

N° d'ordre 2623

**THESE**

présentée à



**L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE**

en vue de l'obtention du titre de

**DOCTEUR**

**Mention : SPECTROCHIMIE, MOLECULES, SOLIDES, REACTIVITE**

Par

**Anne-Charlotte BOUDET**

**ETUDE STRUCTURALE ET SPECTROSCOPIQUE  
DE LA QUERCETINE, DE L'ISOQUERCITRINE  
ET DE LEURS COMPLEXES AVEC L'ALUMINIUM(III).**

soutenue le 9 novembre 1999 devant la commission d'examen :

Mr. M. WARTEL  
Mme. A.M. ALBRECHT-GARY  
Mr. O. DANGLES  
Mr. C. ROLANDO  
Mr. J.C. WALLET  
Mr. J.P. CORNARD  
Mr. J.C. MERLIN

Président  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur  
Examineur

## REMERCIEMENTS

*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR-CNRS, UMR 8516). Je tiens à exprimer mes remerciements à Monsieur D. BOUGEARD, Directeur de Recherches au CNRS, pour m'avoir accueillie au sein du LASIR.*

*Je tiens à remercier Monsieur le Professeur J.C. MERLIN, mon directeur de thèse, et Monsieur J.P. CORNARD, Maître de Conférences pour m'avoir accordé leur confiance et permis d'acquérir une formation scientifique au long de ces quatre années.*

*J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur M WARTEL, Professeur à l'USTL au Laboratoire de chimie analytique et marine, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Je remercie Madame A.M. ALBRECHT-GARY, Directeur de Recherches C.N.R.S au Laboratoire de Physicochimie Bioinorganique de Strasbourg et Monsieur O. DANGLES, Professeur du laboratoire de chimie Organique III de l'Université Claude Bernard de Villeurbanne, d'avoir manifesté de l'intérêt pour ce travail en me faisant l'honneur de le juger.*

*Je suis reconnaissante à Messieurs J.C WALLET et C. ROLANDO pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit.*

*Je tiens à remercier Monsieur Bernard SOMBRET pour son aide et sa gentillesse lors de la réalisation des spectres FT-Raman.*

*Mes sincères remerciements à Christelle MOUVEAUX pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses nombreux conseils lors de la réalisation des spectres RMN.*

*Merci à Yann pour sa relecture assidue*

*J'exprime toute mon amitié à Isabelle et à Alain et avec qui j'ai partagé mon bureau ainsi qu'à Laurence, Thierry, Nathalie et Laurent.*

*J'exprime ma reconnaissance à tous les membres du LASIR, chercheurs, ingénieurs, techniciens et administratifs ainsi qu'à mes collègues thésard et DEA.*

## *Sommaire*

|  |    |
|--|----|
| <b>Introduction</b> .....  | 1  |
| <b>Partie I : Structure, propriétés et spectroscopie des Flavonoïdes.</b>                  |    |
| <b>Chapitre I : Structure et propriétés des flavonoïdes</b> .....                          | 3  |
| <b>I.1- Généralités sur les flavonoïdes</b> .....  | 3  |
| <i>I.1.1 – Classification des flavonoïdes</i> .....  | 3  |
| <i>I.1.2 - Flavones et flavonols</i> .....   | 4  |
| <i>I.1.3 - La glycosilation des flavonoïdes</i> .....                                      | 6  |
| <i>I.1.4 - Formation de liaisons hydrogène</i> .....                                       | 8  |
| <b>I.2 - Propriétés des flavonoïdes</b> .....  | 8  |
| <i>I.2.1 - Activité biologique des flavonoïdes dans les règnes végétal et animal</i> ..... | 9  |
| <i>I.2.2 - Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes</i> .....            | 10 |
| <i>I.2.3 - Propriétés complexantes des flavones et flavonols</i> .....                     | 12 |
| <b>Chapitre II : Propriétés spectroscopiques des flavones et flavonols</b> .....           | 15 |
| <b>II.1 – Introduction</b> .....   | 15 |
| <b>II.2 - La spectroscopie d'absorption UV-visible</b> .....                               | 15 |
| <b>II.3 - La spectroscopie d'absorption infrarouge</b> .....                               | 19 |
| <b>II.4 - La spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)</b> .....               | 26 |
| <i>II.4.1 - La RMN du proton <sup>1</sup>H</i> .....                                       | 26 |
| II.4.1.a – Protons aromatiques du noyau A .....  | 26 |
| II.4.1.b – Protons aromatiques du noyau B .....  | 27 |
| II.4.1.c – Proton hétérocyclique du cycle C .....  | 28 |
| II.4.1.d – Protons des glycosydes .....  | 28 |
| <i>II.4.2 - La RMN du carbone <sup>13</sup>C</i> .....                                     | 29 |

## Partie II : Etude structurale et spectroscopique de la quercétine et de l'isoquercitrine.

|  |    |
|--|----|
| <b>Chapitre I : Etude structurale de la quercétine et de l'isoquercitrine.</b> .....         | 35 |
| <b>I.1 – Introduction</b> .....  | 35 |
| <b>I.2 – Principe de l'analyse conformationnelle</b> .....                                   | 36 |
| <b>I.3 – Méthode de calcul utilisée</b> .....  | 36 |
| <b>I.4 - Etude structurale de la quercétine</b> .....  | 38 |
| <i>I.4.1 – Positions des groupements hydroxyles</i> .....                                    | 39 |
| <i>I.4.2 – Position du cycle B</i> .....   | 40 |
| <i>I.4.3 – Géométrie de la molécule</i> .....  | 42 |
| <i>I.4.4 – Distribution électronique</i> .....   | 45 |
| <b>I.5 - Etude structurale de l'isoquercitrine</b> .....                                     | 47 |
| <i>I.5.1 – Positions préférentielles du glucose</i> .....                                    | 48 |
| <i>I.5.2 – Influence de l'angle <math>\theta</math></i> .....                                | 51 |
| <i>I.5.3 – Influence des angles <math>\gamma</math> et <math>\varepsilon</math></i> .....    | 51 |
| <i>I.5.4 – Géométrie de la molécule</i> .....  | 57 |
| <i>I.5.5 – distribution électronique</i> .....   | 60 |
| <i>I.5.6 – Influence des molécules de méthanol</i> .....                                     | 61 |
| <b>I.6 – Conclusion</b> .....  | 64 |
| <br><b>Chapitre II : Etude spectroscopique de la quercétine et de l'isoquercitrine</b> ..... | 69 |
| <b>II.1 – Introduction</b> .....   | 67 |
| <b>II.2 – Les produits utilisés</b> .....  | 67 |
| <b>II.3 – La spectroscopie RMN</b> .....   | 67 |
| <i>II.3.1 – La RMN <math>^1H</math></i> .....  | 68 |
| <i>II.3.2 – La RMN <math>^{13}C</math></i> .....   | 69 |
| <b>II.4 – La spectroscopie de vibration</b> .....  | 75 |

## Sommaire

|   |           |
|---|-----------|
| II.4.1 – Les spectres infrarouge et Raman .....                                       | 75        |
| II.4.2 – La décomposition spectrale.....  | 76        |
| II.4.3 – Calcul des modes normaux de vibrations.....                                  | 81        |
| II.4.4 – Attribution des modes normaux de vibrations.....                             | 84        |
| <b>II.5 – La spectroscopie d'absorption UV-visible .....</b>                          | <b>90</b> |
| II.5.1 – Spectres d'absorption UV-visible et transitions électroniques calculées..... | 90        |
| II.5.2 – Calcul des orbitales moléculaires .....                                      | 93        |
| <b>II.6 – Conclusion .....</b>  | <b>95</b> |

## **Partie III : Complexation de la 3'4'-dihydroxyflavone, de la 3-hydroxyflavone et de la 5-hydroxyflavone avec l'aluminium(III).**

### *Chapitre I : Présentation préliminaire du matériel, des techniques*

|  |            |
|--|------------|
| <i>et méthodes utilisées .....</i>   | <i>101</i> |
| <b>I.1 – Introduction .....</b>  | <b>101</b> |
| <b>I.2 – L'aluminium(III).....</b>   | <b>102</b> |
| <b>I.3 – Méthodes de détermination de la stœchiométrie des complexes .....</b>     | <b>104</b> |
| <i>I.3.1 - Méthode des rapports molaires et points isobestiques .....</i>          | <i>104</i> |
| I.3.1.a - Principe de la méthode des rapports molaires .....                       | 104        |
| I.3.1.b - Points isobestiques .....  | 106        |
| <i>I.3.2 - Méthode des variations continues et points pseudo-isobestiques.....</i> | <i>107</i> |
| I.3.2.a - Principe de la méthode des variations continues .....                    | 107        |
| I.3.2.b - Points pseudo-isobestiques.....  | 109        |
| I.3.2.c - Généralisation de la méthode des variations continues .....              | 113        |
| <b>I.4 – Modélisation moléculaire des molécules libres et des complexes .....</b>  | <b>114</b> |
| <b>I.5 - Description du matériel et des conditions expérimentales.....</b>         | <b>116</b> |
| <i>I.5.1 - Les Produits utilisés .....</i>   | <i>117</i> |
| <i>I.5.2 - Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible.....</i>                | <i>118</i> |
| I.5.2.a - Dans le méthanol par la méthode des rapports molaires .....              | 118        |

## Sommaire

|  |            |
|--|------------|
| 1.5.2.b - Dans le méthanol par la méthode des variations continues .....   | 118        |
| 1.5.2.c - Dans le méthanol en présence d'acétate de sodium $10^{-1}$ M ou de méthanoate de sodium $5.10^{-3}$ M par la méthode des rapports molaires ..... | 119        |
| 1.5.2.d - Dans un mélange méthanol – eau.....  | 119        |
| 1.5.3 - Etude des molécules et de leurs complexes par spectroscopie Raman.....   | 119        |
| 1.5.4 - Etude des molécules et de leurs complexes par spectroscopie RMN .....  | 120        |
| <b>Chapitre II : Complexation de la 3'4'-dihydroxyflavone avec l'aluminium(III)</b> .....  | <b>121</b> |
| <b>II.1 – Introduction</b> .....   | <b>121</b> |
| <b>II.2 - Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 3'4'diHF dans le méthanol</b> .....  | <b>122</b> |
| II.2.1 – Méthode des rapports molaires .....   | 122        |
| II.2.2 – Méthode des variations continues .....  | 124        |
| <b>II.3 - Analyse conformationnelle de la 3'4'diHF et du complexe Al(3'4'diHF)</b> .....   | <b>126</b> |
| <b>II.4 - Etude spectroscopique de la 3'4'diHF et de son complexe dans le méthanol</b> .....   | <b>130</b> |
| II.4.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible .....  | 131        |
| II.4.2 – La spectroscopie de vibration .....   | 132        |
| <b>II.5 - Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 3'4'diHF dans différents milieux</b> .....   | <b>134</b> |
| II.5.1 - Complexation dans le méthanol en milieu basique.....  | 134        |
| II.5.1.a - Etude de la complexation dans le méthanol en présence d'acétate de sodium.....  | 136        |
| II.5.1.b - Etude de la complexation dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium.....  | 138        |
| II.5.1.c - Modélisation du complexe Al(3'4'diHF) <sub>2</sub> .....  | 140        |
| II.5.1.d - Conclusion sur la complexation en milieu basique.....   | 140        |
| II.5.2 - Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en milieu acide.....  | 142        |
| II.5.2.a – Complexation en présence d'HCl.....   | 142        |
| II.5.2.b – Complexation en présence d'un mélange acide acétique - acétate de sodium .....  | 142        |
| II.5.2.c – Conclusion sur la complexation en milieu acide .....  | 143        |
| <b>II.6 – Conclusion</b> .....   | <b>144</b> |

|   |         |
|---|---------|
| <b>Chapitre III : Complexation de la 3-hydroxyflavone avec l'aluminium(III)</b> .....                 | 145     |
| <b>III.1 – Introduction</b> .....   | 145     |
| <b>III.2 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 3HF dans le méthanol</b> ..... | 146     |
| <i>III.2.1 – Méthode des rapports molaires</i> .....  | 146     |
| <i>III.2.2 – Méthode des variations continues</i> .....   | 148     |
| <b>III.3 – Analyse conformationnelle de la 3HF et du complexe Al(3HF)<sub>2</sub></b> .....           | 149     |
| <b>III.4 – Etude spectroscopique de la 3HF libre et complexée dans le méthanol</b> .....              | 153     |
| <i>III.4.1 – La spectroscopie de vibration</i> .....  | 154     |
| <i>III.4.2 – La spectroscopie RMN <sup>13</sup>C et <sup>1</sup>H</i> .....                           | 156     |
| III.4.2.a – La spectroscopie RMN <sup>13</sup> C .....  | 156     |
| III.4.2.b – La spectroscopie RMN <sup>1</sup> H .....   | 159     |
| <b>III.5 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation dans différents milieux</b> .....    | 161     |
| <i>III.5.1 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en milieu acide</i> .....        | 161     |
| III.5.1.a – Complexation en présence d'HCl .....  | 161     |
| III.5.1.b – Complexation en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium .....                    | 164     |
| III.5.1.c – Conclusion sur la complexation en milieu acide .....                                      | 166     |
| <i>III.5.2 – Complexation dans le méthanol en milieu basique</i> .....                                | 167     |
| III.5.2.a – Complexation en présence d'acétate de sodium 10 <sup>-1</sup> M .....                     | 168     |
| III.5.2.b – Complexation en présence de méthanoate de sodium 5.10 <sup>-3</sup> M .....               | 171     |
| III.5.2.c – Conclusion sur la complexation en milieu basique .....                                    | 171     |
| <b>III.6 – Conclusion</b> .....   | 172     |
| <br><b>Chapitre IV : Complexation de la 5-hydroxyflavone avec l'aluminium(III)</b> .....              | <br>175 |
| <b>IV.1 – Introduction</b> .....  | 175     |
| <b>IV.2 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 5HF dans le méthanol</b> .....  | 177     |
| <i>IV.2.1 – Méthode des rapports molaires</i> .....   | 177     |
| <i>IV.2.2 – Méthode des variations continues</i> .....  | 178     |
| <b>IV.3 – Analyse conformationnelle de la 5HF et du complexe Al(5HF)</b> .....                        | 179     |
| <b>IV.4 – Etude spectroscopique de la 5HF libre et complexée dans le méthanol</b> .....               | 183     |



## Sommaire

|   |     |
|---|-----|
| <i>IV.4.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible</i> .....  | 183 |
| <i>IV.4.2 – La spectroscopie de vibration</i> .....   | 184 |
| <i>IV.4.3 – La spectroscopie RMN <sup>13</sup>C et <sup>1</sup>H</i> .....  | 186 |
| IV.4.3.a – La spectroscopie RMN <sup>13</sup> C .....   | 186 |
| IV.4.3.b – La spectroscopie RMN <sup>1</sup> H .....  | 188 |
| <b>IV.5 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation dans différents milieux</b> .....   | 190 |
| <i>IV.5.1 - Complexation dans le méthanol en présence de base</i> .....   | 190 |
| <i>IV.5.2 - Complexation en milieu acide dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%), en présence d'HCl<br/>et en présence d'un mélange acide acétique – acétate de sodium</i> ..... | 192 |
| <b>IV.6 – Conclusion</b> .....  | 194 |

## **Partie IV : Complexation de la quercétine et de l'isoquercitrine avec l'aluminium(III).**

|  |     |
|--|-----|
| <b>Chapitre I : Complexation de la quercétine avec l'aluminium(III)</b> .....  | 201 |
| <b>I.1 – Introduction</b> .....  | 201 |
| <b>I.2 – Complexation de la quercétine dans le méthanol et en milieu acide</b> .....   | 201 |
| <i>I.2.1. – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl</i> .....                                      | 201 |
| <i>I.2.2. – Complexation dans le méthanol pur</i> .....  | 204 |
| I.2.2.a – Méthode des rapports molaires .....  | 204 |
| I.2.2.b – Méthode des variations continues .....   | 206 |
| <i>I.2.3 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique<br/>et d'acétate de sodium</i> ..... | 209 |
| <b>I.3 – Complexation de la quercétine en milieu basique</b> .....   | 212 |
| <b>I.4 – Analyse conformationnelle des complexes QCP1 et QCP2</b> .....  | 217 |
| <i>I.4.1 – Géométrie du complexe QCP1</i> .....  | 221 |
| <i>I.4.2 – Géométrie du complexe QCP2</i> .....  | 223 |
| <b>I.5 – Etude spectroscopique des complexes de la quercétine dans le méthanol</b> .....   | 225 |
| <i>I.5.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible</i> .....  | 225 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>I.5.2 – La spectroscopie de vibration</i> .....  | 227 |
| <b>I.6 – Conclusion</b> .....   | 231 |
| <br>  |     |
| <b>Chapitre II : Complexation de l'isoquercitrine avec l'aluminium(III)</b> .....   | 235 |
| <br>  |     |
| <b>II.1 – Introduction</b> .....  | 235 |
| <b>II.2 – Complexation de l'isoquercitrine en milieu acide</b> .....  | 235 |
| <i>II.2.1 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl</i> .....                                       | 235 |
| <i>II.2.2 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique<br/>et d'acétate de sodium</i> ..... | 237 |
| <b>II.3 – Complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol</b> .....   | 238 |
| <i>II.3.1 – Méthode des rapports molaires</i> .....   | 238 |
| <i>II.3.2 – Méthode des variations continues</i> .....  | 241 |
| <b>II.4 – Complexation de l'isoquercitrine en milieu basique</b> .....  | 243 |
| <i>II.4.1 – Complexation en présence d'acétate de sodium <math>10^{-1}</math> M</i> .....   | 244 |
| <i>II.4.2 – Complexation en présence de méthanoate de sodium <math>5 \cdot 10^{-3}</math> M</i> .....                                 | 247 |
| <b>II.5 – Analyse conformationnelle des complexes ICP1 et ICP2</b> .....  | 249 |
| <i>II.5.1 – Géométrie du complexe ICP1</i> .....  | 250 |
| <i>II.5.2 – Géométrie du complexe ICP2</i> .....  | 255 |
| <b>II.6 – Etude spectroscopique des complexes de l'isoquercitrine dans le méthanol</b> .....  | 258 |
| <i>II.6.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible</i> .....  | 258 |
| <i>II.6.2 – La spectroscopie de vibration</i> .....   | 260 |
| <b>II.7 – Conclusion</b> .....  | 263 |
| <br>  |     |
| <b>Conclusion générale</b> .....  | 275 |
| <br>  |     |
| <b>Références bibliographiques</b> .....  | 277 |
| <br>  |     |
| <b>Annexe :</b>   |     |
| Notation de Wilson.....   | 285 |

## *Introduction Générale*

Le terme polyphénol rassemble une très large gamme de composés phénoliques et notamment une famille particulière de molécules ayant un squelette de base constitué de quinze atomes de carbone appelée flavonoïdes. Leur fonction principale est la coloration des plantes, même s'ils sont souvent masqués par la présence d'autres pigments. Longtemps considérés comme de simples métabolites secondaires du règne végétal, l'étude de ces composés a d'abord suscité peu d'intérêt. Aujourd'hui, les flavonoïdes sont reconnus comme une classe thérapeutique naturelle aux multiples propriétés pharmacologiques et biologiques, de nombreux travaux leur sont consacrés.

Le terme flavonoïde regroupe une importante variété de molécules qui possèdent une structure commune basée sur celle de la 2-phényl-4-H-1-benzopyrane-4-one, appelée également flavone. A l'état naturel ces composés apparaissent sous une forme polyhydroxylée, certaines des fonctions hydroxyles pouvant être méthoxylées ou glycosylées. La majorité des flavonoïdes est glycosylée en position 3, le glucose étant le sucre le plus fréquemment rencontré. La glycosylation d'une molécule s'accompagne souvent d'une évolution de ses propriétés. Ces modifications peuvent être en étroite relation avec les changements conformationnels ou électroniques occasionnés par la présence du sucre sur la molécule. Ainsi la quercétine, flavonoïde polyhydroxylé largement répandu dans le règne végétal, voit ses propriétés biologiques fortement modulées lorsque l'hydroxyle en position 3 est substitué par un glucose. La molécule formée est l'isoquercitrine.

Les flavonoïdes naturels possèdent une forte aptitude à chélater les métaux. Longtemps utilisées dans un but analytique, ces propriétés complexantes peuvent parfois être associées à l'activité biologique des flavonoïdes. L'étude du mécanisme de complexation des flavonoïdes présente également un intérêt dans un champ d'investigation plus large consacré aux problèmes de l'environnement et plus particulièrement de pollution métallique des sols. En effet, la complexation de ces molécules avec les métaux constitue une approche des interactions entre les métaux et les molécules polyphénoliques de tailles plus importantes présentes dans la matière organique des sols. Ces dernières possèdent des structures complexes, mal définies et sont donc plus difficiles à étudier. Les flavonoïdes ne sont pas présents effectivement dans le sol, ils sont rapidement dégradés en des composés qui s'associent à la matière organique. Cette matière organique présente des groupements fonctionnels analogues à ceux des flavonoïdes et notamment des sites chélateurs de même nature. Ainsi, les flavonoïdes peuvent être considérés comme des molécules modèles

permettant d'appréhender une partie du comportement complexant de la matière organique des sols. Nous avons choisi d'étudier les interactions entre les flavonoïdes et l'aluminium(III), ce dernier étant particulièrement présent dans le règne végétal et minéral. En effet, même si dans le domaine de la physiologie végétale le rôle de l'aluminium est encore mal connu, cet élément semble nécessaire à certaines plantes. L'aluminium existe en concentration importante dans les feuilles de nombreux végétaux et peut même être considéré comme un engrais complémentaire. Certains résultats semblent indiquer qu'il existe une relation entre le métabolisme des polyphénols et celui de l'aluminium.

Dans une première partie, nous présenterons les connaissances actuelles concernant la structure, les propriétés et la spectroscopie des flavonoïdes. Puis dans une seconde partie, afin de mieux appréhender les relations de structure-activité et de structure-réactivité de la quercétine et de l'isoquercitrine, une étude structurale et spectroscopique de ces molécules sera présentée.

La troisième partie sera consacrée :

(i) à la présentation des méthodes et techniques utilisées pour caractériser les complexes formés entre les flavonoïdes et l'aluminium(III).

(ii) à l'étude de flavonoïdes présentant un unique site de complexation, c'est-à-dire la 3'4'dihydroxyflavone, la 3-hydroxy- et la 5-hydroxyflavone.

Dans la quatrième partie, nous appréhenderons le comportement chélateur de la quercétine et de l'isoquercitrine, ces ligands possédant simultanément plusieurs sites de complexation. La stœchiométrie des chélates formés dans différents milieux réactionnels sera déterminée et une étude structurale et spectroscopique des complexes formés dans le méthanol sera présentée.

# Partie I

*Structure, propriétés et  
spectroscopie des Flavonoïdes*

## Chapitre I : Structure et propriétés des flavonoïdes.

### I.1 - Généralités sur les flavonoïdes.

Les polyphénols sont présents dans tous les tissus végétaux depuis les racines jusqu'aux fruits. Ils se classent parmi les métabolites secondaires, par opposition aux protéides, lipides et hydrates de carbone qui sont les constituants indispensables à la reproduction et à la croissance des végétaux.. Pratiquement tous les végétaux fabriquent des polyphénols et les stockent dans divers organes. Leur présence assure à la plante une protection contre les agents pathogènes ainsi qu'une aide à la reproduction et à la survie de l'espèce. Ces composés phénoliques ne sont pas à l'état libre dans la nature mais sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels dans les tissus ligneux (lignines).

Le terme polyphénol désigne de nombreuses substances regroupées en famille. Les différents composés d'une même famille se différencient par la nature et la position des substituants fixés sur un squelette aromatique commun. Parmi celles-ci, figure une famille de molécules très largement répandues : les flavonoïdes.

#### I.1.1 – Classification des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont caractérisés par un squelette de base constitué de quinze atomes de carbone comportant deux cycles benzéniques A et B reliés entre eux par une chaîne à trois atomes de carbone (Fig. I.1).

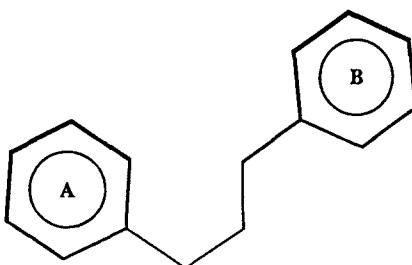


Fig. I.1 : Squelette de base d'un flavonoïde.

Le terme flavonoïde, utilisé pour la première fois par Geissman et Hinreiner [Harborne, 1975], regroupe tous les composés dont la structure est basée sur celle de la flavone, la 2-phényl-chromone (Fig. I.2b). Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2,4',6'-tétrahydroxychalcone (Fig. I.2a) [Heller, 1988]. Par action enzymatique, cette chalcone se métabolise en différentes classes de flavonoïdes [Swain, 1976 ; Harborne, 1988] dont la structure varie selon le degré d'oxydation du squelette de base et la position des substituants sur le noyau central [Ribereau-Gayon, 1968]. Les plus importantes sont les flavones et flavonols, pigments jaunes (Fig. I.2b et c), les anthocyanidines, pigments bleus et rouges des fleurs et des fruits (Fig. I.2d), les catéchines, les flavanones, les flavanonols et les proanthocyanidines (Fig. I.2e, f, g et h). Cinq classes de composés qui ne possèdent pas le squelette 2-phényl-chromone classique mais qui sont très proches chimiquement et biosynthétiquement des autres types de flavonoïdes sont également incluses dans ce groupe : les isoflavones, les dihydrochalcone, les chalcones, les néoflavones et les aures (Fig. I.2i, j, k, l et m).

### 1.1.2 - Flavones et flavonols.

La flavone, dont la structure de base est une 2-phényl-4-H-[1]-benzopyran-4-one, est constituée de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle  $\gamma$ -pyrone appelé C (Fig. I.3). Les flavonols se différencient des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle en position 3 qui est le seul à ne pas être phénolique. Une oxydation supplémentaire sur les cycles A ou B n'altère pas la nomenclature du type de flavonoïde. Le système utilisé pour numéroter les carbones et dénommer les cycles (nomenclature IUPAC) est le même pour les flavones et flavonols, il est présenté sur la figure I.3.

Des noms communs sont souvent utilisés pour désigner les différents flavonoïdes, ils découlent généralement de leur plante d'origine. Par exemple, la tricine a été isolée à partir du *tritium*, la quercétine du *quercus*, la robinétine du *robinia*... [Markham, 1989].

Dans chaque classe, les composés se distinguent par le nombre et la position des hydroxyles, méthoxyles et autres groupements qui se substituent sur les cycles A et B. Le cycle A de la majorité des flavonoïdes est substitué par des groupements hydroxyles en position 5 et 7 et plus rarement par des groupements méthoxyles. Le cycle B est souvent substitué par un, deux ou trois hydroxyles ou méthoxyles.



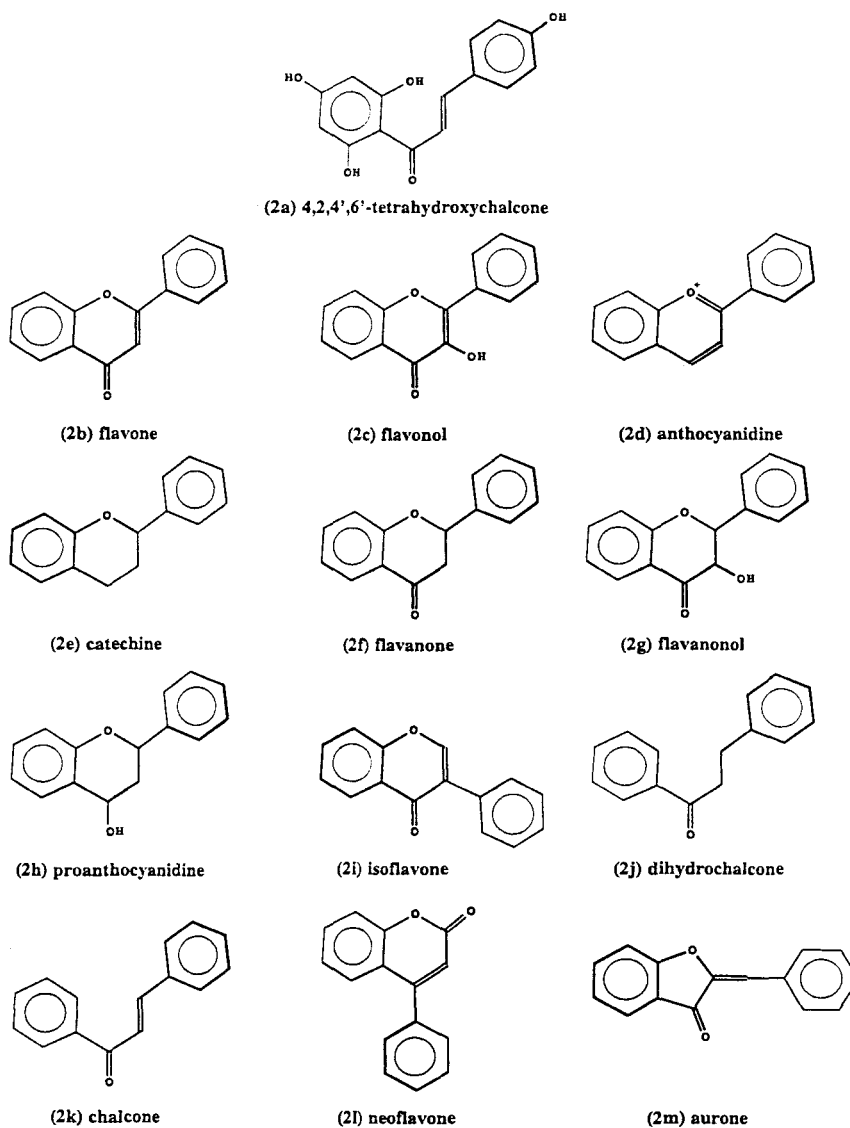


Fig. 1.2 : Les différentes classes de flavonoïdes.

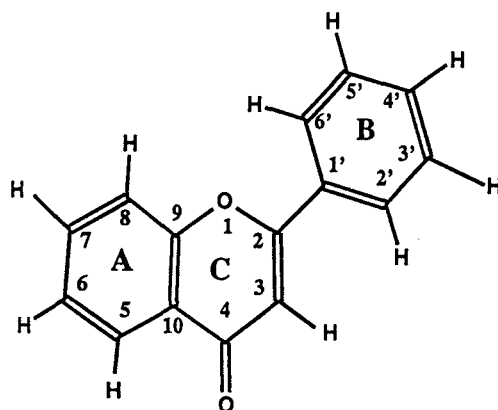


Fig. 1.3 : Structure de la flavone et numérotation adoptée.

I.1.3 - La glycosilation des flavonoïdes.

Les composés flavoniques existent majoritairement dans les plantes sous forme de glycosides, c'est-à-dire qu'un ou deux de leurs groupements hydroxyles sont reliés par un lien semi-acétal à un sucre formant des flavonoïdes-O-glycosylés. Si théoriquement la molécule glucidique peut être fixée sur n'importe quel groupement hydroxyle du flavonoïde, certaines positions sont privilégiées. Dans le cas des flavones, le sucre est généralement situé en 7 et chez les flavonols, c'est la position 3 qui est favorisée [Ribereau-Gayon, 1968]. Le composé libéré du sucre se nomme aglycone et est généralement peu soluble. La glycosilation augmente la solubilité et la stabilité des molécules, notamment de celles les plus hydroxylées. Par exemple la quercétine et la myricétine sont sensibles à l'oxydation catalysée par les phénolases alors que leurs dérivés 3-O-glycosilés sont stables [Roberts, 1960].

La forme cyclique des glucides est généralement un pyrane à six chaînons. Par cyclisation du sucre, un nouveau stéréocentre appelé carbone anomérique (C1) est formé donnant deux anomères désignés par  $\alpha$  et  $\beta$ . La liaison avec l'aglycone, de type  $\beta$ , se fait avec le C1 du glucide par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène (Fig. I.4). Les flavonols, et plus particulièrement le kaempferol et la quercétine, offrent la plus grande diversité de liaisons entre les molécules glucidiques et l'aglycone [Ribereau-Gayon, 1968].

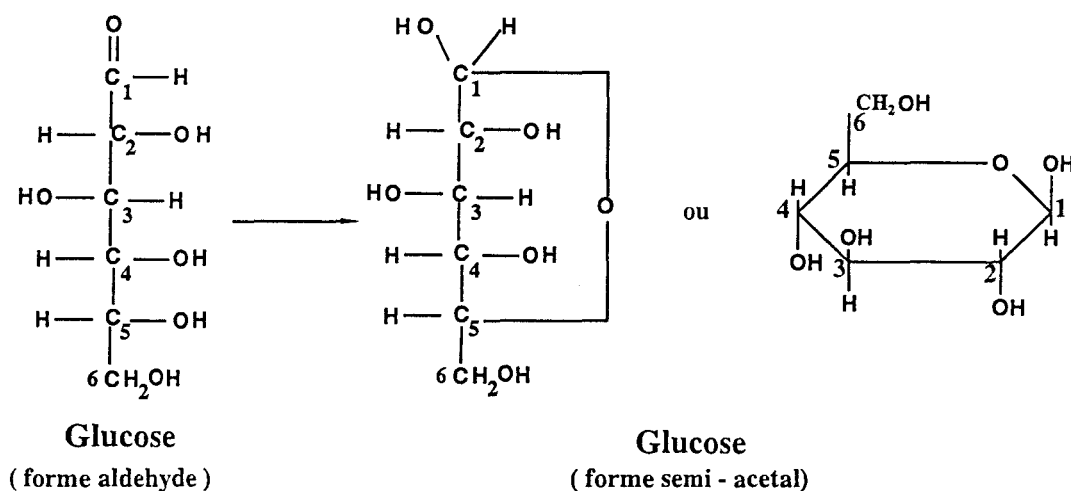


Fig. I.4 : Réaction de cyclisation du glucose et numérotation des sucres.

Les sucres intervenant dans la structure des flavonoïdes sont presque exclusivement des aldoses (ce sont des aldéhydes, contrairement aux cétooses qui sont des cétones). Le D-glucose (Fig. I.5a) est certainement le plus fréquent, cependant le L-rhamnose (Fig. I.5b), le D-galactose (Fig. I.5c), le L-arabinose (Fig. I.5d), le D-xylose (Fig. I.5e) et certains di- ou triholosides tel que le rutinose ( Fig. I.5f) sont également rencontrés.

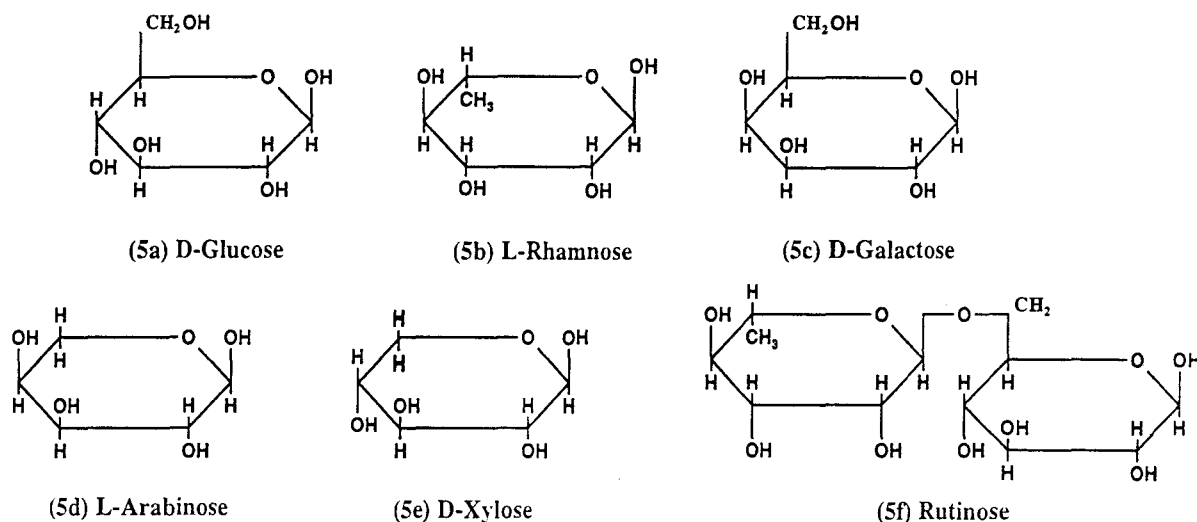


Fig. I.5 : Principaux sucres rencontrés dans la structure des flavonoïdes.

On trouve également des flavones-C-glycosides qui se distinguent des O-glycosides comme leur nom l'indique par un sucre directement relié par son carbone C1 au carbone C6 ou C8 du noyau flavonique (formation d'une liaison C-C). Un tel sucre ne se sépare pas de l'aglycone par hydrolyse acide. Dans le cas des flavonoïdes glycosylés, les carbones du sucre sont numérotés avec un double prime « '' ».

Dans l'alimentation, les flavonoïdes glycosylés sont généralement plus abondants que les aglycones, ils sont mieux absorbés par l'organisme et ont un effet prédominant sur la quantité de composé présente dans le plasma. La position du sucre sur l'aglycone entraîne des différences de biodisponibilité et/ou de métabolisme entre les différents flavonoïdes glycosylés [Lee, 1993].

La conjugaison entre les cycles A et B de la molécule qui joue un rôle important dans l'activité anti-oxydante des flavonoïdes, n'est pas modifiée par la glycosylation en position 3

alors qu'un sucre substitué en position 4' affecte cette relation de conjugaison [Williamson, 1996].

#### *I.1.4 - Formation de liaisons hydrogène.*

Les polyphénols sont le siège d'associations inter- et intramoléculaires importantes par le biais de liaisons hydrogène qui peuvent modifier leurs propriétés physiques (points de fusion, d'ébullition...), leurs propriétés chimiques (transfert de protons, solubilité...) ainsi que leurs propriétés spectroscopiques [Ribereau-Gayon, 1968].

### **I.2 - Propriétés des flavonoïdes.**

Les polyphénols possèdent un ensemble de propriétés importantes et sont de plus en plus étudiés dans de nombreux domaines tels que la physiologie, la biologie, la botanique et la technologie alimentaire.

Les flavonoïdes semblent exister dans la nature depuis plus d'un million d'années et ont suivi l'évolution des organismes au cours du temps. Plus précisément, ces composés possèdent des propriétés importantes qui ont subsisté dans la vacuole des plantes durant l'évolution [Swain, 1975]. Cette très longue association entre les flavonoïdes et différentes espèces à travers l'évolution rend compte de l'extraordinaire gamme d'activités biochimiques et pharmacologiques de ces substances dans les organismes vivants.

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes [Harborne, 1993]. Premièrement reconnus comme les pigments responsables des teintes automnales et des nombreuses nuances de jaunes, oranges et rouges des fleurs, les flavonoïdes sont également présents dans les fruits, les légumes, les graines et les tiges. Le thé et le vin sont très riches en flavonoïdes et une alimentation journalière équilibrée en contient 1 gramme [Kühnau, 1976]. Pharmacologiquement, cette quantité peut fournir des concentrations significatives dans les fluides et les tissus corporels.

I.2.1 - Activité biologique des flavonoïdes dans les règnes végétal et animal.

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la biochimie et la physiologie des plantes. Ils agissent comme antioxydants, inhibiteurs d'enzymes et précurseurs de substances toxiques [Harborne, 1988]. Dès 1938, Szent-Gyorgyi montrait le rôle important joué par les flavonoïdes dans la respiration des végétaux qui les synthétisent [Szent-Gyorgyi, 1938]. On suppose désormais qu'ils exercent cette action en tant que catalyseurs du transport d'électrons au cours de la photosynthèse ou en tant que régulateurs de la phosphorylation des canaux ioniques [Cantley, 1976 ; Mukohata, 1978]. De plus, ces composés sont impliqués dans la photosensibilisation et le transfert d'énergie, dans l'action des hormones et des régulateurs de croissance des plantes, dans la morphogenèse et dans les défenses contre l'infection [Smith, 1986]. Des études récentes ont montré que les flavonoïdes activent la modulation des gènes des bactéries impliquées dans le contrôle de la fixation de l'azote, ce qui suggère que les flavonoïdes sont en relation étroite avec l'activation et l'expression des gènes [Djordjevic, 1987 ; Firmin, 1986 ; Peters, 1986 ; Zaat, 1987].

Les flavonoïdes sont responsables de la majorité des couleurs des fleurs présentes dans la nature et suscitent ainsi l'attraction des insectes pour la pollinisation, chaque classe de pollinisateurs préférant une couleur particulière : les abeilles sont attirées par les fleurs bleues alors que les papillons préfèrent les fleurs roses ou mauves. Les flavonoïdes glycosylés jouent un rôle important dans la stimulation alimentaire et sont utilisés préférentiellement aux aglycones par les insectes phytophages pour reconnaître leurs plantes nourricières. Leur activité semble provenir de la structure glycosyle plutôt que des structures de l'aglycone et du sucre considérées séparément. La nature du sucre est essentielle dans cette activité alimentaire puisqu'une même aglycone substituée par des sucres différents peut devenir inactive ou dissuasive pour l'insecte. Par exemple, pour le *Bombyx Mori*, l'isoquercitrine est un stimulant alimentaire alors que la rutine n'a aucun effet et que la quercétine-3-O-rhamnoside le repousse [Hamamura, 1962].

Dans le règne animal, l'alimentation constitue un apport en flavonoïdes pouvant avoir un rôle biologique important compte tenu de leurs nombreuses propriétés. Par exemple, une accumulation de flavones et de leurs glycosides dans les ailes des papillons concourent à les colorer. Dans ce cas, ils proviennent des feuilles dont se sont nourries les chenilles [Barbier, 1980]. La propolis des abeilles renferme des flavonoïdes, en particulier de la pinocembrine, de

la quercétine, de la chrysin et de la galangine. Ces insectes la fabriquent à partir des sécrétions des bourgeons de certains arbres qu'ils modifient par leurs enzymes salivaires. Ils mettent instinctivement à profit ses propriétés antifongiques et antibactériennes pour aseptiser leurs ruches et en boucher les fentes [Lejeune, 1984 ; Harnej, 1975]. Longtemps, les propriétés cicatrisantes et anti-infectieuses de cette substance ont été utilisées par les Egyptiens, les Grecs, les Romains et les Incas et récemment, certains auteurs ont préconisé son utilisation en dermatologie et en cosmétologie (shampooings, lotions, etc...) [Lejeune, 1984].

