

RECONNAISSANCE CHIRALE DANS DES COMPLEXES MOLECULAIRES NEUTRES ET IONIQUES.

L'objectif principal de cette thèse est l'étude spectroscopique de molécules ou de complexes portant plusieurs centres chiraux, en phase gazeuse, pour comprendre les effets de la stéréochimie sur leurs propriétés structurales. Des études complémentaires par dichroïsme circulaire vibrationnel en solution ont aussi été menées.

La chiralité est en effet une des propriétés essentielles de la chimie du vivant. L'étude en phase gazeuse de molécules comportant plusieurs centres chiraux, comme les alcaloïdes dérivés de la quinine, et de complexes formés entre molécules chirales permet de déterminer leurs propriétés sans que celles-ci soient perturbées par l'influence du solvant.

1. Méthodes utilisées :

Les expériences réalisées consistent à former et à isoler des molécules ou des complexes faiblement liés en phase gazeuse, et à les étudier par spectroscopie laser. Suivant qu'il s'agisse de complexes neutres ou protonés, les techniques diffèrent.

a) Complexes neutres :

Les molécules neutres sont mises en phase gazeuse par ablation laser, à l'aide d'une source d'ablation miniaturisée développée pendant cette thèse. Leur étude repose sur l'utilisation conjointe de jets supersoniques et de la spectroscopie laser. En effet, les jets supersoniques permettent de produire des molécules isolées et froides (10K) en phase gazeuse. Seul le niveau vibrationnel le plus bas en énergie est peuplé. Ceci, ajouté à la résolution spectrale obtenue avec les lasers, conduit à une simplification extrême des spectres électroniques ou vibrationnels qui sont composés de bandes fines.

Les molécules étudiées contiennent un chromophore qui absorbe dans l'UV proche. La première étape du travail présenté dans cette thèse consiste à enregistrer le spectre correspondant à la transition électronique S_0-S_1 localisée sur le chromophore. Ceci se fait en utilisant soit la fluorescence induite par laser (LIF), soit l'ionisation multiphotonique par l'intermédiaire d'un état résonant (REMPI). Notons que quand le chromophore est situé sur une molécule comportant plusieurs centres chiraux, la transition électronique est légèrement différente selon la chiralité relative de ces différents centres chiraux. La différence entre les énergies des transitions électroniques de ces molécules diastéréoisomères, est tenue (de

l'ordre du % de l'énergie de transition totale), mais facilement mesurable par les méthodes utilisées.

Une fois la spectroscopie électronique des systèmes étudiés connue, on peut en étudier la structure par spectroscopie vibrationnelle de double résonance IR/UV.

Cette méthode repose sur l'utilisation de deux lasers IR et UV, appliqués simultanément sur le système étudié. Elle consiste à fixer la longueur d'onde du laser UV (ou sonde) sur une des transitions électroniques préalablement déterminées et à utiliser le signal qu'il induit (courant d'ion ou fluorescence) comme une mesure de la population de l'état fondamental S_0 . Si la longueur d'onde du laser IR est résonante avec une transition vibrationnelle du système sondé, on observe une diminution de la population de S_0 et donc du signal induit par la sonde. On enregistre ainsi le spectre vibrationnel de l'espèce sondée comme une succession de « trous » dans l'intensité du signal induit par la sonde. Cette méthode possède une sensibilité très supérieure à celle de l'absorption directe. D'autre part, elle est sélective : on n'enregistre que le spectre vibrationnel de l'espèce sondée par l'UV. On peut donc enregistrer séparément le spectre de différents conformères présents dans les conditions expérimentales, même si toutes ces espèces absorbent l'infrarouge dans la même région.

Complexes protonés :

Cette étude repose sur l'utilisation d'un piège à ion quadripolaire ou FTICR. Les expériences réalisées sont d'une part des mesures de stabilité relative des complexes homo- ou hétérochiraux par dissociation induite par collision (CID). Elles consistent à comparer l'efficacité de fragmentation des complexes homo et hétérochiraux, pour une même énergie d'activation et dans les mêmes conditions expérimentales. D'autre part des expériences de spectroscopie vibrationnelle ont été réalisées, par dissociation multiphotonique (IRMPD) grâce au laser à électrons libres CLIO.

