

Le tris-dipicolinate de lanthanide : un complexe à tout faire ?

Résumé Les complexes tris-dipicolinate de lanthanide forment une famille de composés extrêmement simples à préparer et à cristalliser. Ils permettent d'étudier une très large gamme de propriétés physico-chimiques, depuis les sciences des matériaux (ingénierie cristalline, luminescence, optique non linéaire) jusqu'à l'interface de la biologie structurale et l'étude en solution des interactions supramoléculaires avec des biomolécules par RMN paramagnétique.

Mots-clés Lanthanide, luminescence, cristallographie, protéine, RMN.

Abstract Lanthanide tris-dipicolinate: a do-it-all complex?

Lanthanide tris-dipicolinate complexes form an isostructural family that can be easily prepared and crystallized. They allow the study of a wide range of physico-chemical properties from material sciences (crystal engineering, luminescence, nonlinear optics) to the interface of structural biology and the study of supramolecular interactions with biomolecules in solution by paramagnetic NMR.

Keywords Lanthanide, luminescence, crystallography, NMR, protein.

Les complexes anioniques tris-dipicolinate de lanthanide (figure 1), notés $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ (avec DPA = dipicolinate = 2,6-pyridine dicarboxylate), ont été décrits dans la littérature pour la première fois à la fin des années soixante [1] et leurs structures radiocristallographiques déterminées par le Suédois Albertsson en 1970 [2]. Depuis cette époque, leur facilité de synthèse et de cristallisation en font une famille de complexes extrêmement polyvalente en chimie de coordination des lanthanides. Avec les complexes de β -dicétonates, ce sont sans aucun doute les complexes de lanthanide les plus étudiés en physico-chimie et ils sont à la chimie des éléments f ce que le complexe ruthénium tris-bipyridine $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ est à la chimie de coordination des métaux d ou le ferrocène $[\text{Cp}_2\text{Fe}]$ à la chimie organométallique.

Les complexes tris-dipicolinate de lanthanide présentent une coordinance 9 (O₆N₃) formant un polyèdre de coordination de symétrie 3 avec une géométrie trigonale prismatique tricappée. Leur caractère tris-anionique a permis de les associer, au fil des ans et des applications, à une très large variété de contre-ions et plus de 380 structures concernant cette famille de complexes ont été déposées dans la base de données structurales de Cambridge. Ainsi, ces composés ont été étudiés dans la littérature sous de très nombreuses formes. Bien sûr, ils ont permis la préparation d'une large gamme de matériaux cristallins purs, sous forme de co-cristaux ou encore de cristaux cœur-coquille comme illustré plus loin, mais ils ont également été impliqués comme dopants dans une très grande diversité de matériaux comme les liquides ioniques, les cristaux liquides, les MOF (« metal-organic frameworks »), les matériaux hybrides de type sol-gel ou d'autres matrices inorganiques. Dans tous les cas, les complexes anioniques $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ ont permis d'explorer une grande variété d'applications en tirant parti des propriétés intrinsèques extraordinaires des éléments f que sont notamment la luminescence, le (para)magnétisme, l'absorption des rayons X, etc.

Depuis une vingtaine d'années, notre équipe a largement utilisé ces composés robustes dans de nombreux champs d'applications : ingénierie cristalline, luminescence, matériaux pour l'éclairage, optique non linéaire, auxiliaires pour la détermination de structures cristallographiques de protéines, et finalement pour l'étude des interactions supramoléculaires

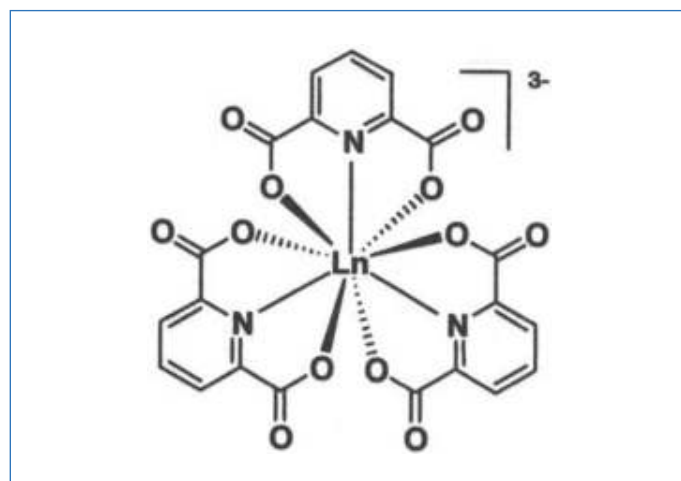


Figure 1 - Représentation d'un complexe tris-dipicolinate de lanthanide (forme Δ).

avec des biomolécules (protéines, peptides) par une approche combinant RMN paramagnétique et calculs théoriques. Cet article passe en revue les différentes propriétés physico-chimiques des complexes tris-dipicolinate de lanthanide qui ont été exploitées pour ces diverses applications.

Ingénierie cristalline et luminescence

Au cours de l'étude de l'interaction des complexes tris-dipicolinate de lanthanide avec les protéines (voir plus loin), nous avons découvert l'affinité particulière de ces composés pour le cation guanidinium ($\text{Gua}^+ = \text{C}(\text{NH}_2)_3^+$) et ses dérivés. Ce cation est capable de remplacer quantitativement n'importe quel contre-cation alcalin en solution et permet une cristallisation très facile des composés $\text{Gua}_3[\text{Ln}(\text{DPA})_3]$ [3]. Les structures par diffraction des rayons X ont été résolues pour tous les éléments $4f$ (à l'exception du prométhéum radioactif) et il apparaît que la série n'est pas parfaitement isostructurale. Les éléments précoces, situés au début de la ligne des éléments f (La, Ce, Pr, Nd, Eu), cristallisent avec trois molécules d'eau dans un groupe d'espace orthorhombique ($Pbca$) alors que les éléments tardifs, situés au contraire en fin de la ligne du tableau périodique (Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu), cristallisent avec 0,25 molécule d'eau dans un groupe d'espace monoclinique

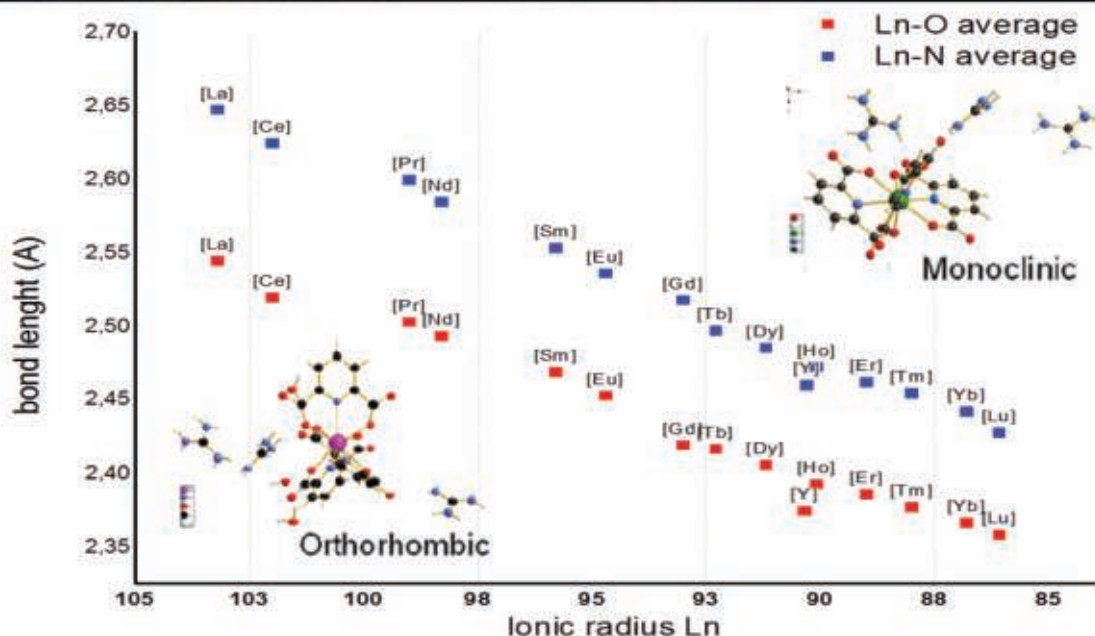
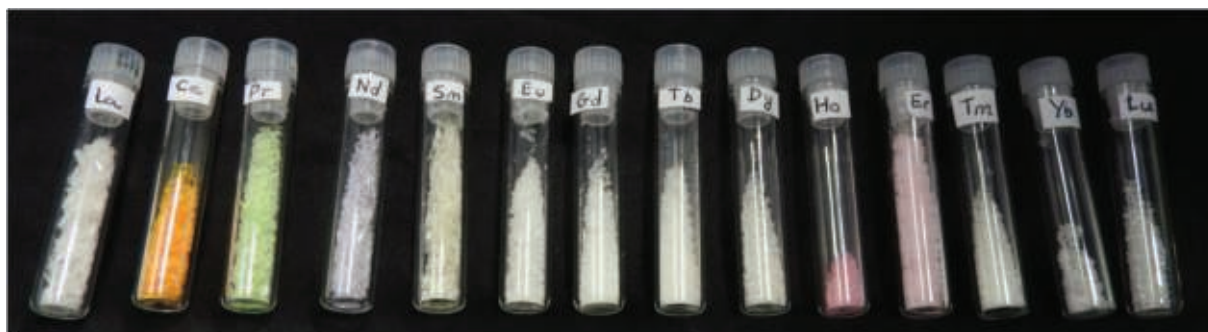


