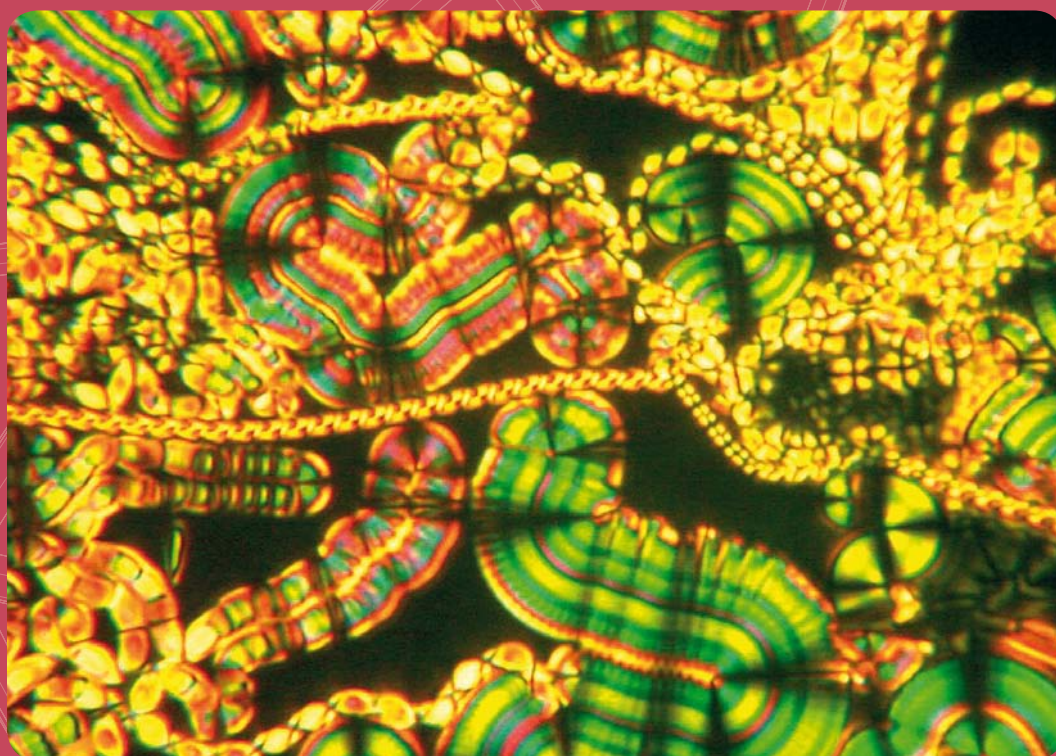




ANNE ZEHACKER-RENTIEN, KATIA LE BARBU-DEBUS

Laboratoire de Photophysique Moléculaire. CNRS/Université Paris-Sud
Faculté des sciences d'Orsay

LA MOLÉCULE ET *son double*



© CNRS PHOTO THÈQUE / ROUILLON JEAN-CLAUDE

Certaines molécules, dites « chirales » possèdent la propriété de ne pas être superposables à leur image dans un miroir, tout comme la main gauche n'est pas superposable à la main droite. On appelle ces deux molécules images « énantiomères ».

Photo : Texture optique au microscope polarisant d'une phase smectique d'un produit non chiral, ayant la forme d'une "banane". Sa structure n'est pas encore très bien connue mais elle possède des propriétés ferro et antiferroélectriques comme des cristaux liquides chiraux.