Etudes en solution par dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD). Le dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD) consiste à mesurer la différence d'absorption entre une onde polarisée circulaire droite et gauche par une molécule chirale, dans le domaine infrarouge. Associé à des calculs de chimie quantique, il est le seul moyen de déterminer la configuration absolue d'une molécule chirale. D'autre part, cet effet très ténu (entre 10^{-6} et 10^{-5} de l'absorption totale) est une sonde extrêmement fine de la conformation moléculaire et de l'environnement.

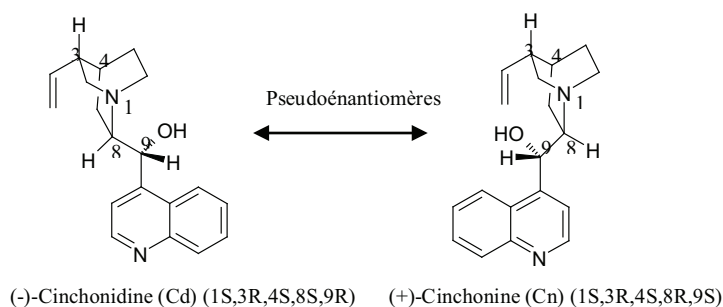
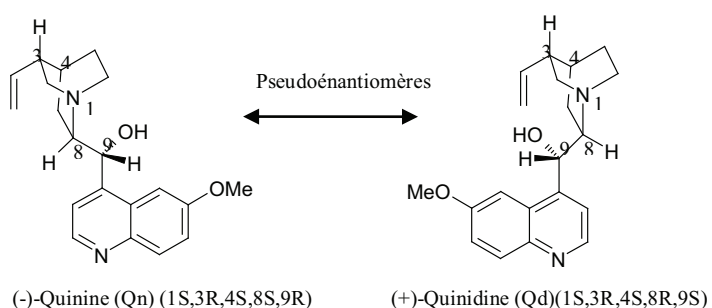
Approches théoriques : La détermination de la structure des molécules ou de leurs complexes se fait en comparant les spectres vibrationnels expérimentaux à des spectres simulés à partir des fréquences harmoniques calculées pour les conformations les plus stables.

2. Les alcaloïdes dérivés de la quinine :

Ces systèmes ont été choisis en lien direct avec la chimie, pour leur rôle en catalyse asymétrique par exemple. L'étude des alcaloïdes dérivés de la quinine a paru intéressante pour leur rôle catalytique dans l'hydrogénation énantiosélective des cétones. La quinine et ses dérivés, outre leurs propriétés bien connues contre le paludisme, sont aussi utilisés pour construire des phases stationnaires chirales en chromatographie en phase chirale, qui sont utilisées pour séparer des acides aminés.

Les molécules étudiées sont la quinine et son pseudo énantiomère la quinidine, ainsi que leurs dérivés, la cinchonine et la cinchonidine. Elles sont représentées ci-dessous. Ces molécules sont composées d'un chromophore aromatique, la quinoléine, d'une amine tertiaire la quinuclidine, et d'un lien entre les deux comportant une fonction alcool.

Ces alcaloïdes possèdent cinq centres de chiralité, dont deux sont localisés sur le lien aminoalcool (C_8 et C_9). Ces molécules étant des produits naturels, leurs énantiomères ne sont pas disponibles. On a à la place les pseudo énantiomères dans lesquels seule la chiralité des carbones C_9 et C_8 est inversée. Il est communément admis que ces pseudo énantiomères se comportent comme des énantiomères pour beaucoup d'applications.