Figure 2 - Haut : photographie de poudres cristallines le long de la série des éléments 4f. Bas : variation des distances moyennes Ln-O et Ln-N mesurées pour la série de complexes $\text{Gua}_3[\text{Ln}(\text{DPA})_3] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ par diffraction des rayons X. En insert sont représentées les structures radiocristallographiques observées de part et d'autre du « gadolinium break ».

($P2_1/c$) (figure 2). Cette rupture au niveau du gadolinium est fréquemment rencontrée dans la chimie de coordination des lanthanides et est appelée « gadolinium break ». Dans tous les cas, l'empilement cristallin est très similaire et consiste en des couches alternées d'anions $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ et de contre-ions Gua^+ formant des liaisons hydrogène fortes avec les groupements carbonyle des ligands picolinate. Les complexes $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ sont tous similaires et présentent le polyèdre de coordination $\text{O}6\text{N}3$ attendu, avec cependant une légère distorsion de la symétrie 3 induite par l'empilement. Les longueurs de liaison moyennes Ln-N et Ln-O diminuent régulièrement le long de la série (figure 2) et illustrent une fois de plus la contraction du rayon ionique appelée aussi contraction lanthanidique le long de la série des éléments 4f. Tous ces composés (à l'exception du Ce(III)) sont parfaitement incolores en solution aqueuse diluée. Cependant, comme illustré par la figure 2, certaines poudres microcristallines sont colorées allant du jaune pâle (Dy, Sm et Ho) au vert pâle (Pr), voire au violet (Nd) et au rose (Er). Les complexes de La, Eu, Gd, Tb, Tm, Yb et Lu sont totalement incolores, conduisant à des cristaux translucides. Ces couleurs peu intenses, presque pastel, ne proviennent donc pas du ligand picolinate mais de l'élément 4f et sont la conséquence des transitions intratomiques f-f. Ces transitions f-f sont interdites de symétrie selon les règles de Laporte et présentent donc de très faibles coefficients d'extinction molaire ($< 10 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), ce qui explique une coloration peu ou pas visible en solution diluée.

La coloration observable à l'état solide n'est due qu'à la très forte concentration de lanthanides dans les cristaux. Ces bandes d'absorption sont fines et caractéristiques de chaque élément : ainsi à titre d'exemple, la jolie coloration violette du complexe de néodyme, $\text{Gua}_3[\text{Nd}(\text{DPA})_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, est due à la présence de nombreuses transitions localisées dans le visible entre 520 et 650 nm depuis le niveau fondamental $^4I_{9/2}$ vers les niveaux excités $^4G_{5/2}$, $^4G_{7/2}$ et $^4G_{9/2}$. Le cas du complexe d'holmium, $\text{Gua}_3[\text{Ho}(\text{DPA})_3] \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ est particulièrement intéressant car ce composé est jaune très pâle à la lumière du jour mais il présente une coloration rose intense sous un éclairage artificiel par une lampe trichromatique (type tube fluorescent ou lampe fluoro-compacte, figure 3). Cette différence de couleur est due à la présence de multiples transitions f-f de l'Ho(III) dans le visible mais plus particulièrement des transitions $^5I_8 \rightarrow ^5F_4$ et $^5I_8 \rightarrow ^5S_2$ vers 530-550 nm qui absorbent la composante verte des lampes trichromatiques provenant de l'émission du Tb(III) à 544 nm ($^5D_4 \rightarrow ^4F_5$). Cela illustre le caractère relatif d'une impression visuelle qui dépend parfois de l'éclairage. En revanche, la couleur jaune poussin très intense du complexe de cérium(III) a une autre origine. Elle est due à la présence d'une transition MLCT (« metal-to-ligand charge transfer ») $4f^1 \rightarrow \pi^*$ centrée à 369 nm ($\epsilon = 250 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) pour cet état d'oxydation. Un autre aspect singulier des composés du Ce(III) est qu'ils sont les seuls de la série des lanthanides à pouvoir s'oxyder facilement en Ce(IV) (NB : des complexes de Tb(IV) ont été également

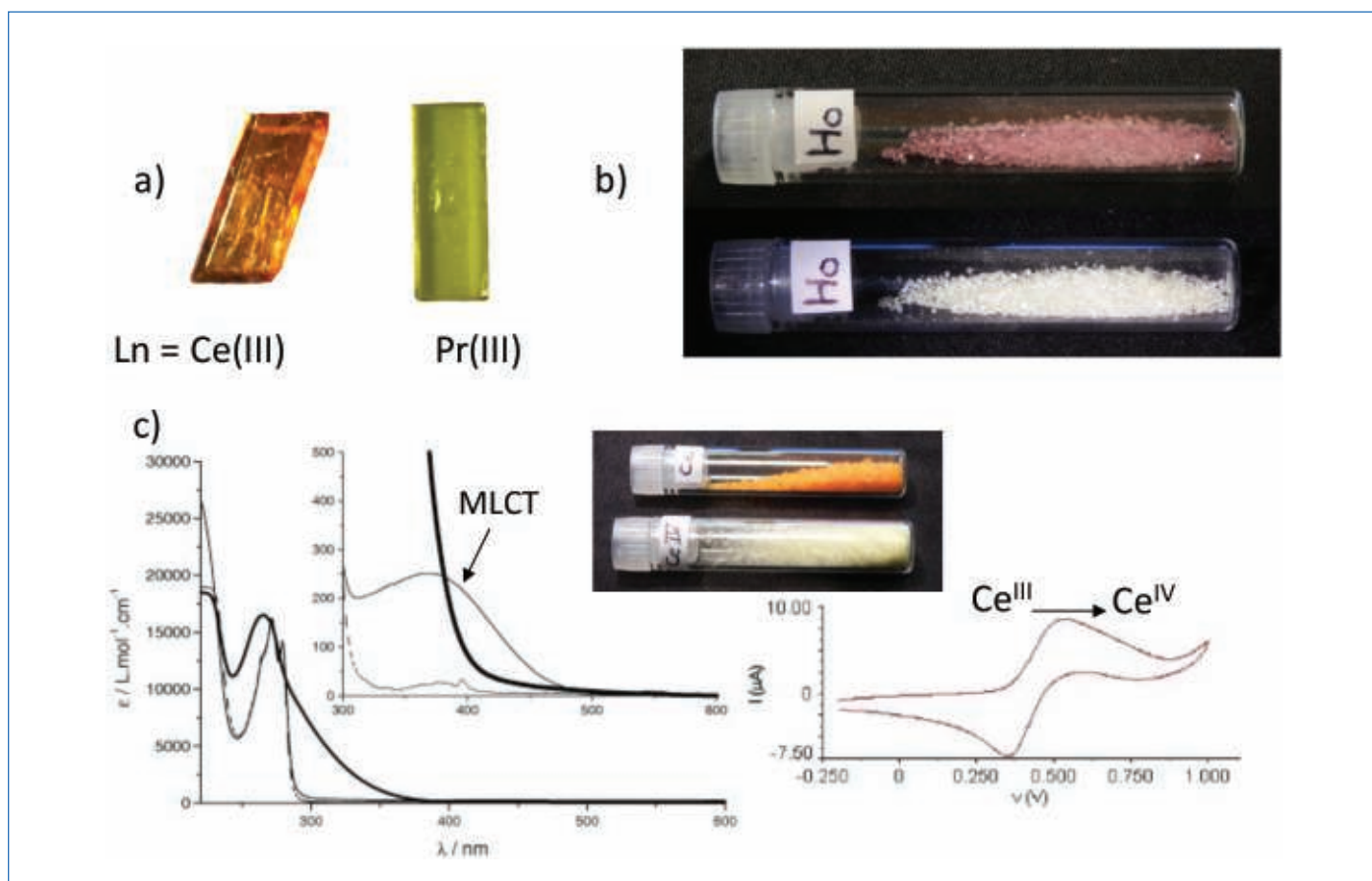


Figure 3 - a) Sélection d'images de cristaux de taille millimétrique de complexes $Gd_3[Ln(DPA)_3].xH_2O$ ($Ln = Ce(III)$ et $Pr(III)$). b) Changement de couleur du complexe $Gd_3[Ho(DPA)_3].0,25H_2O$ en fonction de l'éclairage ; lumière artificielle trichromatique (haut) et lumière naturelle (bas). c) Spectroscopie et voltampérométrie cyclique du complexe de $Gd_3[Ce(DPA)_3].3H_2O$ ainsi que changement de couleur observé lorsque l'on passe du $Ce(III)$ (haut) au $Ce(IV)$ (bas).