De la même façon que nous possédons une main droite et une main gauche, les molécules chirales* existent sous forme d'un énantiomère* « droit » et d'un énantiomère « gauche ». Cette propriété a été découverte au milieu du 19^e siècle par Pasteur, à l'occasion de ses travaux sur l'acide tartrique extrait du vin (**encadré 1**). C'est lui aussi qui a eu l'intuition de la relier au monde du vivant, en montrant que la fermentation du vin, un processus provoqué par des levures, ne produisait qu'une seule des formes énantiomères de l'acide tartrique, alors que si on le fabriquait par voie chimique, sans prendre de précaution particulière, on obtiendrait les deux formes en quantité égale (ce qu'on appelle un mélange racémique*). On observera par la suite que ce phénomène est général : beaucoup des molécules constituant les organismes vivants, comme les acides aminés, sont chirales, et surtout n'existent à l'état naturel que sous une des deux formes énantiomères (**figure 1**). Deux énantiomères interagissent exactement de la même façon avec un milieu extérieur qui n'est pas chiral, un peu comme la main droite et la main gauche enfilent une moufle avec la même facilité. En revanche, dans un environnement lui-même chiral, ils se comportent différemment, comme un gant ne va qu'à une des deux mains. On appelle ce phénomène « la reconnaissance chirale ». C'est ainsi qu'un des énantiomères du limonène sent l'orange, et l'autre le citron, parce qu'ils interagissent différemment avec les protéines, récepteurs de l'odorat. En pharmacologie, les deux énantiomères d'un médicament font souvent preuve d'une activité différente : alors que l'un des deux possède la propriété désirée, l'autre peut être inactif ou toxique. Par exemple, l'énantiomère du principe actif d'un sirop contre la toux est un narcoleptique puissant, ce qui le rend très toxique. On voit donc l'intérêt de ne savoir produire par synthèse chimique qu'un seul des énantiomères d'une molécule chirale. C'est un sujet qui a été et est toujours extrêmement développé à l'Université Paris-Sud, notamment par l'équipe de catalyse moléculaire de l'institut de chimie moléculaire et des matériaux d'Orsay. Notre équipe aborde la chiralité d'un autre point de vue, celui du physico-chimiste, et l'étudie sous l'angle des interactions moléculaires. En effet la notion de reconnaissance est intimement liée à celle d'interaction : comment distinguer une personne d'une autre si on n'est pas en contact avec elle ? La reconnaissance chirale repose ainsi sur l'existence de paires de contact, nées de la rencontre entre une molécule chirale et son environnement. Ces paires de contact se dissocient et se réassocient incessamment en solution, ce qui les rend difficiles à étudier dans les conditions de la vie réelle. Nous allons décrire dans ce qui suit les méthodes que nous appliquons pour produire des associations moléculaires imitant celles qui sont responsables de la reconnaissance chirale ainsi que les techniques spectroscopiques que nous utilisons pour les caractériser.

Interactions moléculaires et reconnaissance chirale

A l'intérieur des molécules, les atomes sont liés par des liaisons chimiques. Il existe aussi des interactions entre les molécules, qui sont dix à cent fois plus faibles que les liaisons chimiques, et qui assurent la cohésion des solides et des liquides. Parmi ces interactions, la liaison hydrogène* joue un rôle très important. C'est elle par exemple qui définit la structure de nombreux édifices biologiques comme les protéines. Une liaison hydrogène se forme entre une molécule possédant un atome d'hydrogène portant une charge positive partielle, le donneur, et une molécule comportant un site portant une charge négative partielle, l'accepteur. Le donneur est souvent OH, mais aussi NH et l'accepteur le plus souvent N ou O. Dans les systèmes auxquels nous nous intéressons, les interactions spécifiques entre molécules chirales sont en grande partie des liaisons hydrogène. Là encore l'analogie entre une main enfilant un gant, et les interactions spécifiques est tentante : on peut comparer les points de contact entre les doigts de la main et ceux des gants aux liaisons hydrogène qui existent ou non suivant la chiralité respective des objets en présence.

Démarche expérimentale

L'expérience que nous réalisons consiste à former des complexes à liaison hydrogène entre molécules chirales en jet supersonique (**encadré 2**), et à étudier leur structure par spectroscopie laser (**encadré 3**). De la même façon que les deux énantiomères R et S

FIGURE 1

Un acide aminé est une molécule chirale. La forme naturelle de l'acide aminé, à gauche, est l'énantiomère de la forme représentée à droite, comme la main gauche est l'énantiomère de la main droite.

