN grâce à l'apparition de signaux caractéristiques du produit silylé **8b** (RMN ^{31}P : -2 (d, 1 P) ^2J (P-P) 15 Hz, $\text{P}=\text{O}$; 55 (d, 1 P) ^2J (P-P) 15 Hz, $\text{P}=\text{S}$). Du méthylate de sodium (23,4 mmol dans 20 ml de méthanol) est alors ajouté. Il apparaît rapidement un précipité blanc crème. Après 1 h d'agitation, le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif. Le résidu solide obtenu est lavé au méthanol (2×30 ml), puis centrifugé. Le résidu solide recueilli est alors desséché sous pression réduite de 30 mm Hg. La pureté du produit final est évaluée par RMN.

Rendement : 60 %. Sel blanc crème. RMN ^{31}P (D_2O) δ (ppm) : 14,3 (d, 1 P) ^2J (P-P) 14 Hz, $\text{P}=\text{O}$; 49,3 (d, 1 P) ^2J (P-P) 14 Hz, $\text{P}=\text{S}$. RMN ^1H (D_2O) δ (ppm) : 2,37 (dd, 2 H) ^2J (H-P) 17 Hz et ^2J (H-P) 18 Hz.

[(Isopropylamidophosphonato)-méthyl] phosphonate de sodium (MDPN) 9c

Dans un monocol de 250 ml équipé d'une agitation magnétique et d'une arrivée d'azote, on introduit 1 équivalent de **5c** (4,74 g; 15,75 mmol), 12 équivalents de Et_3N (20,1 g; 199 mmol) dans du 1,2-dichloroéthane (90 ml). Le mélange réactionnel est placé dans un bain de glace. On introduit rapidement 4,5 équivalents de Me_3SiBr (9,5 ml; 53,5 mmol). On laisse agiter le mélange pendant 170 h à température ambiante. L'avance-

ment de la réaction est suivi par RMN ^{31}P , grâce à l'apparition de signaux caractéristiques du produit silylé **8c** (RMN ^{31}P : -1 (d, 1P) ^2J (P-P) 11 Hz; 12 (d, 1P) ^2J (P-P) 11 Hz. On introduit alors rapidement dans le mélange réactionnel une solution contenant 4,6 équivalents de méthylate de sodium (72,7 mmol dans 65 ml de MeOH). Le mélange est agité 1 h à température ambiante puis est évaporé sous pression réduite. Le sel obtenu est lavé et centrifugé dans le méthanol (2×30 ml). La phase décantée est alors séchée sous pression réduite à 30 mm Hg.

Rendement : 53 %. Sel orange. La pureté du produit est estimée par RMN ^{31}P .

RMN ^{31}P (D $_2\text{O}$) δ (ppm): 12,9 (d, 1P) ^2J (P-P) 6 Hz, $_2(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})\text{P}=\text{O}$; 23,9 (d, 1P) ^2J (P-P) 6 Hz, PNHiPr. RMN ^1H (D $_2\text{O}$) δ (ppm): 1,17 (d, 6H) ^3J (H-H) 6 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; 1,99 (t, 2H) ^2J (H-P) 19 Hz, PCH_2P ; 3,4 (m, 1H), $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$. RMN ^{13}C (D $_2\text{O}$) δ (ppm): 25,3 (d, 1 C) ^3J (C-P) 6 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; 31,7 (dd, 1 C) ^1J (C-P) 101 Hz, ^1J (C-P) 118 Hz, PCH_2P ; 42,9 (s, 1 C), $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

Complexation

L'équilibre de complexation a été étudié par titrage potentiométrique à $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ sous atmosphère d'argon et à force ionique constante (0,1 mol/dm 3 NaClO $_4$). Le pH a été mesuré en utilisant une électrode de verre Mettler Toledo Inlab 422 et un pH-mètre Orion 710A (précision de 0,1 mV). Pour le traitement quantitatif des valeurs mesurées, l'équation suivante est utilisée:

$$E = E_0 + \frac{RT}{F} \ln[H^+] + J_H[H^+] + J_{OH}[H^+]^{-1} K_w$$

Elle relie la force électromotrice (E) à la concentration en proton à l'équilibre. J_H et J_{OH} sont des paramètres d'ajustement dans les milieux acides et basiques pour corriger les erreurs expérimentales principalement dues au potentiel de jonction-liquide et aux dérives possibles de l'électrode de verre en milieu basique ou acide. Pour la force ionique utilisée K_w , la constante d'autoprotolyse de l'eau, est égale à $10^{-13,75}$.

Les constantes de formation des complexes ont été calculées en faisant la moyenne de 8 titrages indépendants. Le rapport ion métallique sur ligand ($R = [\text{M}]/[\text{L}]$) varie de 1:5 à 1:1 et la concentration maximale en MDP est de 10^{-2} M.

Les constantes de formation des complexes se formant dans le système sont déterminées en traitant les valeurs de pH mesurées pendant le titrage avec le programme informatique PSEQUAD³⁸.