décrits récemment). Le potentiel redox du couple Ce^{III}/Ce^{IV} mesuré par voltampérométrie cyclique pour le complexe $Gd_3[Ce(DPA)_3]$ dans l'eau est seulement de +0,44 V par rapport à l'électrode à calomel saturé (CS) (figure 3) [4]. Ceci se traduit par un changement de couleur drastique du jaune au blanc dû à la disparition de la transition MLCT dans cet état d'oxydation comme le révèlent les images des cristaux d'analogues du Ce^{III} et Ce^{IV} sur la figure 3 [4].

Ces cristaux d'excellente qualité sont des objets de choix pour réaliser des études de luminescence à l'état solide par spectroscopie mais aussi par microscopie. Sous irradiation UV à 280 nm, il est très simple d'induire la luminescence de la terre rare par effet d'antenne. Sans surprise, les complexes d'euporium et de terbium (III) sont particulièrement émissifs, respectivement dans le rouge et le vert. Il est également possible d'observer l'émission pâle, jaune-orangé du samarium et blanchâtre du dysprosium. Enfin, les spectres d'émission très peu intenses du thulium et de l'ytterbium ont également pu être mesurés [4]. Dans tous les cas, les profils d'émission caractéristiques de chaque élément ont été mesurés et les spectres d'excitation indiquent sans ambiguïté deux zones bien distinctes : une bande large et intense s'étendant jusqu'à 350 nm, commune à tous les spectres et saturant souvent le détecteur que l'on peut attribuer à l'excitation par effet d'antenne via les ligands picolinate ; et des bandes fines et structurées, caractéristiques de chaque ion et qui correspondent aux transitions $f-f$.

L'observation de cette luminescence par microscopie est également intéressante. Elle révèle en effet que l'irradiation dans le ligand antenne (280 nm) implique principalement

la surface des cristaux car la lumière incidente est très intégralement absorbée par les premières couches du cristal. En revanche, l'excitation dans les bandes f provoque une émission beaucoup plus ténue qui provient cette fois de tout le volume du matériau. Cette différence s'explique par le faible coefficient d'extinction molaire des transitions $f-f$ qui permet à la lumière incidente de pénétrer l'intégralité du volume cristallin, et donc d'induire une émission volumique. Il est donc crucial de tenir compte du fait que les propriétés d'absorption à l'état solide dépendent du volume dans l'interprétation des spectres d'excitation (figure 4). La co-cristallisation de deux (ou plusieurs) complexes de $Gd_3[Ln(DPA)_3]$ a été possible, comme dans le cas de co-cristaux entre complexes d'euporium et de terbium. Dans ce cas, c'est l'élément majoritaire qui imposera le groupe d'espace du co-cristal [5]. Sous irradiation, les deux émissions de l'euporium et du terbium se conjuguent, permettant d'obtenir selon la composition un dégradé de rouge au jaune puis au vert (figure 4).

De manière plus étonnante, le trempage d'un cristal issu d'une première cristallisation dans une solution d'un complexe d'un autre élément f permet de faire croître une couche de surface sur un cœur cristallin (d'où le nom de cristaux « core-shell » ou cœur-coquille). Dans ce cas aussi, il a été possible de mélanger les familles isostructurales et préparer des matériaux cœur-coquille de type $La@Eu$, $Y@Tb$ et $Eu@Tb$ (le premier élément désignant la coquille, le second le cœur) [6]. La caractérisation chimique de ces matériaux a été réalisée de deux façons : soit en coupant le matériau en deux et en analysant la tranche par microscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) ou émission de fluorescence, soit sur le matériau entier dans

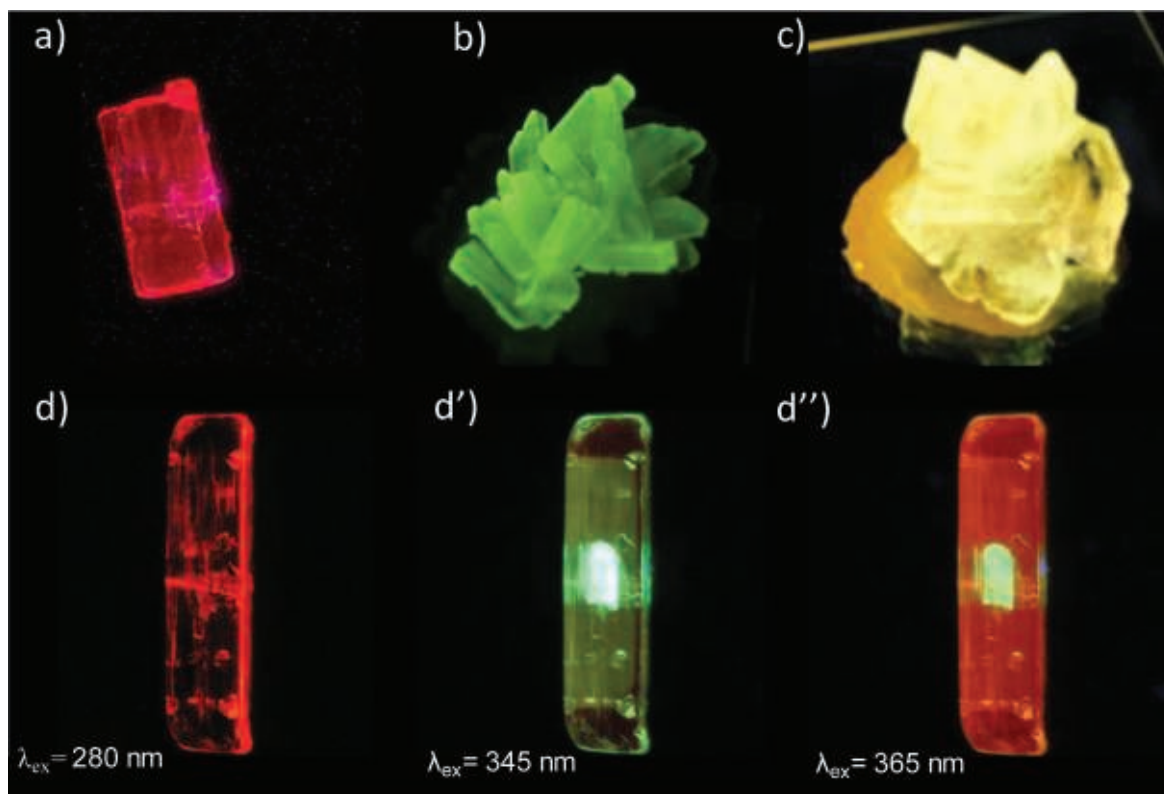


Figure 4 - Cristaux de $\text{Gu}_3[\text{Ln}(\text{DPA})_3]$ sous irradiation : a) Ln = Eu ($\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$) ; b) Ln = Tb ($\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$) ; c) co-cristaux Ln = Eu, Tb (50/50, $\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$). Cristaux cœur-coquille Eu@Tb sous différentes irradiations : d) $\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$; d') $\lambda_{\text{ex}} = 345 \text{ nm}$; d'') $\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$.

le cas du composite Y@Tb par tomographie par absorption des rayons X en tirant parti de la différence d'absorption X des deux éléments. Cette méthode est redoutable car elle permet d'imager rapidement le matériau dans son volume et d'en faire une reconstruction 3D précise.