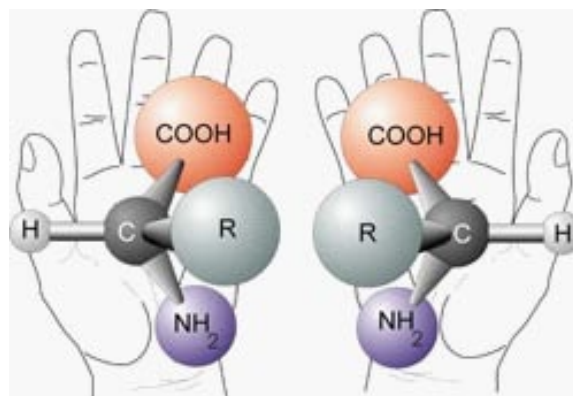
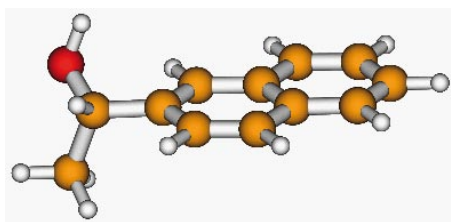
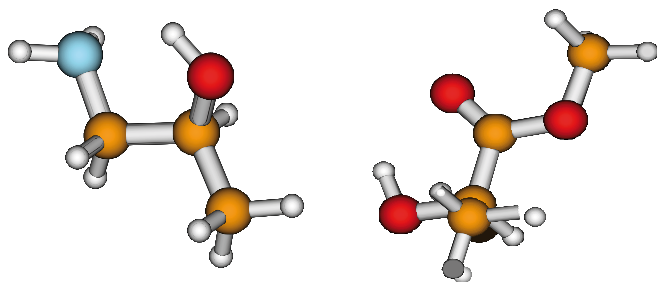


FIGURE 2



a) Agent discriminant utilisé, le 2-naphtyl-1-éthanol



b) molécules étudiées 1-amino-2-propanol
Lactate de méthyle

d'une molécule biologique chirale se comportent différemment lorsqu'ils sont confrontés à un environnement asymétrique, les deux énantiomères R et S d'une molécule que nous étudions se comportent différemment quand ils sont associés à une molécule fluorescente chirale. La molécule fluorescente chirale est appelée « agent discriminant » parce que c'est grâce à elle que nous distinguons les deux énantiomères de la molécule étudiée, et elle est utilisée sous une de ses formes énantiomères pures, disons S. Les associations qu'elle forme avec les énantiomères de la molécule étudiée sont appelées « complexes » ; on forme donc des complexes SS, dits « homochiraux », et SR, dits « hétérochiraux ». Nous utilisons comme agent discriminant une molécule chirale qui absorbe la lumière dans l'ultraviolet proche. Cette molécule est détectée par la lumière (fluorescence) qu'elle émet après absorption, c'est pourquoi on la qualifie de « chromophore* », du grec « qui porte la couleur ». D'autre part, elle comporte un groupement donneur, le plus souvent OH, grâce auquel elle formera une liaison hydrogène avec les molécules à étudier.

Dans un premier temps, nous caractérisons les propriétés spectroscopiques du chromophore. Nous déterminons en particulier les transitions électroniques (dans l'ultraviolet, UV) et vibrationnelles (dans

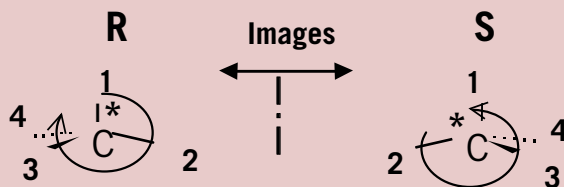
1 Notions de stéréochimie

Une molécule se définit par la nature des atomes qui la constituent et par la façon dont ceux-ci sont agencés dans l'espace : c'est ce qu'on appelle la stéréochimie. Deux molécules présentant les mêmes séquences de liaison mais qui diffèrent par l'arrangement spatial de leurs atomes sont des stéréoisomères. Parmi ceux-ci, on distingue les énantiomères liés par une relation d'image dans un miroir, et les stéréoisomères qui ne sont pas énantiomères

l'un de l'autre, qu'on appelle diastéréoisomères. Toutes les molécules ne possèdent pas d'énantiomères, pour qu'elles en aient, il faut qu'elles soient chirales, c'est à dire non superposables avec leur image dans un miroir. C'est le cas par exemple du carbone asymétrique, atome de carbone possédant quatre substituants différents. Nous nous limiterons ici à ce type de chiralité.