Certains flavonoïdes inhibent la croissance et le développement de certains insectes, les glycosides ont alors une activité du même ordre que les aglycones correspondants. Les quantités croissantes d'insecticides synthétiques utilisées pour prévenir la dévastation des cultures par les insectes phytogènes, sont très coûteuses et causent des problèmes environnementaux tels que la toxicité résiduelle des cultures et des sols. De plus, des problèmes de résistance des insectes à ces pesticides apparaissent. Les mécanismes par lesquels les insectes interagissent avec les produits chimiques des plantes tels que les flavonoïdes sont divers. Ces composés peuvent être toxiques pour les insectes, les attirer ou les repousser. Le fait de connaître certaines substances des plantes qui perturbent le chemin métabolique ou le système enzymatique d'insectes nuisibles sans affecter celui des mammifères ou des insectes utiles peut conduire à de nouvelles méthodes d'obtention de pesticides biodégradables plus sélectifs et moins toxiques pour les espèces inoffensives [Harborne, 1988].

### *1.2.2 - Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes.*

Les flavonoïdes sont depuis longtemps reconnus comme des molécules possédant un nombre remarquable d'actions biochimiques et pharmacologiques, suggérant que ces composés peuvent affecter significativement les fonctions de multiples systèmes cellulaires. Certains d'entre eux (essentiellement dans des préparations à base de rutine, de rutoside et de quercétine) sont depuis longtemps employés empiriquement dans la pathologie circulatoire en tant que veinotonique et vasculoprotecteur [Arthurson, 1975].

D'importance historique, on note l'observation d'un mélange de deux flavonoïdes appelé citrine et possédant une activité semblable à celle de la vitamine C [Hughes, 1977 ;

Kühnau, 1976]. Le terme de vitamine P a alors été introduit pour indiquer que ce produit diminuait la perméabilité et la fragilité capillaire ainsi que les signes d'hypovitaminose C chez les animaux d'expérimentation. Bien qu'appelée vitamine P, cette substance ne répondait pas à la définition d'une vitamine. Cependant, il a été démontré que les flavonoïdes prévenaient l'oxydation de l'acide ascorbique et ainsi en augmentait l'activité biologique.

Les principales propriétés biologiques des flavonoïdes sont :

(i) une action antioxydante s'effectuant par "piégeage" des radicaux libres.

(ii) une activité antibactérienne significative.

(iii) une activité anti-inflammatoire, analgésique et anti-allergique résultant de leur capacité à inhiber la formation et la libération de prostaglandines (médiateur intercellulaire de l'inflammation) et de leucotriènes (médiateur intercellulaire de l'inflammation et de l'allergie) [Hope, 1981, 1983 ; Kimura, 1986 ; Landolfi, 1984 ; Mower, 1984 ; Parantainen, 1983 ; Dembinska-Kiec, 1984]. Certains flavonoïdes agissent en augmentant la perméabilité capillaire [Pathak, 1991] et d'autres, en inhibant la libération d'histamine [Havsteen, 1980 ; Fewtrell, 1977].

(iv) une activité radioprotectrice attribuée au piégeage des radicaux hydroxyles [Kayoko, 1994].

(v) la capacité à inhiber l'adhésion et l'agrégation plaquettaires, contribuant ainsi à réduire les tendances à la thrombose [Beretz, 1982].

(vi) certaines propriétés antivirales ; la quercétine par exemple réduit l'infection due à la présence de certains virus et elle en diminue la réplication [Kaul, 1985].

(vii) une activité anti-sécrétoire gastrique aussi efficace que la cimétidine utile dans le traitement de l'ulcère de l'estomac [Parmar, 1984].

(viii) un pouvoir inhibiteur de l'aldose réductase, enzyme impliquée dans la pathologie des cataractes. Cette enzyme catalyse la réduction du glucose et du galactose en leurs polyols qui s'accumulent alors en grandes quantités au niveau du cristallin qui devient opaque [Varma, 1986]. Un composé tel que la rutine bloque l'aldose réductase et peut constituer un médicament complémentaire du diabète sucré [Havsteen, 1983].

(ix) la capacité à inhiber la protéine kinase C, enzyme impliquée dans un grand nombre d'activités cellulaires et responsable entre autres de la prolifération des tumeurs [Nishizuka, 1986]. Ainsi la quercétine empêche la croissance de nombreuses tumeurs

malignes [Gschwendt, 1983]. Une étude récente consacrée à l'activité anti-tumorale des flavonoïdes et plus particulièrement aux relations entre la prolifération des cellules tumorales et la structure chimique des flavonoïdes a montré que les flavones substitués par un glucose inhibent la croissance des tumeurs alors que les mêmes composés substitués par un rhamnose ou un lutinose en une position identique sont inactifs ; l'isoquercitrine est le composé le plus actif [Kamei, 1996].

(x) une activité inhibitrice de la xanthine oxydase, enzyme qui catalyse l'oxydation de la xanthine en acide urique responsable des crises de goutte [Iio, 1985 ; Costantino, 1992]

Plus récemment, des travaux épidémiologiques ont été consacrés à l'étude de la relation entre l'apport de flavonoïdes, le cancer et les maladies cardio-vasculaires. A ce jour, les conclusions de ces recherches suggèrent qu'un apport élevé en flavonoïdes tels que la quercétine pourrait réduire le risque de maladie coronarienne mais il ne semble pas jouer un rôle important dans la prévention du cancer [Hertog, 1996].

Les flavonoïdes possèdent donc un très large éventail d'actions biologiques et à ce jour de nombreux travaux de recherches concernant les propriétés de ces molécules ne cessent d'être publiés. D'importants progrès ont été faits pour tenter de comprendre leur mécanisme d'action et essayer d'établir des relations entre la structure et l'activité de ces composés.

### *1.2.3 - Propriétés complexantes des flavones et flavonols.*

La capacité des composés phénoliques à former des complexes avec les métaux (le fer, le magnésium, l'aluminium, le cuivre...) par un processus de chélation a longtemps été utilisée dans un but analytique, notamment pour la révélation des chromatogrammes et pour le dosage de ces substances. Aujourd'hui, grâce à leurs propriétés complexantes, les flavonoïdes sont utilisés pour détecter la présence d'ions métalliques tels que le fer [Fernandez Band, 1988], le zirconium, l'antimoine [Sekhon, 1983]... Il est connu depuis longtemps que le phénomène de complexation joue le rôle le plus important dans la coloration des plantes et plus récemment, des études ont montré que la capacité des flavonoïdes à inhiber la croissance et le développement de certains insectes proviendrait de leurs propriétés complexantes des métaux [Harborne, 1993]. L'activité antibactérienne des flavones est également imputée à leur aptitude à chélater les ions métalliques nécessaires au métabolisme bactérien [D'Mello, 1997].



L'activité antioxydante et notamment la propriété de "vitamine P" des flavonoïdes est reliée à cette capacité à complexer les métaux et de nombreuses applications en découlent. Plus précisément, ces molécules peuvent piéger les radicaux libres responsables de l'oxydation en complexant les ions métalliques catalyseurs de la réaction de formation de ces radicaux [Baumann, 1980 ; Cavallini, 1978 ; Naim, 1976 ; Thompson, 1976 ; Younes, 1981]. Cette capacité à inhiber l'oxydation en complexant les ions cuivriques a été reconnue comme importante dans la protection de l'acide ascorbique présent dans les jus de fruits naturels [Morton, 1968 ; Shrikhande, 1974].

Les chélates formés entre les flavones et les métaux sont plus solubles en milieu aqueux que les molécules libres. L'obtention de rutine sous une forme soluble est réalisée en complexant la molécule avec des métaux tels que le fer, le manganèse, le cobalt qui sont des compléments nutritifs importants [Krewson, 1952].

Depuis la découverte d'une relation entre l'activité de certains flavonoïdes et leur capacité à chélater les ions métalliques, de nombreuses études sont consacrées à la complexation de molécules telles que la quercétine, la rutine, la morine avec divers métaux, le cobalt, le nickel, le cuivre [Pusz, 1992], le molybdène [Malesev, 1991(a)], l'euporium [Malesev, 1993].... Dans ces travaux, réalisés à différents pH, les chélates sont formés selon des techniques variables et dans des milieux très divers (mélanges eau-alcool, alcool pur, DMSO...). Cependant, malgré des résultats aussi épars que nombreux, le mécanisme de formation ainsi que la structure de ces chélates sont rarement proposés et souvent, seules des hypothèses sont émises.

## ***Chapitre II : Propriétés spectroscopiques des flavones et flavonols***

### **II.1 – Introduction.**

La littérature compte de nombreux articles concernant l'étude spectroscopique des flavonoïdes. Ces travaux sont en général réalisés dans le but d'identifier de nouveaux pigments phénoliques et de connaître la localisation, le nombre et la nature des différents groupements fonctionnels présents sur la molécule. Deux types de travaux sont essentiellement rencontrés : les études analytiques, où les molécules sont globalement identifiées par comparaison directe à un produit de référence et les études d'ordre structural où l'intérêt se porte sur l'attribution de certaines fréquences caractéristiques à des groupements ou interactions spécifiques.

### **II.2 - La spectroscopie d'absorption UV-visible.**

La spectroscopie électronique est communément utilisée pour caractériser les composés flavoniques. Cette technique a l'avantage de ne nécessiter qu'une très faible quantité de produit et d'être facilement mise en œuvre. Elle ne fournit cependant qu'un nombre limité d'informations structurales. Les spectres des flavones et flavonols sont généralement enregistrés dans le méthanol ou l'éthanol. L'utilisation de réactifs tels que le chlorure d'aluminium, l'éthylate de sodium, l'acétate de sodium et l'acide borique dans l'acétate de sodium a permis d'augmenter considérablement le nombre d'informations nécessaire à l'identification et à l'analyse structurale de ces pigments. L'addition de chacun de ces réactifs à une solution alcoolique de flavonoïde peut produire un déplacement des bandes d'absorption du spectre UV-visible du composé, l'amplitude de ce déplacement étant caractéristique de la localisation des différents groupements fonctionnels présents sur la molécule [Jurd, 1962 ; Mabry, 1970].

L'absorption des flavones et flavonols est généralement intense dans la région 320-380 nm (bande I) et dans la région 240-270 nm (bande II). Selon certains auteurs la position et l'absorbance de chacune de ces bandes varient selon la contribution relative à la résonance totale de la molécule des formes mésomères benzoyle, cynamoyle et pyronium (Fig. II.1).

Bien que ces différentes formes interviennent, les spectres en solution neutre ou alcaline des flavones et flavonols substitués suggèrent que la bande I est principalement associée à l'absorption du cycle B (forme cinnamoyle) et que la bande II caractérise celle du cycle A (forme benzoyle) [Harborne, 1967]. Ainsi, l'introduction d'un groupement électronégatif tel qu'un hydroxyle sur le cycle B augmente la contribution relative de ce cycle et produit un déplacement bathochrome de la bande I. De la même façon, la substitution du cycle A par ce groupement tend à augmenter la position et l'absorbance de la bande II [Jurd, 1962].

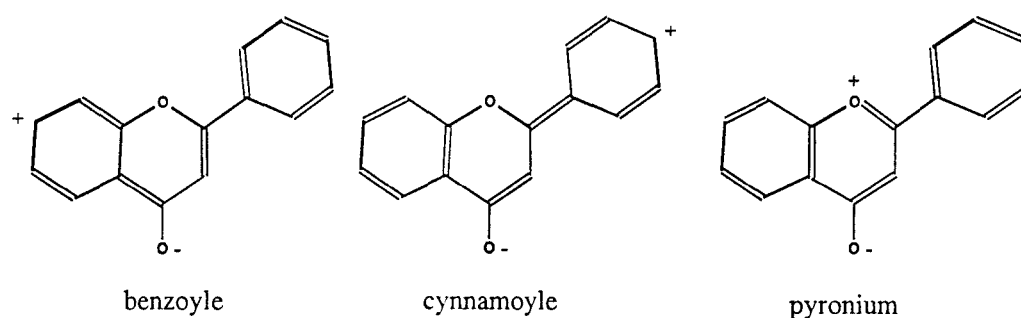


Fig. II.1 : Les différentes formes de résonance des flavonoïdes.

Les groupements hydroxyles jouent donc le rôle d'auxochromes et leurs présences sur les chromophores aromatiques entraînent toujours un déplacement bathochrome de la bande I. La position de la bande II est généralement moins sensible à la présence de différents substituants sur la flavone. L'amplitude du déplacement varie en fonction de la position du substituant :

(i) l'hydroxylation en une position conjuguée avec la fonction carbonyle (4' ou 7) provoque un déplacement bathochrome marqué.

(ii) l'hydroxylation en 3 (flavonol) ou en 5 conduit à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires et entraîne également un déplacement vers les grandes longueurs d'onde [Harborne, 1963].

La méthylation, notamment des systèmes polyhydroxylés, produit un effet hypsochrome sur les spectres. Un effet important semble être associé à la méthylation d'un groupement hydroxyle dans une position conjuguée au carbonyle mais ce n'est pas toujours le cas : la méthylation en 7 n'entraîne pas de modifications spectrales significatives alors que celle en 4' conduit à un déplacement de la bande I des flavones et flavonols vers les plus

faibles longueurs d'onde. La méthylation d'un hydroxyle en position 3 et 5 provoque la rupture de la liaison hydrogène avec la fonction carbonyle, il s'ensuit un déplacement hypsochrome important des bandes I et II dans le cas de la méthylation en 5 et uniquement de la bande I dans le cas de la position 3 [Harborne, 1963 ; Jurd, 1962].

La glycosylation produit un effet hypsochrome très semblable à celui de la méthylation. En général, la nature de la molécule glucidique (galactose, arabinose, rutinosé...), n'affecte pas le spectre d'absorption mis à part dans le cas du rhamnose ; les 3-rhamnosides des flavonols présentent une bande I dont le maximum d'absorption est décalé d'environ 10 nm vers les plus faibles longueurs d'onde par rapport au 3-glucoside correspondant [Harborne, 1963].

Le caractère acide des fonctions phénols et leur possibilité d'ionisation en milieu alcalin sont également exploités lors de l'étude des spectres d'absorption des flavonoïdes. De larges déplacements bathochromes ainsi qu'une augmentation de l'absorbance des bandes sont observés dans la plupart des cas, l'amplitude des déplacements étant proportionnelle à la nature électro-attracteur des substituants présents sur la molécule phénolique. Ces réactifs sont souvent utilisés pour déterminer la position des résidus glucidiques qui bloquent certains groupements hydroxyles. Dans l'éthylate de sodium  $2.10^{-3}$  M, toutes les fonctions phénols sont plus ou moins ionisées et un déplacement bathochrome des deux bandes d'absorption, variable selon la nature de la substance considérée, est observé. Ce réactif est également utilisé pour détecter la présence simultanée de groupements hydroxyles en position 3 et en 4' sur une molécule. En suivant les travaux de Dechene [1951] sur la stabilité relative de la quercétine et de la rutine en solution alcaline, Jurd et Horowitz [1961] remarquent que les flavonols dont le groupement hydroxyle en C3 ou C4' est protégé par méthylation ou glycosylation sont stables dans l'éthylate de sodium alors que ceux dont les groupements hydroxyles en 3 et en 4' sont libres, se décomposent rapidement et la bande I du spectre UV-visible disparaît.

En opérant dans l'acétate de sodium, milieu moins alcalin, seuls les groupements hydroxyles présentant un caractère acide accentué sont ionisés (c'est-à-dire ceux en position 7, 3 et 4') et ce milieu est utilisé pour les mettre en évidence. L'ionisation des hydroxyles en position 3 et 4' produit un déplacement bathochrome de la bande I sans affecter la bande II alors qu'un déplacement bathochrome de 8 à 20 nm de la bande II est observé dans le cas d'un hydroxyle en position 7. En présence d'acétate de sodium, l'acide borique se chélate uniquement avec les composés phénoliques contenant des groupements catéchol, ce qui

produit un déplacement bathochrome de 15 à 30 nm de la bande I. Les spectres des composés ne possédant pas un tel groupement sont inchangés [Jurd, 1962].

Contrairement au bore, l'aluminium(III) n'est pas spécifique dans son pouvoir de chélation et la formation de complexes métalliques avec celui-ci est une propriété caractéristique des flavonoïdes possédant un groupement hydroxyle libre en position 3, en position 5 ou possédant deux groupements hydroxyles adjacents. Dans le méthanol, la formation de complexes en position 3 et 5 se traduit par un déplacement bathochrome important de la bande I qui n'est pas affecté par une addition d'acide chlorhydrique, alors que dans le cas du groupement catéchol, le complexe formé est instable en milieu acide. Dans l'éthanol, le complexe avec le catéchol est sensible à la présence d'eau qui peut gêner sa formation [Porter, 1970(b)].

Selon Pownall, la première transition électronique de la flavone qui apparaît sous la forme d'un épaulement de la bande I à 368 nm présente un caractère  $n-\pi^*$  alors que celles apparaissant à 296 nm (bande I) et 258 nm (bande II) sont de type  $\pi-\pi^*$  (mesures réalisées dans le cyclohexane à 77K) [Pownall, 1974].

En 1984, Wolfbeis *et al.* observent que la bande I de certaines mono-hydroxy et mono-méthoxy flavone subit un déplacement bathochrome lorsque la polarité du solvant augmente et que les valeurs du coefficient d'extinction molaire  $\epsilon$  sont supérieures à  $10\,000\text{ mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Ils en concluent que la bande I a un caractère essentiellement  $\pi-\pi^*$  se mélangeant avec certains états  $n-\pi^*$  et avec des états de transferts de charges de plus faible probabilité [Wolfbeis, 1984]. Ils remarquent également que :

(i) la bande I ne résulte pas d'une transition électronique unique mais qu'elle est composée de plusieurs transitions formant des épaulements et inflexions.

(ii) la 5-hydroxyflavone présente une valeur de  $\epsilon$  très faible pour la première transition, celle-ci étant susceptible de correspondre à une transition  $\pi-\pi^*$  possédant soit un certain caractère  $n-\pi^*$ , soit un transfert de charges, soit les deux simultanément.

En 1996, Vrielynck étudie au moyen de calculs semi-empiriques la nature des orbitales et prévoit les transitions à l'origine des bandes d'absorption observées sur les spectres UV-visible de la flavone, la 3-hydroxyflavone et la 5-hydroxyflavone. Parmi les résultats obtenus, les conclusions suivantes peuvent être retenues [Vrielynck, 1996] :

(i) toutes les transitions ont un caractère  $\pi$ - $\pi^*$  marqué (aucune transition de type  $n$ - $\pi^*$  ne semble à l'origine de bandes présentes sur les spectres).

(ii) c'est l'ensemble de la molécule et non un chromophore spécifique qui est impliqué dans les transitions principales.

(iii) l'hydroxylation de la flavone en position 3 ou 5 modifie considérablement son spectre d'absorption UV-visible et ces modifications sont spécifiques au mode de substitution : une substitution en 5 perturbe davantage les propriétés électroniques de la flavone qu'une substitution en 3.

(iv) les transitions électroniques observées sur le spectre de la 5-hydroxyflavone sont de nature différente de celles observées sur les spectres de la flavone et de la 3-hydroxyflavone.

### II.3 - La spectroscopie d'absorption infrarouge.

Bien que de nombreuses études relatives à la détermination structurale des flavonoïdes au moyen de la spectroscopie d'absorption UV-visible aient été réalisées, les travaux concernant la spectroscopie infrarouge des flavones et des flavonols sont plus rares et se confinent essentiellement à une discussion sur les fréquences de vibration des groupements hydroxyles et de la fonction carbonyle.

La réalisation des spectres infrarouge se fait généralement à l'état dissous dans des solvants transparents tels que le tétrachlorométhane. Cependant, les flavonoïdes sont des composés faiblement solubles dans les solvants usuels et l'enregistrement des spectres se fait à l'état solide avec dispersion du produit cristallisé dans le nujol (huile de paraffine très purifiée) ou plus souvent réalisation de pastille de bromure de potassium qui nécessite une plus faible quantité de produit. Néanmoins, les spectres obtenus à l'état solide sont souvent différents de ceux de la molécule en solution.

La région  $3000$ - $3500\text{ cm}^{-1}$  qui correspond aux vibrations d'élongation des liaisons hydroxyles  $\nu(\text{O-H})$  fournit certaines informations structurales. En effet, la position d'un OH sur la molécule détermine la fréquence et l'intensité de la bande correspondante. Plus ce groupement est impliqué dans des liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires fortes, plus la bande correspondante devient faible en intensité et apparaît à des nombres d'onde faibles [Wagner, 1963]. Lebreton et Chopin [1963] situent les bandes des groupements hydroxyles

soumis aux seules liaisons hydrogène intermoléculaires vers  $3400\text{ cm}^{-1}$  alors que celles des groupements également impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires apparaissent vers  $3150\text{ cm}^{-1}$  ( $2600\text{ cm}^{-1}$  pour la 5-hydroxyflavone).

Les modifications observées sur la fréquence d'élongation de la fonction carbonyle  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , en fonction de la nature et de la position des substituants présents sur le noyau flavonique sont particulièrement étudiées.

L'introduction d'un groupement hydroxyle en position 3 qui stabilise la structure ionique b (Fig. II.2) provoque un déplacement de fréquence de la  $\nu(\text{C}=\text{O})$  d'environ  $-30\text{ cm}^{-1}$  dans  $\text{CCl}_4$  [Shaw, 1955 ; Looker, 1962] et de  $-20\text{ cm}^{-1}$  à l'état solide [Briggs, 1962 ; Wagner, 1963]. Ce déplacement, indicateur de la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre la fonction carbonyle et l'hydroxyle en position 3, est d'une amplitude surprenante étant donné qu'un cycle à cinq carbones est formé : les déplacements dus à la présence de liaison hydrogène sont généralement associés à la formation d'un cycle à six atomes énergétiquement plus favorable. De plus, la liaison hydrogène formée n'est pas particulièrement forte si l'on se réfère à la position de la bande de vibration  $\nu(\text{O}-\text{H})$  de l'hydroxyle en position 3 [Briggs, 1962]. Une substitution supplémentaire sur le flavonol par un hydroxyle en position 7 ou 4' entraîne également un déplacement vers les plus basses fréquences du fait de la participation de ces hydroxyles à la stabilisation par résonance (Fig. II.2, c et d) [Shaw, 1955 ; Simpson, 1952].

Des études sur la 5-hydroxyflavone ont révélé que les spectres infrarouge de cette molécule sont anormaux sous certains aspects. De manière assez surprenante, l'introduction d'un groupement hydroxyle en position 5 n'entraîne aucune diminution marquée de la fréquence  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , malgré la présence indéniable d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte. La bande correspondant à la  $\nu(\text{O}-\text{H})$  de l'hydroxyle en position 5 n'est pas réellement détectable ou masquée par une vibration  $\nu(\text{C}-\text{H})$  [Shaw, 1955 ; Looker, 1962]. Briggs et Colebrook [1962] proposent une explication à ce phénomène à partir des possibilités de résonance de la molécule en considérant les formes limites b, c et d (Fig. II.3). D'après l'étude de composés  $\gamma$ -pyrone simples, la stabilisation de la structure par liaison hydrogène provient essentiellement des structures b et c, ce qui signifie que les relations de résonance de la 5-hydroxyflavone sont de même nature que celles de la flavone non substituée.

Lebreton et Chopin [1963] considèrent trop simpliste cette interprétation du déplacement de fréquence de la  $\nu(\text{C}=\text{O})$  vue sous le seul angle de l'additivité des différentes formes limites. Ils attribuent "l'anomalie de comportement" des dérivés hydroxylés en position 5 comme le résultat global de nombreuses interactions compétitives voire antagonistes sollicitant le groupement carbonyle.

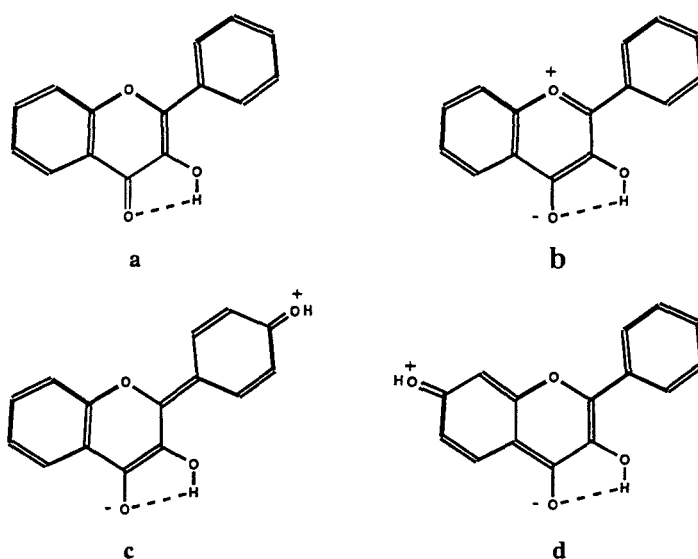


Fig. II.2 : Formes de résonance de la 3-hydroxyflavone (a, b), de la 3,4'-dihydroxyflavone (c), et de la 3,7-dihydroxyflavone (d).

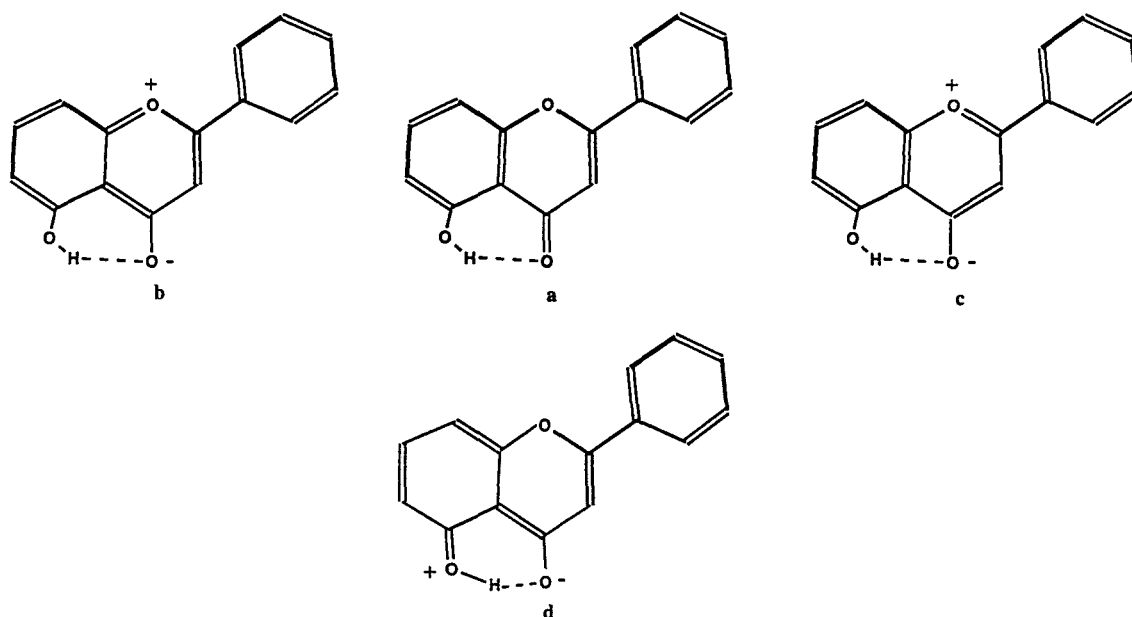


Fig. II.3 : Formes de résonance de la 5-hydroxyflavone.



En 1974, José *et al.* remettent en cause l'attribution reportée pour les bandes présentes dans la région des doubles liaisons, celle-ci étant basée sur l'hypothèse que la bande de plus haute fréquence correspond toujours à l'absorption du carbonyle, bien que la  $\nu(\text{C}=\text{C})$  soit connue pour absorber jusqu'à  $1680\text{ cm}^{-1}$ . Afin d'attribuer sans ambiguïté la bande de vibration  $\nu(\text{C}=\text{O})$  des flavones et isoflavones, ils étudient l'effet de l'addition d'iode et de  $\text{BF}_3$  sur le spectre infrarouge de composés sélectionnés. Ils concluent que la bande de haute fréquence de la flavone ainsi que la bande à  $1615\text{ cm}^{-1}$  de la 3-hydroxyflavone, comprend à la fois les absorptions  $\nu(\text{C}=\text{O})$  et  $\nu(\text{C}2=\text{C}3)$ . Dans le cas de dérivés hydroxylés en 5, la bande située vers  $1650\text{ cm}^{-1}$  provient de l'absorption  $\nu(\text{C}2=\text{C}2)$  alors que l'absorption  $\nu(\text{C}=\text{O})$  apparaît à  $1620\text{ cm}^{-1}$ . Comme les bandes de vibration  $\nu(\text{O}5-\text{H})$  et  $\nu(\text{O}3-\text{H})$  sont localisées à  $2900$  et  $3350\text{ cm}^{-1}$  respectivement et que la 5-hydroxyflavone ne se complexe pas avec l'iode, ils supposent que la liaison hydrogène intramoléculaire dans la 3-hydroxyflavone est beaucoup plus faible que celle présente dans la 5-hydroxyflavone malgré une fréquence d'élongation  $\nu(\text{C}=\text{O})$  plus basse. Ils invoquent la contribution de la forme polaire b (Fig. II.4) pour interpréter ce résultat.

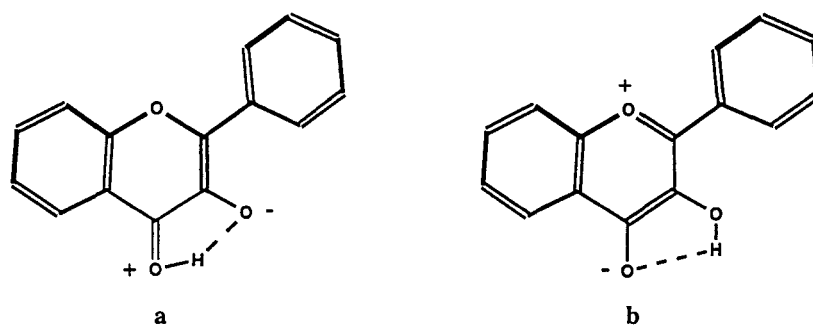


Fig. II.4 : Formes polaires de la 3-hydroxyflavone.

Concernant la vibration d'élongation  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , il a également été remarqué que :

(i) l'introduction d'un groupement hydroxyle en 5 sur un flavonol annule l'influence du groupement hydroxyle en 3 sur la fonction carbonyle. Ce résultat est en accord avec les données chromatographiques qui indiquent que les deux systèmes sont opposés [Shaw, 1955] et Wagner [1963] l'explique en terme de compétition entre les formes mésomères. Il s'ensuit une augmentation de la fréquence d'élongation  $\nu(\text{O}-\text{H})$  de l'hydroxyle en 3 traduisant une diminution de la force de la liaison hydrogène.

(ii) l'introduction de groupements hydroxyles en 3' et 4' entraîne un très faible déplacement en fréquences (bien que la position 4' soit conjuguée avec la fonction carbonyle), déplacement associé à des effets intermoléculaires plutôt qu'intramoléculaires [Briggs, 1962].

(iii) la présence de groupements méthoxyles influence très peu la fréquence de cette vibration [Looker, 1962].

(iv) la fréquence  $\nu(\text{C}=\text{O})$  est plus basse à l'état solide qu'en solution. Seule la 5-hydroxyflavone présente une fréquence relativement identique dans les deux états physiques, preuve supplémentaire d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte rendant la fonction carbonyle moins sujette à la polarisation de l'état solide [Looker, 1962]. Des déplacements plus larges pour la  $\nu(\text{C}=\text{O})$  ont lieu lors du passage de l'état solide à la solution sur le spectre de nombreuses mono-hydroxyflavones, indiquant la présence probable d'interactions intermoléculaires importantes dans la matrice du cristal des dérivés flavoniques. L'interprétation des spectres de l'état solide peut être rendue plus difficile par la présence de bandes provenant d'interactions dans le cristal plutôt que de la molécule elle-même [Wagner, 1963].

Les spectres des flavonoïdes contiennent également des bandes caractéristiques très utilisées dans la gamme de fréquences  $680\text{-}870\text{ cm}^{-1}$ , région attribuée aux déformations C-H hors du plan et provenant essentiellement des vibrations en phase des atomes d'hydrogène du cycle B. Les bandes les plus fortes en intensité et les plus faibles en fréquence correspondent en général à celles où tous les H vibrent en phase. La table II.1 présente les principaux signaux et leur attribution.

D'autres bandes d'absorption caractéristiques sont également attribuées par les différents auteurs, il s'agit notamment :

(i) des bandes d'absorption  $\nu(\text{C}-\text{O})$  impliquant l'oxygène du pont C-O-C du cycle  $\gamma$ -pyrone. Situées vers  $1400\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  chez les flavones et les flavonols, elles sont de forte intensité et l'existence de couplages mécaniques avec les modes de déformation dans le plan  $\delta(\text{O}-\text{H})$  [Looker, 1962] ainsi qu'avec les élongations  $\nu(\text{C}-\text{O})$  des hydroxyles phénoliques [Lebreton, 1963] est envisagée.

(ii) de quatre bandes dues aux vibrations dans le plan du phényle latéral dans la région  $1625\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$  [Lebreton, 1963].

| cycle B non substitué [Wagner, 1963] |                                      |                  |
|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------|
|                                      | positions bandes (cm <sup>-1</sup> ) | attribution      |
| flavones<br>et                       | 760 - 776                            | δ (C-H) en phase |
| flavonol                             | 690 - 704                            |                  |

| cycle B substitué en 4' [Wagner, 1963] |                                      |                    |
|--|--------------------------------------|--------------------|
|  | positions bandes (cm <sup>-1</sup> ) | attribution        |
| flavone                                | 826 - 836 (forte)                    |                    |
| flavonol                               | 826 - 836                            |                    |
|  | 795 - 810                            | squelette chromone |

| cycle B substitué en 3' et en 4' [Briggs, 1962] |                                      |                      |
|---|--------------------------------------|----------------------|
|   | positions bandes (cm <sup>-1</sup> ) | attribution          |
| flavones<br>et                                  | 800 - 829                            | δ (C-H) ( 5' et 6' ) |
| flavonol  | 858 - 898                            | δ (C-H) ( 2' )       |

Table II.1 : Gammes de fréquences des bandes correspondant aux vibrations δ (C-H) du cycle B.

Les bandes de vibration ν(C-O) des sucres sont observées vers 1100-950 cm<sup>-1</sup>. Ces bandes, larges et intenses lorsqu'il s'agit du glucose et du galactose, permettent de différencier aisément les spectres des glycosides de ceux des aglycones. Par contre, dans le cas des arabinosides ou rhamnosides, les bandes sont faibles et la présence du sucre n'est pas toujours visible [Wagner, 1963].

D'après l'ensemble de ces données, il apparaît que les tentatives d'attribution des spectres infrarouge des composés flavoniques sont sommaires et concernent uniquement certains chromophores particuliers. La complexité de ces spectres due à l'absence de symétrie moléculaire, à la présence de nombreux couplages mais également à la présence d'harmoniques et de bandes de combinaisons explique les difficultés rencontrées.

En 1996, Vrielynck entreprend une étude plus approfondie des spectres infrarouge et Raman de la flavone, de la 3- et de la 5-hydroxyflavone en utilisant les données bibliographiques concernant les dérivés benzéniques mono-, ortho-di- et tri-substitués, les déplacements isotopiques observés sur les spectres de dérivés deutérés des composés étudiés et un calcul des modes normaux de vibration dans l'approximation harmonique pour les

différentes molécules [Vrielynck, 1996]. Ceci a permis de proposer une interprétation plus complète des spectres de vibrations et de démontrer que :

(i) les vibrations  $\nu(\text{C-C})$  caractérisées par les modes 8a, 8b, 19a, 19b et 14 sont localisées sur la zone spectrale  $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ . La notation de Wilson du benzène étendue aux modes de vibration des cycles aromatiques substitués est utilisée (cf. Annexe) [Wilson, 1934].

(ii) la vibration d'élongation de la liaison inter-cycle  $\nu(\text{C2-C1}')$  est localisée avec précision uniquement dans le cas de la flavone, mais est fortement couplée aux modes de vibration des cycles dans le cas de la 3- et de la 5-hydroxyflavone.

(iii) en ce qui concerne les vibrations  $\delta(\text{C-C})$ , plusieurs bandes caractéristiques des modes 6 sont observées ainsi qu'une bande spécifique de la respiration du phényle latéral à  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

(iv) les vibrations  $\nu(\text{C-H})$  apparaissent sur les spectres Raman vers  $3070\text{ cm}^{-1}$  sous la forme d'une bande large non résolue et sont spécifiques à chacun des cycles.

(v) les vibrations  $\gamma(\text{C-H})$  se situent sur la gamme  $900\text{-}700\text{ cm}^{-1}$  et sont en général caractéristiques d'un seul cycle.

(vi) les vibrations  $\delta(\text{C-H})$  sont localisées à des fréquences caractéristiques des dérivés benzéniques mono-, ortho-di- et tri-substitués sur la plage spectrale  $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ .

(vii) la zone  $1300\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  du spectre de la flavone, impliquant a priori de forts couplages mécaniques entre les déformations C-H et les élongations C-C des différents cycles, est très complexe et difficilement interprétable.

Cette étude a également mis en évidence un changement conformationnel des trois molécules selon leur état physique. Alors qu'elles sont quasi-planes à l'état solide, celles-ci adoptent une structure gauche en solution.

Une attention particulière portée sur les effets de solvants a indiqué une forte sensibilité de la vibration d'élongation  $\nu(\text{C=O})$  vis-à-vis de son environnement pouvant conduire à des déplacements importants en fréquence. Cette élongation peut alors coïncider avec des modes de vibrations caractéristiques des cycles et de la liaison  $\text{C2}=\text{C3}$ . Il faut ainsi être très prudent quant à l'attribution de ce domaine spectral, la raie la plus intense et avec la fréquence la plus élevée ne correspondant pas toujours à l'élongation  $\nu(\text{C=O})$  pure.

## II.4 - La spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

L'avancée vers des spectromètres à hauts champs a permis de réaliser les spectres RMN du proton  $^1\text{H}$  et du carbone  $^{13}\text{C}$  des flavonoïdes, techniques complémentaires très largement utilisées pour l'analyse structurale des flavonoïdes. Plus récemment, la réalisation de spectres à deux dimensions hétéronucléaires et homonucléaires s'est fortement répandue apportant davantage d'informations structurales sur ces molécules. La nécessité d'un solvant utilisable pour les deux méthodes et capable de dissoudre un grand nombre de molécules, aglycones et glycosides, a conduit à l'utilisation du DMSO- $d_6$ . Les solvants tels que la pyridine- $d_5$ , le méthanol- $d_4$  et l'acétone- $d_6$  sont utilisés dans certains cas, notamment quand les signaux du DMSO- $d_6$  cachent certaines portions du spectre.

### II.4.1 - La RMN du proton $^1\text{H}$ .

Massicot *et al.* [1962, 1963] ont montré que lorsqu'il y a conjugaison entre les cycles A et B, ce qui est le cas des flavones et flavonols, la nature et la position des substituants du noyau A n'interviennent pas sur le déplacement chimique des protons du noyau B et vice-versa.

#### II.4.1.a – Protons aromatiques du noyau A.

Les protons aromatiques du cycle A résonnent toujours à des champs plus élevés que ceux du noyau B. Dans les composés flavoniques naturels, le noyau A est généralement hydroxylé en position 5 et 7 et les deux seuls protons à considérer sont alors ceux situés en 6 et en 8. La substitution de H3 (flavone) par un hydroxyle (flavonol) n'a aucun effet sur le déplacement chimique de H6 et H8, ces deux protons présentent des signaux séparés qui apparaissent sous forme de doublet [Markham, 1993]. Dans le cas de 7-hydroxyflavones, le proton en position 5 est fortement déblindé par la présence du groupement carbonyle et se présente vers 8 ppm sous la forme d'un doublet en raison du couplage avec H6. Les signaux de H6 et H8 apparaissent alors à des champs plus faibles que dans le cas des 5,7-dihydroxyflavones et leurs positions relatives peuvent être inversées [Harborne, 1975]. La table II.2 présente les intervalles dans lesquels les déplacements chimiques de ces différents protons peuvent être attendu.

|   | δ en ppm (DMSO-d <sub>6</sub> ) |                 |               |
|---|---------------------------------|-----------------|---------------|
|   | H6                              | H8              |               |
| 5,7-dihydroxyflavone<br>et<br>5,7-dihydroxyflavonol | 6,16 - 6,25 (d)                 | 6,39 - 6,56 (d) |               |
|   | H6                              | H8              | H5            |
| 7-hydroxyflavone                                    | 7,9 - 8,2 (d)                   | 6,7 - 7,1 (q)   | 6,7 - 7,0 (d) |

Table II.2 : Déplacements chimiques des protons aromatiques du noyau A ( d et q signifient respectivement que le signal apparaît sous forme d'un doublet et d'un doublet dédoublé).

#### II.4.1.b – Protons aromatiques du noyau B.

Les déplacements chimiques des protons du noyau B dépendent du degré d'oxydation de ce cycle mais généralement H3' et H5' résonnent à des champs plus élevés que H2' et H6'. Lorsque le noyau B n'est pas substitué, le spectre présente deux groupes de signaux, l'un correspondant aux deux protons H2' et H6' et l'autre aux trois protons H3', H4' et H5' [Grouiller, 1966]. Dans le cas des flavones hydroxylées en 4', à cause de la libre rotation du cycle B, les protons en 2' et 6' ainsi que ceux en 3' et 5' apparaissent sous la forme de deux paires de doublets couplés en ortho. Le doublet correspondant à H3' et H5' apparaît à des champs plus forts que celui de H2' et H6' [Harborne, 1975] et le déplacement chimique de H2' et H6' dépend toujours du degré d'oxydation du cycle C. Pour les 3',4'-dihydroxyflavones, H2' et H5' apparaissent sous la forme d'un doublet et H6' sous la forme d'un doublet dédoublé (q). La table II.3 présente les intervalles où apparaissent les signaux des protons aromatiques du cycle B.