Les propriétés optiques de ces matériaux ont été étudiées par microscopie en profitant de la dualité entre excitation de surface par effet d'antenne et excitation de volume dans les bandes f . Dans le cas des composés La@Eu et Y@Tb, l'excitation de surface ($\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$) est entièrement absorbée par les couches superficielles non émissives de complexe respectivement de La et Y, alors que les excitations dans les bandes f de l'europlum et du terbium (respectivement $\lambda_{\text{ex}} = 395$ et 490 nm) induisent l'émission diffuse du volume de cœur. Dans le cas du composite Eu@Tb, le résultat est encore plus visuel (figure 4) puisque l'excitation de surface induit la luminescence rouge de l'europlum alors que l'excitation sélective du cœur provoque la luminescence verte du terbium. Enfin, il est possible d'exciter simultanément les transitions f de l'europlum et du terbium à la longueur d'onde commune de 365 nm et provoquer ainsi l'émission volumique bicolore de ces deux éléments. On touche ici du doigt la subtilité de la spectroscopie des éléments f à l'état solide ; en effet, une excitation très (voire trop) efficace dans un chromophore antenne ne va affecter que les couches superficielles du cristal et donc n'induire l'émission que d'un petit volume de matière à la surface. En revanche, une excitation dans les bandes f bien moins efficace en première analyse (de cinq ordres de grandeur environ pour un chromophore) va permettre d'exciter comparativement un volume de matière beaucoup plus important et conduire à une émission volumique intense (figure 4).

Cette observation, en apparence anodine, nous a conduits à envisager l'utilisation de ces émetteurs moléculaires pour la synthèse de matériaux hybrides pour l'éclairage domestique, en particulier pour les lampes fluoro-compactes. L'objectif était de concurrencer les matériaux luminescents inorganiques, aussi appelés « phosphores », en intégrant la problématique du recyclage des terres rares dès la conception du matériau. Les phosphores sont en effet des oxydes mixtes extrêmement stables, mais par conséquent difficiles à recycler. L'objectif était donc d'incorporer les complexes tris-dipicolinate d'europlum et de terbium dans une matrice de silice mésoporeuse et de tirer profit de l'effet d'antenne efficace pour réduire les quantités de métaux. Notre équipe a ainsi préparé ces matériaux hybrides par une simple adsorption de complexe dans une silice mésoporeuse SBA-15 (diamètre des pores : 10 nm) en utilisant une technique appelée « incipient wetness impregnation » (IWI), qui consiste à n'utiliser qu'un faible volume de solution concentrée égal au volume poreux du matériau pour réaliser l'imprégnation et ainsi s'assurer que tout le composé dopant se situe à l'intérieur des mésopores, après évaporation du solvant. Le matériau présente un dopage massique de 9% et une répartition homogène du complexe d'europlum dans les pores comme l'atteste la microscopie électronique à transmission couplée avec une détection EDX. L'absence de liaison covalente entre la silice et le complexe permet la récupération aisée de ce dernier par simple lavage avec une solution d'eau chaude légèrement acide à $\text{pH} = 4$ (94% de recyclage).

Le matériau hybride dopé présente un spectre d'émission identique à celui du complexe pur, prouvant que la structure de ce dernier n'a pas été modifiée lors de l'imprégnation. En revanche, la luminance du matériaux hybride dopé

(c'est-à-dire la quantité de lumière émise pour une excitation donnée) est bien supérieure à celle d'un mélange équivalent de microcristaux de complexe et de silice broyés (2,88 vs 0,89 Cd) [7]. Ce résultat s'explique par un phénomène identique à celui décrit au paragraphe précédent : sous irradiation UV, un cristal ou un microcristal n'est excité qu'en surface, les molécules plus internes ne participant donc pas à la luminescence. Partant de cette constatation, l'efficacité peut être nettement augmentée en réduisant l'épaisseur du cristal. Ainsi, un même complexe adsorbé de façon homogène en monocouche sur un matériau de grande surface spécifique sera irradié dans son ensemble. De ce fait, pour une même quantité de matière, une poudre cristalline sera moins émissive qu'une monocouche. Au cours de cette étude, nous avons également remarqué que la durée de vie de luminescence du complexe au sein du matériau hybride était supérieure à celle des cristaux et qu'elle augmentait encore après séchage extrême sous atmosphère inerte. De nombreuses hypothèses sont proposées dans la littérature pour expliquer cette observation, beaucoup d'entre elles reposant sur un effet supposé de l'encapsulation de complexes de lanthanide dans les silices. L'explication est en fait beaucoup plus simple et découle du changement d'indice de réfraction du milieu entre un cristal pur et un matériau hybride poreux dopé. L'augmentation du temps de vie après séchage s'explique quant à elle par le départ des molécules d'eau de la seconde sphère de coordination des composés. La présence de ces molécules d'eau permet en effet des chemins de désexcitation non radiative alternatifs au détriment de la luminescence (selon un mécanisme de transfert d'énergie entre états électroniques et vibrationnels).

Optique et microscopie non linéaires

L'irradiation de molécules, non plus par des sources lumineuses classiques (lampe, LED), mais par des sources laser pulsées de très fortes intensités maximales (liées à des durées d'impulsion ultra-courtes de l'ordre de la femtoseconde) nous fait quitter la spectroscopie classique et entrer dans le monde de l'optique non linéaire. L'objectif n'est pas ici de faire une description exhaustive des phénomènes physiques mis en œuvre et le lecteur est invité à se référer à des revues ou monographies disponibles dans la littérature [8]. En quelques mots, les phénomènes non linéaires fortement improbables deviennent observables lorsque la densité de photons concentrés dans un volume donné est suffisamment grande, condition réalisée en utilisant un laser pulsé comme source. On distingue alors deux types de phénomènes (*figure 5*) : les phénomènes non résonants considérés comme une perturbation de l'état fondamental comme la génération de seconde harmonique (optique non linéaire (ONL) du second ordre) dont l'efficacité au niveau moléculaire (appelée hyperpolarisabilité quadratique, β) reflète la polarisabilité dynamique de la molécule, c'est-à-dire la polarisabilité induite par le champ électrique associé au laser incident ; et les phénomènes non linéaires résonants comme l'absorption biphotonique induisant le passage d'une molécule de son état fondamental à l'état excité par une absorption simultanée de deux photons d'énergie moitié via un état virtuel. Ce phénomène est quantifié par la section efficace d'absorption à deux photons notée σ . Si les terres rares ont reçu une attention soutenue dans les domaines du magnétisme ou de la luminescence, leurs propriétés ONL n'avaient été au début des années 2000

que très peu étudiées. Les complexes tris-dipicolinate de lanthanide forment une famille particulièrement adaptée à l'étude en optique non linéaire du second ordre. En effet, ces complexes sont non centrosymétriques et présentent une symétrie D_3 dite octupolaire [9]. Les conditions nécessaires pour présenter une activité ONL du second ordre sont donc réunies. Les mesures de l'hyperpolarisabilité quadratique γ qui caractérise l'activité ONL du second ordre ont été réalisées par diffusion harmonique de la lumière (DHL ; en anglais HRS (« hyper Rayleigh scattering ») ou HLS (« harmonic light scattering »)) en utilisant un laser à 1,06 μm . Nous avons mis en évidence l'augmentation régulière de l'activité ONL tout au long de la série des lanthanides, du lanthane au lutécium, et ainsi souligné le rôle prépondérant du métal central [10]. L'étude du cas particulier de l'yttrium, dont le rayon ionique est similaire à celui de l'erbium mais dont la configuration électronique $4f^0$ le rend similaire au lanthane, a été déterminante pour la compréhension du phénomène. En effet, la forte analogie entre les propriétés ONL des composés d'yttrium et du lanthane permet de conclure sans ambiguïté que l'exaltation de l'activité ONL est reliée à un critère électronique, et non au critère géométrique qu'est la contraction lanthanidique, classiquement invoqué dans la littérature pour expliquer des évolutions de propriétés [10]. Ce résultat suggère une participation directe des électrons f à l'activité ONL du complexe. Il s'agit d'une propriété intrinsèque nouvelle des lanthanides qui a depuis été confirmée par plusieurs autres groupes. La découverte de la contribution des électrons f à l'activité ONL du second ordre nous a conduits à nous interroger sur leur nature. En effet, ces électrons sont généralement considérés comme des électrons de cœur, ne participant pas, ou peu, à la liaison chimique, et relativement insensibles aux ligands qui forment la sphère de coordination. Contrairement aux idées reçues, les électrons f sont fortement (hyper)polarisables et une étude combinée cristallographie/calcul théorique a permis de démontrer le caractère fortement polarisable des électrons f en mettant en évidence une perturbation du nuage électronique f , d'origine électrostatique induite par la nature des ligands coordonnés à l'ion lanthanide [11].