Nous utiliserons pour différencier les deux énantiomères d'une molécule

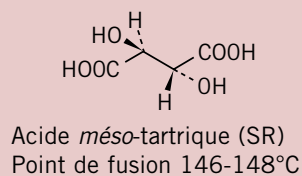
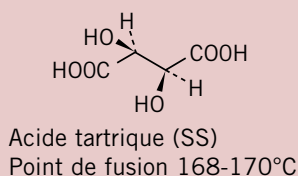
contenant un carbone asymétrique la règle de Cahn, Ingold et Prelog, qui consiste à classer les quatre substituants du carbone asymétrique selon leur numéro atomique. On place l'atome de plus faible poids atomique à l'arrière et on regarde la séquence entre les atomes 1, 2, et 3. Selon qu'on passe de 1 à 2 et 3 en tournant dans le sens des aiguilles d'une montre ou l'inverse, on désigne la molécule par « R » ou « S ».



Les énantiomères possèdent les mêmes propriétés physico-chimiques s'ils sont dans un milieu achiral, à l'exception de leur comportement face à une onde polarisée linéairement. Contrairement

aux énantiomères, les diastéréoisomères possèdent des propriétés chimiques différentes. Les deux molécules représentées ci-dessous sont diastéréoisomères car elles comportent deux atomes de

carbone asymétrique qui sont soit de même configuration (acide tartrique) ou de configurations différentes (acide méso-tartrique). Elles ont par exemple des points de fusion différents.



l'infrarouge, IR) caractéristiques de cette molécule. Puis nous observons comment ses propriétés spectroscopiques sont modifiées lors de la formation d'un complexe. Les complexes SR et SS sont diastéréoisomères*. Ils n'ont donc pas tout à fait la même structure, et leurs spectres ne sont pas modifiés tout à fait de la même façon par rapport à celui de la molécule isolée. Ces signatures spectroscopiques différentes nous informent sur la structure des complexes diastéréoisomères et la nature des forces responsables de la reconnaissance chirale.

Nous allons décrire comment un chromophore chiral portant une fonction alcool discrimine entre les deux énantiomères de composés polyfonctionnels (figure 2). Ces derniers offrent plusieurs sites susceptibles d'intervenir dans une liaison hydrogène, nous verrons que le choix d'un site par le chromophore dépend de la chiralité.

Discrimination sur la nature de la liaison intermoléculaire

Les α -aminoalcools sont des molécules qui comportent une fonction amine NH_2 et une fonction alcool OH, situées sur deux atomes de carbone adjacents. Un tel motif est présent dans de nombreuses molécules biologiques, comme des neurotransmetteurs. Dans le cadre de cette étude, ces molécules présentent l'avantage de posséder deux sites pouvant être accepteurs dans une liaison hydrogène. Le chromo-

phore peut en effet se lier au groupement OH ou au groupement NH_2 , mais le site choisi dépend-il de la chiralité ?

Pour répondre à cette question, on enregistre d'abord le spectre d'excitation de la fluorescence du mélange formé entre le chromophore et un α -aminoalcool chiral (le 1-amino-2-propanol). On y observe des transitions électroniques dues au chromophore isolé et à chacun des complexes diastéréoisomères (figure 3). On conclut de l'examen de ces spectres à l'existence

2 Les jets supersoniques

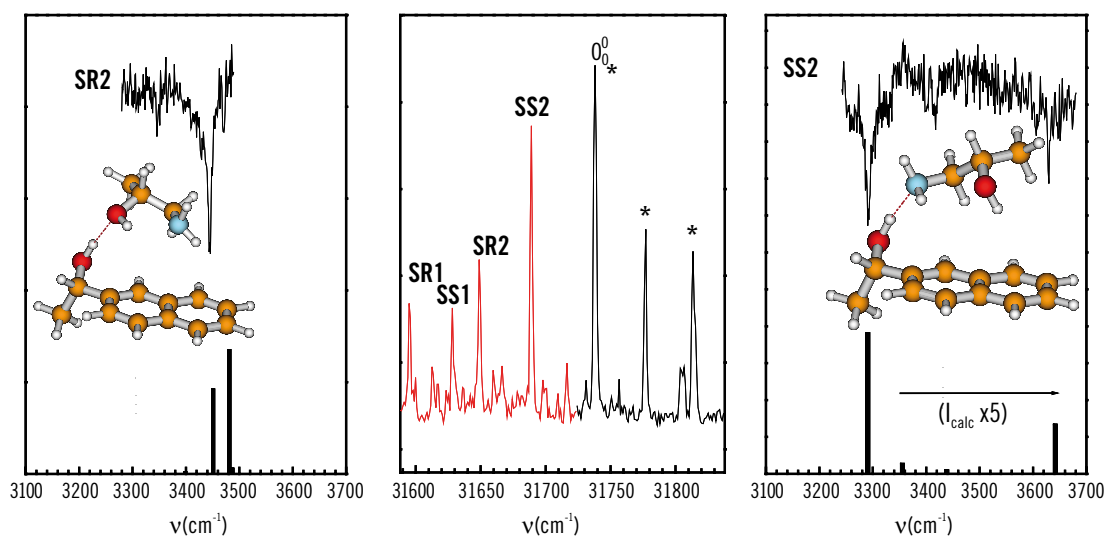
Cette technique, développée dans les années 80, consiste à détendre dans le vide un gaz inerte sous pression, ensemencé par les molécules qu'on veut étudier, par un orifice de très faible diamètre (de l'ordre de la centaine de microns). Elle permet de produire en phase gazeuse des molécules isolées, refroidies à une température de quelques degrés K, et des associations moléculaires faiblement liées. Dans ces conditions, des associations liées par liaison hydrogène sont stables, alors que dans des conditions de température et de pression standard, elles ne cesseraient de se désassocier et se réassocier du fait de l'agitation thermique.