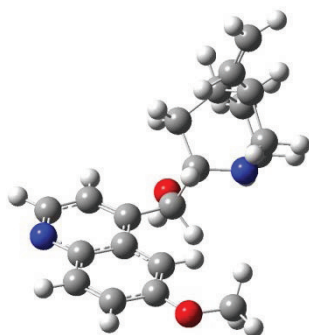


L'étude que nous avons menée est d'ordre structural. Elle consiste à mieux comprendre en phase gazeuse la conformation de ces molécules très flexibles. La conformation autour de la liaison C_8 - C_9 est particulièrement importante parce qu'on pense que

c'est elle qui joue un rôle déterminant dans le rôle de catalyseur énantiosélectif pour l'hydrogénation des cétones, obtenu avec les alcaloïdes de ce type. Le deuxième aspect est lié à la stéréochimie. La question posée dans cette thèse est de savoir si les deux pseudoénantiomères se comportent comme de vrais énantiomères. Enfin, si la quinine protonée est célèbre pour son utilisation comme référence pour la mesure des rendements quantiques de fluorescence, la quinine neutre ne fluoresce pas en solvant non protique¹. L'explication proposée repose sur un transfert de charge non radiatif dans l'état excité, de l'azote de la quinuclidine vers le cycle aromatique. Un des points importants de cette thèse a donc été de définir si ces dérivés fluoresçaient en phase gazeuse.

a) Etude en phase gazeuse.

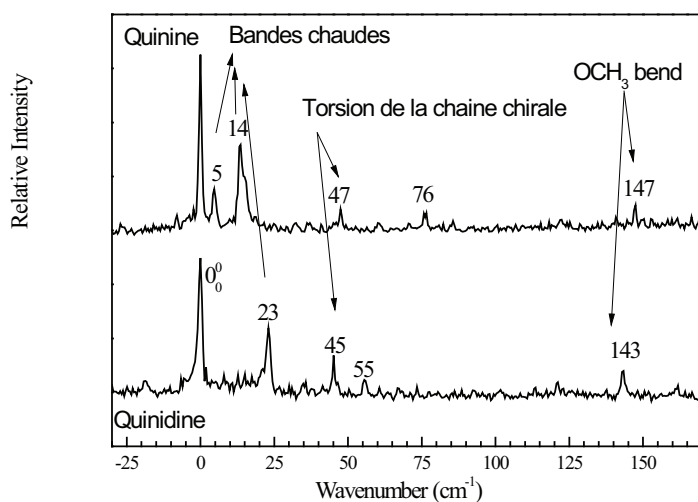
La spectroscopie électronique de la quinine et son pseudoénantiomère, la quinidine, a été étudiée par REMPI et fluorescence induite par laser. La transition est typique d'une transition $\pi\pi^*$ localisée sur le cycle aromatique et le spectre d'émission est résonant, sans émission déplacée vers les basses énergies qui serait caractéristique d'un état à transfert de charge. Les caractéristiques spectroscopiques de la quinine et de la quinidine sont très semblables : même fréquence $\nu(\text{OH})$ mesurée en double résonance IR-UV, fréquences de vibration similaires dans l'état excité. Ceci est interprété par une géométrie la plus stable identique pour les deux pseudo énantiomères, qui est *cis- γ -open*. Cette dénomination décrit la position du groupement méthoxy (*cis*), la géométrie étendue des deux cycles qui interagissent peu entre eux (*open*) et la géométrie de la chaîne chirale liant les deux cycle (γ) qui est telle qu'il n'y a pas de liaison hydrogène intramoléculaire entre le OH et l'azote alcaloïde.



Conformation la plus stable de la quinine (cis- γ -open) en solution et dans le CHCl_3 .

¹ W. W. Qin, A. Vozza and A. M. Brouwer. *Journal of Physical Chemistry C*, 113, pp. 11790-11795. (2009).

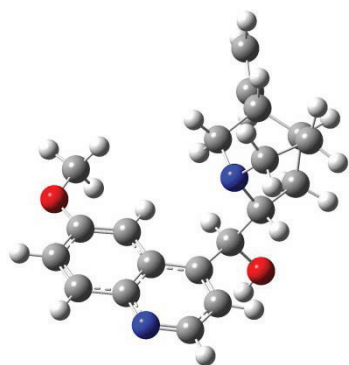
La seule différence notable entre les spectres de la quinine et de la quinidine en phase gazeuse est la présence de plus de bandes chaudes dans la quinine. Ceci est probablement dû à la différence de structure cristalline qui rend la quinine plus difficile à évaporer par laser, on a donc besoin de plus de puissance laser ce qui conduit à des molécules moins bien refroidies.