L'ensemble de ces complexes absorbent dans l'UV entre 250 et 300 nm et sont émissifs, notamment les composés de l'euprotium et du terbium (III). L'utilisation d'un laser pulsé à 532 nm pourrait permettre l'obtention de luminescence par excitation biphotonique (phénomène d'optique non linéaire résonant du troisième ordre). Cette expérience a été menée non seulement par spectroscopie en solution, mais également et pour la première fois en microscopie sur des cristaux de $\text{Gua}_3[\text{Ln}(\text{DPA})_3]$ (Ln = Eu, Tb). Comme attendu, l'irradiation à 532 nm d'un complexe de terbium en solution et à l'état solide induit la luminescence du terbium par absorption biphotonique, comme l'atteste la variation quadratique de l'intensité de luminescence avec la puissance du laser incidente (cette variation est le signe d'une absorption de deux photons) [3]. En revanche, le comportement du complexe d'euprotium (III) est complètement différent avec une variation linéaire de l'intensité du signal de luminescence avec la lumière incidente. Cette variation inattendue s'explique par la présence de la transition ${}^7F_1 \rightarrow {}^5D_4$ qui présente un coefficient d'extinction linéaire de $0,015 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ qui masque totalement le phénomène non linéaire d'absorption à deux photons. Cela permet d'avoir une idée des efficacités relatives des phénomènes linéaires et non linéaires : un phénomène d'absorption linéaire, même très faible, sera

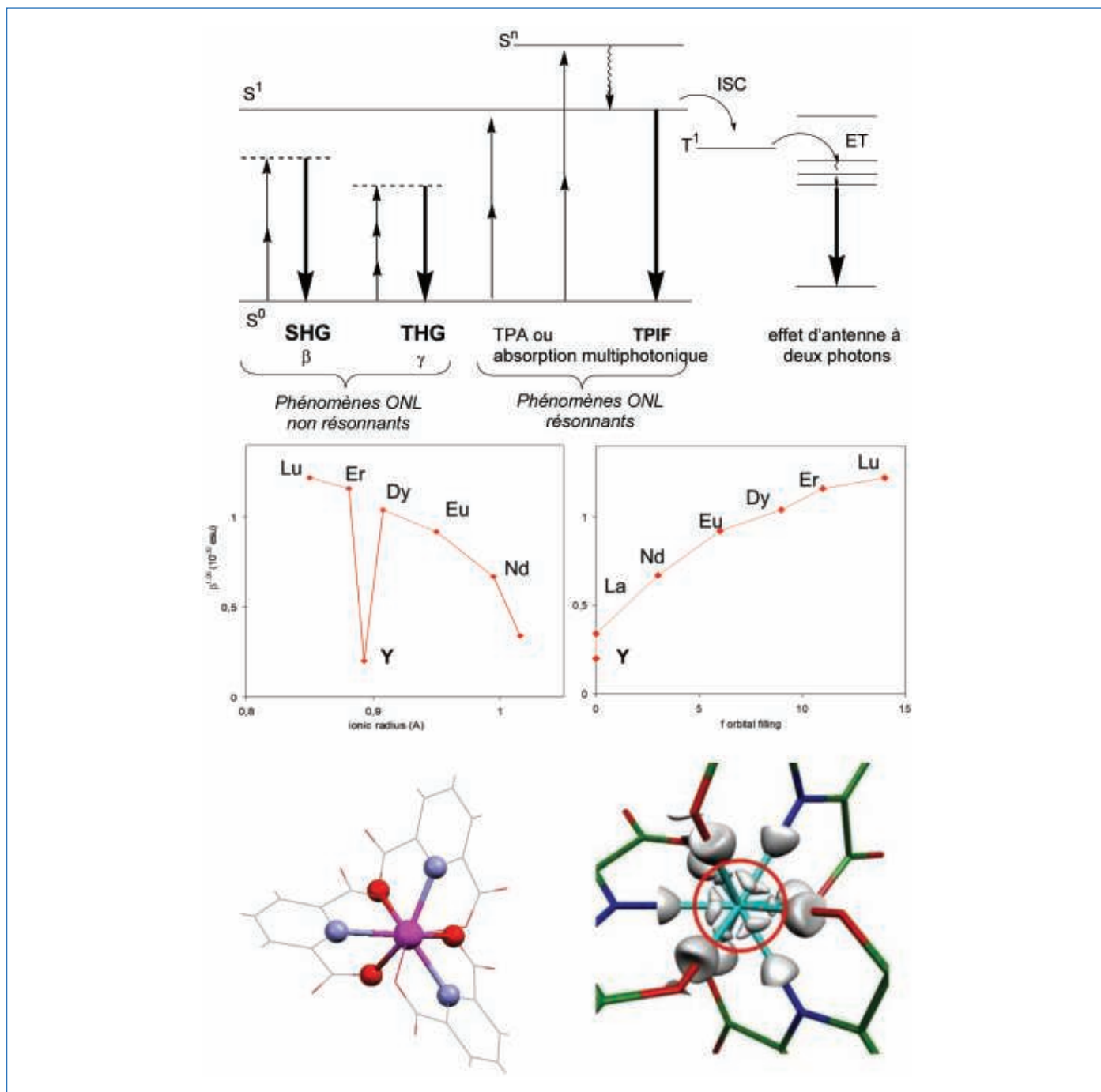


Figure 5 - Haut : présentation générale des phénomènes d'optique non linéaire (SHG, THG (« second (third) harmonic generation »), TPA (« two photon absorption »), TPIF (« two photon induced fluorescence »)). Milieu : variation de l'hyperpolarisabilité quadratique β en fonction du rayon ionique ou de la configuration électronique de l'ion lanthanide. Bas : structure optimisée du composé $[Lu(DPA)_3]^{3-}$ (N bleu, O rouge) et représentation des maxima de déformation de densité électronique f dont les plus proches du noyau sont localisés à l'opposé des liaisons de coordination (intérieur du cercle rouge).

capable d'empêcher totalement l'observation d'un phénomène d'absorption biphotonique pourtant concomitant.

Cristallisation et résolution de structures de protéines

La recherche permet parfois des rencontres extraordinaires. C'est ainsi que de manière totalement inattendue, nous avons été contactés en 2004 par Richard Kahn, chercheur à l'Institut de biologie structurale de Grenoble (IBS). Richard était un scientifique possédant une culture scientifique peu commune. Physicien de formation et cristallographe renommé, il était capable de comprendre et de discuter facilement avec un biologiste comme avec un chimiste. Depuis les années 1990,

il développait l'utilisation de lanthanides comme auxiliaires pour la détermination de structures de protéines grâce à leurs propriétés intrinsèques de diffusion anormale liées à leurs très fortes absorptions X (raie blanche des lanthanides). Ces propriétés permettent de résoudre le problème des phases en cristallographie, passage indispensable pour la détermination des structures par diffraction des rayons X de ces biomacromolécules. L'utilisation de sels de lanthanide (ou d'uranyle) pour cette application s'était révélée infructueuse car ces ions métalliques se liaient très fortement aux acides carboxyliques des protéines et provoquaient des modifications du repliement des protéines, et donc la perte de leur structure tertiaire, mais aussi conduisaient à des phénomènes d'agrégation. Les seuls cas qui fonctionnaient étaient ceux