FIGURE 3

Spectre d'excitation de la fluorescence (au milieu) d'un mélange racémique chromophore/1-amino-2-propanol. Les transitions dues au chromophore isolé sont désignées par *. Les complexes homochiraux et hétérochiraux sont

désignés respectivement par SS et SR. Chacun d'entre eux existe sous deux formes, désignées par les indices 1 et 2. De part et d'autre sont représentés les spectres vibrationnels expérimentaux du complexe SR_2

(OH...O) et SS_2 (OH...N), et la structure calculée dont le spectre, montré sous forme de barres, reproduit le spectre expérimental.



de deux complexes homochiraux, SS_1 et SS_2 , et deux complexes hétérochiraux, SR_1 et SR_2 . La deuxième étape consiste à enregistrer le spectre vibrationnel de ces complexes. Les spectres obtenus pour SR_1 et SR_2 sont similaires bien que distincts : ils doivent donc correspondre à deux complexes SR aux structures semblables. En comparant ces spectres à des calculs de chimie quantique (figure 3), on déduit que ces complexes consistent en l'addition du chromophore sur le groupement OH de l'aminoolcool

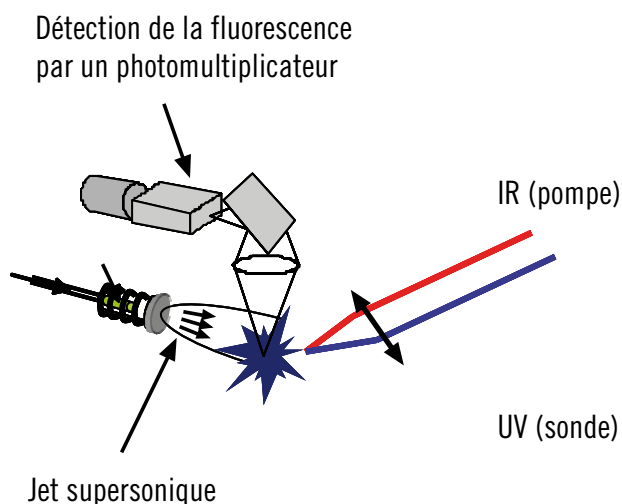
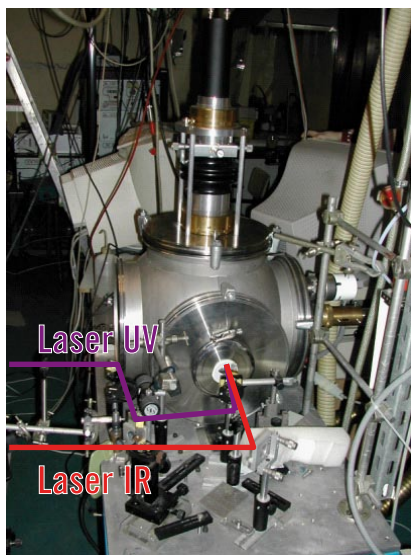
(forme OH...O). Contrairement au complexe SR, les deux formes du complexe SS sont radicalement différentes, comme on peut le voir d'après leur spectre vibrationnel : alors que SS_1 correspond à une forme OH...O, comme les complexes SR, SS_2 consiste en l'addition du chromophore sur le groupement NH_2 de l'amino-alcool (forme OH...N). Dans ce système, la discrimination chirale se fait donc sur la nature de la liaison hydrogène formée : la forme OH...N n'est observée que pour le complexe SS.