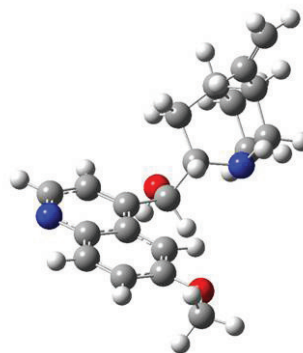
Spectre d'excitation de la fluorescence de la quinine et de la quinidine en jet supersonique

b) Propriétés en solution : spectres de dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD).

Des conformères de plus haute énergie sont stabilisés dans le chloroforme. Alors que pour la quinine, il n'en existe qu'un qui possède une structure « open » et ne diffère du conformère le plus stable que par la position trans du méthoxy, il en existe quatre pour la quinidine qui sont tous de type « closed ».

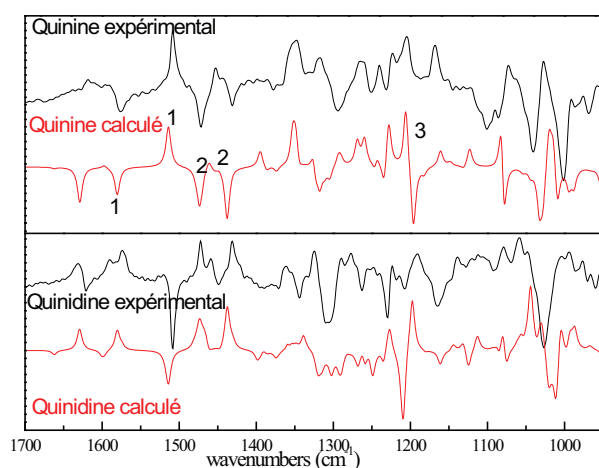


Conformation trans- γ -open de la quinine



Conformation cis- γ -closed de la quinidine

Cette différence entre les deux pseudo énantiomères dans le nombre de conformères se manifeste par des différences dans les spectres de VCD. En effet, ceux-ci sont enregistrés à température ambiante et on doit donc prendre en compte tous les conformères peuplés à 298 K. Les spectres VCD de la quinine et de la quinidine sont de signes opposés dans la zone de fréquences supérieures à 1400 cm^{-1} , ce qu'on s'attend à obtenir pour de « vrais énantiomères ». Cette zone correspond aux modes de bending $\beta(\text{CH})$ localisés sur le cycle aromatique (notés 1 dans la figure ci-dessous), sur OCH_3 (2) ou sur la chaîne (3). En revanche cette relation est perdue à plus basse énergie. Ceci vient du fait que la quinine et la quinidine ne sont que pseudo énantiomères.



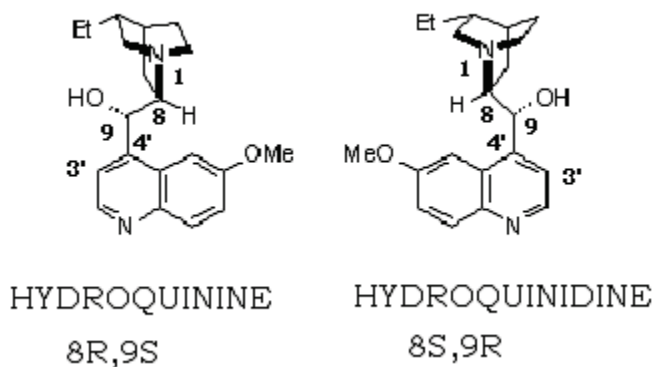
Spectres de dichroïsme circulaire vibrationnel expérimentaux et calculés à partir des conformations les plus stables au niveau $b3lyp/6-31G+(d,p)$.