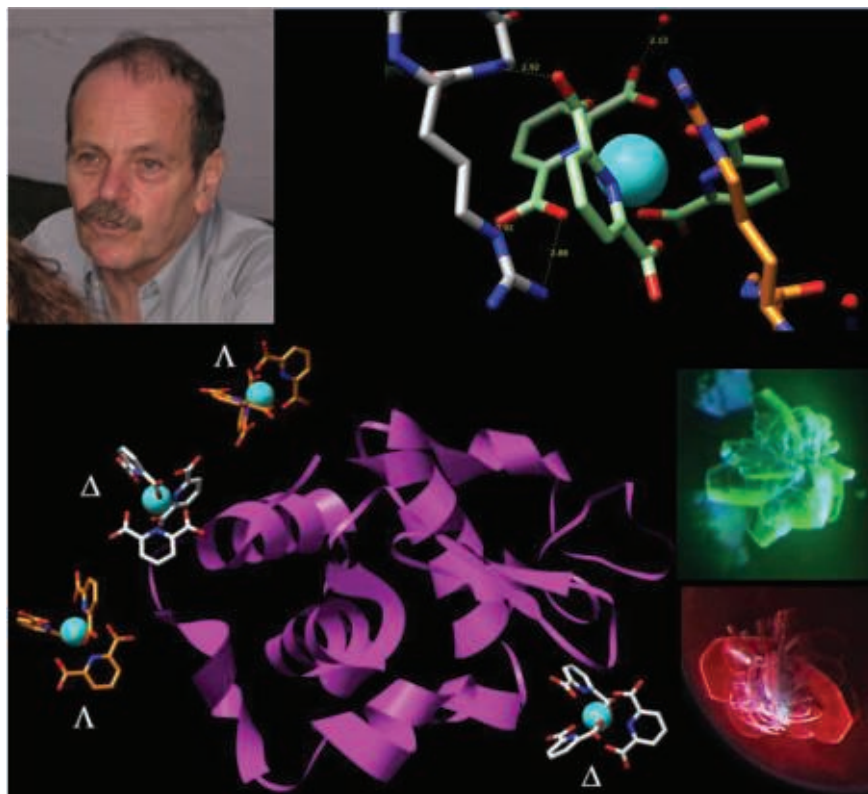


Figure 6 - Portrait de Richard Kahn et structure de la protéine HEWL co-cristallisée en présence de $[\text{Tb}(\text{DPA})_3]^{3-}$. Bas : zoom d'un site d'interaction illustrant l'interaction spécifique avec l'arginine et image de co-cristaux sous irradiation UV avec $[\text{Tb}(\text{DPA})_3]^{3-}$ (vert) et $[\text{Eu}(\text{DPA})_3]^{3-}$ (rouge).

des protéines à calcium par substitution du Ca^{2+} par un Ln^{3+} quasi isostère. L'idée d'utiliser des complexes de coordination pour stabiliser les ions lanthanide a permis de remédier à ce problème et de préparer des adduits supramoléculaires {complexes de lanthanide/protéine} [12]. Plusieurs structures ont été résolues par cette méthode, sans jamais modifier le repliement des protéines. À l'époque, Richard s'était limité aux seuls complexes commerciaux, à savoir les agents de contraste pour l'IRM, et souhaitait collaborer avec un groupe de chimistes pour diversifier les structures étudiées. Son enthousiasme communicatif nous a convaincus de nous lancer dans cette aventure complètement nouvelle, sans nous douter de l'importance que prendrait ce projet au fil des ans. Richard est malheureusement décédé en 2016 et nous avons décidé de poursuivre ses travaux. Cette revue était un bon endroit pour lui rendre un hommage amical.

La diffusion anormale a été une révolution en bio-cristallographie dont Richard a été un pionnier en participant à la première détermination de structure par la méthode MAD (« multiwavelength anomalous diffraction »), publiée en 1985 [13]. La diffusion anormale correspond à un phénomène de diffusion élastique résonante du nuage électronique, en particulier lorsque l'énergie du faisceau incident est proche d'un seuil d'absorption de l'élément considéré. Ce phénomène a pour conséquence de modifier l'intensité des réflexions des paires de Friedel, qui sont identiques en absence de diffusion anormale [14]. Ainsi, en présence de diffusion anormale, ces réflexions ne sont plus équivalentes et la différence introduite est exploitée pour résoudre le problème de la phase.

Le premier complexe qui a été testé pour cette nouvelle application était le tris-dipicolinate de terbium en co-cristallisation avec une protéine modèle, le lysozyme de blanc d'œuf de

poule (« hen egg-white lysozyme » (HEWL)) (figure 6). De manière très impressionnante, le faciès des cristaux dérivés (c'est-à-dire contenant le complexe de lanthanide) a été profondément modifié ainsi que le groupe d'espace des co-cristaux obtenus [15]. La luminescence intrinsèque des complexes de $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ ($\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Tb}$) permet d'identifier très facilement la présence du lanthanide au sein du cristal et la détermination de la structure, utilisant les méthodes de diffusion anormale (MAD/SAD), conduit à une carte de densité électronique d'une qualité remarquable. Le complexe joue donc un rôle dans le processus de cristallisation et permet l'obtention de cristaux de meilleure qualité, facilitant ainsi la résolution de la structure. En outre, l'analyse des sites d'interactions supramoléculaires entre le complexe et la protéine a mis en évidence une interaction spécifique entre les acides aminés cationiques, et plus particulièrement l'arginine, avec les anions complexes $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$. C'est de cette observation qu'est née l'idée d'utiliser le contre-cation guanidinium pour nos travaux d'ingénierie cristalline (le guanidinium représentant la partie ammonium de l'arginine – voir § Ingénierie cristalline et luminescence). Cette interaction spécifique s'est révélée générale puisqu'elle a été retrouvée dans toutes les structures résolues en utilisant ce composé.

Cependant, le complexe $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ présente deux inconvénients majeurs pour son utilisation en bio-cristallographie. Le premier est qu'il cristallise trop facilement, en particulier lorsqu'il est associé à des cations divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}) fréquemment présents dans les conditions de cristallisation des protéines [16]. Ces auto-cristallisations intempestives en présence de protéines sont autant de faux positifs qui génèrent des espoirs déçus. L'autre inconvénient est la

stabilité modeste de ce complexe qui a tendance à se dissocier par dilution. Ce phénomène est encore plus marqué en présence de sels de métaux de transition (Zn^{2+} , Cu^{2+} , etc.) où une réaction de transmétallation rapide provoque la destruction du complexe de lanthanide. Ces deux inconvénients nous ont poussés à concevoir un complexe macrocyclique beaucoup plus stable sur une base TACN appelé cristalloghore ou Tb-Xo4 [17]. Ce composé possède des capacités de nucléation de protéines excellentes ; de très nombreuses structures de protéines inconnues ont été déterminées grâce son utilisation. Cet agent de nucléation et de phasage est actuellement commercialisé par la société Polyvalan, société fondée suite à ces travaux académiques.

Interaction par RMN paramagnétique

Afin d'en savoir un peu plus sur ces interactions supramoléculaires $\{[Ln(DPA)_3]^{3-}/\text{protéine}\}$, une étude en solution a été conduite en utilisant une méthode combinant spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) paramagnétique et simulations de dynamiques moléculaires. La spectroscopie RMN est une technique d'analyse polyvalente qui permet d'obtenir une information sur la structure et la dynamique des molécules, avec une précision à l'échelle atomique. Ainsi, le spectre RMN constitue un moyen puissant pour suivre localement les changements structuraux ou d'environnement qu'une molécule peut subir au cours d'une expérience, comme c'est par exemple le cas lorsque celle-ci forme des interactions supramoléculaires avec d'autres molécules. C'est cette propriété de la spectroscopie RMN qui a été exploitée pour sonder et comprendre les interactions supramoléculaires $\{[Ln(DPA)_3]^{3-}/\text{protéine}\}$. Il faut noter ici que comprendre la nature de ces interactions représente un double défi. Une première difficulté consiste donc à sonder ces interactions de manière spécifique et à comprendre en quoi elles peuvent perturber, voire influencer le processus de cristallisation. D'autre part, étant donné que ces interactions supramoléculaires sont faibles, elles provoquent des modifications modérées de la structure des molécules impliquées ($[Ln(DPA)_3]^{3-}$ et protéine) et sont, par conséquent, plus difficiles à détecter sur un spectre RMN.

Les interactions impliquant $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ et protéines ont d'abord été étudiées en utilisant des fragments moléculaires simplistes mimant les chaînes latérales des acides aminés avec lesquelles $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ interagit au sein des protéines (éthylguanidinium pour l'arginine, l'éthylammonium pour la lysine et l'imidazolium pour l'histidine). L'analyse des changements induits sur le spectre RMN par l'ajout de ces fragments à un échantillon contenant le complexe de lanthanide nous a permis d'observer que les interactions les plus favorables, c'est-à-dire les plus stables d'un point de vue thermodynamique, sont observées avec des fragments de type éthylguanidinium (figure 7). L'approche théorique par modélisation moléculaire a permis de montrer que ces interactions sont essentiellement de type liaison hydrogène et restent suffisamment faibles pour que l'anion $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ ne reste pas intimement associé aux cations ammonium avec lesquels il interagit, mais qu'il s'établit un équilibre chimique dans lequel le complexe s'échange rapidement entre un état en interaction et un état libre en solution, ce qui est très important pour comprendre la contribution de ce complexe au processus de cristallisation des protéines [18]. Cette affinité particulière pour le contre-cation guanidinium corrobore bien les résultats

de cristallographie des protéines indiquant une interaction spécifique avec l'arginine.