3 La spectroscopie laser

La spectroscopie vibrationnelle est un outil puissant de caractérisation de la géométrie des édifices moléculaires. Elle correspond à des transitions entre deux niveaux de vibration d'une molécule. Nous l'utilisons dans le domaine où absorbe le vibreur OH, dont la fréquence de vibration dépend beaucoup de l'environnement dans lequel il est placé. En particulier, l'implication d'un groupement OH dans une liaison hydrogène se traduit par un abaissement de sa fréquence de vibration, qui sera d'autant plus grand que la liaison hydrogène est plus forte. La comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres théoriques des structures calculées par des méthodes de chimie quantique permet de déterminer la géométrie des complexes diastéréoisomères. L'expérience se déroule en deux étapes : Les complexes diastéréoisomères formés sont d'abord étudiés par spectroscopie électronique, en utilisant la technique de la fluorescence induite par laser. Cette méthode, très sensible, consiste à exciter les transitions élec-

troniques du chromophore* (dans l'ultraviolet) et à détecter une absorption par le fait que l'espèce excitée se désexcite en émettant de la fluorescence. On réalise successivement le spectre électronique du chromophore isolé puis de ses complexes avec les deux formes énantiomères d'une molécule chirale. On obtient ainsi une première indication sur la capacité du chromophore à reconnaître les deux énantiomères, en regardant si les transitions électroniques du complexe SR et du complexe SS sont confondues ou non. Dans le cas, le plus fréquent heureusement, où on observe une différence, on appelle celle-ci « discrimination chirale dans le spectre électronique ». Celle-ci est ténue (de l'ordre du pourcentage de l'énergie de transition totale), mais facilement mesurable par les méthodes que nous utilisons. Elle est à la base des études structurales que nous menons : en effet, si la méthode à laquelle nous recourons pour déterminer les structures fait partie des méthodes de spectroscopie vibrationnelle, elle

en est une variante, dite « de double résonance IR/UV », qui nécessite de connaître la spectroscopie électronique de l'espèce étudiée. Cette technique repose sur l'utilisation de deux lasers, un laser UV, ou sonde, et un laser IR, ou pompe. La sonde est accordée sur une transition électronique de l'espèce, molécule ou complexe, à étudier. Elle induit une fluorescence proportionnelle à la population de cette espèce. Quand la pompe induit une transition vibrationnelle issue de l'espèce sondée, elle provoque une diminution de sa population, et donc de la fluorescence induite par la sonde. On obtient ainsi le spectre vibrationnel de l'espèce sondée comme une série de « trous » dans la fluorescence induite par la sonde. Outre sa sensibilité, cette méthode est sélective : on n'enregistre en effet que le spectre vibrationnel de l'espèce sondée par l'UV. On peut donc enregistrer séparément le spectre du chromophore et de ses différents complexes, même si toutes ces espèces absorbent dans la même région.



Discrimination sur la taille de l'agrégat formé

Les α hydroxyacides, comme l'acide lactique, sont des molécules très utilisées en cosmétique et nous en avons étudié les esters. Le spectre d'excitation de la fluorescence des mélanges formés entre le chromophore et le lactate de méthyle est présenté **figure 4**. Le spectre du mélange hétérochiral présente des raies attribuées à des complexes comprenant un chromophore pour une molécule de lactate de méthyle (complexe 1:1) ou un chromophore pour deux molécules de lactate de méthyle (complexe 1:2). Celui du mélange homochiral en revanche ne contient que des raies attribuées à un complexe 1:2. Une étude systématique des complexes avec différents α hydroxy-esters a conclu au lien entre le comportement de ces systèmes, en particulier la taille des agrégats formés, et l'interaction entre les substituants du carbone chiral du lactate de méthyle et le chromophore. Selon que c'est l'atome d'hydrogène H ou le groupement méthyle CH_3 du lactate de méthyle qui s'approche du plan défini par le noyau aromatique du chromophore, on observe ou non des complexes 1:1, dont la structure déduite de la spectroscopie vibrationnelle est présentée **figure 4**. On observe donc dans ces systèmes une discrimination chirale dans la taille de l'agrégat formé.