En conclusion les spectres de VCD en solution, associées aux informations structurales obtenues en jet et aux calculs de chimie quantique, nous donnent une bonne image du paysage conformationnel de ces systèmes². Il semble que les différences ne proviennent pas de la conformation la plus stable, qui est celle observée en jet supersonique, mais de conformations plus hautes en énergie.

c) Effet de l'hydrogénation du groupement éthylénique.

² Sen, A.; Bouchet, A.; Lepere, V.; Le Barbu-Debus, K.; Scuderi, D.; PiuZZi, F.; Zehnacker, A. //dx.doi.org/10.1021/jp3047888 J. Phys. Chem. A 2012.

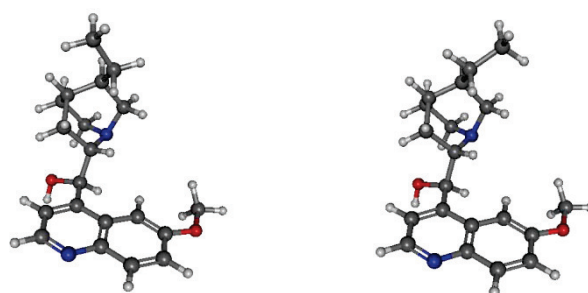
La comparaison des propriétés spectroscopiques du couple quinine/quinidine a été étendue au couple hydroquinine/hydroquinidine, qui diffère du premier exemple par la saturation de la chaîne éthylénique.



La présence d'une chaîne saturée C₂H₅ (notée Et sur le schéma ci-dessus) augmente la flexibilité conformationnelle de ce système par rapport au couple quinine/quinidine. En effet, on observe pour chacune de ces molécules deux conformères, tous deux de géométrie cis- γ -open, comme dans le cas de la quinine.



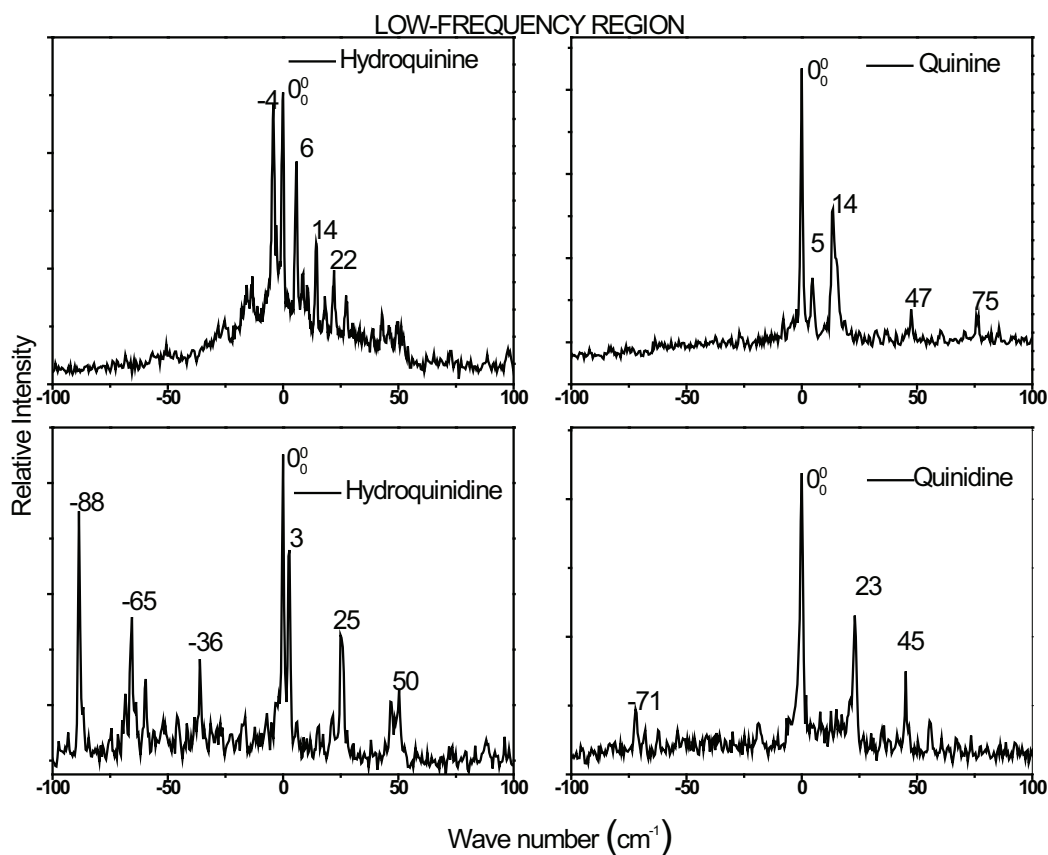
Hydroquinidine cis- γ -open(3a) *Hydroquinidine -cis- γ -open(3b)*
 $\Delta G = 0.02 \text{ kcal/mol}$