#### II.4.1.c – Proton hétérocyclique du cycle C.

Le signal du proton H3 du cycle C des flavones est influencé par les substituants présents sur les deux cycles aromatiques A et B. Il apparaît sous la forme d'un singulet vers 6,3 ppm qui peut se confondre avec les signaux de H6 et/ou H8 des 5,6,7- ou 5,7,8-trihydroxyflavone ou 5,6,7,8-tétrahydroxyflavone.

| cycle B non substitué [Grouillier, 1966]            |                 |                 |                 |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | H2' H6'         | H5' H3' H4'     |                 |
| flavone   | 8,05 (m)        | 7,63 (m)        |                 |
| flavonol  | 8,25 (m)        | 7,63 (m)        |                 |
| cycle B substitué en 4' [Harborne, 1975]            |                 |                 |                 |
|   | H2' H6'         | H5' H3'         |                 |
| flavone   | 7,70 - 7,90 (d) | 6,50 - 7,10 (d) |                 |
| flavonol  | 7,90 - 8,10 (d) | 6,50 - 7,10 (d) |                 |
| cycle B substitué en 3' et en 4' [Grouillier, 1966] |                 |                 |                 |
|   | H2'             | H6'             | H5'             |
| flavone   | 7,60 (d)        | 7,50 (m)        | 7,00 (d)        |
| flavonol  | 7,74 - 7,78 (d) | 7,65 - 7,68 (m) | 7,98 - 7,01 (d) |

Table II.3 : Déplacements chimiques des protons aromatiques du noyau B (d, q, m signifient respectivement doublet, doublet dédoublé et multiplet).

#### II.4.1.d – Protons des glycosydes.

Les oses seuls ont longuement été étudiés en RMN, mais dans le cas des hétérosides flavoniques, intervient le problème de la liaison entre l'ose et l'aglycone. En l'absence de substituant en 2', 3', 5' et 6', la glycosylation en position 3 avec un monosaccharide autre que le rhamnose a peu d'influence sur la résonance du cycle B. Dans le cas où un rhamnose seul ou comme partie d'un disaccharide est présent en position 3, les protons en 2' et 6' sont blindés de 0,2 à 0,5 ppm. En présence de substituants en position 2', 3', 5' et/ou 6', la glycosylation en position 3 peut produire un effet d'encombrement stérique menant à un déplacement chimique des protons du cycle B [Markham, 1993].

Le glucose forme habituellement une liaison du type  $\beta$  avec l'aglycone et le proton porté par le carbone anomérique (H1'') présente avec le proton H2'' un couplage axial – axial. La constante de couplage entre H1'' et H2'' des glucosides 3-  $\beta$  liés est d'environ 7 Hz à cause de ce couplage diaxial. Ceci est particulièrement bien défini lorsque le sucre subit des restrictions de rotation par rapport au noyau flavonique [Mabry, 1970]. Si le glucose est fixé en position 3, H1'' apparaît sous la forme d'un doublet vers 5,7 ppm alors que si celui-ci est en position 7, la résonance de H1'' est représentée par un large signal vers 5 ppm [Grouillier, 1966]. Le signal de H1'' est généralement celui qui résonne vers les champs les plus faibles, les autres protons du glucose apparaissent vers 3,3 – 3,9 ppm.

#### II.4.2 - La RMN du carbone $^{13}\text{C}$ .

L'abondance naturelle du carbone  $^{13}\text{C}$  est de 1,1 % de l'ensemble des carbones et son moment magnétique est d'environ 25 % de celui du proton, le carbone  $^{13}\text{C}$  est ainsi 62,5 fois plus difficile à détecter que le proton. Des échantillons plus concentrés sont nécessaires pour obtenir une intensité raisonnable. Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  sont généralement enregistrés en mode découplé afin d'éviter les recouvrements importants des signaux pouvant provenir des fortes constantes de couplages C-H. Les multiplets sont ainsi réduits à des traits uniques permettant de connaître le nombre de carbones dans un produit naturel. Les carbones des flavones et flavonols résonnent essentiellement entre 90 et 185 ppm et leurs déplacements chimiques, directement reliés à la densité électronique autour du noyau, est utile pour caractériser la structure d'une molécule. Ainsi, les carbones présentant une densité électronique relativement faible tels que le carbone de la fonction carbonyle et les carbones oxygénés résonnent aux champs les plus faibles (130 - 185 ppm) alors que les hydrocarbures et les carbones aliphatiques résonnent aux champs forts (0 - 110 ppm). La présence de nombreux signaux dans la région 60 - 80 ppm indique la présence de carbones glycosidiques.

Les cycles A et B sont largement indépendants l'un de l'autre et un changement dans la substitution de l'un n'a pas de conséquence sur les caractéristiques spectrales de l'autre. Les signaux des carbones de ces deux cycles ne se superposent pas et sont indépendants. Cependant, les six carbones du cycle B peuvent donner lieu à moins de cinq signaux quand ce cycle est substitué ou lorsqu'il possède une substitution symétrique. Par leur hybridation  $\text{sp}^2$ , C2 et C3 sont de type oléphinique et résonnent respectivement entre 157,4 - 165,8 ppm et 102,3 - 113,7 ppm. La présence de la double liaison C2=C3 influe également sur le déplacement chimique de C4 qui est compris entre 175,2 et 183,4 ppm [Agrawal, 1989].

L'interprétation des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  est facilitée par un important nombre de spectres de références et des compilations concernant les flavones, les flavonols et leurs O-glycosides sont désormais disponibles [Agrawal, 1989 ; Markham, 1978 , 1982 ; Iinuma, 1980 ; Roitman, 1985]. Partant du principe que tout substituant a une influence sur la valeur du déplacement chimique du carbone qui le porte (C1) mais également sur celle des carbones voisins, des principes d'additivité ont été établis pour guider l'interprétation des spectres [Levy, 1980]. En recourant à ces règles de "l'effet du substituant", une estimation du déplacement chimique peut être faite. La table II.4 illustre ce principe d'additivité dans le cas de l'introduction d'un groupement hydroxyle.



| C1    | C ortho | C méta | C para |
|-------|---------|--------|--------|
| 26,90 | -12,70  | 1,40   | -7,3   |

Table II.4 : Influence de l'introduction d'un groupement hydroxyle sur le déplacement chimique des carbones voisins (en ppm).

Ce principe d'additivité est un guide fiable et utile pour interpréter les spectres mais il est parfois à remettre en cause notamment lorsque des modifications de la structure moléculaire sont engendrées par la formation de liaisons hydrogène dues à l'introduction de groupements hydroxyles en position 3 ou 5.

Lorsque l'on passe des flavones aux flavonols, les déplacements chimiques de C2, C3 et C4 sont très affectés par la substitution en position 3 et sont plus importants que ceux prévus par les règles d'additivité. Le signal correspondant à C3 se déplace de 32 ppm vers les champs faibles alors que ceux de C2 et C4 se déplacent vers les champs forts de 17 et 5 ppm respectivement. Les carbones C2 et C3 ont alors des déplacements chimiques compris entre 133,5 et 151,5 ppm et ils peuvent être différenciés par le fait que C2 résonne à des champs plus faibles que C3. La substitution en 3 par un hydroxyle a également des répercussions sur le déplacement chimique des carbones en position C2' et C6' qui augmentent de 2 à 2,3 ppm alors que celui de C4' diminue de 1,5 à 2 ppm [Agrawal, 1989].

L'introduction d'un hydroxyle en position 5 entraîne un déplacement du signal de C5 de 30 ppm vers les champs faibles et la formation de la liaison hydrogène intramoléculaire provoque un déblindage du signal de C4 de  $5,5 \pm 1,5$  ppm et un blindage de  $1,5 \pm 0,8$  ppm de celui correspondant à C3. Le déplacement chimique de C6 diminue de 18 ppm, valeur plus importante que celle prévue par les règles d'additivité [Ternai, 1976].

La partie sucre des molécules est normalement facilement identifiable à partir du spectre RMN  $^{13}\text{C}$ , le carbone anomérique C1 du sucre des flavonoïdes O-glycosylés apparaît vers 98 - 112 ppm et peut être parfois difficilement attribuable car les carbones C6, C8 et C10 des 5,7-dihydroxyflavones résonnent dans la même région. Le reste des carbones du sucre résonne entre 60 et 85 ppm. Par rapport aux spectres des aglycones, la glycosylation d'un groupement hydroxyle entraîne des changements importants, principalement pour les atomes directement impliqués dans le processus et pour ceux en position méta, ortho et para du site de glycosylation. Généralement, le carbone phénolique résonne à des champs plus forts alors que le déplacement chimique des carbones en ortho et en para augmente.

## **Conclusion**

L'étude bibliographique révèle que la spectroscopie des flavonoïdes est principalement utilisée à des fins analytiques, pour identifier les composés. Les spectroscopies d'absorption UV-visible, de RMN du proton et du carbone 13, qui permettent d'obtenir un nombre important d'informations structurales, sont les plus utilisées. Les résultats issus de la spectroscopie de vibration sont plus sommaires du fait de la complexité des spectres. La présentation des résultats obtenus à partir des différentes techniques spectroscopiques ne se veut en aucun cas exhaustive, cependant l'ensemble de ces conclusions a largement contribué à l'exploitation de nos spectres et dans les chapitres suivants, ces données seront utilisées directement sans en rappeler le détail.

## Partie II

*Etude structurale et  
spectroscopique de la quercétine et  
de l'isoquercitrine.*

## Introduction

Afin de mieux appréhender les relations structure-activité et structure-réactivité de la quercétine et l'isoquercitrine, la connaissance de leur conformation et de leurs propriétés spectroscopiques est particulièrement importante.

Après une analyse conformationnelle de la quercétine, nous nous sommes intéressés aux conséquences structurales et spectroscopiques induites par la glycosylation de cette molécule, et plus particulièrement aux modifications géométriques occasionnées par la substitution de l'hydroxyle en position 3 par un glucose. A ce titre, une étude structurale par modélisation moléculaire de l'isoquercitrine, l'un des flavonoïdes glycosylés les plus répandus [Hattori, 1962], a été entreprise.

Afin d'une part de valider les modèles théoriques obtenus par minimalisation d'énergie et d'autre part d'interpréter les spectres Raman, infrarouge, UV-visible et RMN de ces molécules, nous avons tenté de définir l'origine des différents signaux spectroscopiques observés et de relier certaines valeurs expérimentales aux propriétés structurales des modèles moléculaires obtenus.

## Chapitre I : Etude structurale de la quercétine et de l'isoquercitrine.

### I.1 – Introduction.

La quercétine (4H-1-benzopyran-4-one, 2-(3,4-dihydroxyphényl)-3,5,7-trihydroxy) (Fig. I.1a) est un des flavonoïdes naturels parmi les plus actifs biologiquement [Ferrell, 1979 ; Varma, 1976 ; Jones, 1982 ; Leighton, 1992]. Lorsque le groupement hydroxyle en position 3 est substitué par un glucose, son activité est modifiée. La molécule formée, la (4H-1-benzopyran-4-one, 2-(3,4-dihydroxyphényl)-3-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-5,7-dihydroxy) est appelée isoquercitrine (Fig. I.1b). Par exemple, l'effet hypotenseur par inhibition de l'enzyme de conversion [Kameda, 1987], l'activité anti-inflammatoire [Lasure, 1994 ; Lee, 1993] ainsi que l'activité inhibitrice de l'aldose réductase sont fortement modulés par la présence ou non d'un sucre sur l'aglycone. Cependant, la relation de conjugaison entre les cycles A et B de la molécule n'est pas modifiée par la glycosylation en position 3 [Williamson, 1996].

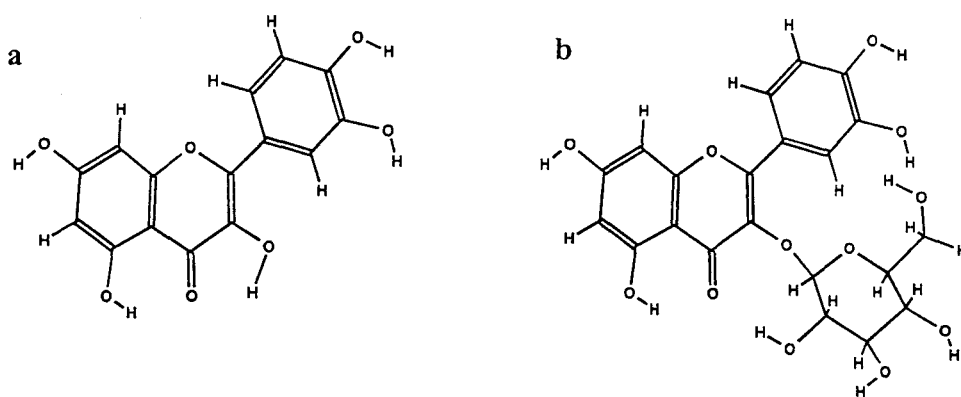


Fig. I.1 : Présentation de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b).

La glycosylation d'une molécule peut parfois totalement inhiber son activité. Par exemple, seuls les flavonols non glycosylés en position 3 possèdent des propriétés antivirales et mutagènes, la présence d'un hydroxyle en position 3 étant nécessaire à cette activité [Selway, 1986 ; Brown, 1979]. Greffer un sucre sur une molécule augmente sensiblement son encombrement stérique et peut également modifier ses propriétés. La quercétine est le plus

actif des inhibiteurs de la tyrosinase, l'isoquercitrine et la rutine (quercétine-3-O-rutinoside) sont moins efficaces car l'encombrement stérique dû à la partie sucre empêche l'approche de la molécule au niveau du site actif de l'enzyme [Kubbo, 1994].

L'activité des flavonoïdes glycosylés dépend également de la nature du sucre combiné à la molécule et cette activité semble provenir de la structure glycosyle plutôt que des structures de l'aglycone et du sucre considérées séparément.

## I.2 – Principe de l'analyse conformationnelle.

Des études structurales ont été réalisées antérieurement sur la flavone et sur certaines mono-hydroxyflavones, au moyen de calculs de chimie quantique. Les résultats, validés par la spectroscopie de vibration, ont montré que dans la majorité des cas, la conformation des dérivés flavoniques se modifie lors d'un changement d'état physique [Vrielynck, 1993, 1994 ; Cornard, 1995]. Par exemple, la flavone qui est quasiment plane à l'état solide, adopte une conformation gauche à l'état isolé avec un angle inter-cycle d'une valeur proche de 21°.

La conformation de ces composés est principalement régie par deux effets antagonistes : d'une part, la délocalisation électronique du système d'électrons  $\pi$  sur l'ensemble des cycles qui tend à conférer à la molécule une structure plane et d'autre part l'encombrement stérique important entre les hydrogènes ou leurs substituants en position 2' et 6' et le cycle  $\gamma$ -pyrone, qui a tendance à positionner le cycle B dans un plan perpendiculaire à la partie chromone. Il est souvent difficile de prévoir lequel de ces deux facteurs est prépondérant. D'autres effets tels que les interactions entre les groupements en position 6' et 3 doivent également être pris en compte.

A l'état solide, le champ cristallin provoque une modification des forces intermoléculaires et des interactions de natures différentes doivent être considérées.

## I.3 - Méthode de calcul utilisée.

Afin d'obtenir des renseignements sur la géométrie adoptée par la quercétine et l'isoquercitrine, une analyse structurale par modélisation moléculaire a été effectuée. Parmi les différentes méthodes de calculs, il est souvent difficile de connaître la mieux adaptée au problème posé. Il est évident qu'un traitement *ab initio* permet d'obtenir de très bons résultats, néanmoins, lorsque les molécules étudiées comportent un nombre d'atomes

relativement élevé, le temps de calcul nécessaire est très important. Les méthodes de mécanique moléculaire qui permettent d'étudier des systèmes macromoléculaires sont très rapides, mais elles ne fournissent que des résultats approchés et ne permettent pas d'obtenir toutes les informations recherchées. Un bon compromis entre ces deux types de méthode réside dans l'utilisation des calculs semi-empiriques qui donnent des résultats satisfaisants en un temps de calcul raisonnable. Ces méthodes, basées sur des calculs quantiques, sont paramétrées au moyen de données expérimentales. Parmi les différentes méthodes semi-empiriques existantes (MNDO, CNDO, MINDO, AM1, PM3...) il est important de choisir l'Hamiltonien adéquat c'est-à-dire celui permettant l'obtention d'un modèle capable de reproduire au mieux les données spectroscopiques. La comparaison des résultats obtenus par les différentes méthodes, sur la flavone et certaines mono-hydroxyflavones, a montré que la méthode AM1 est la mieux adaptée à l'étude de ces composés [Vrielynck, 1993]. Cette méthode, paramétrée dans le but d'éliminer les problèmes rencontrés avec la méthode MNDO, donne des résultats sensiblement identiques à ceux obtenus à partir d'un traitement *ab initio* et reproduit correctement les données expérimentales permettant ainsi leurs interprétations. De plus, la méthode AM1 a été paramétrée pour des systèmes impliquant des liaisons hydrogène [Dannenbergh, 1992], interactions couramment rencontrées dans la structure des flavonoïdes. La méthode MNDO a tendance à surestimer la répulsion entre les atomes et son utilisation pour optimiser la géométrie des flavonoïdes conduit notamment à une surévaluation de la valeur de l'angle dièdre définissant la position du cycle B par rapport à la partie chromone.

Au départ d'un calcul de minimalisation d'énergie, il est courant d'utiliser comme positions atomiques initiales, les coordonnées cartésiennes des atomes obtenues au moyen de la diffraction des rayons X. Dans un premier temps, l'énergie est généralement minimalisée par une méthode de mécanique moléculaire qui permet d'obtenir une approche de la géométrie adoptée par la molécule à l'état isolé. Le résultat de cette première minimalisation est ensuite utilisé comme donnée de base pour le calcul semi-empirique AM1 qui décrit également la structure électronique de la molécule. Du fait de la rapidité de la première méthode, cette procédure permet un gain important en temps de calcul.

La minimalisation est effectuée par l'algorithme de Polack-Ribière et le critère de convergence du système est défini par la valeur du gradient (dérivée première de la surface d'énergie potentielle). On impose une valeur limite à ce gradient et la recherche du minimum a lieu jusqu'à ce que la valeur effective du gradient soit inférieure à cette limite.

Le choix de la valeur du gradient est particulièrement important pour trouver le minimum global d'énergie qui correspond effectivement à la structure la plus stable et non un minimum local qui ne correspond qu'à une valeur minimale de la fonction d'énergie potentielle dans un voisinage restreint. Ainsi, plus la valeur du gradient est faible, plus le temps de calcul est important, mais plus la probabilité d'obtenir le minimum global d'énergie du système est élevée.

#### I.4 - Etude structurale de la quercétine.

La conformation de la quercétine (Fig. I.2) est essentiellement gouvernée par l'orientation des différents groupements hydroxyles sur la molécule et par la position du cycle B par rapport à la partie chromone, définie par la valeur de l'angle dièdre  $\theta$  (O1-C2-C1'-C6'). Du fait de la présence sur le noyau flavonique de cinq groupements hydroxyles et d'une fonction carbonyle, de nombreuses possibilités de formation de liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires sont envisageables.

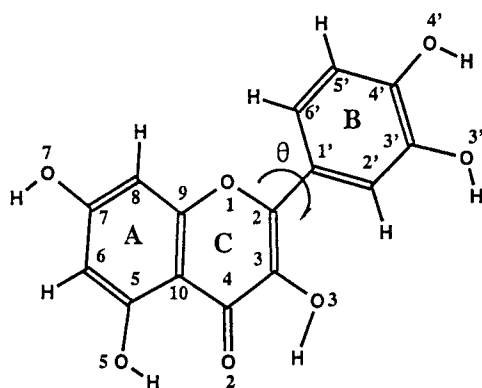


Fig. I.2 : Numérotation atomique de la quercétine utilisée dans le texte.

L'étude structurale par diffraction des rayons X indique que la quercétine dihydrate cristallise dans un groupe d'espace  $P\bar{1}$ , avec deux molécules par maille cristalline. Les molécules d'eau permettent la formation d'un réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires étendu à l'ensemble de la matrice cristalline et les différents groupements hydroxyles sont orientés de façon à rendre maximum le nombre de liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires.



La fonction carbonyle est engagée dans :

(i) deux liaisons hydrogène intramoléculaires avec les groupements hydroxyles en position 3 et 5 (O2---H-O3 et O2---H-O5)

(ii) une liaison hydrogène intermoléculaire avec le groupement hydroxyle O5-H d'une molécule voisine permettant la formation d'un dimère.

La molécule adopte une conformation quasiment plane avec un angle  $\theta$  de  $-173^\circ$  et les groupements hydroxyles en position 7, 4' et 3' participent à la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires avec les deux molécules d'eau.

La structure cristalline peut être décrite comme un ensemble de couches quasiment planes constituées de dimères reliés entre eux par des liaisons hydrogène O4'---H<sub>2</sub>O---O2 et O3'---H<sub>2</sub>O---O7. Ces différentes couches s'empilent verticalement au moyen d'interactions avec les deux molécules d'eau, en formant des chaînes O4'---H<sub>2</sub>O---O4' et O3'---H<sub>2</sub>O---O3'. L'oxygène de la fonction carbonyle est engagé dans de nombreuses interactions et est le point central des forces de cohésion de la structure cristalline [Rossi, 1986].

A partir de la structure cristalline de la quercétine dihydrate publiée par deux auteurs [Rossi, 1986 ; Jin, 1990], la géométrie de la molécule a été optimisée par mécanique moléculaire au moyen du logiciel PC Model (version PCM 3.2). Ce logiciel utilise le champ de force MMX développé par Gajewski et Gilbert [Gajewski] sur la base du programme de mécanique moléculaire MM2 de Allinger [Kao, 1977 ; Allinger, 1977]. Cette structure optimisée a servi de point de départ aux calculs semi-empiriques AM1 effectués au moyen du logiciel HYPERCHEM (version 4.5) [Pazun, 1993], implanté sur un PC pentium 100. Tous les paramètres géométriques sont alors relaxés et le critère de convergence de la minimalisation d'énergie est un gradient de  $0,001 \text{ kcal.mol}^{-1}$ .

#### I.4.1 – Positions des groupements hydroxyles.

A l'état isolé, les groupements hydroxyles en position 3, 5 et 7 ont une orientation similaire à celle qu'ils adoptent à l'état solide. Du fait de l'absence d'interactions intermoléculaires, une rotation de  $180^\circ$  de l'un des hydroxyles du cycle B (en position 3' ou 4') est possible et permet la formation d'une nouvelle liaison hydrogène intramoléculaire. En position *trans* à l'état solide (Fig. I.3a), ces deux hydroxyles adoptent une configuration *cis* à

l'état isolé (Fig. I.3c et d). La formation de la liaison hydrogène O3'---H-O4' diminue l'enthalpie de formation ( $\Delta_f H$ ) de la molécule de 3,75 kcal.mol<sup>-1</sup> (Fig. I.3b et d).

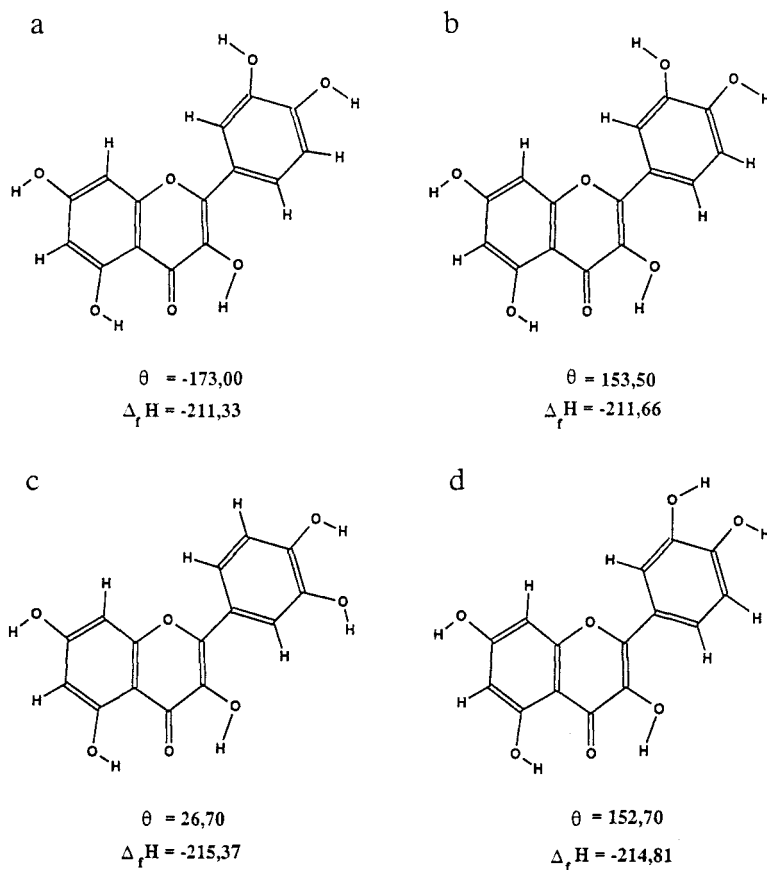


Fig. I.3 : Influence de la position des hydroxyles du cycle B sur l'enthalpie de formation de la molécule ( $\Delta_f H$  en kcal.mol<sup>-1</sup>) pour la structure quasi plane de l'état solide (a) pour une conformation gauche avec les hydroxyles en 3' et 4' en position trans (b) et pour les deux conformations les plus stables adoptées par la molécule à l'état isolé (c, d). L'angle  $\theta$  est indiqué en °.

#### I.4.2 – Position du cycle B.

Afin de déterminer la flexibilité de la molécule et de localiser précisément le minimum global d'énergie correspondant à la conformation la plus stable, une barrière d'énergie par rotation autour de la liaison inter-cycle C2-C1' a été effectuée au moyen de calculs AM1. La valeur de l'angle  $\theta$  est alors fixée par pas de 10°, de 0 à 180°. Pour chacune des valeurs de  $\theta$ , l'énergie de la molécule est minimisée en relaxant l'ensemble des autres paramètres structuraux. L'enthalpie de formation de la molécule ( $\Delta_f H$ ) en fonction de la valeur de l'angle  $\theta$  est présentée sur la figure I.4.

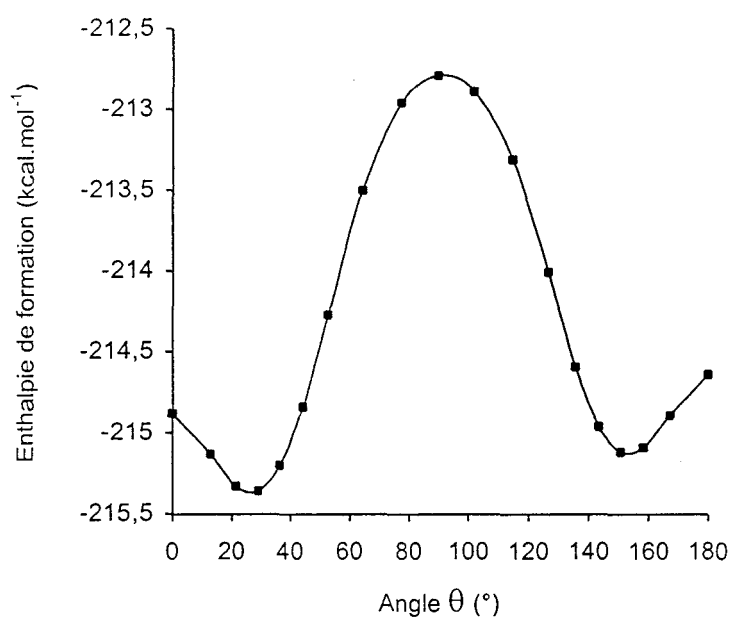


Fig. I.4 : Enthalpie de formation (kcal.mol<sup>-1</sup>) de la quercétine en fonction de la valeur de l'angle  $\theta$  (°).

La courbe représentant  $\Delta_f H$  en fonction de  $\theta$  présente deux minima à partir desquels un calcul d'optimisation de géométrie a été effectué en relaxant l'ensemble des paramètres structuraux (y compris  $\theta$ ). Les deux conformères obtenus, correspondant à  $\theta = 26,70^\circ$  et à  $\theta = 152,70^\circ$  ne sont pas énergétiquement équivalents. La conformation présentant un angle  $\theta$  de  $152,70^\circ$  est légèrement moins stable, son enthalpie de formation est plus importante de  $0,56 \text{ kcal.mol}^{-1}$  (Fig. I.3 c et d). La hauteur de la barrière à franchir pour passer du premier au second minimum est de  $2,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et le maximum est atteint pour une valeur de  $\theta$  égale à  $90^\circ$ . Il semble donc peu probable, qu'à température ambiante, la molécule oscille d'un conformère à un autre. Cependant, pour des raisons évidentes de symétrie, il est possible que la quercétine se présente sous deux formes, l'une dont l'angle dièdre oscillerait entre  $26,70^\circ$  et  $-26,70^\circ$  et l'autre entre  $152,70^\circ$  et  $-152,70^\circ$ , la barrière à franchir n'étant que de  $0,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ .

A titre de comparaison, on peut mentionner la 3-hydroxyflavone qui présente un encombrement stérique analogue au niveau de l'inter-cycle. Cette molécule dont la conformation est quasiment plane à l'état solide ( $\theta = 5,5^\circ$ ) adopte également une conformation "twistée" à l'état isolé ( $\theta = 28^\circ$  et  $152^\circ$ ) [Etter, 1989]. Le maximum de la courbe  $\Delta_f H$  en fonction de  $\theta$  correspond également à  $\theta = 90^\circ$  mais la hauteur de la barrière d'énergie à franchir n'est que de  $1,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$ .

En plus de l'étude cristallographique, Jin [1990] a également entrepris une analyse conformationnelle par modélisation moléculaire de la quercétine à l'état isolé, au moyen de la méthode semi-empirique INDO. La réalisation d'une barrière de rotation de 0 à 360° autour de la liaison inter-cycle le conduit à l'obtention de deux minima d'énergie pour des valeurs de  $\theta$  proches de 0° et 180°. Sur la barrière AM1, ces mêmes valeurs correspondent à des maxima d'énergie. Néanmoins, l'utilisation de INDO peut être remise en cause, cette méthode ne s'étant pas avérée être appropriée aux types de molécules que sont les flavonoïdes.

### I.4.3 – Géométrie de la molécule.

Les paramètres structuraux obtenus au moyen de la diffraction des rayons X par Rossi [1986] et Jin [1990] sont légèrement différents. Ils sont présentés avec les valeurs calculées par la méthode AM1 pour les deux conformères stables ( $\theta = 26,70^\circ$  et  $\theta = 152,70^\circ$ ) dans les tables I.1, I.2 et I.3.

|         | Rayons X     |            | AM1                    |                         |
|---------|--------------|------------|------------------------|-------------------------|
|         | Rossi [1986] | Jin [1990] | $\theta = 26,70^\circ$ | $\theta = 152,70^\circ$ |
| O1-C2   | 1,365        | 1,371      | 1,392                  | 1,391                   |
| C2-C3   | 1,357        | 1,362      | 1,363                  | 1,363                   |
| C3-C4   | 1,449        | 1,431      | 1,471                  | 1,471                   |
| C4-C10  | 1,418        | 1,423      | 1,451                  | 1,451                   |
| C10-C5  | 1,420        | 1,418      | 1,418                  | 1,418                   |
| C5-C6   | 1,355        | 1,365      | 1,403                  | 1,403                   |
| C6-C7   | 1,403        | 1,396      | 1,401                  | 1,401                   |
| C7-C8   | 1,386        | 1,386      | 1,403                  | 1,403                   |
| C8-C9   | 1,397        | 1,381      | 1,399                  | 1,399                   |
| C9-C10  | 1,392        | 1,390      | 1,412                  | 1,412                   |
| C9-O1   | 1,370        | 1,368      | 1,380                  | 1,380                   |
| C2-C1'  | 1,479        | 1,469      | 1,460                  | 1,461                   |
| C1'-C2' | 1,397        | 1,397      | 1,402                  | 1,403                   |
| C2'-C3' | 1,396        | 1,383      | 1,395                  | 1,398                   |
| C3'-C4' | 1,376        | 1,392      | 1,412                  | 1,413                   |
| C4'-C5' | 1,393        | 1,378      | 1,402                  | 1,397                   |
| C5'-C6' | 1,391        | 1,380      | 1,390                  | 1,393                   |
| C6'-C1' | 1,388        | 1,398      | 1,404                  | 1,402                   |
| C4-O2   | 1,267        | 1,269      | 1,248                  | 1,248                   |
| C3-O3   | 1,351        | 1,358      | 1,379                  | 1,378                   |
| C5-O5   | 1,375        | 1,352      | 1,381                  | 1,375                   |
| C7-O7   | 1,580        | 1,357      | 1,370                  | 1,370                   |
| C4'-O4' | 1,396        | 1,374      | 1,371                  | 1,378                   |
| C3'-O3' | 1,373        | 1,373      | 1,381                  | 1,375                   |
| O3-H3   | 0,906        |            | 0,974                  | 0,974                   |
| O5-H5   | 0,948        |            | 0,974                  | 0,974                   |
| O7-H7   | 0,914        |            | 0,970                  | 0,970                   |
| O4'-H4' | 0,975        |            | 0,971                  | 0,968                   |
| O3'-H3' | 0,990        |            | 0,968                  | 0,970                   |

Table I.1 : Longueurs de liaison (Å).

|             | Rayons X     |            | AM1                    |                         |
|-------------|--------------|------------|------------------------|-------------------------|
|             | Rossi [1986] | Jin [1990] | $\theta = 26,70^\circ$ | $\theta = 152,70^\circ$ |
| C9-O1-C2    | 120,9        | 121,7      | 118,76                 | 118,74                  |
| O1-C2-C3    | 121,3        | 120,1      | 121,23                 | 121,28                  |
| C2-C3-C4    | 120,3        | 121,2      | 122,57                 | 122,53                  |
| C3-C4-C10   | 116,8        | 116,7      | 115,07                 | 115,07                  |
| C4-C10-C9   | 120,2        | 120,5      | 119,10                 | 119,11                  |
| C4-C10-C5   | 122,8        | 122,2      | 123,36                 | 123,35                  |
| C10-C5-C6   | 122,1        | 120,8      | 121,00                 | 120,99                  |
| C5-C6-C7    | 118,6        | 119,5      | 119,20                 | 119,20                  |
| C6-C7-C8    | 122,4        | 121,8      | 121,79                 | 121,79                  |
| C7-C8-C9    | 117,1        | 117,3      | 117,81                 | 117,80                  |
| C8-C9-C10   | 122,8        | 123,2      | 122,67                 | 122,67                  |
| C8-C9-O1    | 116,8        | 117,1      | 114,06                 | 114,06                  |
| C10-C9-O1   | 120,4        | 119,7      | 123,27                 | 123,27                  |
| O1-C2-C1'   | 110,9        | 111,5      | 110,85                 | 110,90                  |
| C3-C2-C1'   | 127,8        | 128,4      | 127,92                 | 127,82                  |
| C2-C1'-C6'  | 121,3        | 121,6      | 120,07                 | 120,35                  |
| C1'-C6'-C5' | 121,0        | 120,2      | 120,28                 | 120,37                  |
| C6'-C5'-C4' | 118,8        | 120,9      | 119,68                 | 119,79                  |
| C5'-C4'-C3' | 120,8        | 119,5      | 119,48                 | 120,20                  |
| C4'-C3'-C2' | 120,0        | 120,0      | 120,70                 | 119,82                  |
| C3'-C2'-C1' | 119,8        | 120,7      | 119,43                 | 119,69                  |
| C2'-C1'-C6' | 119,3        | 118,6      | 119,82                 | 120,15                  |
| C3-C4-O2    | 120,3        | 120,6      | 120,08                 | 120,06                  |
| C10-C4-O2   | 122,8        | 122,7      | 124,86                 | 124,87                  |
| C2-C3-O3    | 122,3        | 121,1      | 119,57                 | 119,54                  |
| C4-C3-O3    | 117,3        | 117,6      | 117,86                 | 117,93                  |
| C10-C5-O5   | 118,5        | 119,0      | 124,16                 | 124,16                  |
| C6-C5-O5    | 119,4        | 120,2      | 114,85                 | 114,85                  |
| C6-C7-O7    | 119,8        | 120,3      | 122,10                 | 122,08                  |
| O7-C7-C8    | 117,7        | 117,8      | 116,12                 | 116,14                  |
| C5'-C4'-O4' | 120,7        | 117,9      | 117,59                 | 123,60                  |
| C4'-C3'-O3' | 118,5        | 117,8      | 116,03                 | 122,89                  |
| C3-O3-H     | 110,3        |            | 107,08                 | 107,12                  |
| C5-O5-H     | 101,9        |            | 110,47                 | 10,46                   |
| C7-O7-H     | 113,2        |            | 108,30                 | 108,30                  |
| C4'-O4'-H   | 101,8        |            | 108,13                 | 107,90                  |
| C3'-O3'-H   | 112,6        |            | 107,80                 | 107,94                  |

Table I.2 : Angles de liaison ( $^\circ$ ).

|                          | Rayons X     |            | AM1                    |                         |
|--------------------------|--------------|------------|------------------------|-------------------------|
|                          | Rossi [1986] | Jin [1990] | $\theta = 26,70^\circ$ | $\theta = 152,70^\circ$ |
| O1-C2-C1'-C2'            | 7,00         |            | -153,30                | -27,30                  |
| C3-C2-C1'-C6'            | 7,00         | 6,70       | -153,18                | -27,46                  |
| O1-C2-C1'-C6' = $\theta$ | -173,00      | -173,30    | 26,70                  | 152,70                  |
| C6-C7-O7-H               | 17,00        |            | -0,14                  | -0,01                   |
| C6-C5-O5-H               | 152,00       |            | -179,91                | 179,91                  |
| C4-C3-O3-H               | 26,00        |            | -8,14                  | 7,02                    |
| C5'-C4'-O4'-H            | -1,00        |            | 179,33                 | 0,65                    |
| C2'-C3'-O3'-H            | 11,00        |            | -5,05                  | -179,74                 |

Table I.3 : Principaux angles dièdres ( $^\circ$ ).

Les différences géométriques entre les deux conformères de la quercétine sont très faibles et concernent principalement les longueurs et les angles de liaison du cycle B.

D'une manière générale, les paramètres structuraux calculés par la méthode AM1 sont du même ordre que ceux déterminés par la diffraction des rayons X. Comme cela est généralement observé, les valeurs des longueurs de liaison calculées sont légèrement plus importantes que celles observées expérimentalement. Néanmoins, les longueurs calculées des liaisons inter-cycle (C2-C1') et carbonyle (C4=O2) sont plus courtes que celles obtenues par diffraction des rayons X d'environ 0,02 Å.

En ce qui concerne les angles de liaison, les principales modifications touchent les angles définissant la position des différents hydroxyles sur la molécule. Ceci s'explique aisément par le fait que les calculs réalisés au niveau de la molécule isolée ne prennent pas en compte les interactions intermoléculaires telles que les liaisons hydrogène dans lesquelles ces hydroxyles sont impliqués à l'état solide.

Au niveau des angles dièdres, la valeur de l'angle  $\theta$  est profondément modifiée : la molécule dont la structure est quasiment plane à l'état solide, avec  $\theta = -173,00^\circ$ , adopte à l'état isolé une conformation gauche avec un angle  $\theta$  de  $26,70^\circ$ . La rotation de  $180^\circ$  d'un hydroxyle du cycle B entraîne également une modification de la valeur de l'angle C5'-C4'-O4'-H ou C2'-C3'-O3'-H. A l'état isolé, les hydroxyles en position 7 et 5 sont inclus dans le plan de la partie chromone alors que celui en position 3 sort de ce plan (environ  $8^\circ$ ).

La structure de la quercétine est stabilisée par trois liaisons hydrogène intramoléculaires, les liaisons O5-H---O2 et O3-H---O2 dont les longueurs expérimentales sont respectivement 2,586 et 2,712 Å, sont désormais plus fortes et de longueurs calculées égales à 2,004 et 2,221 Å. La liaison O5-H---O2 est toujours plus forte que O3-H---O2, elle permet la formation d'un cycle à six chaînons qui pour des raisons de tensions moins importantes est énergétiquement plus favorable qu'un cycle à cinq atomes. La liaison hydrogène qui s'établit entre les hydroxyles du cycle B est un peu moins forte que les deux autres : O4'-H---O3' = 2,260 Å.

Ainsi, les modifications structurales générées par le changement d'état physique de la quercétine, se traduisent essentiellement au niveau du lien inter-cycle. Bien que la molécule à l'état isolé adopte une conformation davantage "twistée" et que la liaison C2-C1' soit un peu plus courte, cette dernière est toujours incluse dans le plan de la partie chromone. Les valeurs des angles C3-C2-C1' et C2-C1'-C6' ne sont pas affectées par la rotation du cycle B.

Afin de comparer l'enthalpie de formation de la quercétine à l'état solide avec celle de la molécule totalement relaxée, l'énergie de la molécule a été évaluée en fixant l'angle  $\theta$  à  $-173^\circ$  (single point). La valeur de  $\Delta_f H$  ne varie que de  $0,33 \text{ kcal.mol}^{-1}$  lors du passage de la molécule contrainte ( $\theta = -173^\circ$ ) à la molécule relaxée (Fig. I.3a et b). Cette faible différence d'énergie explique la rotation du cycle B lors du changement d'état physique. En effet, le réseau cristallin possède une énergie suffisamment importante pour maintenir le cycle B quasiment dans le plan de la partie chromone. Ceci permet d'augmenter la délocalisation des électrons sur l'ensemble de la molécule et un empilement relativement compact est possible puisque la distance séparant deux molécules adjacentes est seulement de  $3,4 \text{ \AA}$  [Rossi, 1986].