Ces exemples montrent que l'utilisation conjointe des jets supersoniques (basse température) et de la spectroscopie laser (résolution spectrale) permet de distinguer des entités dont les transitions électroniques ou vibrationnelles sont très proches en énergie. On arrive ainsi à caractériser des différences parfois importantes, parfois ténues, dans les liaisons hydrogène qui se forment entre molécules chirales et à atteindre une meilleure compréhension des forces responsables de la reconnaissance chirale au niveau moléculaire. ■

Glossaire

Chiralité :

Propriété d'une molécule de ne pas être superposable à son image dans un miroir.

Une molécule qui possède un atome de carbone asymétrique, c'est-à-dire relié à quatre groupements différents est une molécule chirale.

Stéréoisomères :

Composés formés des mêmes éléments dans les mêmes proportions, et présentant les mêmes séquences de liaison, mais qui diffèrent par l'arrangement spatial de leurs atomes.

Enantiomère :

Une molécule et son énantiomère sont images l'une de l'autre dans un miroir. La main droite et la main gauche sont énantiomères l'une de l'autre.

Diastéréoisomères :

Stéréoisomères qui ne sont pas énantiomères.

Racémique :

Mélange en quantités égales des deux énantiomères.

Chromophore :

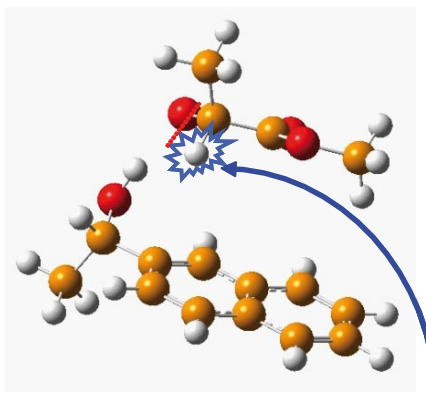
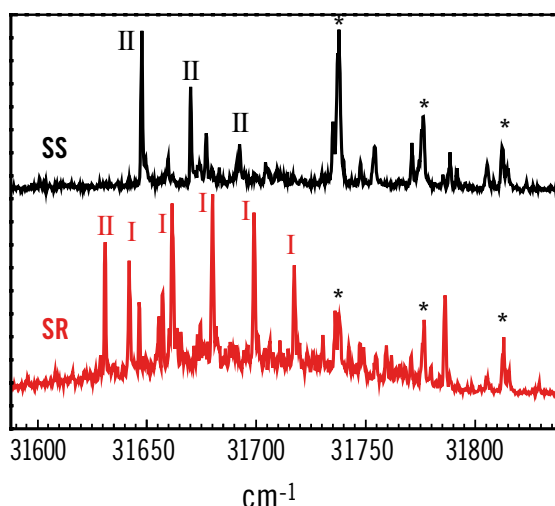
Molécule qui absorbe la lumière (littéralement « qui porte la couleur »). Dans notre cas, ce sont des molécules comportant un noyau aromatique qui absorbent dans l'UV proche.

Liaison hydrogène :

Interaction moléculaire s'établissant entre un atome d'hydrogène H portant une charge partielle positive, car relié à un atome électronégatif A, et un atome électronégatif B porteur d'un doublet d'électrons libres. Dans les systèmes biologiques, les liaisons hydrogène sont souvent du type $\text{OH}\dots\text{O}$, $\text{OH}\dots\text{N}$, $\text{NH}\dots\text{N}$. Les molécules d'eau établissent de nombreuses liaisons hydrogène entre elles. Cela explique que l'eau soit liquide à température ambiante, alors que le méthane CH_4 , molécule ne pouvant établir de liaison hydrogène, est gazeux.

FIGURE 4

Spectre d'excitation de la fluorescence du chromophore sous sa forme S avec le R-lactate de méthyle (spectre rouge) et le S-lactate de méthyle (spectre noir). Les raies du chromophore isolé sont indiquées par *, celles dues à un complexe 1:1 par I, celles dues à un complexe 1:2 par II. A droite, structure calculée du complexe SR reproduisant le spectre vibrationnel.



Substituant qui s'approche du noyau aromatique