Hydroquinine-cis- γ -open(3a) *Hydroquinine -cis- γ -open(3b)*
 $\Delta G = 0.16 \text{ kcal/mol}$

Ces deux conformères sont quasiment isoénergétiques. Ils diffèrent par l'orientation de la chaîne saturée par rapport au reste de la molécule. Les études de spectroscopie en phase gazeuse montrent qu'ils coexistent dans les conditions de jet supersonique et qu'ils ont des

propriétés très proches. Toutefois, certaines propriétés spectroscopiques comme l'énergie de la transition électronique S_0-S_1 , diffèrent plus entre les deux conformères dans le cas de l'hydroquinidine que dans celui de l'hydroquinine.



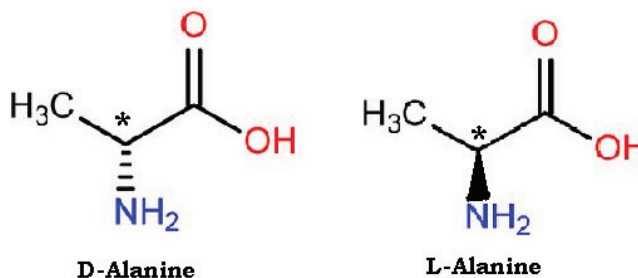
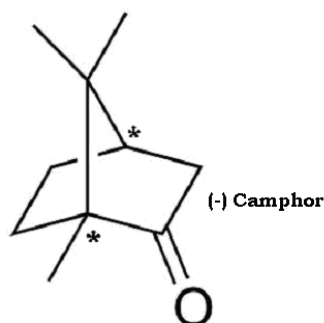
Spectre d'excitation de la fluorescence des molécules de Hydroquinine, Hydroquinidine, Quinine and Quinidine dans le domaine de l'origine des transitions. On peut noter le comportement particulier de l'hydroquinidine.

Du point de vue des calculs, les différences entre les deux pseudo énantiomères sont plus prononcées dans le cas du système hydroquinine/ hydroquinidine que pour le couple quinine / quinidine. Les calculs montrent en effet qu'il existe, en phase gazeuse, neuf conformères avec $\Delta G < 1,6$ kcal / mol à température ambiante pour l'hydroquinidine, alors qu'il n'en existe que trois pour l'hydroquinine. Ces conformères sont la plupart de type « closed », c'est-à-dire que le cycle quinuclidine se replie sur le cycle aromatique. Les calculs montrent aussi que la différence d'énergie libre à température ambiante entre les conformères de type « closed » et les conformères les plus stables, c'est-à-dire de type « open », est plus élevée dans l'hydroquinine (1,57 kcal / mole pour le conformère cis- β -closed) que dans l'hydroquinidine (1,15 kcal / mole pour le conformère cis- γ -closed). Ces conformères ne sont pas observés en jet supersonique, en revanche on s'attend à ce que leur présence se manifeste dans les spectres de VCD enregistrés en solution à température ambiante. Ces études de VCD

en solution seront menées prochainement pour confirmer que la présence de plus de conformères de haute énergie dans le cas du couple hydroquinine / hydroquinidine.