#### I.4.4 – Distribution électronique.

La répartition des charges de Mulliken des différentes structures est présentée sur la figure I.5.

La comparaison des structures reproduites sur les figures I.5 a et b, et I.5 c et d, indique qu'une rotation du cycle B ne modifie pas significativement la distribution électronique de la molécule. Par contre, la rotation de  $180^\circ$  de l'un des hydroxyles du cycle B conduit à la formation de la liaison hydrogène intramoléculaire  $O4'-H---O3'$  ou  $O3'-H---O4'$  et affecte les charges des atomes de ce cycle. Un enrichissement en électrons des hydroxyles en position 3' et 4' est remarqué. Les valeurs des charges portées par les hydrogènes en position 2' et 6' mettent en évidence des interactions directes entre ces hydrogènes et les oxygènes O1 et O3. En effet, la valeur des charges de ces deux hydrogènes dépend directement de leurs positions vis-à-vis des atomes O1 et O3 (Fig. I.5 c et d).

L'absence d'une profonde modification de la conjugaison entre le cycle B et le reste de la molécule est confirmée par une longueur de liaison C2-C3 quasiment constante entre l'état solide et l'état isolé. L'extension de la conjugaison de la partie chromone jusqu'au cycle B est donc peu importante. Néanmoins, la valeur relativement faible de l'angle  $\theta$  ( $\approx 27^\circ$ ) indique que celle-ci n'est pas négligeable. La diminution de la longueur de la liaison inter-cycle C2-C1' lors du passage de l'état solide à l'état isolé peut s'expliquer par un encombrement stérique entre les hydrogènes en position 2' ou 6' et le groupement hydroxyle en position 3, plus faible dans la conformation "twistée".

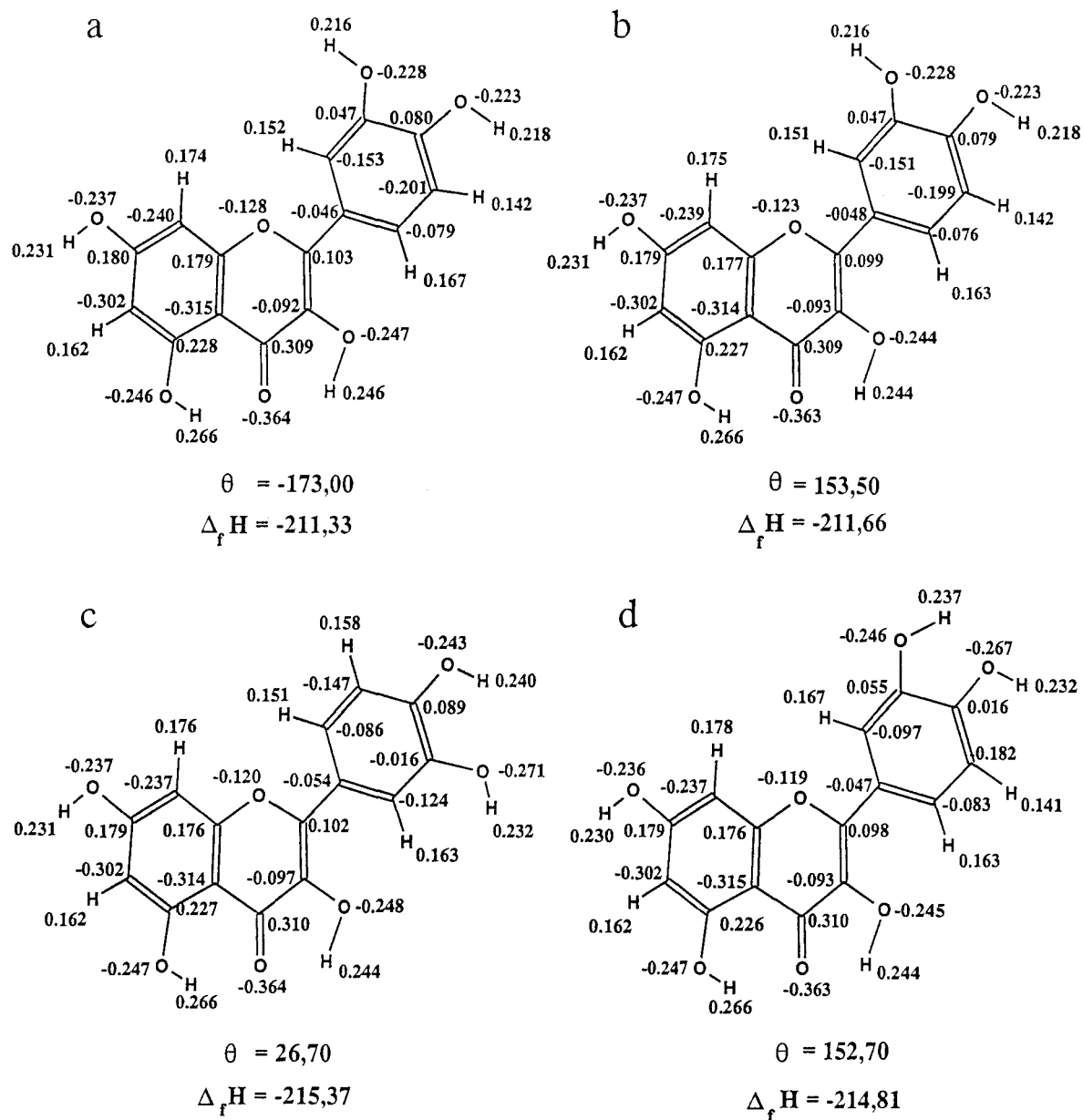


Fig. I.5 : Distribution électronique calculée pour la structure quasi plane de l'état solide (a) pour une conformation gauche avec les hydroxyles du cycle B en position trans (b) et pour les deux conformations les plus stables adoptées par la molécule à l'état isolé (c, d). Les valeurs de l'enthalpie de formation  $\Delta_f H$  (kcal.mol<sup>-1</sup>) et de l'angle  $\theta$  (°) sont rappelées.



### I.5 - Etude structurale de l'isoquercitrine.

La conformation de la molécule d'isoquercitrine peut être caractérisée par trois angles de torsion majeurs notés  $\theta$ ,  $\alpha$  et  $\omega$  (Fig. I.6) :

–  $\theta$  (O1-C2-C1'-C6') définit la position du cycle B par rapport à la partie chromone.

–  $\alpha$  (C2-C3-O3-C1'') et  $\omega$  (C3-O3-C1''-O) définissent l'orientation du glucose vis-à-vis de l'aglycone. Plus précisément,  $\alpha$  indique si le sucre est devant ou derrière la partie chromone et  $\omega$  traduit la possibilité de retournement du glucose sur lui-même.

Les angles  $\gamma$  (O-C5''-C6''-Ob) et  $\epsilon$  (C5''-C6''-Ob-Hb) qui définissent la position du groupement CH<sub>2</sub>ObHb du glucose sont également importants, ce groupement est susceptible de former des liaisons hydrogène intramoléculaires avec les hydroxyles du cycle B.

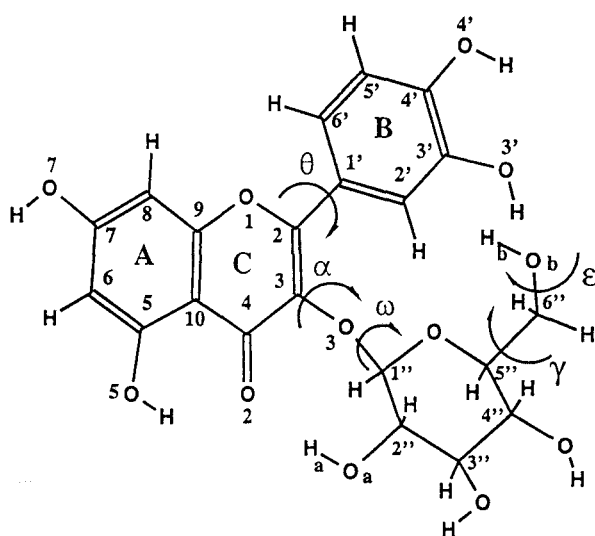


Fig. I.6 : Présentation de l'isoquercitrine, des principaux angles de torsion et numérotation adoptée.

Il n'existe pas dans la littérature de données cristallographiques concernant la molécule d'isoquercitrine. La structure de départ utilisée pour les calculs a été élaborée à partir de la structure la plus stable de la quercétine précédemment déterminée, à laquelle un glucose dont la géométrie a également été optimisée par la méthode AM1 a été greffé. Etant donné la complexité de la molécule d'isoquercitrine et les nombreuses conformations possibles, la recherche du minimum global d'énergie a été effectuée par étapes.

I.5.1 – Positions préférentielles du glucose.

La première étape de l'analyse conformationnelle a consisté à appréhender le comportement du glucose et plus particulièrement à rechercher les positions préférentielles qu'il adopte vis-à-vis de l'aglycone. Une surface d'énergie potentielle en fonction des angles  $\alpha$  et  $\omega$  a été obtenue par mécanique moléculaire en utilisant le logiciel PC Model. Cette surface a été calculée en faisant varier l'angle  $\alpha$  de  $-180^\circ$  à  $+180^\circ$  par pas de  $10^\circ$  et pour chaque valeur de  $\alpha$ , la valeur de l'angle  $\omega$  a été fixée de  $-180^\circ$  à  $+180^\circ$  par pas de  $10^\circ$  également. Pour l'ensemble des couples ( $\alpha$  ;  $\omega$ ) ainsi formés, la structure de la molécule a été minimalisée en relaxant l'ensemble des paramètres structuraux, exceptés  $\alpha$  et  $\omega$  et l'enthalpie de formation de la molécule a été relevée (Fig. I.7).

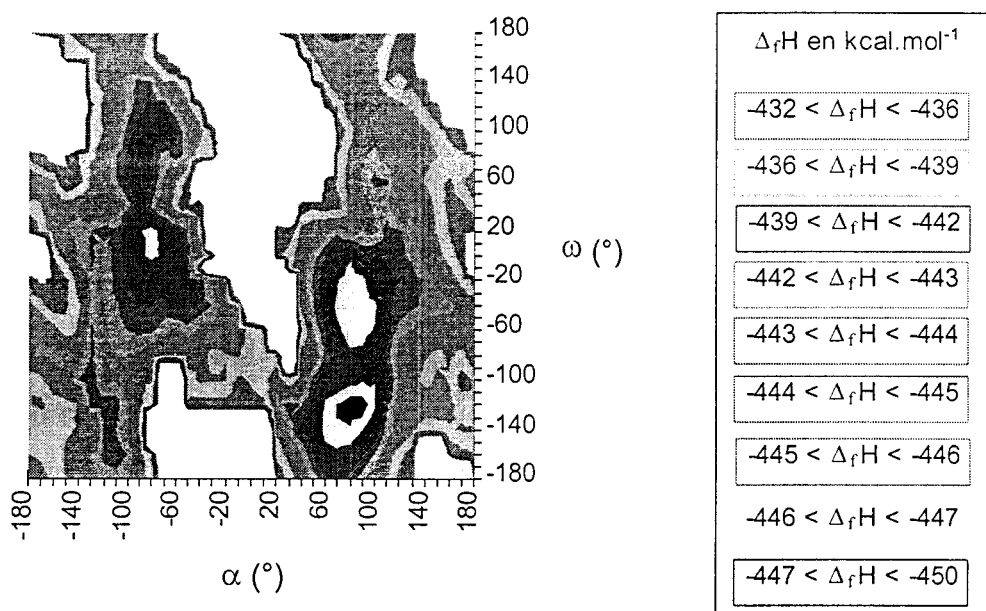


Fig. I.7 : Surface d'énergie  $\Delta_f H = f(\alpha ; \omega)$  obtenue par rotation de  $\alpha$  et de  $\omega$  de  $-180^\circ$  à  $+180^\circ$  par pas de  $10^\circ$ .

Les parties blanches correspondent à des conformations impossibles ( $\Delta_f H > -432$  kcal.mol<sup>-1</sup>).

Sur cette surface, il se dégage clairement une zone correspondant à des valeurs de  $\alpha$  comprises entre  $-60^\circ$  et  $+60^\circ$  environ, où quelle que soit la valeur de l'angle  $\omega$ , la conformation de la molécule est impossible du fait d'un encombrement stérique trop important entre le sucre et l'aglycone (zone blanche). De part et d'autre de cette partie, pour

des valeurs moyennes de  $\alpha$  égales à  $+100^\circ$  et  $-100^\circ$ , une rotation de  $360^\circ$  autour de la liaison O3-glucose est stériquement possible (angle  $\omega$ ) et différents puits d'énergie apparaissent. Chacune des structures correspondant à ces minima d'énergie a servi de point de départ à un traitement semi-empirique AM1 où l'ensemble des paramètres structuraux sont relaxés. A l'issue des calculs semi-empiriques, 7 conformations (notées de I à VII) se différencient essentiellement par la valeur du couple ( $\alpha$  ;  $\omega$ ) ont été obtenues (Fig. I.8).

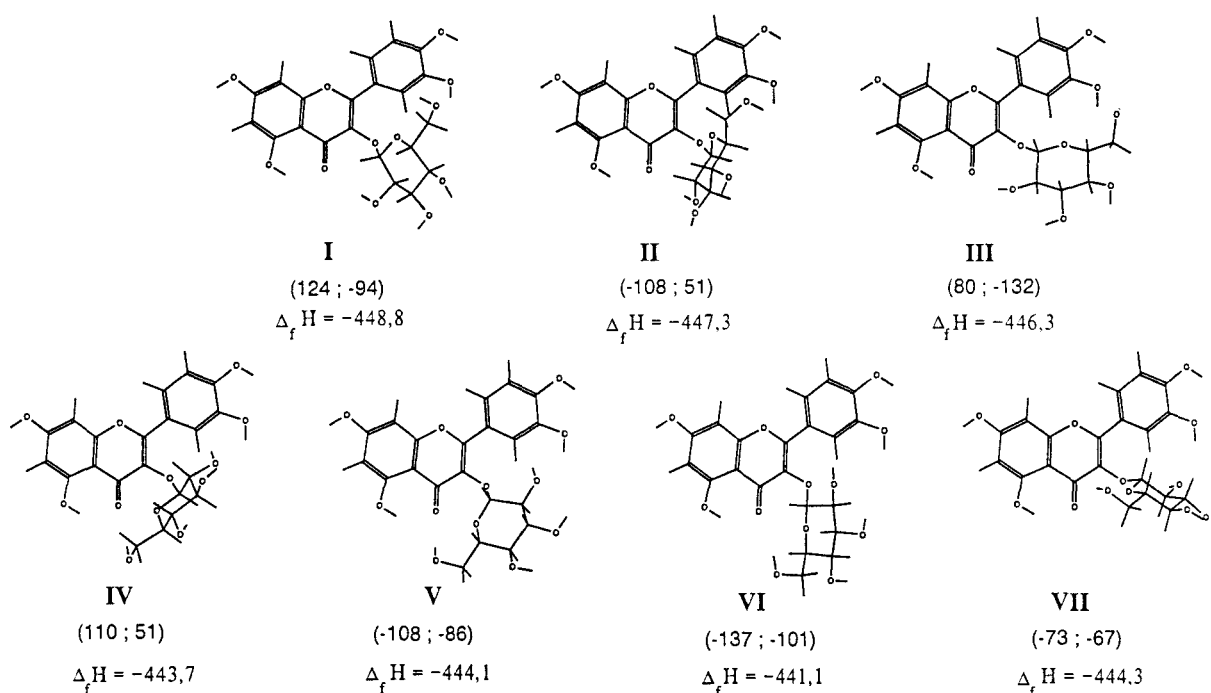


Fig. I.8 : Structures les plus stables obtenues à partir du traitement AM1 des différents minima d'énergie de la surface  $\Delta_f H = f(\alpha ; \omega)$ . Pour chacune des structures sont indiquées, les valeurs du couple ( $\alpha$  ;  $\omega$ ) en  $^\circ$  et l'enthalpie de formation en kcal.mol<sup>-1</sup>.

Bien que les paramètres géométriques calculés par la méthode AM1 soient légèrement différents de ceux obtenus par mécanique moléculaire, les conformères les plus stables de la surface ont tous convergé vers les trois structures de plus faible énergie obtenues par les calculs semi-empiriques (structures I, II, III). Plus précisément, le minimum global d'énergie ainsi que les six minima locaux présents sur la surface dans la partie correspondant à  $\alpha > 0$  et  $\omega < 0$  ont tous convergés vers la structure de plus basse énergie (structure I).

Chacune des 7 structures issues du calcul semi-empirique est stabilisée au moins par trois liaisons hydrogène. Les deux premières, déjà observées pour la quercétine, se forment

d'une part entre les deux groupements hydroxyles du cycle B ( $O4'-H---O3'$ ) et d'autre part entre la fonction carbonyle et le groupement hydroxyle en position 5 ( $O5-H---O2$ ). La troisième s'établit entre  $O2$  et un groupement hydroxyle du glucose. Pour les structures les plus stables,  $\alpha$  et  $\omega$  sont de signe opposé et la liaison hydrogène se forme avec le groupement  $Oa-Ha$  (structure I, II et III). Pour les autres structures,  $\alpha$  et  $\omega$  sont de signe identique et c'est le groupement  $Ob-Hb$  qui est engagé dans la liaison hydrogène intramoléculaire.

Le glucose se positionne toujours de manière à former une liaison hydrogène avec la fonction carbonyle. Néanmoins, au regard de l'enthalpie de formation des différentes structures, les deux manières possibles de former cette liaison ne sont pas énergétiquement équivalentes. Les structures présentant la liaison hydrogène  $O2---Ha-Oa$  (I, II et III) sont plus stables que les structures où la liaison  $O2---Hb-Ob$  est formée (IV, V, VI et VII).

Les deux possibilités de formation de la liaison hydrogène entre la fonction carbonyle et le glucose (structure I et IV) sont présentées sur la figure I.9.

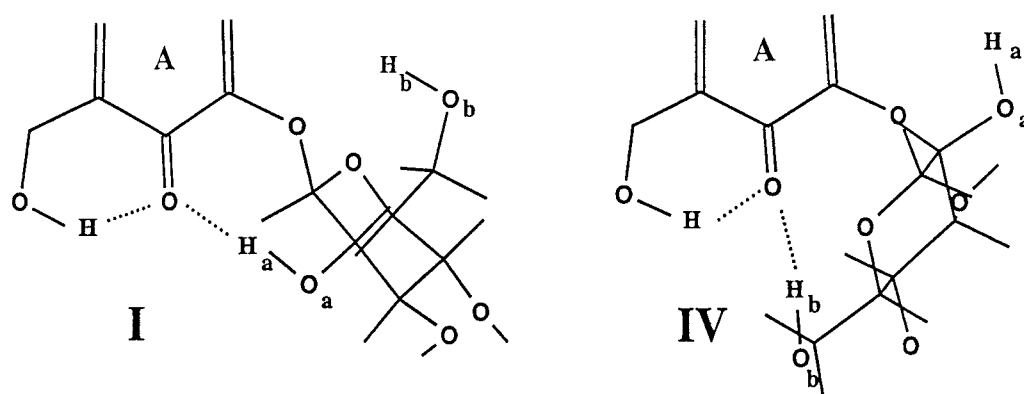


Fig. I.9 : Présentation des deux possibilités pour le glucose de former une liaison hydrogène intramoléculaire avec la fonction carbonyle. Comparaison des structures I et IV.

Par rapport à la structure I, le glucose positionné de façon à former  $O2---Hb-Ob$  génère un encombrement stérique plus important et présente une répulsion électronique entre  $O2$  et l'oxygène cyclique du sucre (structure IV). Pour les deux structures, les liaisons  $O2---H-O5$  ont la même longueur et sont incluses dans le plan de la partie chromone. Par contre, bien que les longueurs  $O2---Ha-Oa$  et  $O2---Hb-Ob$  soient identiques (environ 2,3 Å), les angles de liaisons  $O5-H---O2---Ha-Oa$  et  $O5-H---O2---Hb-Ob$  ont des valeurs totalement différentes, environ  $133^\circ$  et  $96^\circ$  respectivement. L'ensemble de ces considérations explique la stabilité moindre des structures présentant une interaction du type  $O2---Hb-Ob$ .

### 1.5.2 – Influence de l'angle $\theta$ .

Afin de compléter l'analyse conformationnelle, la position du cycle B a été étudiée. En plus des effets électroniques et stériques dus à la rotation de ce cycle, certaines valeurs de l'angle  $\theta$  peuvent favoriser la formation de liaisons hydrogène entre les hydroxyles du sucre et ceux en position 3' et 4'.

A partir des sept structures préalablement obtenues, une recherche aléatoire de conformation a été entreprise afin de connaître l'influence de la valeur adoptée par  $\theta$  sur la stabilité de la molécule. Une minimalisation d'énergie sans aucune restriction est effectuée et 26 conformères différents dont l'enthalpie de formation varie de  $-448,8$  à  $-443,0$  kcal.mol<sup>-1</sup> sont obtenus. Au regard de l'enthalpie de formation de ces conformères, il apparaît que la valeur adoptée par l'angle  $\theta$  n'affecte pas l'ordre de stabilité des 7 familles structurales obtenues précédemment. La structure III constitue un sous-groupe de la structure I puisque pour certaines valeurs de  $\theta$ , celle-ci converge vers des conformères obtenus à partir de la structure I.

Ainsi, quelle que soit la valeur de  $\theta$ , les conformations où la position du glucose permet la formation de la liaison hydrogène O2---Ha-Oa sont toujours plus stables que les autres. Elles correspondent aux structures I et II, c'est-à-dire aux couples ( $\alpha$  ;  $\omega$ ) de valeurs moyennes ( $120^\circ$  ;  $-95^\circ$ ) et ( $-108^\circ$  ;  $53^\circ$ ) respectivement.

### 1.5.3 – Influence des angles $\gamma$ et $\varepsilon$ .

Le groupement CH<sub>2</sub>ObHb possède une certaine flexibilité. Plus il est éloigné de la partie aglycone, plus l'encombrement stérique est faible. Cependant, positionné à proximité du cycle B, ce groupement permet pour des valeurs adéquates de  $\theta$ , la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire avec un des groupements hydroxyles de ce cycle.

Afin de déterminer l'influence de la position du groupement CH<sub>2</sub>ObHb du glucose sur l'énergie de la molécule, une recherche aléatoire de conformations a été effectuée à partir de la plus stable des structures préalablement obtenues (famille I). Par cette méthode, les angles  $\gamma$  et  $\varepsilon$  adoptent au départ de la minimalisation différentes valeurs choisies au hasard, puis la géométrie est optimisée en relaxant l'ensemble des paramètres structuraux. Afin que cette recherche génère le plus grand nombre de conformères possibles, le gradient de convergence

a été fixé à  $0,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et une différence d'énergie de  $5 \text{ kcal.mol}^{-1}$  par rapport à la conformation la plus stable a été permise. Les 21 structures proposées par le programme sont ré-optimisées en fixant le gradient à  $0,005 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et un seul nouveau minimum d'énergie est mis en évidence.

L'ensemble des conformations possibles correspondant à la famille I est présenté sur la figure I.10. Le groupement  $\text{CH}_2\text{ObHb}$  est toujours impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire ce qui restreint l'angle  $\varepsilon$  à adopter deux valeurs possibles uniquement (environ  $60^\circ$  et  $-60^\circ$ ). Cette liaison hydrogène se forme soit avec un groupement hydroxyle du cycle B, soit avec un atome d'oxygène du sucre. Les structures les plus stables sont celles qui présentent la liaison hydrogène  $\text{O3}'\text{-H---Ob}$ .

Les résultats obtenus pour les différentes structures sont résumés dans la table I.4. D'un point de vue angles et longueurs de liaison, tous les conformères sont peu différents, ils se distinguent essentiellement par :

- (i) la position du sucre (angles  $\alpha$  et  $\omega$ ) et la position du groupement  $\text{CH}_2\text{ObHb}$  (angles  $\gamma$  et  $\varepsilon$ ),
- (ii) l'orientation du cycle B (angle  $\theta$ ),
- (iii) la position des liaisons carbonyle ( $\text{C4=O2}$ ) et inter-cycle ( $\text{C2-C1}'$ ) vis à vis du plan de la partie chromone,
- (iv) les différentes liaisons hydrogène intramoléculaires.

L'observation de ces différents conformères indique que le nombre de structures stables correspondant à un même couple de valeurs ( $\alpha$  ;  $\omega$ ) est différent. En effet, l'asymétrie de la substitution du cycle B et de la configuration du glucose conduit à des interactions différentes de ces deux parties selon leurs orientations relatives. Pour de nombreuses structures, l'encombrement stérique généré par la taille du glucose entraîne la sortie du plan de la partie chromone des liaisons  $\text{C4=O2}$  et  $\text{C2-C1}'$ . Les études structurales précédemment réalisées sur les composés flavoniques [Vrielynck, 1993 ; Cornard, 1995] ont montré que la position de ces liaisons, toujours incluses dans le plan de la partie chromone, constituait un critère de stabilité pour la molécule. Dans le cas de l'isoquercitrine, la formation de la liaison hydrogène entre le sucre et la fonction carbonyle est énergétiquement plus favorable que la coplanarité de ces deux liaisons avec la partie chromone.

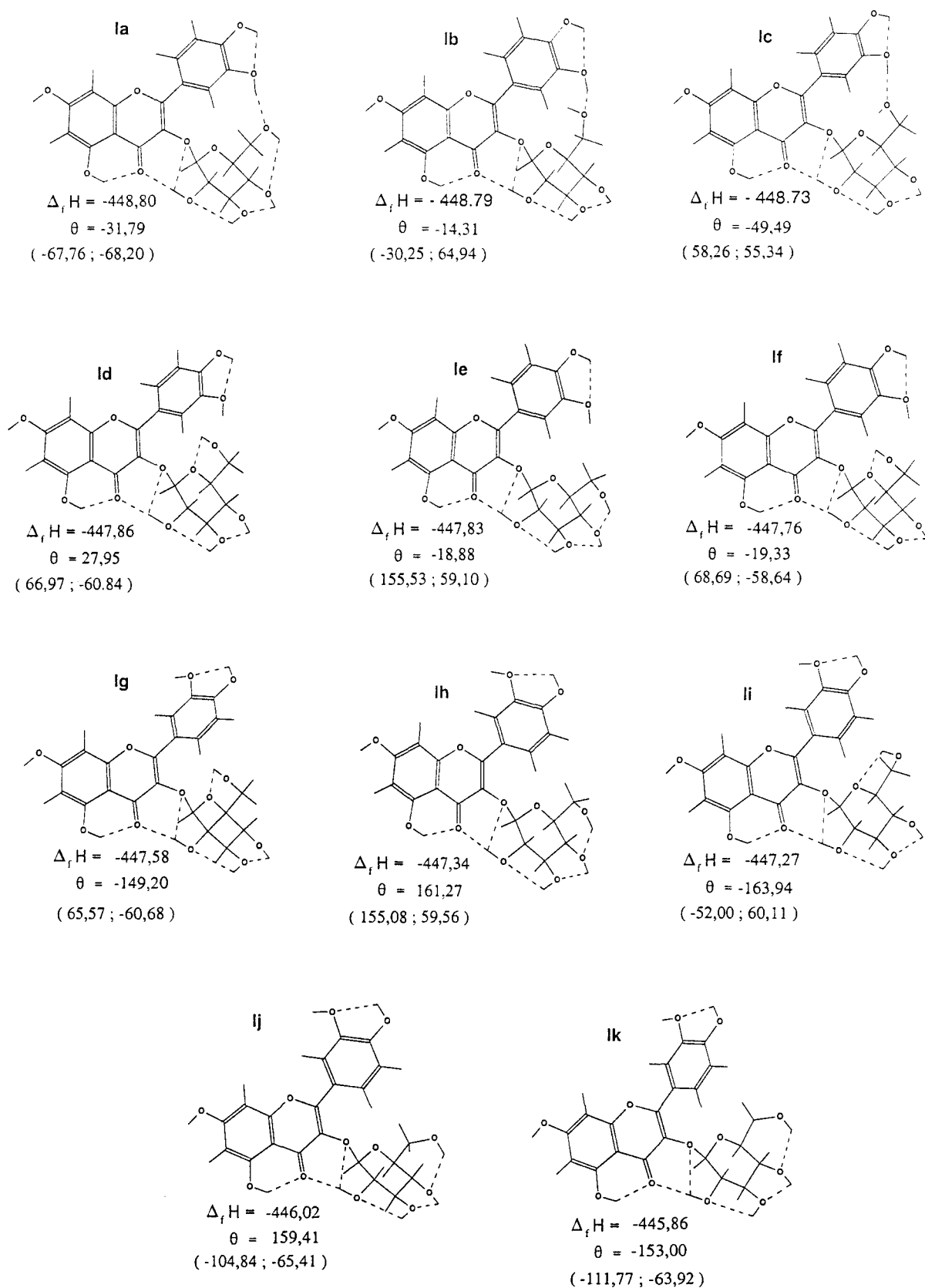


Fig.I.10 : Les différents conformères possibles pour la famille I ( $\alpha \approx 120^\circ$  ;  $\omega \approx -95^\circ$ ). La valeur de  $\theta$  ainsi que les valeurs du couple ( $\gamma$  ;  $\varepsilon$ ) sont indiquées en ( $^\circ$ ) et l'enthalpie de formation est donnée en kcal.mol<sup>-1</sup>.

|      | Enthalpie<br>(kcal.mol <sup>-1</sup> ) | Angles<br>(°) |         |         |         |        | Liaisons hydrogènes<br>(Å) |         |        |         |         |         | Angles dièdres<br>(°) |             |
|------|--|---------------|---------|---------|---------|--------|----------------------------|---------|--------|---------|---------|---------|-----------------------|-------------|
|      |  | α             | ω       | θ       | γ       | ε      | Ha--O2                     | Ob--H3' | Hb--O2 | Oa--H3' | Ha--O4' | Hb--O3' | C4-C3-C2-C1'          | C2-C3-C4-O2 |
|      |  |               |         |         |         |        |                            |         |        |         |         |         |                       |             |
| Ia   | -448,80                                | 127,40        | -95,90  | -31,79  | -67,76  | -68,20 | 2,22                       | 2,17    |        |         |         | 3,68    | -174,37               | 175,39      |
| Ib   | -448,79                                | 124,19        | -94,23  | -14,31  | -30,25  | 64,94  | 2,25                       | 2,24    |        |         |         | 2,92    | -174,68               | 175,90      |
| Ic   | -448,73                                | 121,22        | -99,35  | -49,49  | 58,26   | 55,34  | 2,19                       | 2,16    |        |         |         | 3,95    | -178,48               | 179,53      |
| Id   | -447,86                                | 116,03        | -96,97  | 27,95   | 66,97   | -60,84 | 2,20                       |         |        |         |         |         | -178,45               | 179,11      |
| Ie   | -447,83                                | 126,17        | -98,08  | -18,88  | 155,53  | 59,10  | 2,20                       |         |        |         |         |         | -173,38               | -174,74     |
| If   | -447,76                                | 126,31        | -97,73  | -19,33  | 68,69   | -58,64 | 2,21                       |         |        |         |         |         | -173,51               | 174,67      |
| Ig   | -447,58                                | 116,58        | -95,77  | -149,20 | 65,57   | -60,68 | 2,22                       |         |        |         |         |         | -177,67               | 178,59      |
| Ih   | -447,34                                | 125,86        | -96,70  | 161,27  | 155,08  | 59,56  | 2,23                       |         |        |         |         |         | -173,24               | 174,41      |
| Ii   | -447,27                                | 112,40        | -96,34  | -163,94 | -52,00  | 60,11  | 2,20                       |         |        |         |         |         | 179,56                | -179,11     |
| Ij   | -446,02                                | 126,11        | -96,13  | 159,41  | -104,84 | -65,41 | 2,24                       |         |        |         |         |         | -173,16               | 174,40      |
| Ik   | -445,86                                | 115,30        | -96,19  | -153,00 | -111,77 | -63,92 | 2,21                       |         |        |         |         |         | -178,57               | 179,47      |
| IIa  | -446,33                                | 81,91         | -135,78 | 26,68   | 77,74   | 61,58  | 2,07                       | 2,11    |        |         |         | 3,31    | -178,01               | -178,11     |
| IIb  | -446,03                                | 76,26         | -143,93 | 27,48   | 29,54   | -62,93 | 2,12                       | 2,08    |        |         |         | 3,39    | 176,82                | -172,29     |
| IIc  | -443,19                                | 80,13         | -132,72 | -150,87 | 76,79   | 61,28  | 2,08                       |         |        |         |         |         | 179,79                | -176,61     |
| IIa  | -447,30                                | -108,19       | 51,23   | 65,03   | 83,63   | 65,65  | 2,17                       | 2,14    |        |         |         | 3,47    | 171,73                | -173,10     |
| IIb  | -446,48                                | -102,28       | 53,00   | -34,04  | 67,07   | -60,67 | 2,16                       |         |        |         |         |         | 173,24                | 174,71      |
| IIc  | -446,36                                | -101,57       | 53,61   | 145,74  | 155,95  | 58,12  | 2,16                       |         |        |         |         |         | 173,83                | -175,55     |
| IId  | -446,30                                | -112,53       | 54,21   | 28,40   | 56,27   | -71,54 | 2,13                       | 2,46    |        |         |         | 3,11    | 170,83                | -170,36     |
| IVa  | -443,71                                | 110,01        | 50,37   | 35,87   | 60,80   | -56,86 |                            |         | 2,28   |         |         |         | -173,2                | 170,76      |
| IVb  | -443,67                                | 109,45        | 46,77   | -142,32 | 61,77   | -56,25 |                            |         | 2,27   |         |         |         | -173,78               | 171,95      |
| Va   | -444,23                                | -106,67       | -84,80  | 141,01  | 59,13   | -61,29 |                            |         | 2,22   |         |         |         | 175,58                | -174,47     |
| Vb   | -444,19                                | -109,18       | -80,13  | 39,28   | 60,21   | -62,05 |                            |         | 2,20   | 2,4     | 2,99    |         | 175,75                | -175,17     |
| Vc   | -444,11                                | -108,35       | -87,52  | -38,39  | 60,12   | -60,64 |                            |         | 2,23   |         |         |         | 175,46                | -174,27     |
| Vd   | -443,02                                | -109,67       | -77,65  | -138,24 | 59,56   | -62,27 |                            |         | 2,20   |         |         |         | 175,17                | -173,68     |
| VIa  | -444,16                                | -115,40       | -99,50  | 143,45  | 63,51   | -57,44 |                            |         | 2,26   |         |         |         | 177,40                | -177,81     |
| VIb  | -444,10                                | -136,71       | -100,81 | -35,81  | 68,54   | -49,94 |                            |         | 2,43   |         |         |         | 179,31                | 177,30      |
| VIIa | -444,29                                | -73,43        | -66,40  | -27,53  | 65,73   | -62,66 |                            |         |        | 2,47    | 3,50    |         | 179,66                | -177,41     |
| VIIb | -443,72                                | -73,69        | -56,30  | 146,21  | 66,14   | -62,41 |                            |         |        | 4,05    |         |         | 178,23                | -177,11     |
| VIIc | -443,01                                | -109,60       | -77,18  | -138,80 | 59,42   | -62,31 |                            |         | 2,20   |         |         |         | 175,04                | -173,54     |

Table I.4 : Enthalpie de formation et principaux paramètres structuraux des différents conformères les plus stables de l'isoquercitrine.



Les enthalpies de formation des structures les plus stables ( Ia, Ib et Ic) sont quasiment identiques, ces trois conformères se différencient uniquement par la manière dont la liaison hydrogène entre le groupement CH<sub>2</sub>ObHb et l'hydroxyle O3'-H s'établit.

Afin de confirmer les résultats issus de la recherche conformationnelle aléatoire et de s'assurer que la structure Ia correspond bien au minimum global d'énergie, des barrières de rotation autour de la liaison inter-cycle ont été calculées au moyen de la méthode AM1. Ces barrières permettent également de connaître l'énergie qui sépare les conformères les plus stables. Deux barrières ont été réalisées pour la famille de structures I ( $\alpha$  ;  $\omega = 120^\circ$  ;  $-95^\circ$ ), à partir des deux valeurs possibles de  $\varepsilon$ , ( $\gamma$  ;  $\varepsilon$ ) = ( $-30^\circ$  ;  $65^\circ$ ) et ( $-68^\circ$  ;  $-68^\circ$ ) successivement. Afin de s'assurer que les conformères de la famille de structures II sont moins stables que ceux de la famille de structures I, une troisième barrière a été effectuée pour la structure II ( $\alpha$  ;  $\omega = -108^\circ$  ;  $53^\circ$ ). Les calculs ont été réalisés en fixant les valeurs de  $\alpha$  et  $\omega$  qui définissent la position du sucre et en faisant varier l'angle  $\theta$  de  $-180^\circ$  à  $+180^\circ$  par pas de  $10^\circ$ . Pour chacune des valeurs de  $\theta$ , l'ensemble des paramètres structuraux est relaxé, excepté  $\alpha$ ,  $\omega$  et  $\theta$  dont les valeurs définissent la conformation. Le critère de convergence est un gradient égal à  $0,005 \text{ kcal.mol}^{-1}$ .

L'évolution de l'enthalpie de formation de l'isoquercitrine en fonction de l'angle  $\theta$ , pour la famille de structures I, ( $\alpha$  ;  $\omega$ )  $\approx$  ( $120^\circ$  ;  $-95^\circ$ ), avec ( $\gamma$  ;  $\varepsilon$ )  $\approx$  ( $-30^\circ$  ;  $65^\circ$ ) (a) et ( $\gamma$  ;  $\varepsilon$ )  $\approx$  ( $-68^\circ$  ;  $-68^\circ$ ) (b) ainsi que pour la famille de structures II, ( $\alpha$  ;  $\omega$ )  $\approx$  ( $-108^\circ$  ;  $53^\circ$ ), (c) est représentée sur la figure I.11.

Au regard des différentes courbes, il apparaît que :

(i) dans les deux familles de structures, le sucre adopte une position permettant une rotation de  $360^\circ$  du cycle B autour de la liaison C2-C1'.

(ii) d'un point de vue énergétique, la rotation du cycle B n'est pas symétrique.

(iii) aucun nouveau minimum d'énergie n'est obtenu.

(iv) Les minima locaux de la famille de structures II ont une enthalpie de formation plus élevée que les minima globaux Ia, Ib et Ic. Ceci s'explique notamment par la position adoptée par le glucose qui génère un encombrement stérique plus important dans la famille de structures II et qui provoque la sortie du plan du cycle  $\gamma$ -pyrone des liaisons C2-C1' et C4=O2.

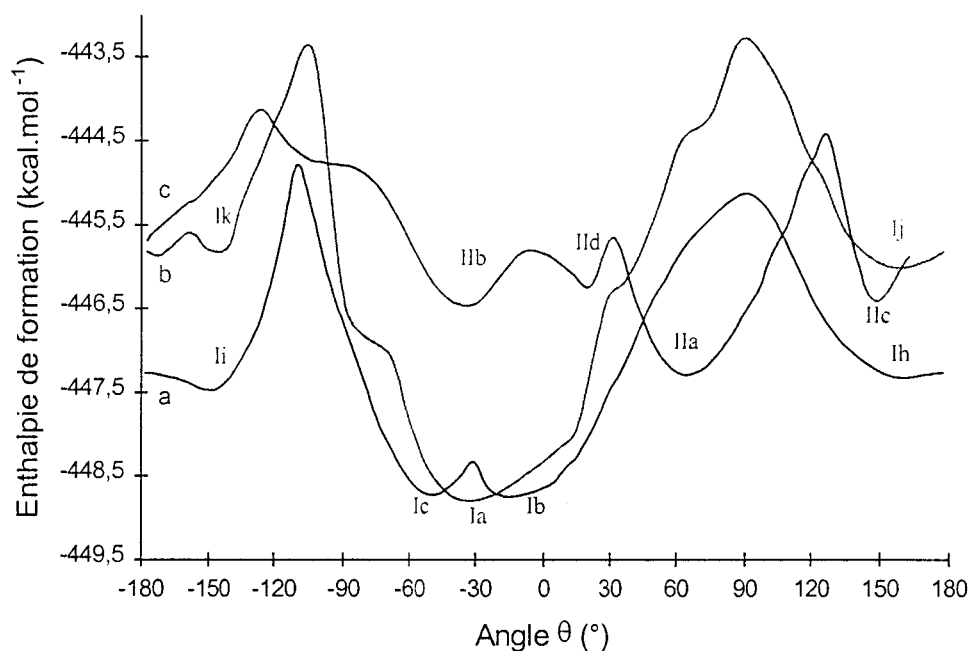


Fig. I.11 : Barrières de rotation autour de la liaison C2-C1' pour la famille de structures I ( $\gamma; \varepsilon = (-30^\circ; 65^\circ)$  (a), ( $\gamma; \varepsilon = (-68^\circ; -68^\circ)$  (b) et pour la famille structures II (c).

Les deux barrières correspondant à la famille de structures I indiquent que les minima les plus stables se situent dans une zone où  $\theta$  est compris entre  $+10^\circ$  et  $-60^\circ$ . La barrière correspondant à  $\varepsilon \approx 60^\circ$  (courbe a) présente un double puits d'énergie pour des valeurs de  $\theta$  égales à  $-14,3^\circ$  (Ib) et  $-49,5^\circ$  (Ic), alors que le minimum global de la courbe b ( $\varepsilon \approx -60^\circ$ ) se situe au niveau de  $\theta = -32^\circ$  (Ia). L'énergie nécessaire pour passer de Ib à Ic est de  $0,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et d'autres calculs (non présentés ici) ont permis d'estimer à  $0,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$ , la hauteur de la barrière d'énergie entre Ia et Ib.