C'est à ce stade que les propriétés paramagnétiques d'un certain nombre de lanthanides ont pu être exploitées pour amplifier l'effet du processus d'interaction sur la modification de l'empreinte spectrale des systèmes étudiés, et ainsi permettre de le cartographier et de le caractériser avec encore plus de détails. Dans un composé paramagnétique, la configuration électronique de certains atomes est telle qu'un ou plusieurs électrons peuvent être non appariés. Ces électrons possèdent alors un moment magnétique qui peut interagir avec les autres spins présents autour d'eux, notamment les spins nucléaires qui sont observés en RMN. Cette interaction peut être décrite comme correspondant à un champ magnétique local ressenti par les noyaux voisins, qui peut être assez fort pour modifier leur fréquence de résonance et/ou perturber la relaxation des noyaux, c'est-à-dire raccourcir la durée de vie de leur signal RMN. Dans le cas des lanthanides et de leurs ions, la configuration électronique de la couche 4f conduit à l'obtention d'éléments qui peuvent être soit diamagnétiques (La, Lu), soit paramagnétiques (Eu, Tb, Dy...). Sachant qu'il est possible de synthétiser les composés $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ avec tous les éléments du bloc f, il est donc très facile d'insérer une sonde paramagnétique en sélectionnant l'ion adéquat donnant accès à une information variée sur le processus d'interaction étudié. Pour certains lanthanides (Pr, Tb...), les électrons non appariés exercent une interaction magnétique sur les noyaux des atomes présents à proximité qui provoque essentiellement une modification de leur fréquence de résonance. Cette perturbation varie selon la distance et l'orientation de la molécule par rapport au centre paramagnétique. Cette propriété a été exploitée pour identifier comment les molécules sont en interaction avec le complexe $[Ln(DPA)_3]^{3-}$. Pour d'autres lanthanides comme le gadolinium de configuration 4f⁷ (couche à moitié remplie), le paramagnétisme a un effet important sur la relaxation des noyaux qui sont à proximité : ce deuxième type de sonde permet d'identifier quels atomes sont les plus proches de $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ lors de l'interaction en identifiant sur le spectre RMN les signaux les plus élargis ou qui ont disparu par la relaxation induite par le paramagnétisme électronique [19]. Cette seconde perturbation est isotrope et ne varie qu'en fonction de la distance.

Les propriétés de ces sondes paramagnétiques locales ont été utilisées pour identifier et caractériser les sites d'interaction entre $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ et des systèmes modèles de protéine et de peptide, comme par exemple l'ubiquitine, qui est une petite protéine soluble de 76 acides aminés (figure 7). L'affinité entre l'ubiquitine et $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ a été mesurée et les sites d'interaction ont été identifiés en suivant la modification de l'empreinte spectrale RMN de la protéine sous l'effet du paramagnétisme des complexes $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ utilisés. L'analyse de ces sites a été confirmée et affinée par des simulations de dynamique moléculaire sur l'adduit $\{[Ln(DPA)_3]^{3-}\text{-ubiquitine}\}$ [20].

De plus, nous avons enrichi le panel de méthodes d'analyse en développant une approche combinant RMN paramagnétique et mesure de diffusion. La diffusion des molécules est le processus physique par lequel les molécules se déplacent spontanément dans un milieu, au gré des interactions fugaces qu'elles créent avec les autres molécules du milieu, du solvant... La spectroscopie RMN s'est imposée comme une technique de choix pour mesurer ce processus de diffusion moléculaire en permettant de suivre pour chaque molécule

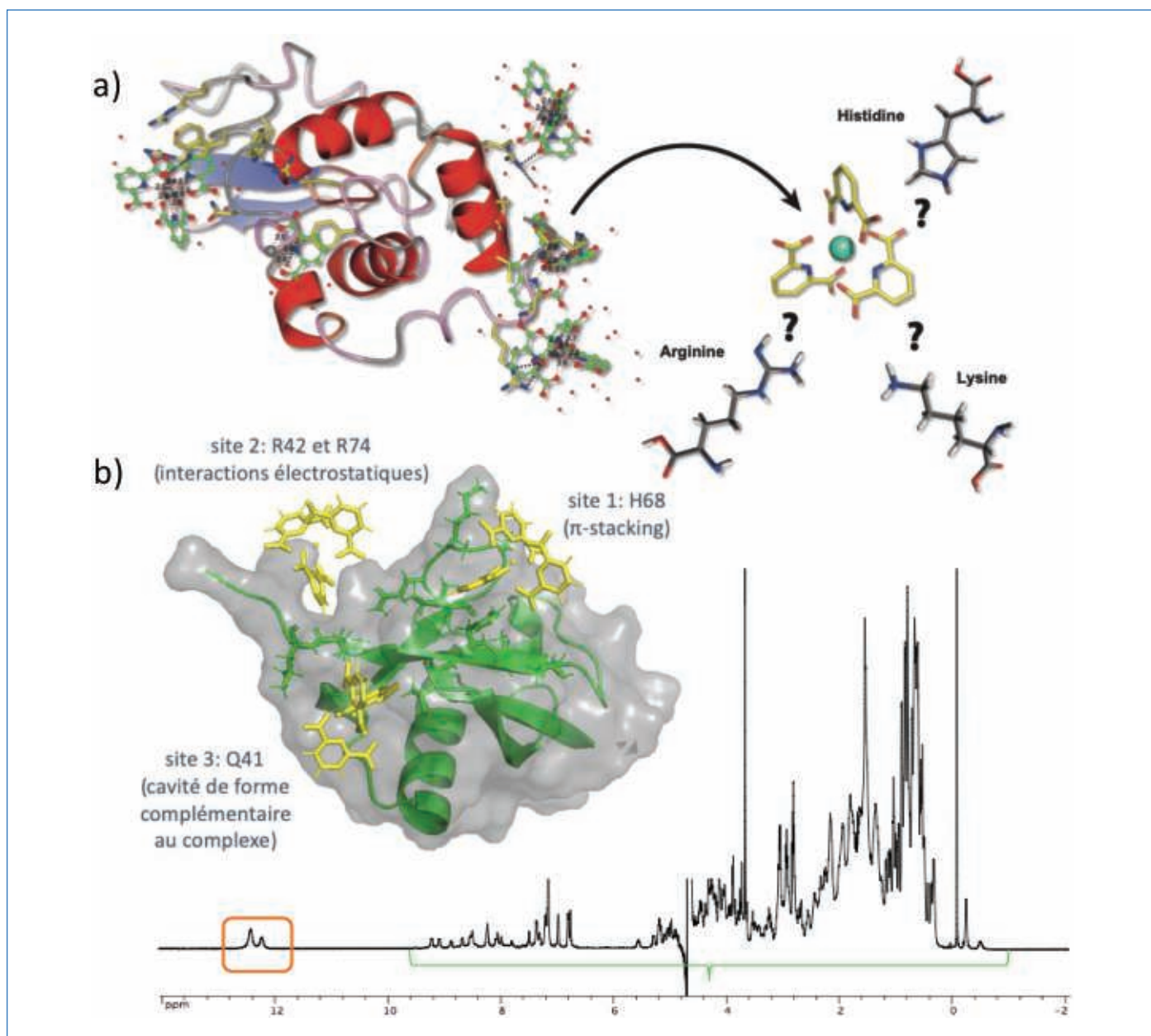


Figure 7 - a) Mise en évidence structurale des interactions entre $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ et acides aminés cationiques (histidine, arginine et lysine). b) Structure calculée de la protéine ubiquitine autour de laquelle sont positionnés trois complexes $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ pour identifier les trois sites d'interaction potentiels $\{[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ -ubiquitine $\}$. Spectre RMN expérimental de l'interaction $\{[\text{Pr}(\text{DPA})_3]^{3-}$ -ubiquitine $\}$ en solution ; les signaux du complexe de praséodyme sont encadrés en orange et ceux de la protéine soulignés en vert.

donnant un signal résolu sur le spectre RMN la décroissance de ce signal lorsqu'on laisse la molécule diffuser dans un gradient de champ magnétique permettant d'encoder la position de la molécule. La grandeur caractéristique de la mobilité de la molécule qui peut être déterminée est le coefficient de diffusion. Cette constante physique dépend fortement de la taille de l'objet dont on mesure la diffusion : s'il s'agit d'une petite molécule, sa diffusion sera rapide ; en revanche, s'il s'agit d'une macromolécule, la diffusion sera significativement plus lente. Par conséquent, la mesure de diffusion constitue un outil potentiellement puissant pour suivre le processus d'interaction en permettant de caractériser la formation d'un adduit $\{[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ -ubiquitine $\}$ plus gros que le complexe $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ seul. Cette méthode de diffusion paramagnétique a permis de mesurer des coefficients de diffusion sur $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ avec une précision de l'ordre de 1 %, et de caractériser l'interaction entre $[\text{Pr}(\text{DPA})_3]^{3-}$ et l'ubiquitine en tirant parti du fait que le signal des protons du complexe est fortement déplacé du fait du paramagnétisme du praséodyme,

et peut ainsi être facilement identifié et utilisé pour la mesure DOSY par rapport aux signaux de la protéine (figure 7).