3. Le complexe protoné camphre alanine :

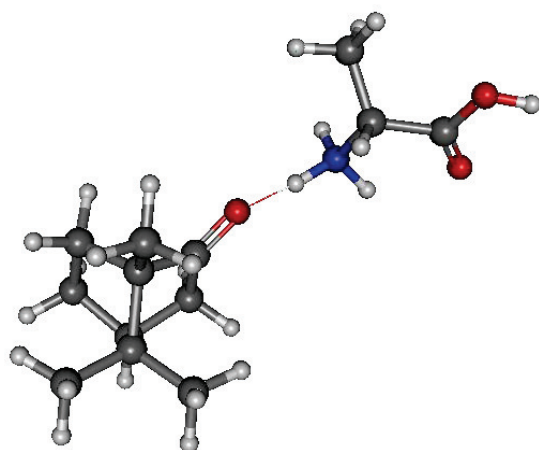
Ce travail constitue une autre orientation de la thèse présentée ici, qui se rapporte à des complexes ioniques piégés à température ambiante dans un piège à ions quadripolaire, et étudiés par dissociation induite par collision (CID) et par spectroscopie vibrationnelle obtenue par IRMPD. La combinaison de ces deux méthodes permet d'accéder à la fois à des données énergétiques (stabilité des complexes par CID) et structurales (spectroscopie vibrationnelle). Le fait qu'on soit à température ambiante fait que de nombreux conformères des molécules ou complexes étudiés peuvent être peuplés, et rend la présence de bandes chaudes issues de niveaux vibrationnels supérieurs probable. Ceci rend les spectres vibrationnels plus complexes que dans les exemples précédents en jet supersonique. Nous avons donc choisi des systèmes simples (petites molécules) et rigides pour limiter l'isomérisation conformationnelle dans les systèmes étudiés et donc la complexité des spectres.



Structures du (-) Camphre et des D et L Alanine.

Ces études ont d'abord montré que le complexe homochiral est plus abondant que le complexe hétérochiral, dans les mêmes conditions expérimentales, en particulier de concentrations de monomères. Des études de dissociation induite par collisions (CID) ont été faites sur les dimères homo-chiraux et hétéro-chiraux. Les spectres de masse correspondant à la dissociation (CID) de ces deux dimères montrent des pics à la masse m/z 242, qui correspond au dimère protoné et à la masse m/z 90 qui correspond à l'alanine protonée résultant de la dissociation du dimère. Nous pouvons conclure de ce spectre de masse CID que la charge est portée par l'alanine et que la dissociation des dimères conduit à la rupture de la liaison intermoléculaire, ce qui n'est pas surprenant vu que c'est la plus fragile. Les taux de fragmentation sont de 0,39 pour le dimère homochiral et de 0,46 pour le dimère hétérochiral.

À partir des taux de fragmentation, on peut dire que plus il est difficile de former des dimères plus ils fragmentent. Le complexe homochiral est plus facile à former et plus difficile à dissocier que le complexe hétérochiral.

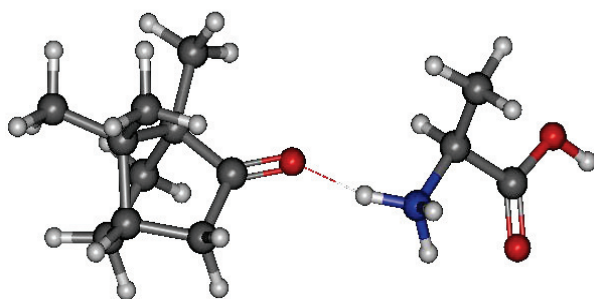


$$N-H : 1.07 \text{ \AA} \quad H-O : 1.59 \text{ \AA}$$

$$N-H-O : 164^\circ$$

SS-Cam-AlaH⁺(1)

(dimère homochiral)



$$N-H : 1.07 \text{ \AA} \quad H-O : 1.59 \text{ \AA}$$

$$N-H-O : 164^\circ$$

SS-Cam-AlaH⁺(1)

(dimère hétérochiral)

Structures du dimère hétérochiral (en haut) et le dimère homochiral (en bas) les plus stables montrant l'existence d'une liaison hydrogène entre le proton de l'amine et l'oxygène du carbonyle du camphre. Les distances NH, OH et l'angle NHO sont données pour chaque dimère.