La faible hauteur des barrières à franchir pour passer d'un conformère à un autre laisse supposer que les trois formes coexistent à température ambiante. Ces trois conformères sont stabilisés par une forte liaison hydrogène intramoléculaire O3'-H---Ob. Lors du calcul, la variation de la valeur de l'angle  $\theta$  de part et d'autre de ces minima d'énergie provoque la rupture de cette liaison hydrogène et conduit à une importante augmentation de l'enthalpie de formation. Après une réorganisation structurale de la molécule, des conformères de stabilité moindre sont obtenus pour des valeurs élevées de  $\theta$ .

#### I.5.4 – Géométrie de la molécule.

Les paramètres structuraux calculés par la méthode AM1 pour les trois conformères énergétiquement équivalents de l'isoquercitrine sont rassemblés dans les 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> colonnes des tables I.5, I.6 et I.7. Afin de connaître les modifications structurales occasionnées par la substitution de l'hydroxyle en position 3 par le glucose, les paramètres géométriques de la conformation la plus stable de la quercétine, ( $\theta = 26,70^\circ$ ) sont reportés dans la 2<sup>ème</sup> colonne.

D'un point de vue angles et longueurs de liaison, aucune modification structurale importante entre les trois conformères n'est observée : ceux-ci se différencient essentiellement par la valeur des angles dièdres. La position du glucose vis-à-vis de l'aglycone, définie par la valeur des angles  $\alpha$  et  $\omega$ , est sensiblement la même pour les trois structures ( $\alpha \approx 124,5 \pm 3^\circ$  et  $\omega \approx -96,0 \pm 3^\circ$ ). L'orientation du groupement Oa-Ha et des hydroxyles en position 3'' et 4'' du glucose sont également identiques dans les trois cas. Par contre, une évolution significative de la valeur des angles  $\gamma$ ,  $\varepsilon$  et  $\theta$  apparaît entre les trois conformères. Une telle liberté de rotation du cycle B ( $-15^\circ < \theta < -50^\circ$ ) indique une importante flexibilité de la molécule d'isoquercitrine. La comparaison des longueurs de liaison de la quercétine et de l'isoquercitrine ne montre aucune différence notable dans la structure des deux molécules.

La molécule d'isoquercitrine est stabilisée par quatre liaisons hydrogène intramoléculaires majeures :

(i) la plus forte s'établit entre la fonction carbonyle et le groupement hydroxyle en position 5 et sa longueur est de 1,99 Å. Cette liaison est également présente dans la quercétine et dans la 5-hydroxyflavone [Shoja, 1989] avec des longueurs sensiblement identiques : 2,00 et 1,99 Å respectivement.

(ii) La seconde se forme entre la fonction carbonyle et l'hydroxyle Oa-Ha du glucose, sa longueur est de  $2,22 \pm 0,02$  Å. Elle remplace la liaison hydrogène O2---H-O3 observée dans la quercétine (2,22 Å) et dans la 3-hydroxyflavone (2,24 Å) [Cornard, 1995].

(iii) La troisième liaison hydrogène s'établit entre les deux hydroxyles du cycle B. Moins forte que les deux précédentes, O4'-H---O3' = 2,25 Å est également présente dans la quercétine (2,26 Å) et dans la 3'4'-dihydroxyflavone (2,25 Å).

(iv) la dernière liaison hydrogène, formée uniquement pour certaines valeurs de  $\theta$ , caractérise les conformères les plus stables de l'isoquercitrine. Elle implique les groupements

O3'-H du cycle B et CH<sub>2</sub>ObHb du sucre, sa force et son orientation varie selon le conformère considéré.

Comme le montre la figure I.10, d'autres liaisons hydrogène intramoléculeaires moins importantes s'ajoutent à ces 4 liaisons majeures, la structure Ia est ainsi stabilisée par 8 liaisons hydrogène.

La valeur des angles de liaison ne varie pas significativement lors du passage de la quercétine à l'isoquercitrine. La légère augmentation (inférieure à 2°) des angles C3-C2-C1' et C3-C4-O2 ainsi que la diminution de l'angle C4-C3-O3 proviennent de l'encombrement stérique généré par la taille du sucre substitué à l'hydroxyle. Les modifications les plus importantes sont observées au niveau des angles dièdres dont la valeur résulte d'un compromis entre deux effets ; d'une part l'encombrement stérique dû à la taille du glucose et d'autre part la formation d'un nombre maximal de liaisons hydrogène intramoléculeaires. L'encombrement stérique provoque notamment la sortie du plan de la partie chromone des liaisons C4=O2, C2-C1' et C3-O3 et la formation de la liaison hydrogène O3'-H---Ob conduit à une sortie du plan du cycle B de la liaison O3'-H (jusqu'à 15° pour le conformère Ib).

|         | Quercétine             | Isoquercitrine |       |       |         |
|---------|------------------------|----------------|-------|-------|---------|
|         | $\theta = 26,70^\circ$ | Ia             | Ib    | Ic    | 15 MeOH |
| O1-C2   | 1,392                  | 1,388          | 1,389 | 1,386 | 1,391   |
| C2-C3   | 1,363                  | 1,367          | 1,367 | 1,364 | 1,366   |
| C3-C4   | 1,471                  | 1,468          | 1,469 | 1,469 | 1,469   |
| C4-C10  | 1,451                  | 1,455          | 1,455 | 1,456 | 1,454   |
| C10-C5  | 1,418                  | 1,418          | 1,418 | 1,418 | 1,417   |
| C5-C6   | 1,403                  | 1,404          | 1,404 | 1,404 | 1,404   |
| C6-C7   | 1,401                  | 1,400          | 1,400 | 1,400 | 1,400   |
| C7-C8   | 1,403                  | 1,403          | 1,404 | 1,404 | 1,404   |
| C8-C9   | 1,399                  | 1,398          | 1,398 | 1,398 | 1,400   |
| C9-C10  | 1,412                  | 1,411          | 1,410 | 1,411 | 1,408   |
| C9-O1   | 1,380                  | 1,382          | 1,382 | 1,383 | 1,383   |
| C2-C1'  | 1,460                  | 1,462          | 1,462 | 1,464 | 1,463   |
| C1'-C2' | 1,402                  | 1,401          | 1,402 | 1,400 | 1,401   |
| C2'-C3' | 1,395                  | 1,340          | 1,395 | 1,395 | 1,395   |
| C3'-C4' | 1,412                  | 1,414          | 1,413 | 1,414 | 1,412   |
| C4'-C5' | 1,402                  | 1,402          | 1,402 | 1,402 | 1,403   |
| C5'-C6' | 1,390                  | 1,391          | 1,390 | 1,391 | 1,389   |
| C6'-C1' | 1,404                  | 1,404          | 1,407 | 1,402 | 1,409   |
| C4-O2   | 1,248                  | 1,249          | 1,248 | 1,248 | 1,247   |
| C3-O3   | 1,379                  | 1,388          | 1,388 | 1,388 | 1,391   |
| C5-O5   | 1,381                  | 1,362          | 1,361 | 1,362 | 1,363   |
| C7-O7   | 1,370                  | 1,370          | 1,369 | 1,370 | 1,372   |
| C4'-O4' | 1,371                  | 1,371          | 1,369 | 1,371 | 1,367   |
| C3'-O3' | 1,381                  | 1,378          | 1,379 | 1,378 | 1,381   |
| O3-H3   | 0,974                  |                |       |       |         |
| O5-H5   | 0,974                  | 0,974          | 0,974 | 0,974 | 0,978   |
| O7-H7   | 0,970                  | 0,970          | 0,970 | 0,970 | 0,971   |
| O4'-H4' | 0,971                  | 0,971          | 0,971 | 0,971 | 0,976   |
| O3'-H3' | 0,968                  | 0,973          | 0,971 | 0,972 | 0,973   |

Table I.5 : Longueurs de liaisons (Å).

Partie II : Chapitre I : Etude structurale de la quercétine et de l'isoquercitrine.

|             | Quercétine             | Isoquercitrine |        |        |         |
|-------------|------------------------|----------------|--------|--------|---------|
|             | $\theta = 26,70^\circ$ | la             | lb     | lc     | 15 MeOH |
| C9-O1-C2    | 118,76                 | 119,09         | 119,39 | 118,85 | 119,40  |
| O1-C2-C3    | 121,23                 | 121,13         | 120,57 | 121,55 | 120,38  |
| C2-C3-C4    | 122,57                 | 122,48         | 122,81 | 122,41 | 122,74  |
| C3-C4-C10   | 115,07                 | 115,07         | 115,10 | 114,96 | 114,89  |
| C4-C10-C9   | 119,10                 | 119,13         | 118,99 | 119,26 | 118,90  |
| C4-C10-C5   | 123,36                 | 123,48         | 123,56 | 123,39 | 123,20  |
| C10-C5-C6   | 121,00                 | 120,97         | 120,94 | 120,99 | 120,70  |
| C5-C6-C7    | 119,20                 | 119,28         | 119,27 | 119,29 | 119,05  |
| C6-C7-C8    | 121,79                 | 121,72         | 121,73 | 121,70 | 122,15  |
| C7-C8-C9    | 117,81                 | 117,69         | 117,67 | 117,69 | 117,37  |
| C8-C9-C10   | 122,67                 | 122,96         | 122,94 | 122,97 | 122,72  |
| C8-C9-O1    | 114,06                 | 114,08         | 114,03 | 114,08 | 114,43  |
| C10-C9-O1   | 123,27                 | 122,97         | 123,04 | 122,94 | 122,85  |
| O1-C2-C1'   | 110,85                 | 109,72         | 109,79 | 109,73 | 109,79  |
| C3-C2-C1'   | 127,92                 | 129,07         | 129,60 | 128,67 | 129,77  |
| C2-C1'-C6'  | 120,07                 | 119,65         | 119,69 | 119,52 | 119,64  |
| C1'-C6'-C5' | 120,28                 | 120,80         | 121,13 | 120,61 | 121,17  |
| C6'-C5'-C4' | 119,68                 | 119,72         | 119,73 | 119,62 | 119,81  |
| C5'-C4'-C3' | 119,48                 | 119,56         | 119,39 | 119,67 | 119,15  |
| C4'-C3'-C2' | 120,70                 | 120,70         | 120,46 | 120,60 | 120,86  |
| C3'-C2'-C1' | 119,43                 | 119,68         | 119,85 | 119,27 | 119,80  |
| C2'-C1'-C6' | 119,82                 | 119,78         | 119,30 | 120,38 | 119,19  |
| C3-C4-O2    | 120,08                 | 121,51         | 121,34 | 121,50 | 121,58  |
| C10-C4-O2   | 124,86                 | 123,41         | 123,55 | 123,54 | 123,53  |
| C2-C3-O3    | 119,57                 | 119,90         | 120,51 | 120,22 | 121,67  |
| C4-C3-O3    | 117,86                 | 117,06         | 116,20 | 116,88 | 115,34  |
| C10-C5-O5   | 124,16                 | 124,35         | 124,33 | 124,38 | 124,05  |
| C6-C5-O5    | 114,85                 | 114,67         | 114,74 | 114,64 | 115,26  |
| C6-C7-O7    | 122,10                 | 122,18         | 122,19 | 122,19 | 122,01  |
| C8-C7-O7    | 116,12                 | 116,11         | 116,07 | 116,11 | 115,84  |
| C5'-C4'-O4' | 117,59                 | 117,63         | 117,74 | 117,57 | 117,68  |
| C4'-C3'-O3' | 116,03                 | 116,24         | 116,00 | 116,21 | 116,64  |
| C3-O3-H     | 107,08                 |                |        |        |         |
| C5-O5-H     | 110,47                 | 110,55         | 110,54 | 110,59 | 110,83  |
| C7-O7-H     | 108,30                 | 108,34         | 108,35 | 108,34 | 108,49  |
| C4'-O4'-H   | 108,13                 | 108,05         | 108,13 | 108,06 | 108,70  |
| C3'-O3'-H   | 107,80                 | 108,35         | 108,01 | 108,13 | 108,13  |

|                            | Quercétine             | Isoquercitrine |         |         |         |
|----------------------------|------------------------|----------------|---------|---------|---------|
|                            | $\theta = 26,70^\circ$ | la             | lb      | lc      | 15 MeOH |
| O1-C2-C1'-C6' = $\theta$   | 26,70                  | -31,79         | -14,31  | -49,49  | -3,64   |
| C3-C2-C1'-C6'              | -153,18                | 145,13         | 163,47  | 128,03  | 173,63  |
| C2-C3-C4-O2                | -178,77                | 175,39         | 175,90  | 179,53  | 170,89  |
| O1-C2-C3-O3                | 179,12                 | 173,37         | 174,56  | 170,55  | 174,91  |
| C9-O1-C2-C1'               | -179,48                | 178,35         | 177,97  | 179,66  | -177,39 |
| C10-C4-C3-O3               | -179,12                | -175,41        | -175,80 | -172,27 | 177,37  |
| C4-C3-C2-C1'               | 179,01                 | -174,37        | -174,68 | -178,48 | -175,94 |
| C8-C7-O7-H                 | 179,90                 | 179,94         | 179,83  | 179,90  | 179,05  |
| C6-C5-O5-H                 | -179,91                | 178,44         | 178,53  | 178,73  | -175,30 |
| C2-C3-O3-H                 | 171,87                 |                |         |         |         |
| C5'-C4'-O4'-H              | 179,33                 | 179,64         | 178,68  | 179,59  | -171,37 |
| C2'-C3'-O3'-H              | -5,05                  | -3,30          | -14,47  | -3,72   | 20,23   |
| C2-C3-O3-C1" = $\alpha$    |                        | 127,40         | 124,19  | 121,22  | 120,23  |
| C3-O3-C1"-O = $\omega$     |                        | -95,90         | -94,23  | -99,35  | -103,45 |
| O-C5"-C6"-Ob = $\gamma$    |                        | -67,76         | -30,25  | 58,26   | -51,51  |
| C5"-C6"-Ob-Hb = $\epsilon$ |                        | -68,2          | 64,94   | 55,34   | 61,51   |
| O3-C1"-C2"-Oa              |                        | -87,87         | -85,27  | -80,04  | -77,69  |
| C1"-C2"-Oa-Ha              |                        | 43,25          | 42,76   | 41,53   | 53,18   |

Tables I.6 et I.7 : Angles de liaison et angles dièdres ( $^\circ$ ).

Cette étude structurale indique clairement que la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires est un facteur énergétiquement plus favorable que la diminution de l'encombrement stérique. Comme le montre la figure I.10, l'ensemble des hydroxyles présents sur la molécule sont engagés dans une liaison hydrogène intramoléculaire, excepté le groupement O7-H qui n'en a pas la possibilité.

I.5.5 – Distribution électronique.

Dans la table I.8 sont rassemblées les charges partielles de Mulliken portées par les atomes de la quercétine et des 3 conformères les plus stables de l'isoquercitrine.

|                   | Quercétine            | Isoquercitrine  |        |        | Isoquercitrine     |        |        |        |
|-------------------|-----------------------|-----------------|--------|--------|--------------------|--------|--------|--------|
|                   | $\theta = 26,7^\circ$ | la              | lb     | lc     | la                 | lb     | lc     |        |
|                   |                       | partie aglycone |        |        | partie glucose     |        |        |        |
| O1                | -0,120                | -0,124          | -0,129 | -0,120 | C1''               | 0,119  | 0,122  | 0,117  |
| C2                | 0,102                 | 0,172           | 0,174  | 0,171  | C2''               | -0,021 | -0,020 | -0,020 |
| C3                | -0,097                | -0,136          | -0,139 | -0,137 | C3''               | -0,001 | -0,004 | -0,003 |
| C4                | 0,310                 | 0,326           | 0,326  | 0,324  | C4''               | 0,010  | 0,009  | 0,009  |
| C5                | 0,227                 | 0,225           | 0,226  | 0,225  | C5''               | 0,003  | 0,004  | 0,000  |
| C6                | -0,302                | -0,299          | -0,298 | -0,299 | C6''               | -0,009 | -0,008 | -0,018 |
| C7                | 0,179                 | 0,177           | 0,177  | 0,176  | O                  | -0,293 | -0,309 | -0,287 |
| C8                | -0,237                | -0,233          | -0,233 | -0,231 | H1''               | 0,123  | 0,123  | 0,115  |
| C9                | 0,179                 | 0,169           | 0,171  | 0,166  | H2''               | 0,119  | 0,117  | 0,119  |
| C10               | -0,314                | -0,315          | -0,315 | -0,315 | H3''               | 0,105  | 0,104  | 0,103  |
| C1'               | -0,054                | -0,080          | -0,079 | -0,079 | H4''               | 0,103  | 0,110  | 0,107  |
| C2'               | -0,124                | -0,120          | -0,129 | -0,113 | H5''               | 0,101  | 0,101  | 0,094  |
| C3'               | -0,016                | -0,006          | -0,014 | -0,004 | H <sub>1</sub> 6'' | 0,120  | 0,134  | 0,121  |
| C4'               | 0,089                 | 0,091           | 0,097  | 0,089  | H <sub>2</sub> 6'' | 0,096  | 0,076  | 0,101  |
| C5'               | -0,147                | -0,153          | -0,154 | -0,151 | Oa                 | -0,337 | -0,336 | -0,337 |
| C6'               | -0,086                | -0,083          | -0,080 | -0,082 | Ha                 | 0,241  | 0,240  | 0,241  |
| O2                | -0,364                | -0,380          | -0,375 | -0,374 | O3''               | -0,336 | -0,333 | -0,335 |
| O3                | -0,248                | -0,187          | -0,192 | -0,177 | H <sub>o</sub> 3'' | 0,231  | 0,229  | 0,231  |
| O5                | -0,247                | -0,247          | -0,246 | -0,247 | O4''               | -0,330 | -0,326 | -0,329 |
| O7                | -0,237                | -0,236          | -0,236 | -0,236 | H <sub>o</sub> 4'' | 0,132  | 0,228  | 0,229  |
| O3'               | -0,271                | -0,281          | -0,275 | -0,281 | Ob                 | -0,339 | -0,336 | -0,341 |
| O4'               | 0,243                 | -0,245          | -0,242 | -0,245 | Hb                 | 0,212  | 0,212  | 0,209  |
| H <sub>o</sub> 3  | 0,244                 |                 |        |        |                    |        |        |        |
| H <sub>o</sub> 5  | 0,266                 | 0,267           | 0,267  | 0,267  |                    |        |        |        |
| H <sub>o</sub> 7  | 0,231                 | 0,231           | 0,231  | 0,231  |                    |        |        |        |
| H <sub>o</sub> 3' | 0,232                 | 0,257           | 0,251  | 0,255  |                    |        |        |        |
| H <sub>o</sub> 4' | 0,240                 | 0,242           | 0,244  | 0,241  |                    |        |        |        |
| H6                | 0,162                 | 0,163           | 0,163  | 0,163  |                    |        |        |        |
| H8                | 0,176                 | 0,178           | 0,177  | 0,178  |                    |        |        |        |
| H2'               | 0,163                 | 0,183           | 0,183  | 0,176  |                    |        |        |        |
| H5'               | 0,158                 | 0,157           | 0,159  | 0,157  |                    |        |        |        |
| H6'               | 0,151                 | 0,147           | 0,152  | 0,145  |                    |        |        |        |

Table I.8 : Charges partielles de Mulliken portées par les atomes de la quercétine et des trois conformères de l'isoquercitrine. (H<sub>o</sub>x correspond à l'hydrogène du groupement hydroxyle en position x et Hx correspond à l'atome d'hydrogène porté par le carbone x, H<sub>1</sub>6'' et H<sub>2</sub>6'' sont les deux hydrogènes portés par le carbone 6'').

Ni la substitution par le glucose, ni l'orientation adoptée par le cycle B n'affecte la valeur des charges portées par les atomes du cycle A. Par contre, par rapport à la quercétine, des modifications de la distribution électronique apparaissent au niveau du cycle B. Ces variations concernent essentiellement les atomes les plus proches du glucose (en position 1', 2' et 3') et dépendent du conformère considéré, c'est-à-dire de la manière dont s'établit la liaison hydrogène O3'-H---Ob. Bien que les valeurs des charges portées par Ob et Hb ne soient pas modifiées selon la conformation, les charges de l'oxygène cyclique du glucose et des hydrogènes en position 6'' sont directement affectées par les variations structurales. Cet effet électronique se prolonge sur le cycle C, le long de la chaîne C2-C3-C4-O2 dont les atomes voient leur charge augmenter. L'extension de la délocalisation électronique au cycle C et la formation de la liaison hydrogène intramoléculaire O2---Ha-Oa au détriment de O2---H-O3 conduisent à une nette diminution de la charge portée par O3 et à une augmentation des charges portées par Oa et Ha par rapport aux autres groupements hydroxyles du glucose.

La formation de la liaison hydrogène intramoléculaire O3'-H---Ob permet ainsi une délocalisation des charges le long d'un nouveau cycle comprenant la chaîne C1''-O-C5''-C6''-Ob du glucose, les atomes H-O3', C3', C2' et C1' du cycle B ainsi que la chaîne C2-C3-O3 du cycle C. Par rapport à la quercétine, l'extension de la conjugaison entre les cycles B et C est plus forte.

#### *1.5.6 – Influence des molécules de méthanol.*

Comme la plupart des flavonols, l'isoquercitrine est très peu soluble dans les solvants usuels et seul le méthanol permet l'obtention de concentrations suffisamment élevées pour étudier expérimentalement la molécule en solution. A l'état isolé, la faible énergie des trois conformères les plus stables de l'isoquercitrine provient essentiellement de la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires. Afin d'étudier l'influence du solvant sur la conformation de la molécule et de savoir si les liaisons hydrogène intramoléculaires présentes à l'état isolé sont préservées lors de la mise en solution, la simulation des interactions entre l'isoquercitrine et des molécules de méthanol a été effectuée en utilisant la méthode AM1.

Dans un premier temps, pour les 18 conformères stables correspondant aux familles de structures I et II, trois molécules de méthanol ont été positionnées dans une configuration favorable à l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires (à proximité de la

fonction carbonyle, des deux hydroxyles du cycle B et de la liaison hydrogène intramoléculaire O3'-H---Ob). Des calculs de minimalisation d'énergie ont été effectués en relaxant l'ensemble des paramètres géométriques de l'isoquercitrine ainsi que des molécules de méthanol. Le résultat de ces calculs a mené aux observations suivantes :

(i) les liaisons hydrogène intramoléculaires présentes à l'état isolé sont préservées.

(ii) des liaisons hydrogène intermoléculaires s'établissent entre l'isoquercitrine et les molécules de solvant, celles-ci sont cependant plus faibles (de 2,25 à 2,35 Å) que les liaisons hydrogène intramoléculaires (2,00 à 2,25 Å).

(iii) l'ordre de stabilité des différents conformères est préservé : les structures I ont toujours une énergie plus faible que les structures II et l'enthalpie de formation des conformères qui présentent l'interaction O3'-H---Ob (Ia, Ib et Ic) est toujours plus faible de 0,5 kcal.mol<sup>-1</sup> par rapport aux autres conformères.

Pour les structures Ia, Ib et Ic, le même calcul est réitéré en entourant la molécule de 15 molécules de méthanol. Les molécules de solvant sont positionnées de manière aléatoire à proximité de la fonction carbonyle et des groupements hydroxyles de la molécule. Ces trois minimalisations d'énergie convergent vers un même conformère, dont les paramètres géométriques figurent dans la cinquième colonne des tables I.5, I.6 et I.7.

Par rapport à la molécule isolée, les principales modifications structurales se situent au niveau des angles dièdres, la présence des molécules de solvant affectant peu la valeur des angles et des longueurs de liaison. Les huit groupements hydroxyles ainsi que la fonction carbonyle permettent la formation de nombreuses liaisons hydrogène intermoléculaires entre le méthanol et l'isoquercitrine (Fig. I.12).

Les liaisons hydrogène intermoléculaires conduisent à une légère variation de la position des hydroxyles O5-H et O7-H et la liaison O5-H sort du plan chromone (C6-C5-O5-H = -175,30°). Le glucose se rapproche de la fonction carbonyle (C2-C3-O3 augmente et C4-C3-O3 diminue d'environ 1,2°) et la liaison C3-O3 se rapproche du plan de la partie chromone. L'encombrement stérique généré par ce déplacement du sucre conduit à une sortie du plan  $\gamma$ -pyrone de la fonction carbonyle et de la liaison inter-cycle de 10° et de 3° respectivement. Au niveau des liaisons hydrogène intramoléculaires, la liaison O5-H---O2 s'affaiblit légèrement alors que l'interaction Oa-Ha---O2 devient plus forte : respectivement égales à 1,99 Å et 2,20 Å à l'état isolé, les longueurs de ces deux liaisons valent désormais 2,03 Å et 2,12 Å. L'interaction entre le sucre et le cycle B est préservée mais la force de la



liaison Ob---H-O3' diminue (3,00 Å) au profit de l'augmentation de celle de Ob-Hb---O3' (2,69 Å). Afin de préserver une interaction forte entre le glucose et le cycle B, la structure de la molécule devient quasiment plane ( $\theta = -3,34^\circ$ ) et la liaison O3'-H sort très largement du plan du cycle B ( $C2'-C3'-O3'-H = 20,23^\circ$ ). Le maintien de la liaison hydrogène O4'-H---O3' (2,30 Å) conduit la liaison O4'-H à sortir également de ce plan ( $C5'-C4'-O4'-H = -171,37^\circ$ ).

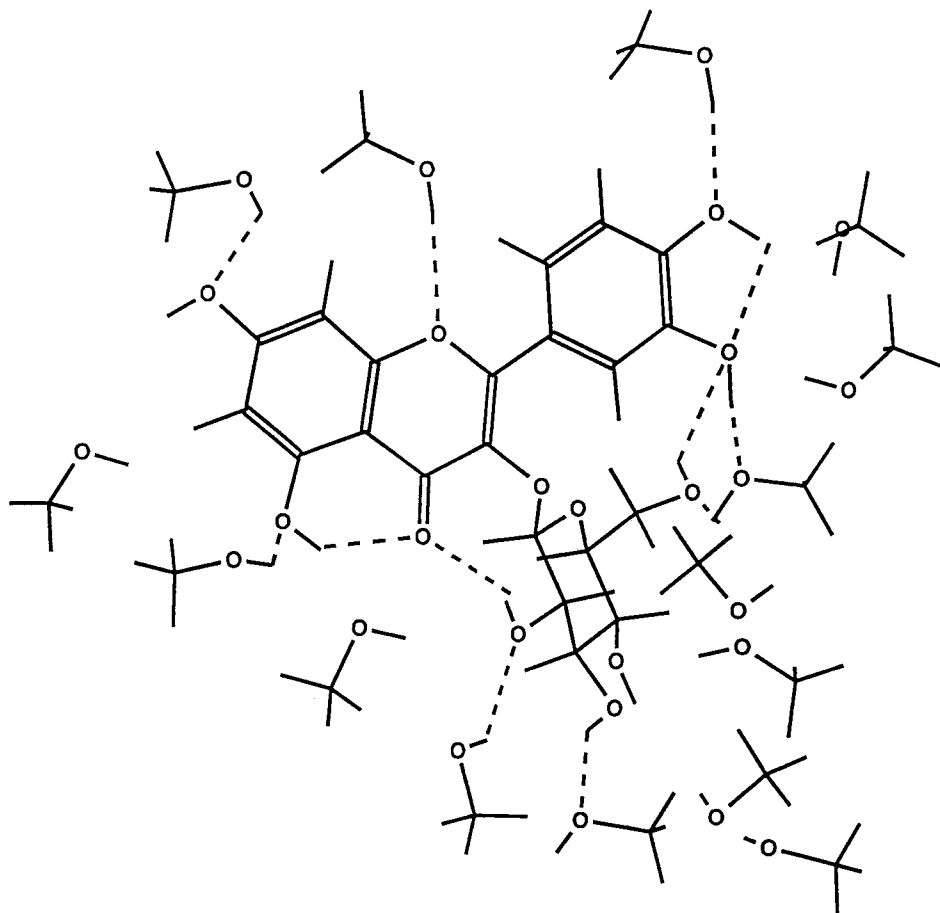


Fig. I.12 : Exemple d'interaction obtenu après optimisation de la géométrie des conformères Ia, Ib et Ic entourés de 15 molécules de méthanol.

La simulation des interactions entre l'isoquercitrine et les molécules de solvant indique que les liaisons hydrogène intramoléculaires qui stabilisent la molécule à l'état isolé sont préservées lors de la mise en solution. La formation de liaisons hydrogène intermoléculaires avec le méthanol ainsi que la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires conduisent à un encombrement stérique plus important entre le sucre et l'aglycone et à des déformations géométriques de la molécule. Néanmoins, d'un point de vue

énergétique, le maintien des interactions intramoléculaires est toujours plus favorable qu'une diminution de l'encombrement stérique.

Ce calcul ne représente pas effectivement un modèle d'interaction isoquercitrine – solvant puisqu'un plus grand nombre de molécules de solvant serait nécessaire. Cependant, il illustre les tendances des modifications structurales pouvant être engendrées par la présence d'un solvant polaire et protique à proximité de la molécule.

## **I.6. Conclusion.**

L'étude conformationnelle de la quercétine et de l'isoquercitrine nous a permis d'obtenir un modèle moléculaire pour ces deux composés à l'état isolé. Comme d'autres flavonoïdes précédemment étudiés, la quercétine dont la structure est quasiment plane à l'état solide adopte une conformation "twistée" à l'état isolé. Néanmoins, ces modifications géométriques n'affectent pas significativement la distribution des charges atomiques de la molécule.

La glycosylation de la quercétine s'accompagne de modifications structurales notamment au niveau des angles dièdres, mais surtout d'une importante redistribution des charges électroniques de Mulliken. La substitution par un glucose en position 3 augmente sensiblement l'encombrement stérique mais permet la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte entre le sucre et le cycle B de la molécule. La modélisation moléculaire a conduit à l'obtention de trois conformères énergétiquement équivalents qui doivent coexister à température ambiante. Ceux-ci se différencient uniquement par la façon dont la liaison hydrogène intramoléculaire entre le sucre et le cycle B est formée. La molécule d'isoquercitrine est très flexible et, contrairement à la quercétine où l'angle  $\theta$  ne peut prendre que deux valeurs, de nombreuses valeurs de  $\theta$  sont possibles. Le glucose et le cycle B se positionnent toujours de sorte que le nombre de liaisons hydrogène intramoléculaires soit maximum. La formation de ces liaisons hydrogène entraîne une modification de la répartition des charges atomiques par rapport à la quercétine, notamment au niveau du lien inter-cycle.

La simulation des interactions entre les trois structures les plus stables et des molécules de méthanol conduit à une unique conformation où l'ensemble des interactions intramoléculaires sont préservées. La conformation adoptée par l'isoquercitrine à l'état isolé est donc principalement gouvernée par des interactions électroniques du type liaison

hydrogène. La formation de ces liaisons hydrogène est un facteur de stabilité beaucoup plus important qu'une éventuelle diminution des répulsions dues à l'encombrement stérique.

## **Chapitre II : Etude spectroscopique de la quercétine et de l'isoquercitrine.**

### **II.1 – Introduction.**

Comme le mentionne la bibliographie, l'étude spectroscopique des flavonoïdes est relativement sommaire et principalement utilisée à des fins analytiques. Les spectres électroniques et de vibration de ces composés sont très complexes et varient considérablement selon la nature et la position des différents substituants. Les tentatives d'attribution des spectres de vibrations se limitent à certains groupements particuliers telle que la  $\nu(\text{C}=\text{O})$  tandis que seules la position et l'intensité des bandes UV-visible sont décrites.

L'ensemble des données spectroscopiques est cependant nécessaire pour valider le modèle structural théorique obtenu par modélisation moléculaire. Une bonne corrélation entre les résultats obtenus par calcul et les données expérimentales permet :

- (i) de confirmer le modèle structural.
- (ii) d'interpréter un grand nombre d'observables.

### **II.2 – Les produits utilisés.**

La quercétine dihydrate et l'isoquercitrine sont des produits Extrasynthèse utilisés sans purification supplémentaire. Le solvant utilisé est du méthanol Spectrosol de chez S.D.S.

### **II.3 – La spectroscopie RMN.**

Les déplacements chimiques observés sur les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  peuvent être corrélés à la densité électronique autour de l'atome et à l'anisotropie magnétique environnante. La densité électronique sur un atome étant souvent considérée comme représentative du déplacement chimique observé sur le spectre, il est possible d'estimer que la charge portée par l'atome l'est également. Les protons étant les atomes périphériques, leur déplacement chimique est généralement fortement perturbé par le milieu environnant, c'est-à-dire le solvant. Il est alors inapproprié de comparer les charges calculées sur la molécule isolée aux déplacements chimiques observés. Cependant, la comparaison peut être envisagée

avec les charges des atomes de carbone, en prévoyant que les carbones portant les charges les plus positives résonnent aux champs les plus faibles et que ceux dont les charges sont les plus négatives soient les plus déblindés.

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés avec un spectromètre BRUCKER AC300. Ils ont été réalisés dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  et dans le  $\text{DMSO-d}_6$ . Le nombre d'accumulations est d'environ 300 pour les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  et 150 pour les spectres RMN  $^1\text{H}$ .

### II.3.1 – La RMN $^1\text{H}$ .

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  de la quercétine et de l'isoquercitrine en solution dans le  $\text{DMSO-d}_6$  ayant été publiés dans la littérature [Markham, 1993] et le changement de solvant n'affectant pas l'allure de ces spectres, seuls les spectres correspondants aux composés dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  sont présentés sur la figure II.1. L'attribution est également issue des données bibliographiques. Contrairement au  $\text{DMSO-d}_6$ , dans le méthanol- $\text{d}_4$ , les échanges de protons entre le solvant et les composés ne permettent pas l'observation des signaux correspondants aux hydrogènes des différents groupements hydroxyles. La table II.1 rassemble les déplacements chimiques des protons de la quercétine et de l'isoquercitrine dans les deux solvants. Le changement de solvant affecte le déplacement chimique de certains protons. Alors que pour les deux molécules, le proton  $\text{H}2'$  résonne à des champs plus faibles dans  $\text{CD}_3\text{OD}$ , seul le signal de  $\text{H}6'$  de la quercétine se déblindé dans ce même solvant.

|              | quercétine        |                        | isoquercitrine    |                        |
|--------------|-------------------|------------------------|-------------------|------------------------|
|              | $\delta$ (ppm)    |                        | $\delta$ (ppm)    |                        |
|              | $\text{DMSO-d}_6$ | $\text{CD}_3\text{OD}$ | $\text{DMSO-d}_6$ | $\text{CD}_3\text{OD}$ |
| $\text{H}2'$ | 7,65              | 7,72                   | 7,59              | 7,71                   |
| $\text{H}6'$ | 7,53              | 7,62                   | 7,57              | 7,56                   |
| $\text{H}5'$ | 6,87              | 6,87                   | 6,84              | 6,85                   |
| $\text{H}8$  | 6,40              | 6,38                   | 6,40              | 6,35                   |
| $\text{H}6$  | 6,17              | 6,17                   | 6,19              | 6,17                   |

Table II.1 : Déplacements chimiques des protons de la quercétine et de l'isoquercitrine dans le  $\text{DMSO-d}_6$  et dans le méthanol- $\text{d}_4$ .

Conformément aux observations de la littérature, les protons du cycle A résonnent à des champs plus forts que ceux du cycle B et le signal de  $\text{H}5'$  est davantage blindé que ceux

correspondant à H6' et H2'. La glucosylation de la quercétine n'affecte aucunement le déplacement chimique des protons du cycle A et se traduit par un léger blindage des protons en position 2' et 5'. Sur le spectre de l'isoquercitrine, le signal du proton H1'' du glucose apparaît à 5,46 ppm, sous la forme d'un doublet. Les autres protons du sucre résonnent vers 3,3 ppm.

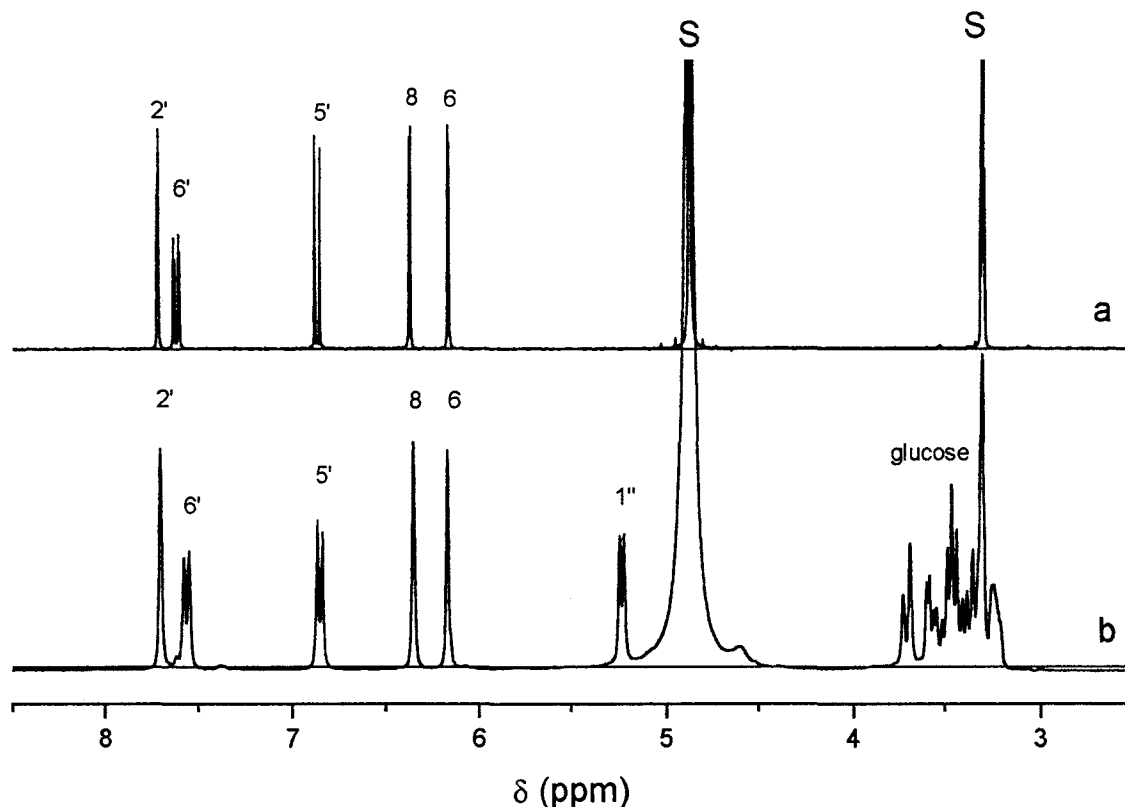


Fig.II.1 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) enregistrés dans le méthanol- $\text{d}_4$  sur la gamme 2 - 8,5 ppm (S correspond au signal du solvant).

La substitution de l'hydroxyle en position 3 de la quercétine par le glucose ne perturbe pas significativement son spectre RMN  $^1\text{H}$  et aucune information structurale n'est obtenue.

### II.3.2 – La RMN $^{13}\text{C}$ .

La figure II.2 présente les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de la quercétine et de l'isoquercitrine enregistrés dans le DMSO- $\text{d}_6$  et dans le méthanol- $\text{d}_4$ . L'attribution a été faite en utilisant les données de la littérature [Agrawal, 1989].

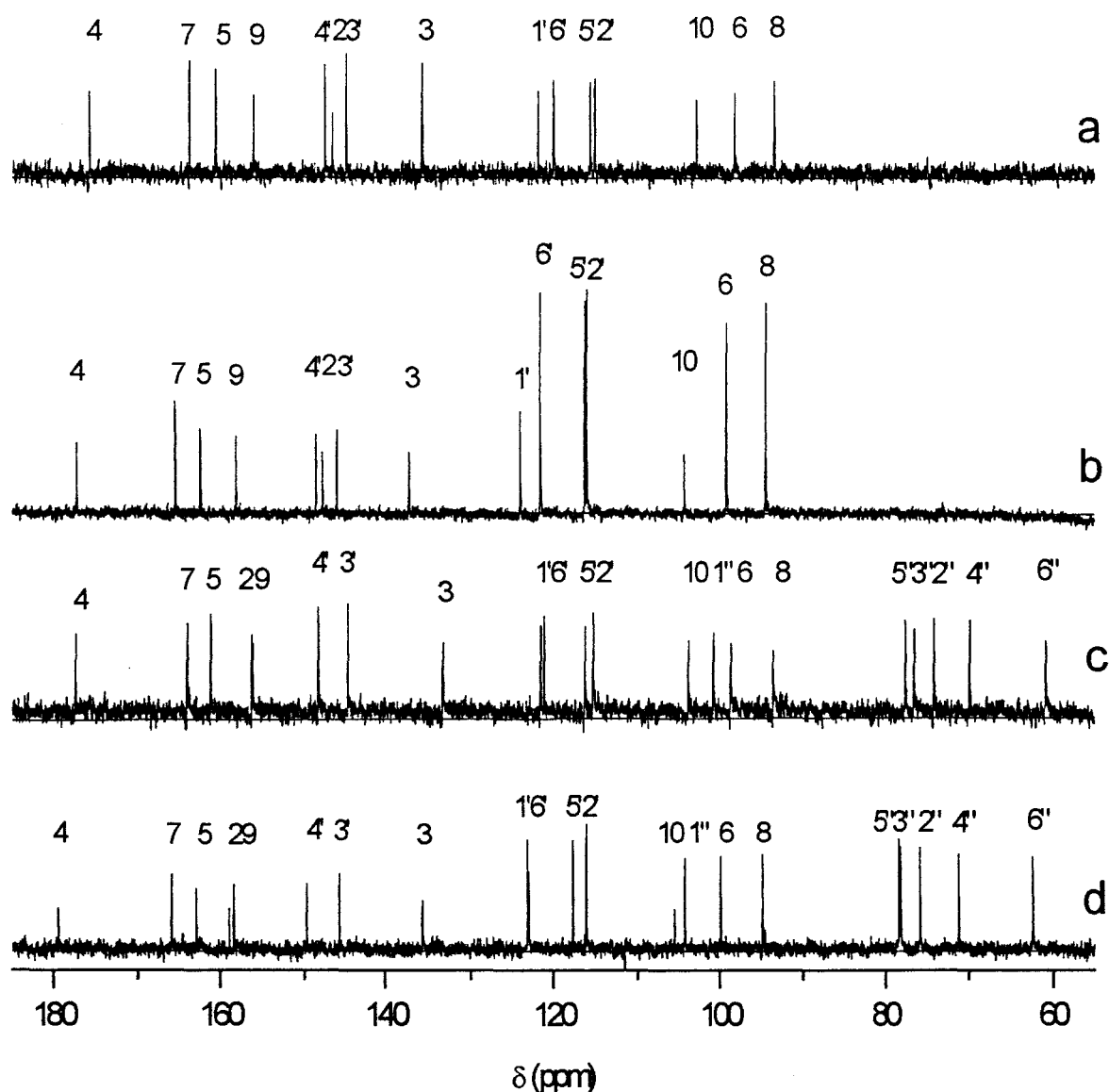


Fig. II.2 : Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de la quercétine dans le DMSO- $d_6$  (a) dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  (b) et de l'isoquercitrine dans le DMSO- $d_6$  (c) et dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  (d).