Des complexes fascinants pour un large éventail d'applications

Cette mini-revue montre à quel point les composés de coordination $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$, qui sont extrêmement simples à préparer, à manipuler et à cristalliser, sont des objets d'étude fascinants et offrent un très large éventail d'applications allant de la science des matériaux à la biologie structurale. Ainsi ces complexes ont pu être utilisés pour établir plusieurs preuves de concepts fondamentales dans les domaines de la luminescence, de l'optique non linéaire, de l'ingénierie cristallographique de cristaux cœur-coquilles luminescents, ou encore des interactions supramoléculaires complexes/protéines. Ces composés ont également contribué à remettre en question le caractère inerte des électrons f , un des dogmes de la chimie des lanthanides grâce à une étude combinant optique

non linéaire et chimie théorique. D'un point de vue plus applicatif, ces composés dopés dans des silices mésoporeuses pourraient s'avérer être de bon candidats de substitution des phosphores inorganiques pour l'éclairage domestique, permettant en outre un recyclage aisé des terres rares en fin de vie. Enfin, ces composés sont actuellement commercialisés pour leur utilisation en bio-cristallographie comme agent de nucléation et de phasage. Beaucoup de choses restent encore à découvrir grâce à cette série de complexes « vintage » en s'intéressant de façon approfondie à leurs propriétés de luminescence, de chiralité moléculaire et à leur utilisation en ingénierie supramoléculaire et cristalline. Parfois, une molécule toute simple s'avère un atout majeur pour aborder des phénomènes physico-chimiques complexes.

- [1] I. Grenthe, Stability relationships among the rare earth dipicolinates, *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, p. 360-364.
- [2] J. Albertsson, Structural studies on the rare earth carboxylates. 4. The crystal and molecular structure of orthorhombic trisodium tris(pyridine-2,6-dicarboxylato)ytterbiumate(III)-14-hydrate, *Acta Chem. Scand.*, **1970**, *24*, p. 17; J. Albertsson, S. Mroczkowski, J.C. Doran, Preparation and growth of large single crystals of CDP [trisodium tris(pyridine-2,6-dicarboxylato)cerate(III) pentadecahydrate] $\text{Na}_3[\text{Ce}(\text{C}_7\text{H}_3\text{NO}_4)_3] \cdot 15\text{H}_2\text{O}$, *J. Cryst. Growth*, **1972**, *16*, p. 159-162.
- [3] A. D'Aleo, O. Maury *et al.*, Two-photon microscopy and spectroscopy of lanthanide bioprobes, *ChemPhysChem*, **2007**, *8*, p. 2125-32.
- [4] A. D'Aléo, L. Toupet, S. Rigaut, C. Andraud, O. Maury, Guanidinium as powerful cation for the design of lanthanide tris-dipicolinate crystalline materials: synthesis, structure and photophysical properties, *Opt. Mater.*, **2008**, *30*, p. 1682-88.
- [5] M.C. Balogh, New luminescent materials, bioinspired and recyclable, based on lanthanide complexes, Thèse, ENS Lyon, **2016**.
- [6] C.M. Balogh, O. Maury *et al.*, Two-color three-state luminescent lanthanide core-shell crystals, *Chem. Eur. J.*, **2017**, *23*, p. 1784-88.
- [7] I. N'Dala Louika, Matériaux hybrides luminescents à base de complexes de lanthanides. Application à l'éclairage, Thèse, ENS Lyon, **2021**.
- [8] C. Andraud, O. Maury, Lanthanide complexes for nonlinear optics: from fundamental aspects to applications, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, *2009*, p. 4357-71.
- [9] O. Maury, H. Le Bozec, Engineering of octupolar NLO molecules and materials based on bipyridyl metal complexes, *Acc. Chem. Res.*, **2005**, *38*, p. 691-704.
- [10] N. Tancrez, O. Maury *et al.*, Lanthanide complexes for second order nonlinear optics: evidence for the direct contribution of f electrons to the quadratic hyperpolarizability, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 13474-475.
- [11] E. Furet, K. Costuas, P. Rabiller, O. Maury, On the sensitivity of f electrons to their chemical environment, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, p. 2180-83.
- [12] E. Girard, M. Stelter, J. Vicat, R. Kahn, A new class of lanthanide complexes to obtain high-phasing-power heavy-atom derivatives for macromolecular crystallography, *Acta Crystallogr. D*, **2003**, *59*, p. 1914-22.
- [13] R. Kahn *et al.*, Crystal structure study of *Opsanus tau* parvalbumin by multiwavelength anomalous diffraction, *FEBS Lett.*, **1985**, *179*, p. 133-137.
- [14] R. Kahn, E. Girard, R. Fourme, The prominent role of resonant elastic scattering for solving the X-ray structure of macromolecules, *Eur. Phys. J. Special Topics*, **2012**, *208*, p. 15-20.

- [15] G. Pompidor, R. Kahn, O. Maury *et al.*, Protein crystallography through supramolecular interactions between a lanthanide complex and arginine, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2008**, *47*, p. 3388-91.
- [16] A. Roux, O. Maury *et al.*, Influence of divalent cations in the protein crystallization process assisted by lanthanide-based additives, *Inorg. Chem.*, **2021**, *60*, p. 15208-214.
- [17] S. Engilberge, O. Maury *et al.*, Crystallophore: a versatile lanthanide complex for protein crystallography combining nucleating effects, phasing properties, and luminescence, *Chem. Sci.*, **2017**, *8*, p. 5909-17.
- [18] E. Dumont, O. Maury *et al.*, Exploration of the supramolecular interactions involving tris-dipicolinate lanthanide complexes in protein crystals by a combined biostructural, computational and NMR study, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2013**, *15*, p. 18235-242.
- [19] S. Denis-Quanquin, O. Maury *et al.*, Capturing the dynamic association between a tris-dipicolinate lanthanide complex and a decapeptide: a combined paramagnetic NMR and molecular dynamics exploration, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2021**, *23*, p. 11224-232.
- [20] S. Denis-Quanquin, F. Riobe, M.A. Delsuc, O. Maury, N. Giraud, Paramagnetic DOSY: an accurate tool for the analysis of the supramolecular interactions between lanthanide complexes and proteins, *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, p. 18123-131.

Cristina Balogh, Isis N'Dala Louika, Jérémy Salaam, Anthony D'Aléo, doctorants et postdoctorants, **Sandrine Denis Quanquin**, ingénieure d'étude, **Elise Dumont**, professeure, **Chantal Andraud, Natacha Gillet, François Riobé, Olivier Maury***, chercheuses et chercheurs CNRS, Laboratoire de Chimie de l'ENS Lyon (UMR CNRS 5182).



O. Maury

Laurent Veyre, ingénieur de recherche CNRS, **Chloé Thieuleux, Clément Camp**, chercheuse et chercheur CNRS, Laboratoire de Catalyse, Polymérisation, Procédés et Matériaux (CP2M, UMR 5128 CNRS-UCB Lyon 1-CPE Lyon).

Guillaume Pilet, maître de conférences, Laboratoire Multimédia et Interface (LMI), Université Lyon 1 (UMR CNRS 5615).

Stéphane Rigaut, professeur, **Hubert Le Bozec, Boris le Guennic, Karine Costuas**, chercheurs et chercheuse CNRS, Institut des Sciences Chimiques de Rennes (ISCR), Université de Rennes 1 (UMR CNRS 6226).

Amandine Roux, Christian Chapelle, chercheuse et directeur de la société Polyvalan.

Eric Girard, chercheur CEA, Institut de Biologie Structurale de Grenoble, CNRS, Université de Grenoble Alpes.

Nicolas Giraud, professeur, Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques, Université de Paris (UMR CNRS 8601).

Olivier MAURY a reçu le prix Chercheur confirmé 2021 de la division SCF Chimie physique (DCP).

* olivier.maury@ens-lyon.fr

Retrouvez-nous en ligne !

lactualitechimique.org