Les spectres expérimentaux IRMPD sont les mêmes pour les deux diastéréoisomères. En effet, les structures calculées peuplées à température ambiante, et donc prises en compte pour la simulation des spectres de vibration, sont toutes très similaires, ce qui ne conduit pas à une signature spectroscopique différente dans la région des empreintes digitales.

Les énergies de liaison calculées sont également les mêmes pour les deux diastéréoisomères. Comme on le voit ci-dessus, la différence entre les énergies de liaison des complexes hétérochiral et homochiral est négligeable (0,22 kcal / mol) et ne rend pas compte des différences dans leur facilité de formation ou dans leur efficacité de fragmentation. Une possibilité pour rendre compte de cet écart est de supposer que la dissociation ou la formation des complexes implique une barrière d'énergie (ce processus serait sous contrôle cinétique). L'énergie du système a donc été calculée en faisant varier la longueur de la liaison hydrogène et en optimisant tous les autres degrés de liberté. La conclusion de ces calculs est qu'il n'y a pas de barrière, comme c'est souvent le cas dans des réactions ion-molécule. Il est donc impossible d'évoquer les arguments cinétiques, avec la présence d'une barrière stéréosélective pour expliquer les différences d'efficacité de fragmentation. Cependant, il faut garder à l'esprit le fait que l'on observe des complexes ioniques à température ambiante. La différence de comportement entre les deux diastéréoisomères peut découler de conformères plus hauts en énergie. En effet, les calculs montrent qu'il y a plus de conformations différentes des dimères avec une énergie libre de liaison ΔG inférieur à 2 kcal / mol pour le dimère hétérochiral (SR) (6 conformères) que pour le dimère homochiral (SS) (4 conformères). La tendance est amplifiée si l'on fixe la limite de ΔG à 6 kcal / mol (15 isomères pour le complexe SR, 9 pour le complexe SS).

4. Conclusion

Dans tous les systèmes étudiés, il semble que la reconnaissance chirale soit peu importante quand on ne considère que la structure de plus basse énergie ; alors qu'elle se manifeste de façon plus marquée pour les structures de plus haute énergie. Par exemple, les spectres électroniques tout comme les spectres vibrationnels de la quinine et son pseudo énantiomère, la quinidine, refroidies en jet supersonique, sont similaires. Les pseudo énantiomères montrent des différences plus marquées en solution, comme en témoignent leurs spectres VCD, parce que les solutions sont à la température ambiante et des conformères de plus haute énergie sont peuplés. La différence entre les pseudo énantiomères est plus

prononcée dans le couple hydroquinine / hydroquinidine. En effet, parmi les quatre alcaloïdes dérivés de la quinine étudiés dans ce travail, l'hydroquinidine est celui qui possède le plus de conformères de plus haute énergie. Il a une signature spectrale pour la transition électronique S_0-S_1 très différente des trois autres molécules.

De même, dans les études réalisées dans le piège à ions, la structure de plus basse énergie du complexe protoné alanine / camphre est la même en termes d'énergie de liaison. De plus, la signature spectroscopique dans la région des empreintes digitales est identique pour les deux diastéréoisomères. Cela contraste avec les mesures CID qui montrent une efficacité de fragmentation plus grande du complexe hétérochiral. Ceci a été expliqué en termes d'un nombre de conformères à température ambiante supérieur dans le cas du complexe hétérochiral que dans le complexe homochiral. Cette différence dans le nombre de conformères est suffisante pour expliquer qualitativement les différences d'efficacité de fragmentation dans le cadre des théories statistiques.

Ainsi, ce travail de thèse a montré que la reconnaissance chirale n'est pas toujours due aux conformères les plus bas en énergie et qu'il peut être avantageux d'associer des techniques en phase gazeuse et en solution, à basse température (10K) et à température ambiante.