Dans les tables II.2 et II.3 sont rassemblées les valeurs des déplacements chimiques observés pour les différents carbones des deux molécules dans les deux solvants ainsi que les charges atomiques calculées par la méthode AM1 à partir des structures moléculaires optimisées de la quercétine et des trois conformères stables de l'isoquercitrine. La corrélation entre le déplacement chimique et les charges atomiques calculées par la méthode AM1 des différents carbones est représentée sur la figure II.3 pour la quercétine et sur la figure II.4 pour les trois conformères de l'isoquercitrine.

|     | quercétine          |        |                  |
|-----|---------------------|--------|------------------|
|     | $\delta$ (ppm)      |        | charge calculées |
|     | DMSO-d <sub>6</sub> | CD3OD  |                  |
| C2  | 146,79              | 148,00 | 0,102            |
| C3  | 135,69              | 137,23 | -0,097           |
| C4  | 175,80              | 179,83 | 0,310            |
| C5  | 160,66              | 162,52 | 0,227            |
| C6  | 98,18               | 99,23  | -0,302           |
| C7  | 163,83              | 165,57 | 0,179            |
| C8  | 93,37               | 94,40  | -0,237           |
| C9  | 156,12              | 158,24 | 0,179            |
| C10 | 102,98              | 104,53 | -0,314           |
| C1' | 121,93              | 124,15 | -0,054           |
| C2' | 115,00              | 116,00 | -0,124           |
| C3' | 145,02              | 146,23 | -0,016           |
| C4' | 147,65              | 148,77 | 0,089            |
| C5' | 115,58              | 116,25 | -0,147           |
| C6' | 120,02              | 121,68 | -0,086           |

Table II.2 : Déplacements chimiques (en ppm) observés dans le DMSO-d<sub>6</sub> et dans CD<sub>3</sub>OD pour les différents atomes de carbone de la quercétine et charges atomiques calculées.

|      | isoquercitrine      |        |                   |        |        |
|------|---------------------|--------|-------------------|--------|--------|
|      | $\delta$ (ppm)      |        | charges calculées |        |        |
|      | DMSO-d <sub>6</sub> | CD3OD  | la                | lb     | lc     |
| C2   | 156,31              | 159,02 | 0,172             | 0,174  | 0,171  |
| C3   | 133,30              | 135,65 | -0,136            | -0,139 | -0,137 |
| C4   | 177,44              | 179,46 | 0,326             | 0,326  | 0,324  |
| C5   | 161,23              | 162,98 | 0,225             | 0,226  | 0,225  |
| C6   | 98,64               | 99,90  | -0,299            | -0,298 | -0,299 |
| C7   | 164,08              | 165,98 | 0,177             | 0,177  | 0,176  |
| C8   | 93,49               | 94,75  | -0,233            | -0,233 | -0,231 |
| C9   | 156,17              | 158,42 | 0,169             | 0,171  | 0,166  |
| C10  | 103,98              | 105,68 | -0,315            | -0,315 | -0,315 |
| C1'  | 121,16              | 123,06 | -0,080            | -0,079 | -0,079 |
| C2'  | 115,20              | 116,01 | -0,120            | -0,129 | -0,113 |
| C3'  | 144,79              | 145,87 | -0,006            | -0,014 | -0,004 |
| C4'  | 148,44              | 149,84 | 0,091             | 0,097  | 0,089  |
| C5'  | 116,19              | 117,62 | -0,153            | -0,154 | -0,151 |
| C6'  | 121,59              | 123,22 | -0,083            | -0,080 | -0,082 |
| C1'' | 100,83              | 104,42 | 0,119             | 0,122  | 0,117  |
| C2'' | 74,08               | 75,75  | -0,021            | -0,020 | -0,020 |
| C3'' | 76,48               | 78,12  | -0,001            | -0,004 | -0,003 |
| C4'' | 69,91               | 71,20  | 0,010             | 0,009  | 0,009  |
| C5'' | 77,56               | 78,35  | 0,003             | 0,004  | 0,000  |
| C6'' | 60,96               | 62,57  | -0,009            | -0,008 | -0,018 |

Table II.3 : Déplacements chimiques (en ppm) observés dans le DMSO-d<sub>6</sub> et dans CD<sub>3</sub>OD pour les différents atomes de carbone de l'isoquercitrine et charges atomiques calculées.



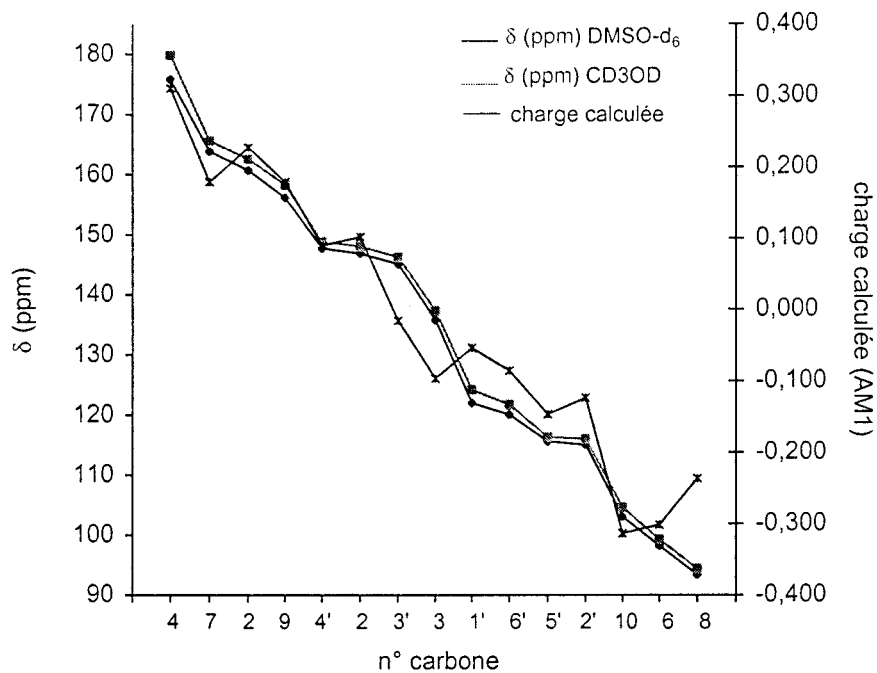


Fig. II.3 : Déplacements chimiques (en ppm) et charges calculées pour les différents atomes de carbone de la quercétine.

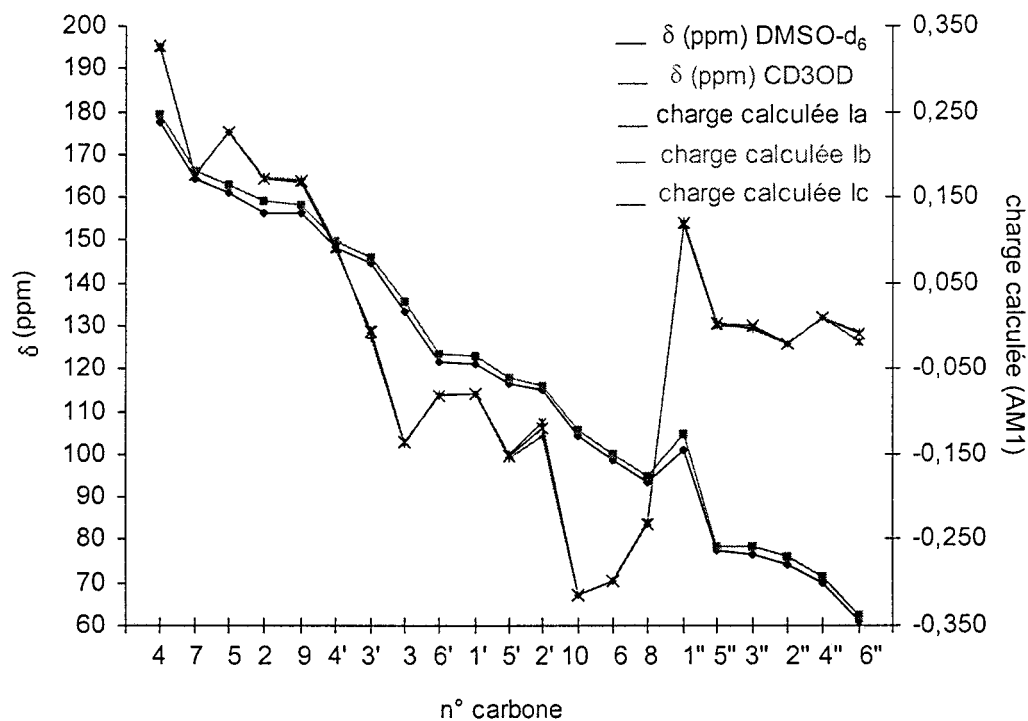


Fig. II.4 : Déplacements chimiques (en ppm) et charges calculées pour les différents atomes de carbone de l'isoquercitrine.

Dans les deux cas, les charges atomiques calculées représentent d'une façon satisfaisante la tendance des déplacements chimiques des différents atomes de carbone. Le carbone C4 de la fonction carbonyle possède une importante charge positive et résonne aux champs les plus faibles. Les carbones porteurs d'un groupement hydroxyle ou liés à l'oxygène O1 du cycle C sont caractérisés par une faible densité de charges et sont les plus déblindés (C7, C5, C3, C3' et C4'). Les atomes C10, C8 et C6 possèdent les charges les plus négatives et sont fortement blindés. Certaines irrégularités apparaissent entre la courbe des déplacements chimiques et la courbe des charges calculées. Néanmoins, même si la charge calculée n'est pas directement proportionnelle au déplacement chimique, celle-ci indique correctement la gamme spectrale dans laquelle résonnent les différents carbones.

La résonance aux champs faibles du carbone C1'' par rapport aux autres carbones du glucose est nettement mise en évidence par une densité de charge plus faible. Par contre, la charge calculée pour le carbone C6'' reflète moins bien sa résonance aux champs forts. Les variations de charges existant entre les trois conformères de l'isoquercitrine sont trop faibles pour que la comparaison de l'évolution du déplacement chimique avec celle des charges calculées permette de connaître lequel des trois conformères est préférentiellement présent en solution.

La substitution de l'hydroxyle en position 3 de la quercétine par le glucose se traduit essentiellement sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  par le déblindage de C2 qui résonne à 146,8 ppm dans la quercétine et à 156,3 ppm dans l'isoquercitrine et par le blindage de C3 dont le déplacement chimique passe de 135,7 ppm dans la quercétine à 133,3 ppm dans l'isoquercitrine (mesures dans le DMSO- $d_6$ ). Les charges calculées par la méthode AM1 confirment cette tendance puisque par rapport à la quercétine, une variation de charges de 0,07 pour C2 et de -0,04 pour C3 est observée. Ainsi, la modification de la répartition électronique entre les deux molécules permet de prévoir la résonance de C2 aux champs plus faibles et celle de C3 aux champs plus forts. En considérant que dans les systèmes aromatiques et conjugués, la variation d'une unité de charge équivaut à  $\Delta\delta = 155$  ppm [Spiesscke, 1961 ; Strub, 1983], la variation du déplacement chimique peut être calculée et comparée aux variations expérimentales. La figure II.5 présente la variation du déplacement chimique expérimental des différents carbones de l'aglycone lors du passage de la quercétine à l'isoquercitrine dans le DMSO- $d_6$ , solvant qui permet de se rapprocher le plus possible de

l'état isolé. Dans le méthanol, les interactions intermoléculaires sont nettement plus importantes. Les variations théoriques calculées à partir des modifications des charges atomiques obtenues par la méthode AM1 entre la quercétine et les trois conformères Ia, Ib et Ic de l'isoquercitrine sont également représentées.

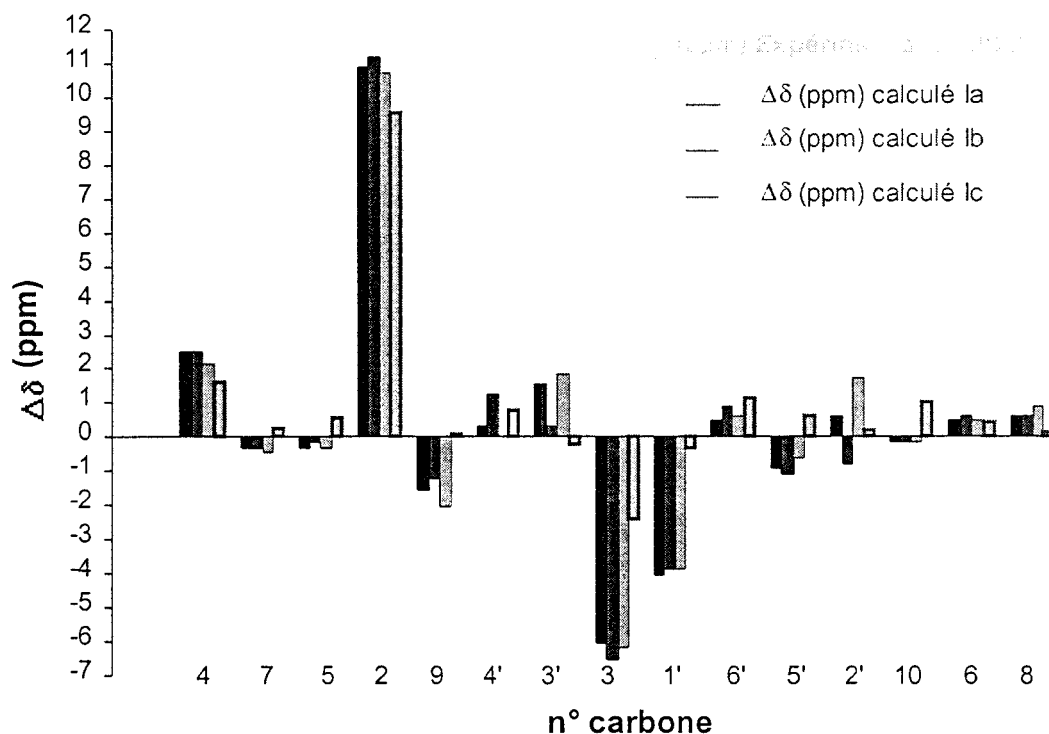


Fig. II.5 : Variation du déplacement chimique expérimental des différents carbone induit par glycosylation de la quercétine et variation théorique calculée pour les conformères Ia, Ib et Ic de l'isoquercitrine.

Pour les trois conformères, les modifications théoriques reflètent de façon satisfaisante les observations expérimentales. Les carbones du cycle A voient leur charge peu modifiée par la substitution par le glucose et résonnent à des valeurs de champs quasiment identiques pour les deux molécules. Les charges des atomes du cycle B sont davantage perturbées et des modifications du déplacement chimique des carbones de ce cycle apparaissent lors du passage de la quercétine à l'isoquercitrine. L'importante modification de la résonance de C2 et de C3 est également bien représentée par la variation des charges calculées.

## II.4 – La spectroscopie de vibration.

Les spectres de vibration de la quercétine et de l'isoquercitrine sont très complexes, on peut s'attendre à  $3N-6 = 90$  modes normaux de vibrations pour la quercétine et 153 pour l'isoquercitrine.

Afin de définir l'origine des différents signaux observés et de relier certains d'entre eux aux propriétés structurales des molécules étudiées, nous nous sommes aidés des études préalables réalisées sur des flavonoïdes plus simples et un calcul des modes normaux de vibration dans l'approximation harmonique a été entrepris pour la quercétine ainsi que pour les trois conformères énergétiquement équivalents de l'isoquercitrine. Les objectifs sont les suivants :

(i) donner une attribution la plus complète possible des spectres de vibration.

(ii) connaître les modifications des fréquences de vibration de l'aglycone dues à la substitution par le sucre. A ce titre, les vibrations relatives au glucose ont volontairement été éludées de l'analyse des modes normaux de vibration de l'isoquercitrine.

(iii) valider les modèles structuraux théoriques obtenus au moyen de l'analyse conformationnelle par la méthode semi-empirique AM1.

(vi) appréhender les différences spectrales en relation avec les modifications structurales dues au changement d'état physique des molécules, plus précisément lors du passage de l'état solide à la solution.

### II.4.1 – Les spectres infrarouge et Raman.

Du fait de la faible solubilité des molécules dans de nombreux solvants, le méthanol qui permet l'obtention de concentrations suffisamment élevées pour un enregistrement correct des spectres est utilisé.

Les spectres infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) des produits solides dilués dans des pastilles de KBr (à 2% en masse moyenne) ont été enregistrés avec un spectromètre BRUCKER VECTOR 22 sur la gamme spectrale  $1800 - 500 \text{ cm}^{-1}$  avec une résolution spectrale de  $4 \text{ cm}^{-1}$  et 200 accumulations.

Les spectres Raman à transformée de Fourier (RTF) des produits solides purs et en solution dans le méthanol à une concentration de  $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$  ont été obtenus sur la gamme spectrale  $1800 - 500 \text{ cm}^{-1}$  avec  $4 \text{ cm}^{-1}$  de résolution spectrale et respectivement 200 et 400

accumulations. Ils ont été enregistrés avec un appareil BRUCKER FT-IR IFS 88 muni d'un accessoire Raman FRA 106, la puissance de la radiation excitatrice à 1,06  $\mu\text{m}$  est de 200 mW pour les spectres à l'état solide et de 700 mW dans le cas des produits en solution dans le méthanol.

A l'état solide, l'utilisation des produits purs en spectroscopie Raman permet de s'affranchir des effets de matrice.

Les spectres IRTF de la quercétine, de l'isoquercitrine et du glucose sont représentés sur la figure II.6. Les spectres Raman de la quercétine et de l'isoquercitrine à l'état solide et en solution sont représentés sur la figure II.7. L'excitation dans le proche infrarouge présente l'avantage de ne pas induire de phénomène de fluorescence intrinsèque aux flavonoïdes.

#### II.4.2 – La décomposition spectrale.

Le nombre important de signaux détectés sur la gamme spectrale 1700-1250  $\text{cm}^{-1}$  rend l'attribution de cette région particulièrement difficile. Une décomposition spectrale des spectres Raman de la quercétine et de l'isoquercitrine à l'état solide et en solution a permis de mettre en évidence les différentes composantes spectrales de ce domaine.

La décomposition spectrale consiste à trouver le nombre, la position, la largeur à mi-hauteur, l'intensité ainsi que la forme (% Lorentzienne – % Gaussienne) des différentes bandes constituant un massif non résolu. Cette méthode utilise l'algorithme de Levenberg – Marquard, basé sur la méthode des moindres carrés (OPUS version 147.0).

Afin que le modèle proposé soit le plus cohérent possible, certains paramètres ont été imposés : toutes les composantes ont une largeur à mi-hauteur de 20  $\text{cm}^{-1}$  et une forme à 50% Lorentzienne et à 50% Gaussienne.

Les décompositions spectrales des spectres Raman de la quercétine et de l'isoquercitrine à l'état solide et en solution dans le méthanol sont présentées sur les figures II.8, II.9, II.10 et II.11.

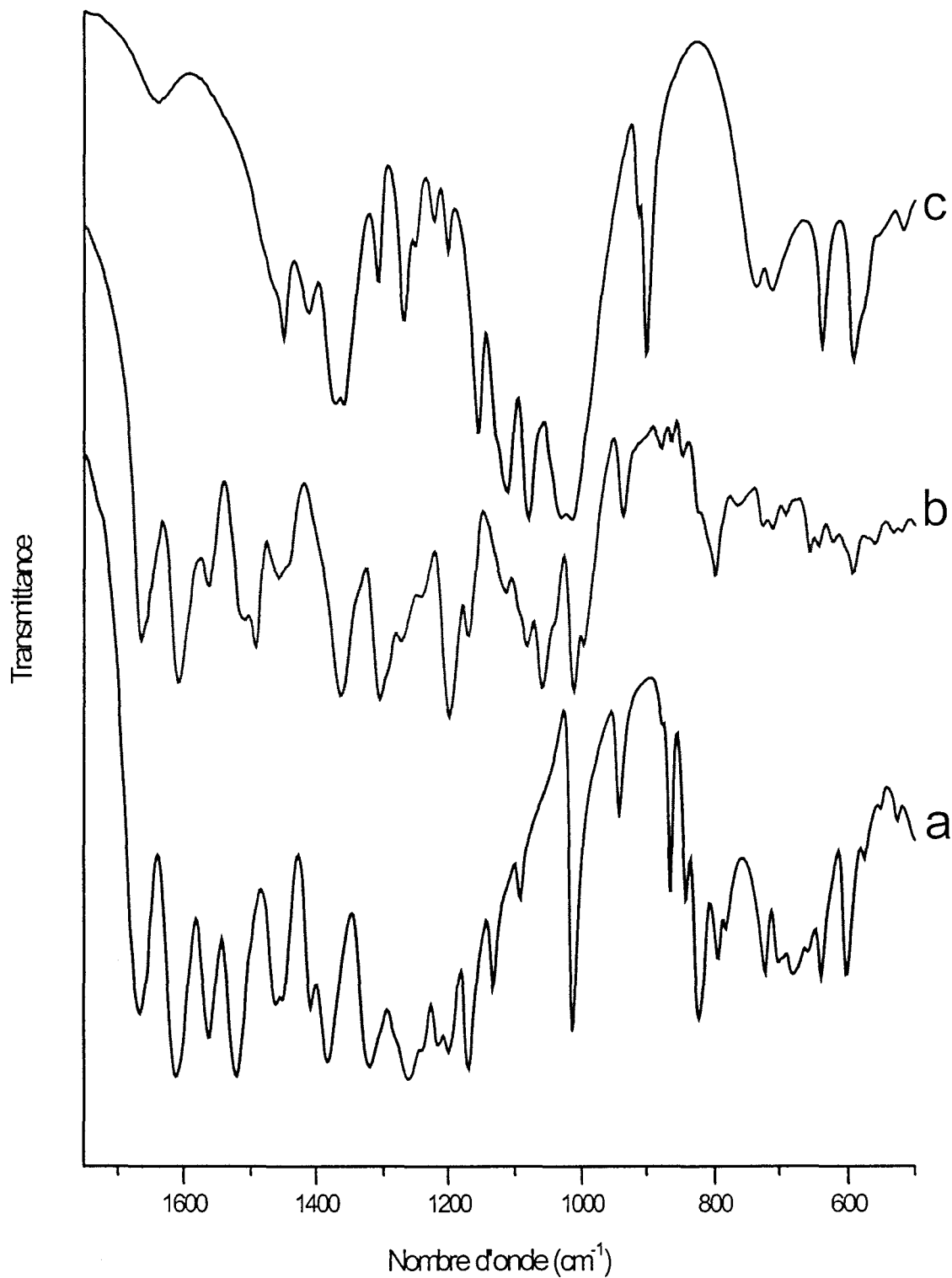


Fig. II.6 : Spectres IRTF de la quercétine (a), de l'isoquercitrine (b) et du glucose (c) à l'état solide.

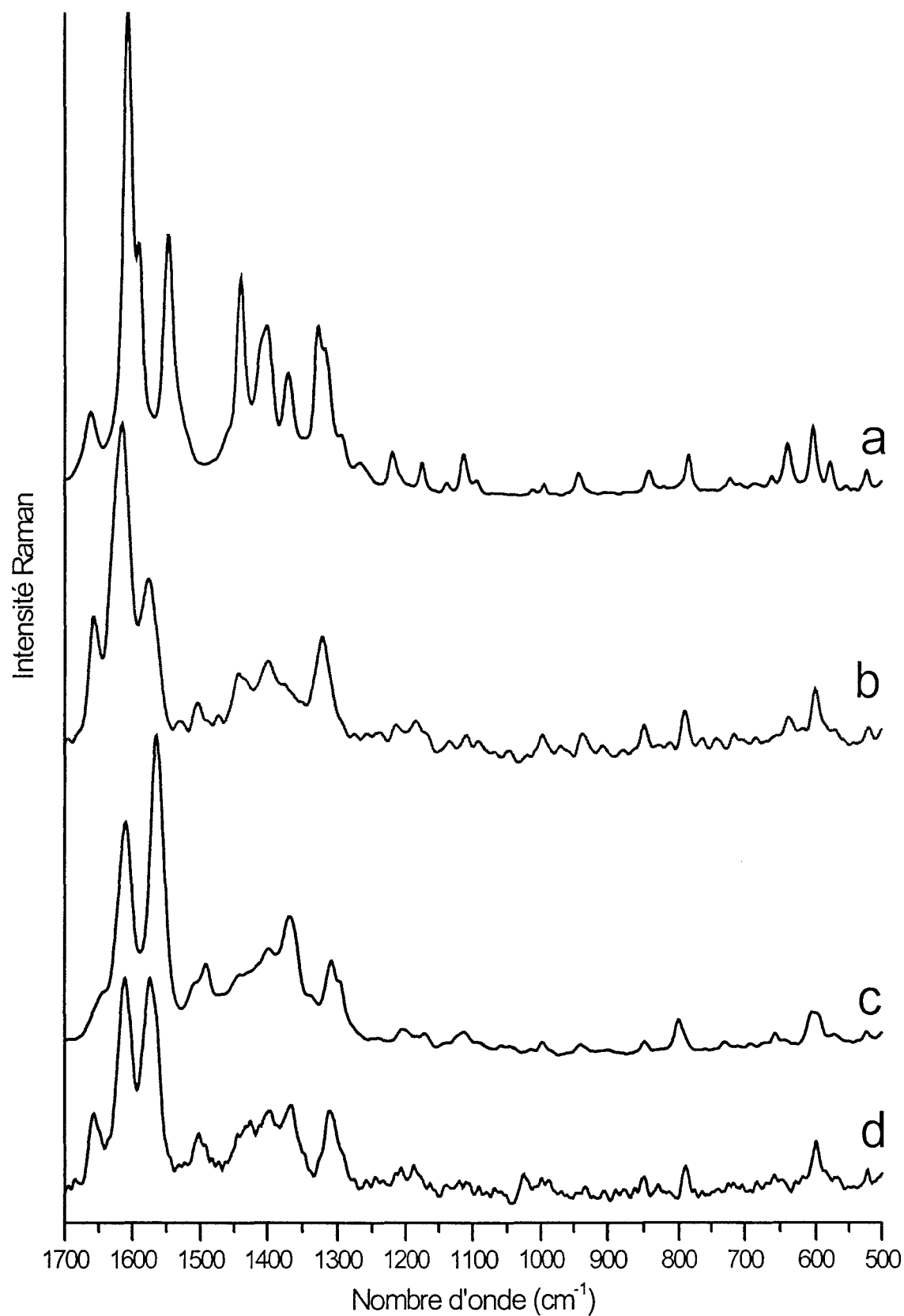


Fig. II.7 : Spectres Raman de la quercétine à l'état solide (a), de la quercétine en solution dans le méthanol (b), de l'isoquercitrine solide (c) et de l'isoquercitrine dans le méthanol (d).

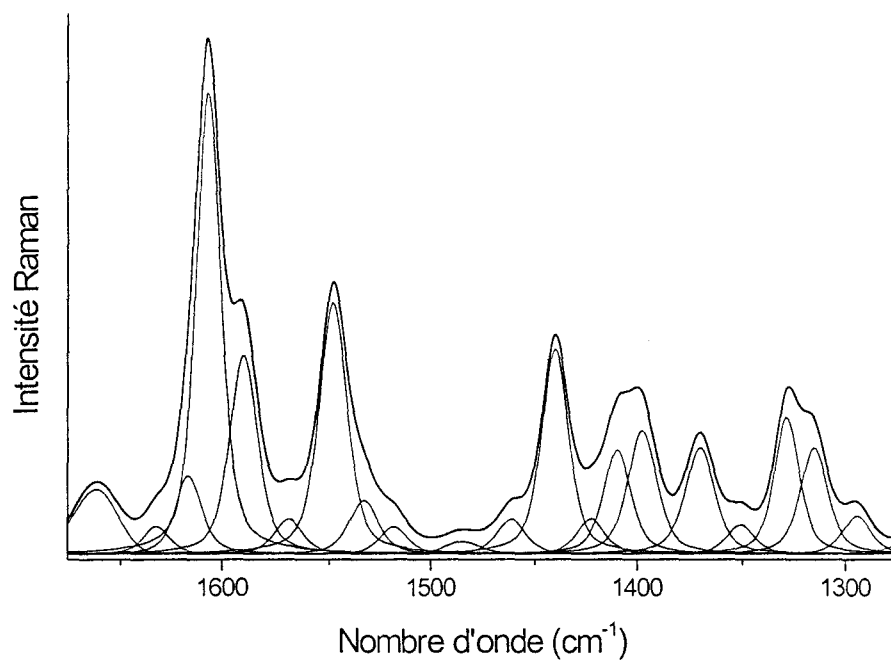


Fig. II.8 : Décomposition spectrale sur la gamme 1675-1275 cm<sup>-1</sup> du spectre Raman de la quercétine à l'état solide.

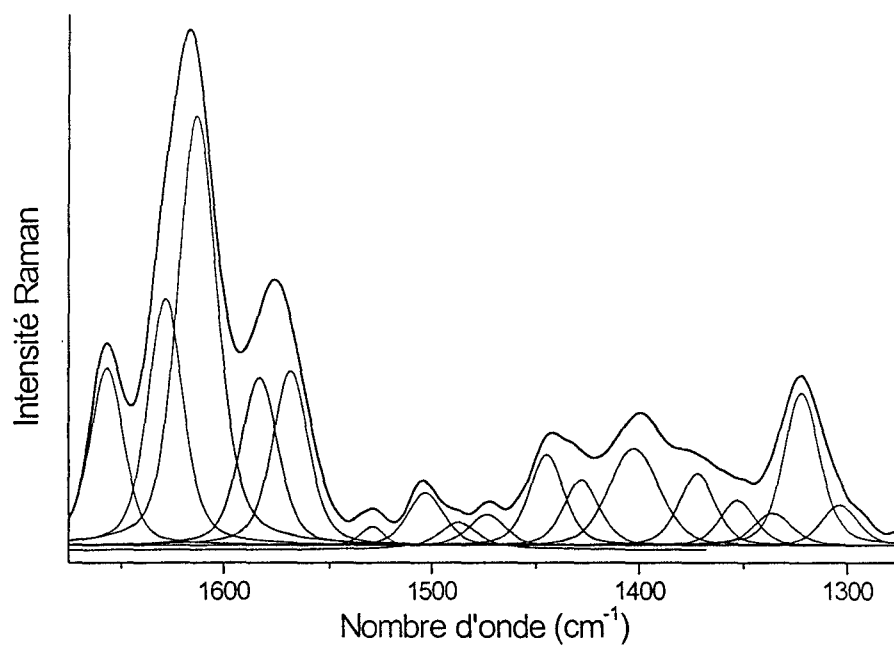


Fig. II.9 : Décomposition spectrale sur la gamme 1675 - 1275 cm<sup>-1</sup> du spectre Raman de la quercétine dans le méthanol.



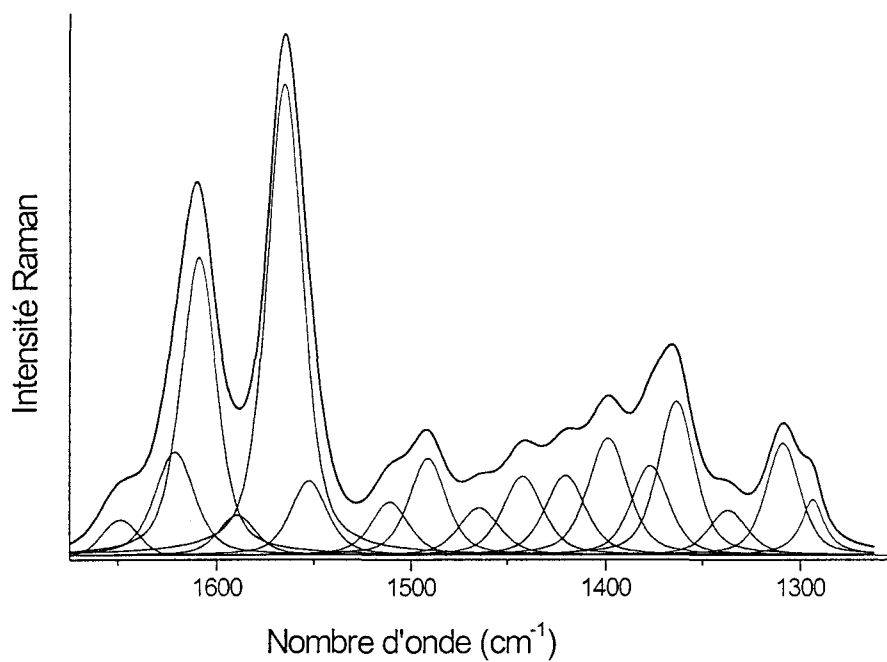


Fig. II.10 : Décomposition spectrale sur la gamme 1675 - 1250 cm<sup>-1</sup> du spectre Raman de l'isoquercitrine à l'état solide.

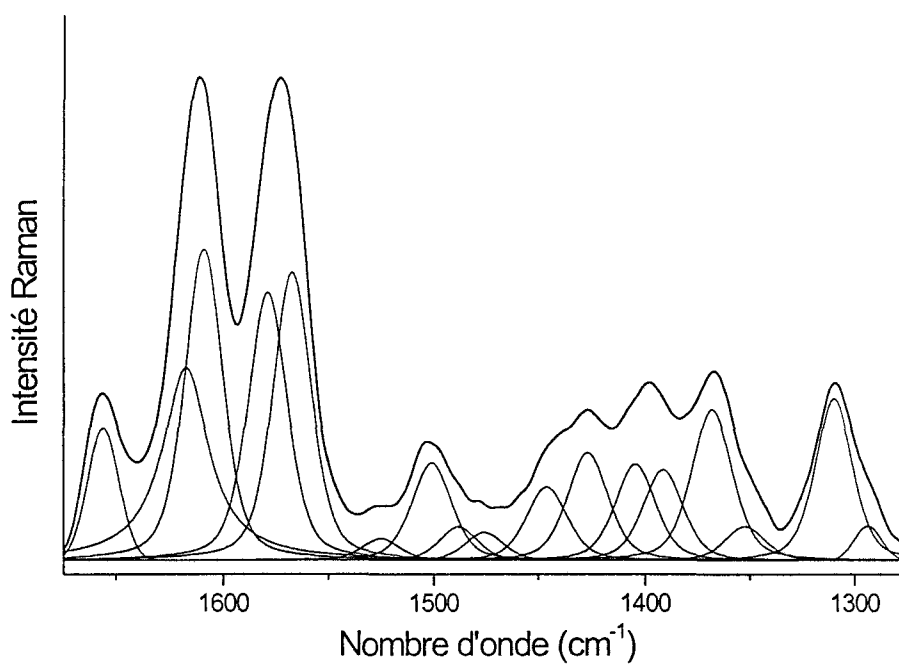


Fig. II.11 : Décomposition spectrale sur la gamme 1675 - 1275 cm<sup>-1</sup> du spectre Raman de l'isoquercitrine dans le méthanol.

#### II.4.3 – Calcul des modes normaux de vibrations.

Etant donné la complexité des spectres et le nombre important de variables susceptibles d'affecter les fréquences de vibration (effet de solvants, modification conformationnelle...), il est difficile d'attribuer les différents signaux sans informations supplémentaires. Un calcul des fréquences de vibration ainsi que la visualisation des déplacements atomiques impliqués dans chacun des modes sont particulièrement utiles.

Le calcul des fréquences de vibration est effectué par le logiciel HYPERCHEM à partir des structures optimisées de la quercétine et des conformères Ia, Ib et Ic de l'isoquercitrine.

La représentation graphique des déplacements atomiques, également obtenue au moyen du logiciel HYPERCHEM, permet de visualiser le mouvement des atomes mis en jeu dans chacun des différents modes de vibration. Elle permet de localiser les modes spécifiques à chacun des cycles (Fig. II.12) et de mettre en évidence les couplages mécaniques entre les vibreurs (Fig. II.13), elle facilite l'attribution des spectres infrarouge et Raman.

Du fait de la corrélation entre électrons et de l'anharmonicité de la vibration qui sont négligées dans le calcul [Pople, 1981 ; Chipman, 1986], les constantes de force obtenues à partir de l'optimisation de géométrie sont toujours surestimées. Il en découle des fréquences de vibration calculées supérieures à celles attendues. Afin d'améliorer la concordance entre les fréquences calculées et expérimentales, les fréquences calculées sont couramment multipliées par un facteur empirique. Plus rigoureusement, ce sont les constantes de force qui devraient être corrigées et les coefficients de correction devraient être adaptés à chaque type de vibration (élongation, déformation...) [Craezar, 1986]. Cependant, un facteur de correction unique, même s'il ne permet pas d'affiner parfaitement les fréquences obtenues par calcul, est plus simple d'utilisation. Nous avons opté pour un facteur correctif de 0,85.

Dans la table II.4 sont présentées les fréquences calculées corrigées ainsi que l'attribution des différents modes de vibration correspondant à la quercétine et aux trois conformères les plus stables de l'isoquercitrine. La notation de Wilson du benzène étendue aux modes de vibration des cycles aromatiques tri- et tétra-substitués est utilisée (cf. Annexe) [Wilson, 1934]. Dans le cas de l'isoquercitrine, les vibrations relatives au glucose sont totalement indépendantes de celles correspondant à la partie aglycone de la molécule (Fig. II.14), elles ne sont pas présentées.

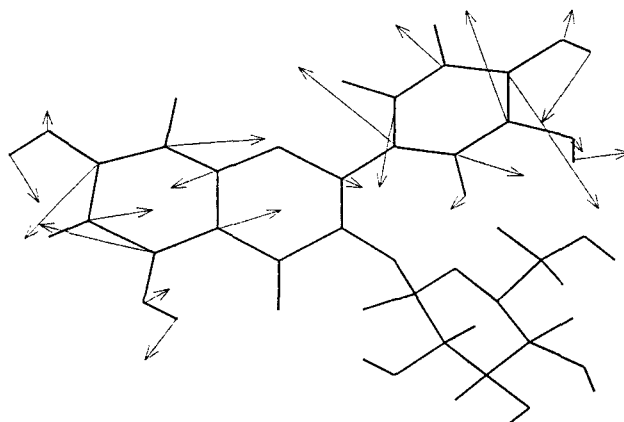


Fig. II.12 : Mode normal de vibration de l'isoquercitrine de fréquence calculée corrigée égale à  $1521,6 \text{ cm}^{-1}$ .  
Mode 8b du cycle A couplé au mode 8b du cycle B noté : 8b(A) ; 8b(B).

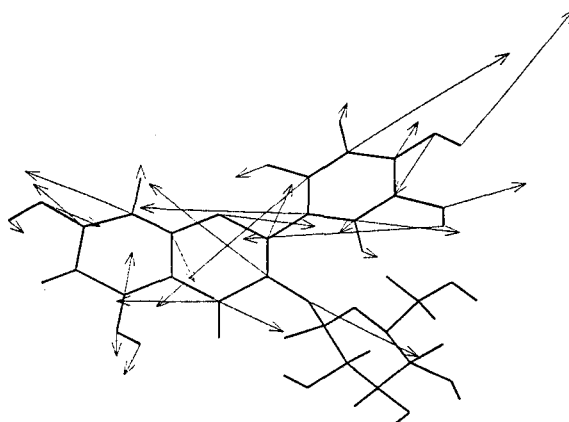


Fig. II.13 : Mode normal de vibration de l'isoquercitrine de fréquence calculée corrigée égale à  $1281 \text{ cm}^{-1}$ .  
Mode complexe faisant intervenir le mode 14 du cycle B couplé essentiellement aux vibrations :  $\nu(\text{C3-O3})$  ;  
 $\nu(\text{C4-C10})$  ;  $\nu(\text{C8-C9})$  ;  $\delta(\text{C3'-OH})$  ;  $\delta(\text{C4'-OH})$ .

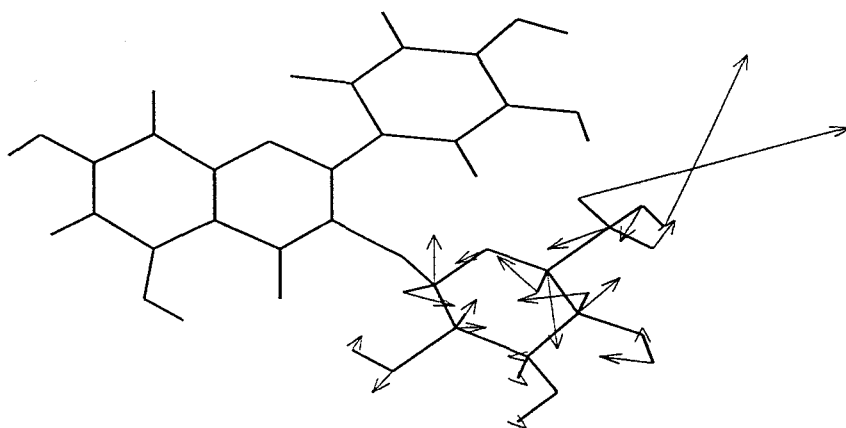


Fig. II.14 : Mode normal de vibration de l'isoquercitrine de fréquence calculée corrigée égale à  $1220,6 \text{ cm}^{-1}$ .  
Mode faisant uniquement intervenir les vibrations relatives au glucose.