Remerciements

Les auteurs remercient l'Institut Nancéen de Chimie Moléculaire pour l'aide financière accordée pour ce travail.

Références

- [1] R.L. Carroll, R.R. Irani, *Inorg. Chem.* **6**, 1994, (1967).
- [2] R.L. Carroll, R.R. Irani, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **30**, 2971, (1968).
- [3] R.A.M.J. Claessens, J.G.M. van der Linden, *J. Inorg. Biochem.* **21**, 73, (1984).
- [4] M.M. Zolotukhina, V.I. Krutikov, A.N. Lavrent'ev, *Russian Chem. Rev.* **62**, 647, (1993).
- [5] J. Majka, H. Teitelbaum, *Rev. Biochem. Toxicol.* **9**, 271, Elsevier Science Publishing, (1988).
- [6] T. Egli, *Microbiol. Sci.* **5**, 36, (1988).
- [7] L. Maier, Colloques internationaux du CNRS **182**, Chimie Organique du Phosphore (19–24 mai 1969), Edition du CNRS, 47, (1970).
- [8] H. Fleisch, *Drugs* **42**, 919, (1991).
- [9] C. Grison, F. Charbonnier, Ph. Coutrot, *Tetrahedron Lett.* **35**, 5425, (1994).
- [10] C. Grison, P. Coutrot, S. Joliez, L. Balas, *Synthesis*, 731, (1996).
- [11] K. Burger, Biocoordination Chemistry : Coordination Equilibria in Biologically Active Systems, Ellis Horwood Limited, (1990).
- [12] I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, Bioinorganic Chemistry, University Science Books, Sausalito, California, (1994).
- [13] S.J. Lippard, J.M. Berg, Principles of Bioinorganic Chemistry, University Science Book, Mill Valley, California, (1994).
- [14] M. Larsen, R. Wilett, R.G. Yount, *Science* **166**, 1510, (1969).
- [15] M.P. Teulade, P. Savignac, E.E. Aboujaoude, S. Liège, N. Collignon, *J. Organomet. Chem.* **304**, 283, (1986).
- [16] C.E. McKenna, M.T. Higa, N.H. Cheung, M.C. McKenna, *Tetrahedron Lett.* **2**, 155, (1977).
- [17] M.M. Taqui Khan, A.E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 668, (1966).
- [18] M.M. Taqui Khan, A.E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 3037, (1962).
- [19] C. Miller Frey, J.E. Stuehr, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 8898, (1972).
- [20] H. Sigel, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **39**, 1903, (1977).
- [21] P.R. Mitchell, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 1564, (1978).
- [22] N. Saha, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 4100, (1982).
- [23] E.O. Bishop, S.J. Kimber, D. Orchard, B.E. Smith, *Biochim. Biophys. Acta* **635**, 63, (1981).
- [24] F. Ramirez, J.F. Marecek, *Biochim. Biophys. Acta* **589**, 21, (1980).
- [25] M. Cohn, T.R. Hughes, *J. Biol. Chem.* **237**, 176, (1962).
- [26] S.J. Karlik, G.A. Elgavish, G.L. Eichhorn, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 602, (1983).
- [27] K. Misawa, T.M. Lee, S. Ogawa, *Biochim. Biophys. Acta* **718**, 227, (1982).
- [28] E.K. Jaffe, M. Cohn, *Biochemistry* **17**, 652, (1978).
- [29] V.L. Pecoraro, J.D. Hermes, W.W. Cleland, *Biochemistry* **23**, 5262, (1984).
- [30] G.C. Levy, J.J. Dechter, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 6191, (1980).
- [31] S.L. Huang, M.D. Tsai, *Biochemistry* **21**, 951, (1982).
- [32] R.G. Yount, D. Babcock, W. Ballantyne, D. Ojala, *Biochemistry* **10**, 2484, (1971).

- [33] R.R. Iranie, K. Moedritzer, *J. Phys. Chem.* **66**, 1349, (1962).
- [34] D. Sanna, G. Micera, P. Buglyo, T. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **87**, (1996).
- [35] R.J. Grabenstetter, O.T. Quimby, T.J. Flautt, *J. Phys. Chem.* **71**, 4194, (1967).
- [36] T.A. Matkovskaya, L.S. Nikolaeva, E.A. Mezhonova, T.M. Balashova, A.M. Evseev, N.M. Dyatlova, *Russian J. Inorg. Chem.* **34**, 1100, (1989).
- [37] M.I. Kabachnik, R.P. Lastovskii, T. Ya. Medved, V.V. Medyntsev, I.D. Kolpakova, N.M. Dyatlova, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **177**, 582, (1967).
- [38] L. Zékany, I. Nagypal, *Computational Methods for the Determination of Stability Constants*, Ed. D. Legget, Plénum Press, New York, Chapitre 8, (1985).
- [39] G. Charlot, *Chimie Analytique Quantitative*, Tome 1, Ed. Masson, Paris, **171**, (1974).