Partie II : Chapitre II : Etude spectroscopique de la quercétine et de l'isoquercitrine.

| Fréquences calculées (cm <sup>-1</sup> ) |      |      | attribution proposée |  |
|--|------|------|----------------------|--|
| isoquercitrine                           |      |      | quercetine           |  |
| la                                       | lb   | lc   |                      |  |
| 1695                                     | 1696 | 1699 | 1703                 | $\nu(\text{C}=\text{O})$   |
| 1574                                     | 1572 | 1581 | 1609                 | $\nu(\text{C}2-\text{C}3)$   |
|  |      |      | 1528                 | 8b(B)  |
| 1524                                     | 1523 | 1524 |                      | 8b(A); 8b(B)   |
|  |      |      | 1525                 | 8b(A)  |
| 1522                                     | 1520 | 1522 |                      | 8b(A); 8b(B)   |
| 1519                                     |      | 1519 | 1522                 | 8a(B)  |
|  | 1519 |      |                      | 8a(A); 8a(B)   |
| 1516                                     |      | 1517 |                      | 8a(A); $\nu(\text{C}2-\text{C}3)$  |
|  |      |      | 1516                 | 8a(A)  |
|  | 1514 |      |                      | 8a(A); 8a(B); $\nu(\text{C}2-\text{C}3)$   |
| 1458                                     | 1458 | 1458 | 1459                 | 19b(B); $\nu(\text{C}4'-\text{OH})$ ; $\nu(\text{C}3'-\text{OH})$  |
| 1440                                     | 1440 | 1440 | 1440                 | 19a(A); $\nu(\text{C}7-\text{OH})$   |
| 1427                                     | 1428 | 1427 | 1428                 | 19a(A); $\nu(\text{C}5-\text{OH})$   |
| 1425                                     | 1424 | 1427 | 1417                 | 19a(B); $\nu(\text{O}1-\text{C}9)$ ; $\nu(\text{C}2-\text{C}1')$ ; $\nu(\text{C}5-\text{OH})$  |
| 1397                                     | 1397 | 1395 | 1405                 | 19a(A); $\nu(\text{C}9-\text{O}1)$   |
|  |      |      | 1377                 | $\delta(\text{C}3-\text{OH})$ ; $\nu(\text{C}3-\text{C}4)$ ; $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$  |
| 1349                                     | 1347 | 1351 | 1353                 | 19a(B); $\delta(\text{O}7-\text{H})$ ; $\nu(\text{C}9-\text{C}10)$ ; $\delta(\text{O}5-\text{H})$ ; $\delta(\text{O}4'-\text{H})$ ; $\nu(\text{C}2-\text{C}1')$  |
| 1345                                     |      |      |                      | 14(A); $\delta(\text{O}5-\text{H})$ ; $\nu(\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$   |
|  | 1343 |      |                      | 14(A); 19a(B); $\delta(\text{O}5-\text{H})$ ; $\delta(\text{O}4'-\text{H})$ ; $\nu(\text{C}2-\text{C}1')$ ; $\nu(\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$   |
|  |      | 1345 | 1339                 | 14(A); $\delta(\text{O}5-\text{H})$ ;  |
| 1319                                     | 1322 | 1318 |                      | $\nu(\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\nu(\text{C}9-\text{C}8)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$ ; $\nu(\text{C}1'-\text{C}6')$  |
| 1303                                     | 1300 | 1300 | 1311                 | $\nu(\text{C}4'-\text{OH})$ ; $\delta(\text{C}3'-\text{OH})$   |
| 1281                                     | 1283 | 1278 |                      | 14(B); $\nu(\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$ ; $\nu(\text{C}8-\text{C}9)$ ; $\delta(\text{O}3'-\text{H})$ ; $\delta(\text{O}4'-\text{H})$   |
|  |      |      | 1289                 | $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$ ; $\nu(\text{C}8-\text{C}9)$ ; $\delta(\text{O}4'-\text{H})$ ; $\delta(\text{O}3'-\text{OH})$  |
| 1264                                     | 1263 | 1263 | 1281                 | $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\nu(\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$  |
|  |      |      | 1270                 | 14(B); $\nu(\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\nu(\text{C}3-\text{C}4)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$  |
| 1238                                     | 1239 | 1237 | 1237                 | 14(A); $\nu(\text{C}9-\text{O}1)$ ; $\delta(\text{C}7-\text{OH})$  |
| 1214                                     | 1214 | 1213 | 1211                 | $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\nu(\text{C}5-\text{C}6)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}10)$ ; $\nu(\text{C}2-\text{C}1')$ ; $\delta(\text{C}5-\text{OH})$ ; $\delta(\text{C}7-\text{OH})$  |
| 1195                                     | 1200 | 1192 | 1194                 | 14(A); $\Delta(\text{C}6'-\text{C}5'-\text{C}4')$ ; $\Delta(\text{C}3'-\text{C}2'-\text{C}1')$ ; $\delta(\text{C}4'-\text{OH})$ ; $\delta(\text{C}3'-\text{OH})$   |
| 1190                                     | 1189 | 1189 | 1181                 | 14(A); $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\Delta(\text{C}2'-\text{C}3'-\text{C}4')$ ; $\Delta(\text{C}5'-\text{C}6'-\text{C}1')$  |
| 1140                                     | 1144 | 1136 | 1147                 | 14(B)  |
| 1122                                     | 1124 | 1120 | 1119                 | $\Delta(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\Delta(\text{O}1-\text{C}2-\text{C}1')$ ; $\nu(\text{C}5-\text{C}10)$ ; $\nu(\text{C}7-\text{C}8)$ ; $\delta(\text{C}-\text{H})(\text{B})$ ; $\delta(\text{C}6-\text{H})$ ; $\delta(\text{O}-\text{H})(\text{A})$ |
| 1113                                     | 1113 | 1113 | 1111                 | $\Delta(\text{C}8-\text{C}9-\text{O}1)$ ; $\Delta(\text{C}5-\text{C}6-\text{C}7)$ ; $\nu(\text{C}7-\text{OH})$ ; $\delta(\text{CH})(\text{B})$ ; $\delta(\text{C}-\text{H})(\text{A})$   |
| 1082                                     | 1106 | 1078 | 1085                 | 3(B)   |
| 1097                                     | 1097 | 1099 | 1097                 | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\Delta(\text{C}8-\text{C}9-\text{C}10)$ ; $\nu(\text{C}4-\text{C}3)$  |
| 1058                                     | 1059 | 1058 | 1058                 | 18b(A)   |
| 1029                                     | 1048 | 1018 | 1043                 | 18a(B)   |
| 987                                      | 994  | 999  | 998                  | 18a(A); 18a(B); $\nu(\text{C}3-\text{C}4)$   |
| 976                                      | 978  | 976  | 978                  | 18a(A)   |
| 914                                      | 911  | 911  | 912                  | 13(A); $\Delta(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3)$ ; $\Delta(\text{C}1'-\text{C}2'-\text{C}3')$ ; $\Delta(\text{C}1'-\text{C}6'-\text{C}5')$ ; $\nu(\text{O}1-\text{C}2)$  |
| 837                                      | 840  | 834  | 829                  | 7b(B)  |
| 832                                      | 833  | 831  | 836                  | 5(B)   |
| 793                                      | 822  | 824  | 802                  | $\gamma(\text{C}2'-\text{H})$  |
| 786                                      | 787  | 787  | 783                  | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\Delta(\text{C}3-\text{C}4-\text{O}2)$ ; $\Delta(\text{C}7-\text{C}8-\text{C}9)$ ; $\Delta(\text{C}2'-\text{C}1'-\text{C}6')$   |
| 787                                      | 786  | 787  | 787                  | 11(A)  |
| 776                                      | 776  | 776  | 775                  | 17a(A)   |
| 750                                      | 752  | 751  | 745                  | $\gamma(\text{C}5'-\text{H})$ ; $\gamma(\text{C}6'-\text{H})$  |
| 713                                      | 714  | 715  | 700                  | $\Gamma(\text{C}3-\text{C}4-\text{C}10)$ ; $\Gamma(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3)$   |
| 693                                      | 694  | 694  | 687                  | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2)$ ; $\Delta(\text{C}10-\text{C}4-\text{O}2)$   |

Table II.4 : Fréquences calculées corrigées et attribution des modes de vibrations obtenus pour la quercétine et les trois conformères de l'isoquercitrine. ( $\nu$ ,  $\delta$ ,  $\Delta$ ,  $\gamma$  et  $\Gamma$  signifient respectivement élongation, déformation des C-H dans le plan, déformation radiale du squelette, déformation des C-H hors du plan et déformation du squelette hors du plan).

Si l'attribution et l'interprétation des modes normaux du benzène bien répertoriés dans la notation de Wilson sont relativement simples, l'étude est beaucoup plus difficile lorsque des couplages mécaniques entre les différentes vibrations se présentent. Ces couplages se manifestent par des changements dans l'amplitude du mouvement des atomes mis en jeu ainsi que par des décalages en fréquence par rapport aux modes purs dont ils sont issus.

La comparaison des représentations vectorielles des déplacements atomiques des trois conformères de l'isoquercitrine et de la quercétine présente de nombreuses similitudes et les fréquences calculées sont relativement proches. Les fréquences des modes relatifs au cycle A sont identiques pour les trois conformères et pour la quercétine. La substitution en position 3 par le glucose affecte légèrement les fréquences des modes du cycle B, notamment les modes faisant intervenir les déformations dans le plan  $\delta(\text{C-H})$  et  $\Delta(\text{C-C})$ . Ces fréquences sont également sensibles à l'orientation relative du cycle B par rapport au glucose (mode 7b, 18a...).

#### II.4.4 – Attribution des modes normaux de vibrations.

Le spectre IRTF du glucose indique que le sucre absorbe fortement dans la région  $1000\text{-}1150\text{ cm}^{-1}$ . Il est donc difficile de savoir si les bandes présentes dans cette zone sur le spectre de l'isoquercitrine correspondent aux vibrations de l'aglycone ou aux vibrations  $\nu(\text{C-O})$  du glucose. Par rapport à la quercétine, le spectre IRTF de l'isoquercitrine présente le doublet caractéristique des composés glycosylés à  $1083$  et  $1060\text{ cm}^{-1}$  attribuée par Khalique [1966] aux vibrations du groupement  $\text{C3-O3-C1''-O-C6''}$  alors qu'une bande unique à  $1082\text{ cm}^{-1}$  attribuée par le même auteur à la vibration  $\nu(\text{C3-O3})$  apparaît sur le spectre de la quercétine. Cependant, le calcul des modes normaux de vibrations indique que cette vibration ne se présente pas sous la forme d'une bande caractéristique mais qu'elle est distribuée sur un nombre important de modes normaux de vibrations.

Contrairement au spectre IRTF de l'isoquercitrine où les bandes de vibration du glucose sont intenses, la faible polarisabilité des liaisons du sucre ne permet pas de voir les bandes qui leur sont associées en spectroscopie Raman. Les spectres Raman correspondent donc uniquement à la partie aglycone de l'isoquercitrine.

Les fréquences des spectres Raman de la quercétine et de l'isoquercitrine sous forme solide sont sensiblement modifiées par rapport à celles des spectres enregistrés dans le

méthanol. Ces modifications peuvent être directement liées au changement d'état physique qui induit des variations des forces intermoléculaires et peuvent également résulter d'un changement de conformation des molécules entre les deux états physiques (notamment une évolution de la valeur de l'angle  $\theta$ ). Ces évolutions spectrales sont cependant plus importantes dans le cas de la quercétine, le spectre de l'isoquercitrine à l'état solide présente davantage de similitude avec celui enregistré dans le méthanol. Les changements conformationnels observés pour la quercétine lors du passage de l'état solide à la solution (proche de l'état isolé) sont donc moins marqués dans le cas de l'isoquercitrine. Les fortes interactions intramoléculaires remarquées pour l'isoquercitrine à l'état isolé ou entourée de méthanol, notamment la liaison hydrogène entre le sucre et le cycle B, doivent également stabiliser la molécule à l'état solide et les modifications géométriques entre les deux états physiques doivent être moins importantes que dans la quercétine.

Les spectres Raman des deux molécules en solution dans le méthanol sont peu différents au niveau de la position des différentes bandes de vibration. Conformément aux conclusions issues du calcul des modes normaux de vibration, la présence du sucre perturbe peu les fréquences des modes relatifs à l'aglycone. Ces spectres se différencient essentiellement par les intensités relatives des différents signaux. La redistribution des charges de Mulliken due à la glucosylation de la quercétine en position 3 engendre des modifications de la polarisabilité moléculaire et conduit à une variation des intensités relatives des bandes Raman.

Les tables II.5 et II.6 présentent les fréquences expérimentales ainsi qu'une tentative d'attribution aussi complète que possible des différents modes de vibration de la quercétine et de l'isoquercitrine. L'attribution des spectres a été réalisée en associant les résultats du calcul quantique et l'utilisation des tables répertoriant les modes normaux de vibration du benzène [Varsanyi, 1974]. Cette attribution fait référence aux modes calculés pour le conformère Ib de l'isoquercitrine.

| QUERCETINE                                    |        |      |  |
|---|--------|------|--|
| Fréquences expérimentales (cm <sup>-1</sup> ) |        |      | attribution proposée   |
| methanol                                      | solide |      |  |
| Raman   | Raman  | I.R  |  |
| 1657  | 1662   | 1667 | $\nu(\text{C}=\text{O}); \nu(\text{C}2=\text{C}3)$   |
| 1628  | 1632   |      | $\nu(\text{C}=\text{O}); \nu(\text{C}2=\text{C}3)$   |
| 1612  | 1616   | 1611 | 8b(B)  |
| 1583  | 1606   |      | 8b(A)  |
| 1569  | 1590   |      | 8a(B)  |
|   | 1569   | 1561 | 8a(A)  |
|   | 1548   |      | 19b(B); $\nu(\text{C}4'-\text{OH}); \nu(\text{C}3'-\text{OH})$   |
| 1532  | 1533   |      | 19a(A); $\nu(\text{C}7-\text{OH})$   |
| 1503  | 1518   | 1522 | 19a(A); $\nu(\text{C}5-\text{OH})$   |
| 1487  | 1485   | 1493 | 19a(B); $\nu(\text{O}1-\text{C}9); \nu(\text{C}2-\text{C}1'); \nu(\text{C}5-\text{OH})$  |
| 1474  | 1461   | 1461 | 19a(A); $\nu(\text{C}9-\text{O}1)$   |
| 1445  | 1440   | 1447 | 19a(B); $\delta(\text{O}7-\text{H}); \nu(\text{C}9-\text{C}10); \delta(\text{O}5-\text{H}); \delta(\text{O}4'-\text{H}); \nu(\text{C}2-\text{C}1')$  |
| 1428  | 1422   |      | 14(A); $\delta(\text{O}5-\text{H});$   |
| 1407  | 1410   | 1407 | $\nu(\text{C}4'-\text{OH}); \delta(\text{C}3'-\text{OH})$  |
|   | 1398   | 1382 | $\nu(\text{C}4-\text{C}10); \nu(\text{C}8-\text{C}9); \delta(\text{O}4'-\text{H}); \delta(\text{O}3'-\text{OH})$   |
| 1372  | 1370   |      | $\nu(\text{O}1-\text{C}2); \nu(\text{C}3-\text{O}3); \nu(\text{C}4-\text{C}10)$  |
|   |        | 1362 | 14(B); $\nu(\text{C}3-\text{O}3); \nu(\text{O}1-\text{C}2); \nu(\text{C}3-\text{C}4); \nu(\text{C}4-10)$   |
| 1353  | 1351   |      | 14(A); $\nu(\text{C}9-\text{O}1); \delta(\text{C}7-\text{OH})$   |
| 1334  | 1328   |      | $\nu(\text{O}1-\text{C}2); \nu(\text{C}5-\text{C}6); \nu(\text{C}4-\text{C}10); \nu(\text{C}2'-\text{C}1'); \delta(\text{C}5-\text{OH}); \delta(\text{C}7-\text{OH})$  |
| 1321  |        | 1320 | 14(B)  |
|   | 1315   |      | 14(A); $\Delta(\text{C}6'-\text{C}5'-\text{C}4'); \Delta(\text{C}3'-\text{C}2'-\text{C}1'); \delta(\text{C}4'-\text{OH}); \delta(\text{C}3'-\text{OH})$  |
| 1303  | 1295   |      | 14(A); $\nu(\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}2'-\text{C}3'-\text{C}4'); \Delta(\text{C}5'-\text{C}6'-\text{C}1')$  |
|   |        | 1281 | $\Delta(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3); \Delta(\text{O}1-\text{C}2-\text{C}1'); \nu(\text{C}5-\text{C}10); \nu(\text{C}7-\text{C}8); \delta(\text{C}-\text{H})(\text{B}); \delta(\text{C}6-\text{H}); \delta(\text{O}-\text{H})(\text{A})$ |
| 1275  | 1268   | 1262 | 3(B)   |
|   |        | 1239 | $\Delta(\text{C}8-\text{C}9-\text{O}1); \Delta(\text{C}5-\text{C}6-\text{C}7); \nu(\text{C}7-\text{OH}); \delta(\text{C}-\text{H})(\text{B}); \delta(\text{C}-\text{H})(\text{A})$   |
| 1215  | 1220   | 1216 | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}8-\text{C}9-\text{C}10); \nu(\text{C}4-\text{C}3)$  |
| 1185  |        | 1199 | 18b(A)   |
| 1166  | 1175   | 1168 | 18a(B)   |
| 1133  | 1138   | 1130 | 18a(A); 18a(B); $\nu(\text{C}3-\text{C}4)$   |
| 1108  | 1113   |      | 18a(A)   |
| 1091  | 1099   | 1092 | 13(A); $\Delta(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3); \Delta(\text{C}1'-\text{C}2'-\text{C}3'); \Delta(\text{C}1'-\text{C}6'-\text{C}5'); \nu(\text{O}1-\text{C}2)$   |
| 1046  |        | 1041 | 7b(B)  |
| 998   | 995    |      | 5(B)   |
| 935   | 942    | 941  | 11(A)  |
|   |        | 862  | $\gamma(\text{C}2'-\text{H})$  |
| 849   | 843    | 841  | 17a(A)   |
|   |        | 825  | $\Gamma(\text{C}3-\text{C}4-\text{C}10), \Gamma(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3)$  |
| 790   |        | 795  | $\gamma(\text{C}5'-\text{H}); \gamma(\text{C}6'-\text{H})$   |
|   | 785    | 782  | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}10-\text{C}4-\text{O}2)$  |

Table II.5 : Fréquences expérimentales et attribution des modes normaux de vibration de la quercétine.

| ISOQUERCITRINE                                |        |      |  |
|---|--------|------|--|
| Fréquences expérimentales (cm <sup>-1</sup> ) |        |      | attribution proposée   |
| methanol                                      | solide |      |  |
| Raman   | Raman  | I.R  |  |
| 1657  | 1648   | 1667 | $\nu(\text{C}=\text{O}); \nu(\text{C}2=\text{C}3)$   |
| 1617  | 1621   |      | $\nu(\text{C}=\text{O}); \nu(\text{C}2=\text{C}3)$   |
| 1609  | 1609   | 1607 | 8b(A); 8b(B)   |
| 1579  | 1589   |      | 8b(A); 8b(B)   |
| 1567  | 1565   | 1562 | 8a(A); 8a(B); $\nu(\text{C}2-\text{C}3)$   |
|   | 1552   |      | 19b(B); $\nu(\text{C}4'-\text{OH}); \nu(\text{C}3'-\text{OH})$   |
| 1526  |        |      | 19a(A); $\nu(\text{C}7-\text{OH})$   |
| 1501  | 1511   | 1514 | 19a(A); $\nu(\text{C}5-\text{OH})$   |
| 1492  | 1491   | 1493 | 19a(B); $\nu(\text{O}1-\text{C}9); \nu(\text{C}2-\text{C}1'); \nu(\text{C}5-\text{OH})$  |
| 1475  | 1464   | 1457 | 19a(A); $\nu(\text{C}9-\text{O}1)$   |
| 1446  | 1442   | 1442 | 19a(B); $\delta(\text{O}7-\text{H}); \nu(\text{C}9-\text{C}10); \delta(\text{O}5-\text{H}); \delta(\text{O}4'-\text{H}); \nu(\text{C}2-\text{C}1')$  |
| 1427  | 1420   |      | 14(A); 19a(B); $\delta(\text{O}5-\text{H}); \delta(\text{O}4'-\text{H}); \nu(\text{C}2-\text{C}1'); \nu(\text{C}3-\text{O}3); \nu(\text{C}4-\text{C}10)$   |
| 1404  |        |      | $\nu(\text{C}3-\text{O}3); \nu(\text{O}1-\text{C}2); \nu(\text{C}9-\text{C}8); \nu(\text{C}4-\text{C}10); \nu(\text{C}1'-\text{C}6')$  |
| 1391  | 1399   |      | $\nu(\text{C}4'-\text{OH}); \delta(\text{C}3'-\text{OH})$  |
|   | 1377   |      | 14(B); $\nu(\text{C}3-\text{O}3); \nu(\text{C}4-\text{C}10); \nu(\text{C}8-\text{C}9); \delta(\text{O}3'-\text{H}); \delta(\text{O}4'-\text{H})$   |
| 1368  | 1363   | 1362 | $\nu(\text{O}1-\text{C}2); \nu(\text{C}3-\text{O}3); \nu(\text{C}4-\text{C}10)$  |
| 1353  |        |      | 14 (A); $\nu(\text{C}9-\text{O}1); \delta(\text{C}7-\text{OH})$  |
|   | 1337   |      | $\nu(\text{O}1-\text{C}2); \nu(\text{C}5-\text{C}6); \nu(\text{C}4-\text{C}10); \nu(\text{C}2'-\text{C}1'); \delta(\text{C}5-\text{OH}); \delta(\text{C}7-\text{OH})$  |
| 1310  | 1308   | 1306 | 14(B)  |
| 1293  | 1293   |      | 14(A); $\nu(\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}2'-\text{C}3'-\text{C}4'); \Delta(\text{C}5'-\text{C}6'-\text{C}1')$  |
| 1275  |        | 1272 | 3(B)   |
| 1258  |        |      | $\Delta(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3); \Delta(\text{O}1-\text{C}2-\text{C}1'); \nu(\text{C}5-\text{C}10); \nu(\text{C}7-\text{C}8); \delta(\text{C}-\text{H})(\text{B}); \delta(\text{C}6-\text{H}); \delta(\text{O}-\text{H})(\text{A})$ |
| 1237  |        | 1240 | $\Delta(\text{C}8-\text{C}9-\text{O}1); \Delta(\text{C}5-\text{C}6-\text{C}7); \nu(\text{C}7-\text{OH}); \delta(\text{C}(\text{H})(\text{B})); \delta(\text{C}-\text{H})(\text{A})$  |
| 1206  | 1205   |      | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}8-\text{C}9-\text{C}10); \nu(\text{C}4-\text{C}3)$  |
| 1188  |        | 1199 | 18b(A)   |
| 1159  | 1172   | 1168 | 18a(B)   |
| 1136  |        |      | 18a(A); 18a(B); $\nu(\text{C}3-\text{C}4)$   |
| 1116  | 1113   | 1114 | 18a(A)   |
| 1091  |        |      | 13(A); $\Delta(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3); \Delta(\text{C}1'-\text{C}2'-\text{C}3'); \Delta(\text{C}1'-\text{C}6'-\text{C}5'); \nu(\text{O}1-\text{C}2)$   |
| 1025  |        | 1012 | 7b(B)  |
| 999   | 998    | 997  | 5(B)   |
| 934   | 939    | 935  | 11(A)  |
| 905   |        |      | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}3-\text{C}4-\text{O}2); \Delta(\text{C}7-\text{C}8-\text{C}9); \Delta(\text{C}2'-\text{C}1'-\text{C}6')$  |
|   |        | 878  | $\gamma(\text{C}2'-\text{H})$  |
| 850   | 849    | 846  | 17a(A)   |
| 828   |        | 825  | $\Gamma(\text{C}3-\text{C}4-\text{C}10); \Gamma(\text{C}4-\text{C}3-\text{O}3)$  |
| 790   | 800    | 799  | $\gamma(\text{C}5'-\text{H}); \gamma(\text{C}6'-\text{H})$   |
|   |        | 764  | $\Delta(\text{C}9-\text{O}1-\text{C}2); \Delta(\text{C}10-\text{C}4-\text{O}2)$  |

Table II.6 : Fréquences expérimentales et attribution des modes normaux de vibrations de l'isoquercitrine.

Les modes d'élongation de la fonction carbonyle et de la liaison C2=C3 apparaissent peu couplés aux autres vibrateurs dans l'attribution proposée par le calcul des modes normaux de vibration. Cependant, comme le prévoit José [1974], il est très probable que ces deux modes soient couplés et que les bandes observées à 1657 et à 1628 cm<sup>-1</sup> sur le spectre de la quercétine dans le méthanol et à 1657 et 1617 cm<sup>-1</sup> sur celui de l'isoquercitrine correspondent



à un mode présentant ces deux élongations. Ces modes subissent peu l'effet de la substitution par le glucose en position 3 et l'absence de modification de fréquence confirme que la liaison hydrogène O2---H-O3 présente dans la quercétine est remplacée par O2---Ha-Oa dans l'isoquercitrine.

Un calcul des modes normaux de vibrations réalisé sur des structures moins stables de l'isoquercitrine a montré que les conformères présentant la liaison hydrogène O2---Hb-Ob, ont une fréquence de vibration  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  plus importante que celle de la quercétine. Par contre, les conformères formant O2---Ha-Oa présentaient ce mode à une fréquence sensiblement égale à celle de la quercétine. Expérimentalement, la fréquence de la  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  de l'isoquercitrine est quasiment égale à celle de la quercétine, ce qui confirme la présence de conformère formant la liaison O2---Ha-Oa.

Les modes 8a et 8b des cycles A et B apparaissent entre 1645 et 1690  $\text{cm}^{-1}$  [Varsanyi, 1974]. Ils se présentent indépendamment dans la quercétine et sont couplés mécaniquement entre eux dans l'isoquercitrine.

L'élongation inter-cycle  $\nu(\text{C2}-\text{C1}')$  ne donne pas naissance à une raie Raman caractéristique mais elle est distribuée dans un grand nombre de modes normaux de vibration. La présence d'une bande correspondant à la vibration  $\nu(\text{C2}-\text{C1}')$  pure aurait permis d'appréhender l'influence de la rotation du cycle B sur le spectre de vibration.

Les modes 19a et 19b des cycles A et B attendus dans la gamme spectrale 1370-1530  $\text{cm}^{-1}$  [Varsanyi, 1974] sont couplés avec de nombreuses vibrations, notamment avec les élongations  $\nu(\text{C}-\text{O})$  des différents hydroxyles de la molécule mais également avec les élongations  $\nu(\text{O1}-\text{C2})$  et  $\nu(\text{O1}-\text{C9})$ .

Le mode 14 du cycle A est impliqué dans de nombreux couplages mécaniques avec les vibrations des autres cycles. Le mode 14 du cycle B attendus vers 1300  $\text{cm}^{-1}$  est attribué à la raie située à 1321  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre de la quercétine en solution et à la raie située à 1310  $\text{cm}^{-1}$  sur celui de l'isoquercitrine.

Des bandes relativement intenses apparaissent vers 999, 935, 850  $\text{cm}^{-1}$  sur les spectres Raman des deux composés. Ces bandes, peu perturbées par le changement d'état physique ou par la présence d'un glucose en position 3, sont attribuées au mode 5 du cycle B, au mode 11 du cycle A et au mode 17a du cycle A respectivement. Le calcul des modes normaux de vibration indique que les modifications structurales entre les deux molécules, dues notamment aux variations de la valeur de l'angle  $\theta$ , influencent essentiellement la valeur des fréquences

correspondant aux modes de déformations des C-H et du squelette du cycle B. D'après les données bibliographiques [Briggs, 1962], les composés dont le cycle B est substitué en position 3' et 4' présentent en infrarouge deux bandes d'intensité moyenne entre 800 et 900  $\text{cm}^{-1}$ . La première située entre 898 et 858  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée à la déformation  $\delta(\text{C2}'\text{-H})$  et la seconde située entre 800 et 829  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée au mode  $\delta(\text{C5}'\text{-H})$ ;  $\delta(\text{C6}'\text{-H})$ . Les spectres infrarouge et Raman de la quercétine et de l'isoquercitrine présentent tous deux une bande vers 795  $\text{cm}^{-1}$  (entre 790 et 800  $\text{cm}^{-1}$ ) qui peut être attribuée à un mode dans lequel interviennent les déformations  $\delta(\text{C5}'\text{-H})$ ;  $\delta(\text{C6}'\text{-H})$ . La raie à 862  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre de la quercétine et à 878  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre de l'isoquercitrine est attribuée à la déformation  $\delta(\text{C2}'\text{-H})$ . Comme le prévoit le calcul des modes normaux de vibration, la présence du sucre en position 3 affecte la structure du cycle B, notamment la chaîne carbonée C1'-C2'-C3', ce qui conduit à une modification de la fréquence de vibration de ce mode.

La gamme spectrale où apparaissent les modes de déformations des C-H présente des bandes peu intenses en Raman et le bruit de fond rend cette zone plus difficilement exploitable. En IRTF, c'est la multitude de raies dans ce domaine qui rend l'attribution plus délicate.

Bien que les calculs des modes normaux de vibration aient été réalisés au niveau de la molécule isolée, sans prendre en compte les interactions avec le milieu qui peuvent modifier sensiblement les différents états énergétiques de la molécule et être à l'origine du déplacement de certaines bandes, ce calcul des fréquences de vibrations a permis de proposer une interprétation des spectres de vibration des deux molécules.

D'autres calculs de modes de vibrations effectués à partir de différentes conformations de l'isoquercitrine ont montré que les fréquences de vibration les plus affectées étaient celles relatives au glucose. Les vibrations du sucre étant très peu visibles en Raman, il est difficile de prévoir lequel des trois conformères est présent dans le méthanol. Une étude IRTF de l'isoquercitrine en solution aurait peut être permis de connaître plus précisément la position adoptée par le glucose par rapport à l'aglycone. Cependant, la faible solubilité de la molécule dans des solvants plus adéquats à l'étude IRTF a conduit à l'obtention de spectres inexploitables.

## II.5 – La spectroscopie d'absorption UV-visible.

Les méthodes de calcul semi-empiriques permettent de déterminer la géométrie des orbitales moléculaires et de prévoir les transitions à l'origine des bandes observées dans les spectres d'absorption UV-visible [Remko, 1980 ; Dinya, 1985]. Afin de valider les modèles structuraux de la quercétine et de l'isoquercitrine obtenus par la méthode AM1, les spectres électroniques théoriques ont été comparés aux données expérimentales. Grâce à la représentation des orbitales moléculaires, une tentative d'attribution des transitions impliquées a été effectuée.

### II.5.1 – Spectres d'absorption UV-visible et transitions électroniques calculées.

Sur la figure II.15 sont représentés les spectres d'absorption UV-visible de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) en solution dans le méthanol. Ceux-ci ont été enregistrés avec un appareil VARIAN CARY1, double faisceau, avec une résolution spectrale de 1 nm sur la zone spectrale 210 – 600 nm.

Par rapport à la flavone, les groupements hydroxyles présents sur le noyau flavonique de la quercétine et l'isoquercitrine jouent le rôle d'auxochromes et un déplacement bathochrome important de la bande I ( $\approx 70$  nm) et plus faible de la bande II ( $\approx 6$  nm) sont observés (Table II.7).

|                | $\lambda_{\max}$ (nm) |         |
|----------------|-----------------------|---------|
|                | Bande II              | Bande I |
| Flavone        | 251                   | 294     |
| Quercétine     | 256                   | 372     |
| Isoquercitrine | 257                   | 359     |

Table II.7 : Position (en nm) des bandes I et II de la flavone [Vrielynck, 1996] de la quercétine et de l'isoquercitrine, dans le méthanol.

La substitution de l'hydroxyle en position 3 de la quercétine par un glucose, provoque un déplacement hypsochrome de 13 nm de la bande I : située à 372 nm dans la quercétine, elle apparaît à 359 nm dans l'isoquercitrine. La bande II est peu affectée par la glucosylation en position 3.

Les spectres électroniques théoriques des deux molécules ont été obtenus par un calcul d'interaction de configurations (CI), à partir de leurs géométries optimisées, en prenant en considération toutes les mono-excitations entre les 9 orbitales occupées de plus haute énergie (HOMOs) et les 9 orbitales inoccupées de plus faibles énergies (LUMOs) (CI = 9\*9). Ce choix a été arbitré par les faibles écarts énergétiques qui séparent les 9 dernières orbitales moléculaires liantes et les 9 premières orbitales moléculaires anti-liantes. L'utilisation d'une configuration plus importante CI = 15\*15 n'a pas de répercussion significative au niveau de la position ou de l'intensité des transitions calculées. Les transitions théoriques sont représentées sur la figure II.15, sous la forme de traits verticaux, la hauteur de ces traits étant proportionnelle à la force de l'oscillateur calculée.

Les calculs, réalisés à partir des deux conformations possibles de la quercétine ( $\theta = 26,7^\circ$  et  $\theta = 152,4^\circ$ ), conduisent à des spectres électroniques très proches. Une différence de l'ordre de 1 nm dans la position des principales transitions est observée. De même, les spectres théoriques calculés à partir des trois conformères stables de l'isoquercitrine, Ia, Ib et Ic, sont quasiment identiques tant au niveau de la position que de l'intensité des bandes.

Pour les deux composés, l'accord entre les spectres théoriques calculés et les spectres expérimentaux est satisfaisant. Les positions des différentes transitions électroniques calculées correspondent bien à celles des bandes expérimentales, même si les calculs réalisés au niveau de la molécule isolée ne prennent pas en considération les effets de solvant pouvant être à l'origine d'un déplacement de ces bandes. De même, les forces d'oscillateur obtenues par le calcul semi-empirique coïncident en valeur relative avec les coefficients d'extinction molaire observés. De plus, le calcul reproduit parfaitement le déplacement hypsochrome de 13 nm dû à la glucosylation en position 3. La transition HOMO – LUMO (transition 1) est calculée à 371 nm pour la quercétine et à 358 nm pour l'isoquercitrine.

Un calcul similaire effectué à partir de conformères moins stables de l'isoquercitrine a conduit à des spectres électroniques théoriques coïncidant moins bien avec le spectre expérimental, notamment au niveau de la position de la transition HOMO – LUMO.

La correspondance entre les résultats théoriques obtenus à partir des modèles moléculaires de la quercétine et de l'isoquercitrine et les données expérimentales permet de valider les résultats issus de l'analyse conformationnelle.

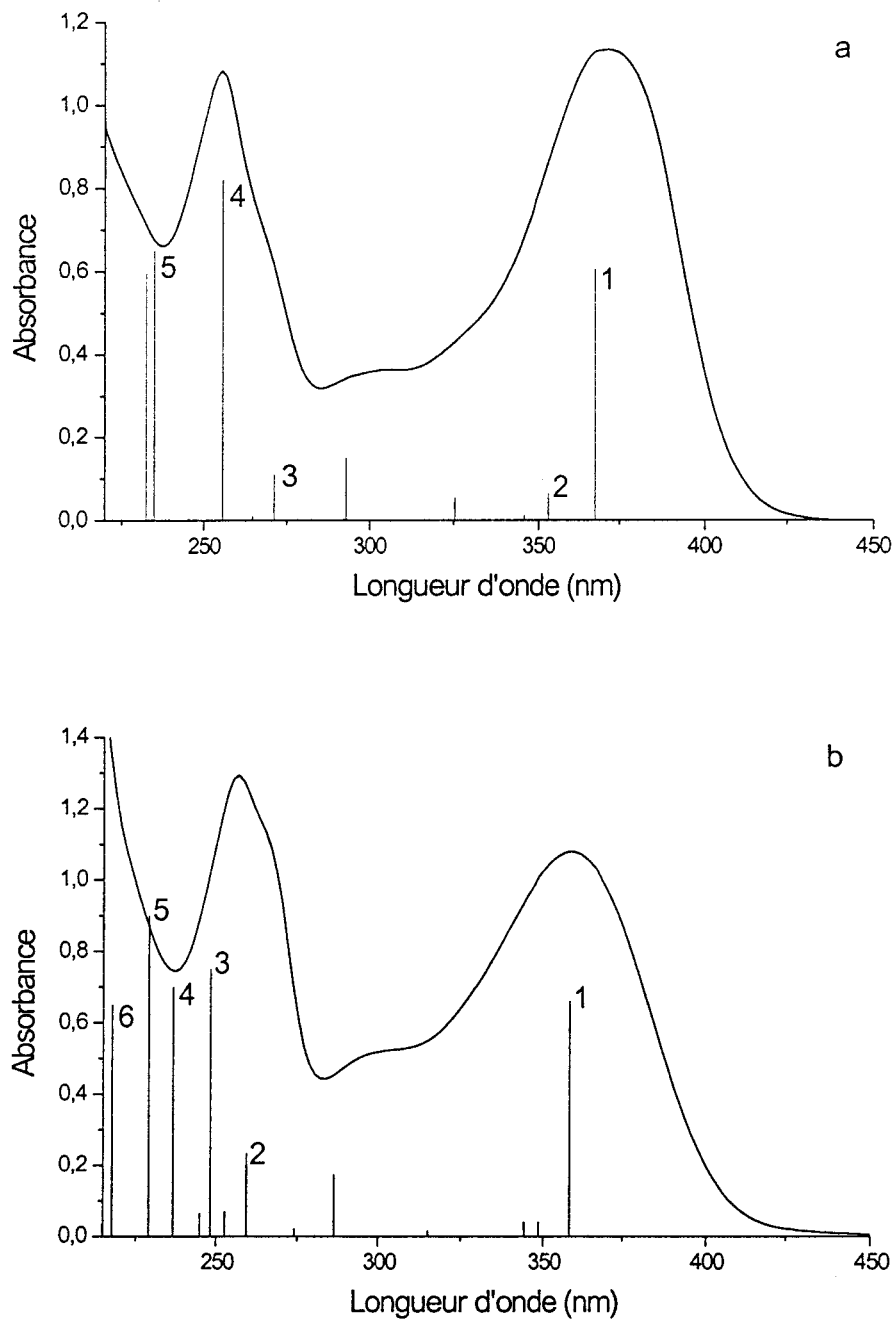


Fig. II.15 : Spectres d'absorption UV-visible de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) enregistrés dans le méthanol et transitions calculées par interaction de configuration CI = 9\*9.

II.5.2 – Calcul des orbitales moléculaires.

Afin de préciser la nature des transitions impliquées dans les principales bandes d'absorption UV-visible, un calcul des orbitales moléculaires a été réalisé dans l'approximation RHF (Restricted Hartree Fock). Les orbitales  $\psi$  de la quercétine et de l'isoquercitrine engagées dans les principales transitions sont représentées sur les figures II.16 et II.17 respectivement.

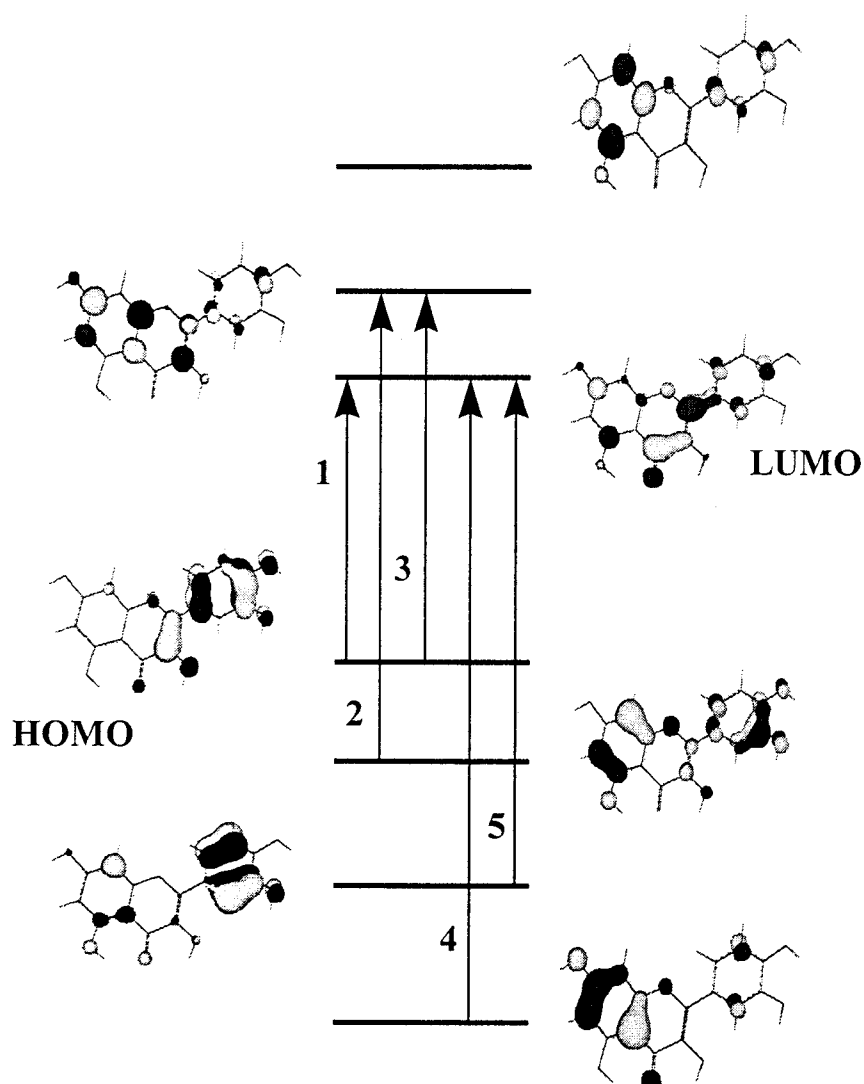


Fig. II.16 : Orbitales moléculaires de la quercétine impliquées dans le spectre électronique théorique. Le numéro de la transition correspond à la bande d'absorption du spectre électronique théorique.

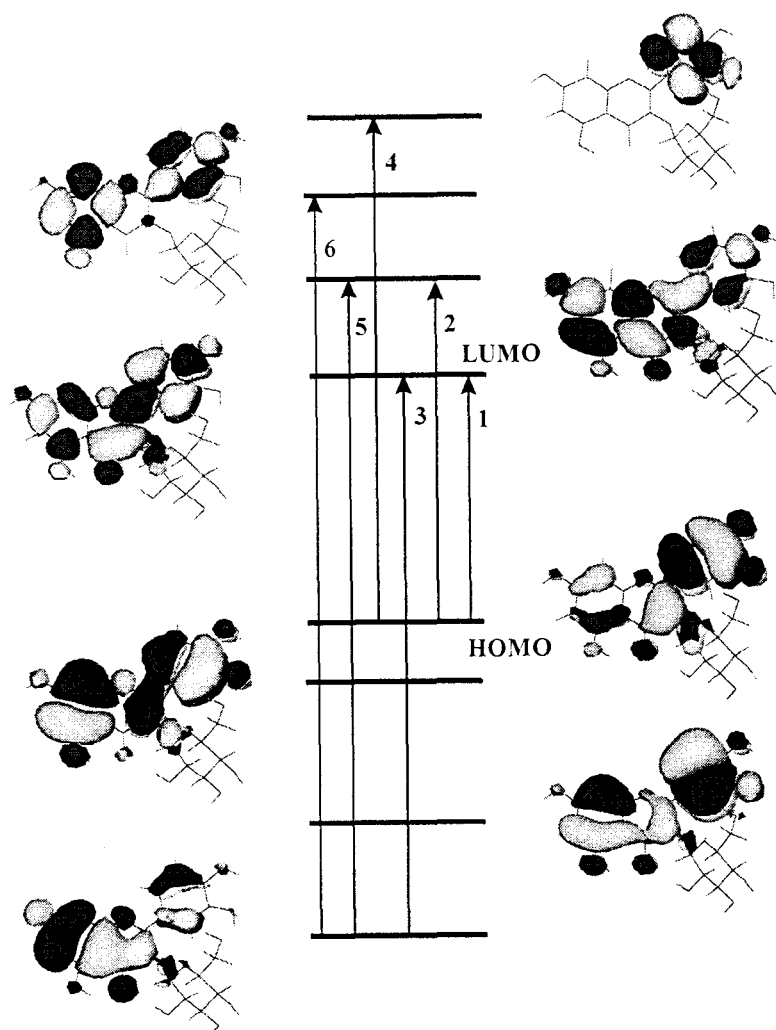


Fig. II.17 : Orbitales moléculaires de l'isoquercitrine impliquées dans le spectre électronique théorique. Le numéro de la transition correspond à la bande d'absorption du spectre électronique théorique.

Au regard des figure II.16 et II.17, les observations suivantes peuvent être faites :

- (i) l'ensemble des transitions possède un caractère  $\pi-\pi^*$  marqué.
- (ii) ce n'est pas un chromophore spécifique, mais c'est l'ensemble de la molécule qui est engagé dans les principales transitions.
- (iii) comme cela a été observé pour la 3-hydroxyflavone [Vrielynck, 1996], l'orbitale n non liante a une énergie plus faible que les orbitales  $\pi$  et ne participe pas aux transitions électroniques présentes dans le spectre.

(iv) Dans l'orbitale HOMO, la liaison inter-cycle a un caractère anti-liant, ce qui est en accord avec la conformation gauche adoptée par les molécules à l'état isolé. Un recouvrement important des orbitales  $\pi$  sur la liaison C2=C3 est également observé.

(v) Dans l'orbitale LUMO, la liaison inter-cycle possède un caractère liant, ce qui pourrait se traduire par une augmentation possible de son ordre dans l'état excité.

(vi) La transition HOMO-LUMO correspond à un déplacement des électrons du cycle B vers la liaison C4=O2. Les autres transitions mettant en jeu une redistribution des charges sur l'ensemble de la molécule.

La transition HOMO-LUMO contribue à la bande située vers les grandes longueurs d'onde (bande I) à plus de 51% dans le cas de la quercétine et à 56% dans le cas de l'isoquercitrine. La participation de cette transition à d'autres régions du spectre est insignifiante. Mis à part pour les orbitales HOMO et LUMO, les répartitions de densité électronique calculées sont très différentes pour les deux molécules.

## **II.6 – Conclusion.**

L'ensemble des résultats issus de l'étude spectroscopique nous permet de considérer que les modèles théoriques obtenus par modélisation moléculaire pour la quercétine et l'isoquercitrine constituent une bonne approche des structures adoptées par les molécules sans interaction. Bien que les calculs aient été réalisés au niveau des molécules isolées, les grandeurs spectroscopiques calculées ont permis de proposer une interprétation des spectres de vibration et électroniques.



## Conclusion

L'étude structurale de la quercétine indique que ce composé voit sa géométrie modifier lors d'un changement d'état physique. Similairement à la 3HF, la molécule quasiment plane à l'état solide adopte une conformation gauche à l'état isolé. Alors que la molécule à l'état solide est stabilisée par deux liaisons hydrogène intramoléculaires, l'absence d'interactions intermoléculaires à l'état isolé permet la formation d'une troisième liaison hydrogène intramoléculaire entre les deux hydroxyles du cycle B. La conjugaison entre la partie chromone et le cycle B de la molécule, bien que non négligeable, est relativement faible.

L'analyse conformationnelle de l'isoquercitrine révèle que la substitution de la quercétine en position 3 par un glucose induit des modifications structurales et électroniques de la molécule, notamment au niveau du lien inter-cycle. Ces modifications proviennent d'une part de l'encombrement stérique généré par la présence du sucre mais surtout de la formation de nouvelles liaisons hydrogènes intramoléculaires. La molécule d'isoquercitrine est stabilisée par 7 ou 8 liaisons hydrogènes dont l'établissement constitue un critère important de stabilité. Parmi les nombreuses conformations possibles pour la molécule, trois structures présentent une stabilité plus importante. Ces trois conformères, énergétiquement équivalents et susceptibles de coexister à température ambiante, sont caractérisés par la présence d'une forte liaison hydrogène entre le sucre et le cycle B. Alors que les conformères Ia et Ic présentent une seule liaison hydrogène entre le cycle B et le sucre, le conformère Ib choisi pour l'attribution des spectres de vibration, se caractérise par une interaction par le biais de deux liaisons hydrogènes ( $Hb-O_b \cdots H3' = 2,24 \text{ \AA}$  et  $H-O3' \cdots Hb = 2,92 \text{ \AA}$ ).

Malgré l'absence de données cristallographiques sur l'isoquercitrine, l'étude spectroscopique des deux molécules montre que, comme la majeure partie des flavonoïdes, ces deux composés adoptent une conformation différente selon l'état physique. Au regard des spectres de vibrations, ces modifications géométriques sont plus importantes dans le cas de la quercétine.

Malgré certains écarts entre les grandeurs spectroscopiques calculées et les données expérimentales, un accord satisfaisant a permis de valider les modèles structuraux théoriques obtenus par la méthode semi-empirique AM1 et de proposer une interprétation qualitative des spectres de vibration et d'absorption électronique.

## Partie III

*Complexation de la  
3'4'-dihydroxyflavone, de la  
3-hydroxyflavone et de la  
5-hydroxyflavone avec  
l'aluminium(III).*

## Introduction

Les composés phénoliques possèdent en général une forte aptitude à chélater les métaux et il nous a semblé intéressant d'étudier en détail les interactions entre ces molécules et l'aluminium.

La stœchiométrie et la structure des complexes formés entre les flavonoïdes et l'aluminium ainsi que les mécanismes de complexation n'ont jamais été étudiés avec précision. La diversité des positions et le nombre parfois important de groupements hydroxyles sur une molécule rendent l'élucidation de la structure des complexes parfois difficile. Ainsi, des ligands tels que la quercétine et l'isoquercitrine possèdent réciproquement trois et deux sites de chélation possibles.

Avant d'appréhender les interactions pouvant intervenir entre l'aluminium et les différents éléments structuraux chélateurs de la quercétine et de l'isoquercitrine, l'étude de la complexation de flavones possédant uniquement un des trois sites de chélation possible à savoir, la 3'4'-dihydroxyflavone (3'4'diHF), la 3-hydroxyflavone (3HF) et la 5-hydroxyflavone (5HF) a été envisagée.

En premier lieu, au moyen de la spectroscopie électronique, la complexation des différentes molécules a été étudiée dans le méthanol et la stœchiométrie des complexes formés déterminée par la méthode des rapports molaires et la méthode des variations continues. Puis afin de connaître l'influence de différents milieux sur le mécanisme de complexation, la stœchiométrie des complexes formés dans des milieux d'acidité différente a été déterminée par la méthode des rapports molaires. Afin de proposer un modèle structural pour les complexes obtenus dans le méthanol et de connaître les modifications géométriques et électroniques apportées par la chélation avec l'aluminium, une étude théorique par modélisation moléculaire a été entreprise. Les spectres de vibrations, de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  des complexes dans le méthanol ont été enregistrés pour valider les modèles structuraux obtenus.



## Chapitre I : Présentation préliminaire du matériel, des techniques et méthodes utilisées.

### I.1 – Introduction.

La chélation des flavonoïdes avec l'aluminium(III) a essentiellement été employée en spectroscopie UV-visible pour diagnostiquer la position de certains groupements hydroxyles sur le noyau flavonique. La base de la méthode consiste à additionner un excès d' $\text{AlCl}_3$  à une solution alcoolique de flavonoïde et à observer le déplacement bathochrome de la bande I. L'amplitude de ce déplacement est caractéristique du site se liant avec l'aluminium. Néanmoins, ce type d'analyse est particulièrement délicat du fait que selon les conditions de réaction, des complexes différents peuvent se former. Réciproquement certains flavonoïdes ont été intensément utilisés en tant qu'agents complexants en colorimétrie pour doser de faibles doses d'aluminium [Charlot, 1951].

Les travaux de Hörhammer et Hansel [1952(a) et (b)] et Jurd et Geissman [1956] indiquent que les principaux groupements structuraux des flavonoïdes susceptibles de réagir en présence d'aluminium sont (Fig. I.1) :

- la fonction ortho-dihydroxyle (a).
- la fonction 3-hydroxy-4-carbonyle (b).
- la fonction 5-hydroxy-4-carbonyle (c).

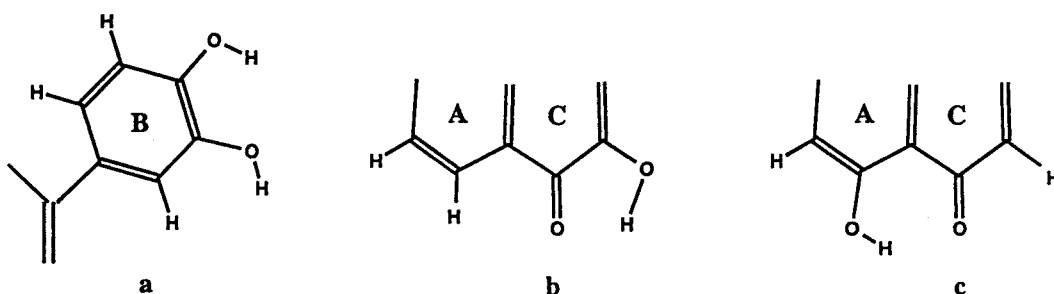


Fig. I.1 : Principaux sites de chélation des flavonoïdes.

## I.2 – L'aluminium(III).

Le choix de l'aluminium(III) pour l'étude de la complexation des flavonoïdes provient d'une part de l'importance de ce métal dans les règnes végétal et minéral mais également de la non-spécificité de son pouvoir de chélation. Contrairement au bore qui se chélate uniquement avec le groupement ortho-dihydroxyle, l'aluminium(III) se complexe avec l'ensemble des sites présents sur les molécules. Il permet ainsi d'étudier et de comparer le pouvoir chélateur de ces différents sites. Une étude structurale des complexes par modélisation moléculaire est possible puisque l'aluminium fait partie des éléments paramétrés pour la méthode semi-empirique AM1. Cette méthode, développée pour des molécules constituées des éléments de la première et de la deuxième période, ne peut pas être utilisée avec les métaux de transition.

$\text{Al}^{3+}$  est un ion métallique très petit, fortement chargé et une des espèces les plus fortes après le proton. C'est un ion hexacoordonné pouvant se lier à un, deux ou trois ligands bidentates avec possibilité de former avec les molécules de flavonoïdes (F) des complexes de type  $\text{Al}(\text{F})$ ,  $\text{Al}(\text{F})_2$  et  $\text{Al}(\text{F})_3$ .

Si la nature des espèces aluminium-hydroxydes en solution aqueuse a été abondamment étudiée et la structure polynucléaire de  $\gamma\text{-Al}(\text{OH})_3$  déterminée par diffraction des rayons X [Megaw, 1934], la nature des espèces formées par l'aluminium(III) en solution alcoolique a reçu peu d'attention. L'aluminium(III) semble subir une solvation importante dans l'éthanol, visible par la forte acidité des solutions résultantes [Ohnesorge, 1962]. La courbe de titration de solutions éthanoïques de sels d'aluminium par la soude présentant une rupture correspondant à 2,5 ions hydroxyde par ion aluminium(III), Ohnesorge postule que l'espèce sous laquelle l'aluminium(III) est présent dans l'éthanol est un complexe binucléaire ponté par des molécules de solvants ou des ions solvatés, de formule empirique  $[\text{Al}_2(\text{OEt})_5]^+$  (Fig. I.2) [Ohnesorge, 1962]. D'après cet auteur qui étudie la complexation de la 8-hydroxyquinoline dans l'éthanol, la formation du complexe se fait par déplacement de deux ions éthoxyde de l'espèce solvatée qui se reconvertissent en EtOH en utilisant les protons de la molécule phénolique. Ainsi, conformément au modèle présenté par Ohnesorge, on peut envisager que l'aluminium(III) en solution dans le méthanol conduit à la formation d'une espèce similaire (Fig. I.3).

Il est connu que le chlorure d'aluminium anhydre réagit violemment avec les alcools et, d'après Starnes [1997], la nature des produits formés dépend de nombreuses variables telles

que la température ou le rapport molaire alcool :  $AlCl_3$  présent dans la solution. Selon les conditions de réaction utilisées, les espèces issues de la réaction entre l'éthanol et  $AlCl_3$  anhydre peuvent s'écrire :  $AlCl(OEt)_2$  ;  $AlCl_2(OEt).2AlCl_3.10EtOH$  ;  $AlCl_2(OEt)$  ou  $AlCl_2(OEt).5EtOH$ .

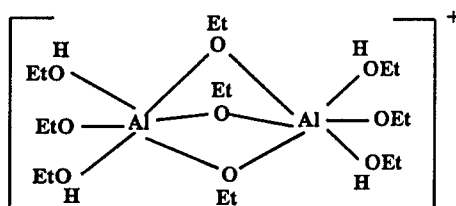


Fig. I.2 : Modèle représentant l'aluminium en solution dans l'éthanol d'après Ohnesorge.

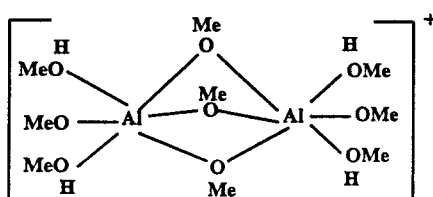
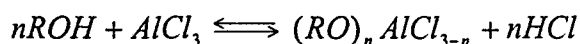


Fig. I.3 : Modèle représentant l'aluminium en solution dans le méthanol, basé sur le modèle proposé par Ohnesorge.

L'eau est encore plus réactive que les alcools vis-à-vis de l'aluminium et sa présence, même à faible concentration, entraîne la présence d'un nombre important de groupements  $AlOH$ .

La réaction entre les alcools et  $AlCl_3$  s'écrit couramment sous la forme :



Conformément à l'écriture de cette réaction, Fieser et Fieser [1956] décrivent la réaction de complexation entre les O-hydroxycétones et  $AlCl_3$  en présentant l'aluminium(III) complexé sous la forme  $AlCl_2^+$ .

Ainsi, la nature des produits issus de la réaction entre les alcools et  $\text{AlCl}_3$  est encore mal connue et diverses espèces peuvent être simultanément présentes en solution.

### I.3 – Méthodes de détermination de la stœchiométrie des complexes.

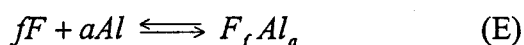
Afin d'identifier et de déterminer la composition des différents complexes formés entre les molécules étudiées et l'aluminium(III), la méthode des variations continues et la méthode des rapports molaires ont été utilisées. Nous présentons ici une description théorique de ces deux méthodes.

#### I.3.1 - Méthode des rapports molaires et points isobestiques.

##### I.3.1.a - Principe de la méthode des rapports molaires.

La méthode des rapports molaires qui permet de déterminer la stœchiométrie de complexes en solution à partir des données spectrophotométriques a été introduite par Yoe et Jones [1944].

Pour connaître la composition du complexe résultant de la réaction entre les flavonoïdes ( $F$ ) et l'aluminium ( $Al(III)$ ), du type :



on réalise une gamme de solutions dans lesquelles la concentration totale du ligand est maintenue constante tandis que celle d' $Al(III)$  augmente. En pratique, des quantités croissantes de solutions de  $Al(III)$  sont ajoutées à une quantité constante de solution de  $F$ .

Ainsi, le rapport molaire  $p = \frac{[Al]_t}{[F]_t}$  varie progressivement de 0 à une valeur très supérieure à

celle correspondant à la stœchiométrie du complexe. La composition du complexe est obtenue en traçant la courbe de variation de l'absorbance en fonction de  $p$ , en se plaçant à une longueur d'onde ( $\lambda_{\max}$ ) où la variation de l'absorbance est maximale (Fig. I.4).

\* Dans le cas d'une réaction de complexation avec une constante d'équilibre de valeur élevée, le tracé de l'absorbance à  $\lambda_{\max}$  en fonction de  $p$  est constitué de deux droites dont le point d'intersection donne directement le rapport  $\frac{[Al]}{[F]}$  présent dans le complexe (Fig. I.4a).

\* Dans le cas d'une réaction où cette constante de complexation est plus faible, la courbe fait apparaître une variation graduelle de la pente jusqu'à l'obtention pour des rapports molaires élevés, d'une droite où l'absorbance est constante. Le rapport molaire réalisé dans le complexe correspond alors à l'abscisse du point d'intersection de la tangente à l'origine de la courbe et de la droite correspondant aux valeurs constantes de l'absorbance quand le métal est en large excès (Fig. I.4b).

\* Si N complexes sont formés et que les valeurs des différentes constantes de complexation sont suffisamment distinctes pour éviter qu'il y ait recouvrement des équilibres, la courbe est constituée de N segments de droites. Les abscisses des points auxquels ont lieu changements de pente correspondent aux rapports molaires dans les différents complexes formés (Fig. I.4c).

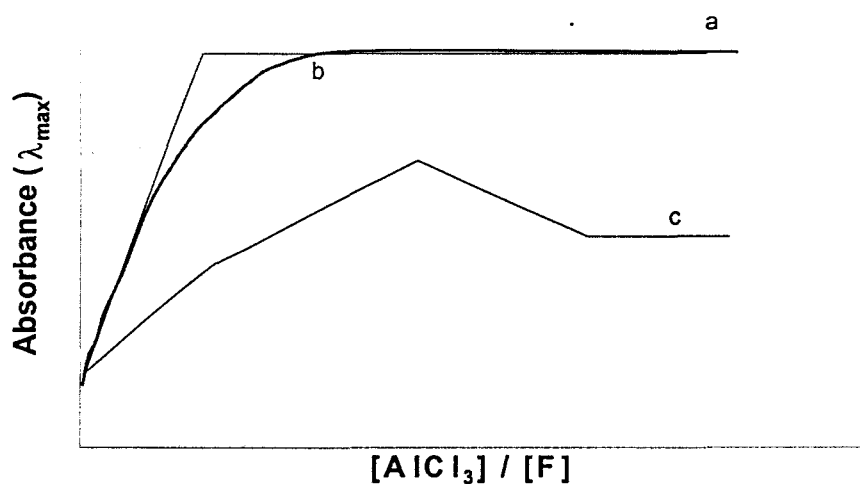


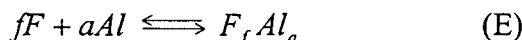
Fig. I.4 : Absorbance à  $\lambda_{\max}$  en fonction du rapport molaire  $[AlCl_3] / [F]$ . Formation d'un complexe unique de constante d'équilibre élevée (a), formation d'un complexe unique de constante d'équilibre plus faible (b) et formation successive de trois complexes d'absorbances différentes et de constantes d'équilibre distinctes (c).



### I.3.1.b – Points isobestiques.

Les spectres obtenus se coupent souvent en des points d'égale densité caractérisés par le fait que l'absorbance des solutions de la gamme en ces points est constante et donc indépendante de  $p$  ; ce sont des points isobestiques.

Reprenons à nouveau l'équilibre :



Soit  $C$ , la concentration totale constante en  $F$ . Les coefficients d'absorption molaire de  $F$  et de  $F_f Al_a$  à une longueur d'onde donnée ( $\lambda$ ) sont respectivement appelés  $\varepsilon_F$  et  $\varepsilon_{FAI}$ . Al(III) est supposé non absorbant, ce qui a été préalablement vérifié.

Pour une certaine valeur de  $p = \frac{[Al]_t}{[F]_t}$ ,  $m$  molécules de  $F$  ont réagi et forment  $\frac{m}{f}$  molécules de  $F_f Al_a$ .

Dans une zone spectrale où le complexe et le pigment absorbent, quelle que soit  $\lambda$ , l'absorbance totale du mélange est donnée par :

$$A = C \cdot (1 - m) \cdot \varepsilon_F \cdot l + C \cdot \frac{m}{f} \cdot \varepsilon_{FAI} \cdot l \quad (1)$$

D'où l'expression générale de  $A$  en fonction de  $m$  :

$$A = C \cdot l \cdot (\varepsilon_F + m \cdot (\frac{\varepsilon_{FAI}}{f} - \varepsilon_F)) \quad (2)$$

Les points isobestiques sont caractérisés par le fait que l'absorbance à la longueur d'onde où ils apparaissent,  $\lambda_{iso}$ , est constante. Ainsi, à  $\lambda_{iso}$ , l'absorbance ne dépend pas de  $m$ , c'est-à-dire :

$$\frac{\varepsilon_{FAI}}{f} - \varepsilon_F = 0 \quad (3)$$

Soit : 
$$\varepsilon_{FAI} = f \cdot \varepsilon_F \quad (4)$$

Monties [1969(b)] distingue alors le cas où  $f=1$  qui correspond à la propriété caractéristique des points isobestiques au sens strict, du cas où  $f$  est supérieur à 1 correspondant à un point isobestique au sens large.

### I.3.2 - Méthode des variations continues et points pseudo-isobestiques.

#### I.3.2.a - Principe de la méthode des variations continues.

La méthode des variations continues est l'une des méthodes les plus utilisées pour déterminer la composition de complexes en solution. Principalement développée par Job [1928], elle a été exposée en détail par celui-ci dans le cas où un seul complexe en équilibre avec les réactifs est formé. Plus tard, Vosburg et Cooper [1941] ont généralisé cette méthode dans le cas de composés formant simultanément plusieurs complexes.

Pour connaître la composition du complexe résultant de la réaction entre les flavonoïdes et l'aluminium(III) (Equation E), une série de solutions dans lesquelles la somme des concentrations totales est constante, mais dans lesquelles le rapport  $\frac{[F]_t}{[Al]_t}$  varie de façon continue est préparée. En pratique, des solutions équimolaires de  $F$  et de  $Al$ (III) sont préparées et, à des volumes croissants (0, 1, 2, 3 mL, etc.) de solution de  $F$ , on ajoute les quantités nécessaires de solution de  $Al$ (III) pour un volume final de 10 mL.

Etant donné le choix des concentrations et du volume total de 10 mL, la fraction molaire de  $F$ ,  $x_f = \frac{[F]_t}{[F]_t + [Al]_t}$ , est égale au dixième du volume de la solution de  $F$  contenu dans chacun des mélanges successifs de la gamme.

Soit  $C$  la concentration totale des solutions de la gamme des variations continues,  $[F]_t$  et  $[Al]_t$  les concentrations totales en  $F$  et  $Al$ (III) présentes dans chaque mélange.

D'après la définition de la méthode :

$$[F]_t + [Al]_t = C \quad (1)$$

En supposant les coefficients d'activité constants, c'est-à-dire que la loi d'action de masse est valide en termes de concentrations, lorsque la réaction a eu lieu, on peut écrire :

$$[F]_t = [F] + f.[F_f Al_a] = x_f.C \quad (2)$$

$$[Al]_t = [Al] + a.[F_f Al_a] = (1 - x_f).C \quad (3)$$

$$[F_f Al_a] = K.[Al]^a.[F]^f \quad (4)$$

où  $x_f$  est la fraction molaire en flavone  $F$  que l'on fait croître de 0 à 1 dans la gamme et  $K$ , la constante de formation du complexe  $F_f Al_a$ .

La concentration du complexe atteint un maximum pour une certaine valeur de

$$x_f = x_{f_{\max}}, \text{ telle que : } \frac{d[F_f Al_a]}{dx_f} = 0.$$

En dérivant les équations (2), (3), (4) par rapport à  $x_f$  et en posant  $\frac{d[F_f Al_a]}{dx_f} = 0$ , on

obtient :

$$\frac{d[F]}{dx_f} = C - f \cdot \frac{d[F_f Al_a]}{dx_f} = C \quad (5)$$

$$\frac{d[Al]}{dx_f} = -C - a \cdot \frac{d[F_f Al_a]}{dx_f} = -C \quad (6)$$

$$\frac{d[F_f Al_a]}{dx_f} = K \cdot (a \cdot [Al]^{a-1} \cdot \frac{d[Al]}{dx_f} \cdot [F]^f + f \cdot [F]^{f-1} \cdot \frac{d[F]}{dx_f} \cdot [Al]^a) = 0$$

$$\frac{d[F_f Al_a]}{dx_f} = K \cdot [Al]^{a-1} \cdot [F]^{f-1} \cdot (a \cdot \frac{d[Al]}{dx_f} \cdot [F] + f \cdot \frac{d[F]}{dx_f} \cdot [Al]) = 0$$

ce qui signifie :

$$a \cdot \frac{d[Al]}{dx_f} \cdot [F] + f \cdot \frac{d[F]}{dx_f} \cdot [Al] = 0$$

D'après (2), (3), (5), (6), cette équation s'écrit aussi :

$$-C \cdot a \cdot (C \cdot x_f - f \cdot [F_f Al_a]) + f \cdot C \cdot (C \cdot (1 - x_f) - a \cdot [F_f Al_a]) = 0$$

$$x_f = x_{f_{\max}} = \frac{f}{f + a} \quad (7)$$

Il faut noter que seul le rapport  $\frac{f}{a}$  est ainsi obtenu et non pas les valeurs absolues de  $f$  et de  $a$ .

La valeur de  $x_{f_{\max}} = e$  peut donc être déterminée expérimentalement en mesurant l'absorbance de la solution. On calcule à  $\lambda_{\max}$  la différence  $Y$  entre la valeur de l'absorbance mesurée et la valeur de l'absorbance en l'absence de formation du complexe. La courbe  $Y = Y(x_f)$  présente un maximum pour une valeur  $x_{f_{\max}} = e$  [Job, 1928].

Dans le cas d'une réaction avec une constante de complexation élevée, la courbe est constituée de deux parties linéaires se coupant à  $x_f = e$ . Pour une réaction dont la constante de complexation est plus faible, il n'y a pas une telle linéarité et les tangentes à la courbe Y aux points  $x_f = 0$  et  $x_f = 1$  doivent être tracées. Leur intersection correspond au point d'équivalence  $x_f = e$  et au maximum de la courbe comme l'a démontré Job [1928].

### I.3.2.b - Points pseudo-isobestiques.

La méthode des variations continues conduit à utiliser des quantités variables de flavones, la formation de points isobestiques n'est donc pas observée. Cependant, Monties [1969(b)] remarque que certains spectres se coupent en des points d'égale intensité et que ces points sont communs à des spectres correspondant à un rapport molaire  $x_f > e$ . Ces points singuliers sont appelés points pseudo-isobestiques.

L'absorbance de la solution est calculée en distinguant deux zones : la zone I où Al(III) est en excès correspondant à  $0 < x_f < e$  et la zone II où F est en excès, c'est-à-dire  $e < x_f < 1$ .

\* Dans la zone I ( $0 < x_f < e$ ) et dans le cas d'une réaction de constante d'équilibre (K) élevée.

Al(III) est en excès et comme K est élevée,  $[F] = 0$ . L'absorbance du mélange correspond donc uniquement à l'absorption du complexe. D'après (2) :

$$[F_f Al_a] = \frac{x_f \cdot C}{f} \quad (8)$$

Si l est le trajet optique dans la solution, à une  $\lambda$  donnée, l'absorbance du complexe varie linéairement avec  $x_f$  selon :

$$A = \frac{\epsilon_{FAI} \cdot C \cdot x_f \cdot l}{f} \quad (9)$$

\* Dans la zone II ( $e < x_f < 1$ ) et dans le cas d'une réaction où K est élevée.

L'absorption du mélange résulte de l'absorption de  $F$  et de  $F_f Al_a$ .  $F$  est en excès et comme  $K$  est élevée,  $[Al] = 0$ . D'après l'équation (3) :

$$[F_f Al_a] = \frac{(1-x_f).C}{a} \quad (10)$$

A une  $\lambda$  donnée, la variation de l'absorbance du complexe en fonction de  $x_f$  est linéaire selon l'expression :

$$A = \frac{\varepsilon_{FAI}.C.(1-x_f).l}{a} \quad (11)$$

D'après la relation (2) :

$$[F] = x_f.C - \frac{f.(1-x_f).C}{a} \quad (12)$$

L'absorbance totale du mélange est donc :

$$A = \varepsilon_{FAI}.l.\left(\frac{C.(1-x_f)}{a}\right) + \varepsilon_F.l.\left(x_f.C - \frac{(f.(1-x_f).C)}{a}\right) \quad (13)$$

D'où l'expression générale de l'absorbance dans la zone II :

$$\frac{a.A}{C.l} = x_f.(\varepsilon_F.(f+a) - \varepsilon_{FAI}) + \varepsilon_{FAI} - f.\varepsilon_F \quad (14)$$

Ces différentes variations sont représentées sur la figure I.5. La variation de l'absorbance due uniquement au complexe (équations (9) et (11)) est représentée par les segments AB et BC. Le maximum B est atteint pour la valeur de  $x_f$  satisfaisant à l'égalité suivante :

$$\frac{x_f.C}{f} = \frac{(1-x_f).C}{a}, \text{ c'est à dire pour une valeur } x_f = \frac{f}{a+f}$$

Monties [1969(b)] retrouve la valeur  $e$  de  $x_f$  trouvée par Job [1928], elle correspond à l'abscisse du maximum de la courbe de variation de l'absorbance en fonction de  $x_f$  (fonction de Job: Y) à laquelle les droites AB et BC sont tangentes à l'origine.

Dans la zone II, l'expression générale de l'absorbance est donnée par l'équation (14). En considérant qu'il existe une longueur d'onde,  $\lambda_{p,iso}$ , dans la partie du spectre étudié telle que :

$$\varepsilon_F \cdot (f + a) = \varepsilon_{FAl} \quad (15)$$

l'absorbance à  $\lambda_{p,iso}$  devient indépendante de  $x_f$ . Les points pseudo-isobestiques peuvent être définis par cette relation.

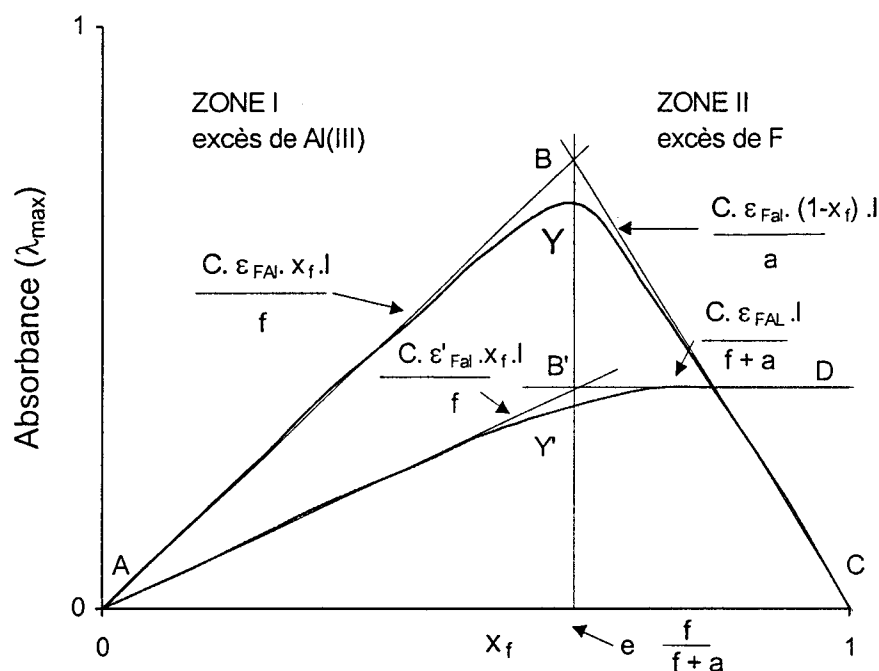


Fig. I.5 : Courbes de variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe ( $\lambda_{max}$ ) (ABC : cas d'une réaction de constante d'équilibre élevée, Y : cas d'une réaction de constante d'équilibre plus faible). Courbes de variation de l'absorbance en un point pseudo-isobestique ( $\lambda_{p,iso}$ ) (AB'D : réaction de constante d'équilibre élevée et Y' : réaction de constante d'équilibre plus faible).

Ainsi, pour  $e \leq x_f \leq 1$ , c'est-à-dire quand  $F$  et  $F_f Al_a$  sont présents dans la solution, à  $\lambda_{p,iso}$ , tous les spectres de la gamme de variations continues doivent avoir la même absorbance [Monties, 1969(b)] :

$$A = \frac{Cl}{a} (\varepsilon_{FAl} - f\varepsilon_F), \text{ à } \lambda_{p,iso} \quad (16)$$

La courbe Y' de variation théorique de l'absorbance en fonction de  $x_f$  en un point pseudo-isobestique est représentée sur la figure I.5 :

\* Dans la zone I,

Dans le cas d'une réaction de constante d'équilibre élevée, l'absorption totale est donnée par la formule (9). Elle augmente linéairement quand  $x_f$  croît de 0 à  $e$ , le segment AB' correspond alors à cette variation.

Dans le cas d'une réaction de constante d'équilibre plus faible, d'après la relation (2) :

$$[F_f Al_a] = \frac{x_f \cdot C}{f} + \frac{[F]}{f} \quad (17)$$

Lorsque  $x_f$  tend vers 0, Al(III) est en excès et  $[F]$  tend vers 0, c'est-à-dire :

$$\text{Si } x_f \rightarrow 0, \quad [F_f Al_a] \rightarrow \frac{x_f \cdot C}{f} \quad (\text{cf. 8})$$

Ainsi, AB' est tangent à Y' quand  $x_f = 0$ .

Pour  $x_f = e = \frac{f}{a+f}$  qui correspond au point B' de la figure I.5, la concentration du complexe est :

$$[F_f Al_a]_{eq} = \frac{C}{f+a} \quad (18)$$

\* Dans la zone II,

Dans le cas d'une réaction de constante d'équilibre élevée, la variation de l'absorbance est donnée par (13). Elle est fonction linéaire de  $x_f$  et est représentée par un segment de droite passant par B' et de pente calculable par cette équation. Dans le cas particulier d'un point pseudo-isobestique, la valeur de  $A$  est indépendante de  $x_f$  et reste donc constante. Elle est représentée sur la figure I.5 par le segment B'D.

Dans le cas d'une réaction de constante d'équilibre plus faible, la concentration du complexe est donnée par (3), il s'ensuit :

$$[F_f Al_a] = \frac{(1-x_f) \cdot C}{a} - \frac{[Al]}{a} \quad (19)$$

Lorsque  $x_f$  tend vers 1,  $F$  est en excès et donc quelle que soit la valeur de la constante d'équilibre,  $[Al]$  tend vers 0, c'est-à-dire :

$$\text{Si } x_f \rightarrow 1, \quad [F_f Al_a] \rightarrow \frac{(1-x_f).C}{a} \quad (10)$$

Dans ces conditions,  $[F]$  peut également être calculée d'après (2).

Ainsi, lorsque  $x_f \rightarrow 1$ , les concentrations en complexe et en flavone tendent respectivement vers les valeurs de (10) et de (12) calculées précédemment dans le cas d'une réaction totale et la droite B'D est tangente à la courbe Y' en  $x_f = 1$ .

La courbe Y' de l'absorbance des éléments de la gamme des variations continues en un point pseudo-isobestique a donc la forme représentée sur la figure I.5 et admet AB' et B'D comme tangentes en  $x_f = 0$  et  $x_f = 1$  respectivement. Ces tangentes se coupent en un point dont l'abscisse est égale au rapport molaire réalisé dans le complexe formé. L'existence des points pseudo-isobestiques permet de confirmer l'existence d'un équilibre et de conforter la valeur obtenue pour la composition du complexe [Monties, 1969(b)].

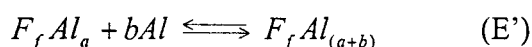
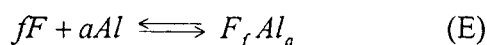
### I.3.2.c - Généralisation de la méthode des variations continues.

Les résultats précédents ne sont applicables que lorsqu'un seul équilibre (E) est présent ou lorsqu'il existe un domaine de concentration dans lequel un seul équilibre est prépondérant. Sur les réseaux de spectres, la présence de points singuliers caractérisant la formation des complexes est alors d'une grande importance pour confirmer l'unicité de l'équilibre étudié.

Dans les mêmes conditions, Vosburg et Cooper [1941] ont appliqué la méthode des variations continues à l'étude d'un système de plusieurs complexes en choisissant certaines longueurs d'onde de mesure de Y et le traitement le plus général a été effectué par Katzin et Gebert [1950].



Dans notre cas, les résultats de Job [1925] et de Monties [1969(b)] peuvent être appliqués à la caractérisation d'un second complexe formé par une réaction du type (E') :



Il est alors nécessaire que les constantes de complexation successives soient suffisamment distinctes pour que la courbe Y puisse être divisée en plusieurs intervalles à l'intérieur desquels une ou plusieurs concentrations peuvent être négligées.

En se plaçant dans une zone spectrale où les absorbances de  $F$ , de  $Al(III)$  et de  $F_f Al_a$  sont nulles, le maximum de la fonction Y est atteint lorsque la concentration en  $F_f Al_{(a+b)}$  est maximale [Charlot et Gaugin, 1951]. La composition du complexe est calculable d'après la valeur de  $x_f$  correspondant au maximum de la courbe Y'' : différence entre l'absorbance mesurée et celle que donnerait le complexe  $F_f Al_a$  s'il ne réagissait pas avec  $Al(III)$  selon la réaction (E') [Vosburg, 1941].

Pour étudier des réactions dans lesquelles plusieurs complexes successifs se forment, la méthode des rapports molaires est mieux adaptée que la méthode des variations continues. De plus, elle est reconnue plus juste pour déterminer la composition de complexes de rapport élevé. Pour des complexes présentant un rapport molaire 4 : 1 ; 5 : 1 et 6 : 1, les valeurs des abscisses sont respectivement 0,8 ; 0,833 et 0,857 par la méthode des variations continues. Ainsi, une erreur de 2% dans la préparation des solutions ou dans l'estimation du maximum est suffisante pour produire un changement d'une unité dans le rapport molaire. Pour ces mêmes complexes, par la méthode des rapports molaires, une erreur de 10% est nécessaire pour produire un changement d'une unité [Meyer, 1957].

#### I.4 – Modélisation moléculaire des molécules libres et des complexes.

La modélisation moléculaire a été effectuée en utilisant la méthode semi-empirique AM1 au moyen du logiciel HYPERCHEM. Le principe de l'analyse conformationnelle est le même que celui utilisé pour optimiser les structures de la quercétine et de l'isoquercitrine

(Partie II, Chapitre I). Le critère de convergence des minimalisations d'énergie effectuées par l'algorithme de Polack-Ribière est un gradient de 0,01 kcal.mol<sup>-1</sup>. Par la méthode AM1, l'aluminium(III) ne peut être représenté que sous une forme tétracoordonnée. En effet, même si celui-ci peut être hexacoordonné, une telle valence nécessite l'intervention des orbitales électroniques de type d qui ne sont pas prises en considération dans les calculs effectués par la méthode semi-empirique AM1. Des modèles de complexes de stœchiométrie Al(III) : F = 1 : 3 ne peuvent donc pas être envisagés.

L'ensemble des possibilités de complexation de chacune des molécules étudiées a été considéré. Pour chaque cas, un calcul de minimalisation d'énergie ainsi qu'un calcul du spectre électronique théorique par interaction de configurations a été effectué. Pour les molécules de base présentant un unique site de complexation, des calculs pour des complexes de stœchiométrie Al(III) : F = 1 : 1 et 1 : 2 ont été réalisés. Dans le cas des molécules présentant plusieurs sites chélateurs, la complexation en un seul des différents sites possibles, avec formation de chélate de type Al(III) : F = 1 : 1 et 1 : 2 en chacun de ces sites, a dans un premier temps été envisagé. Puis la chélation simultanée de plusieurs sites d'une même molécule a été examinée, hormis celle des groupements 5-hydroxy-4-carbonyle et 3-hydroxy-4-carbonyle de la quercétine qui n'est pas concevable : l'encombrement stérique apporté par la présence de l'aluminium(III) en un seul de ces sites ne permet pas la chélation du site voisin. Cela a conduit à des modèles de stœchiométrie Al(III) : F = 2 : 1.

Lorsque la molécule étudiée adopte une structure stable pour différentes valeurs de l'angle  $\theta$ , ce qui est le cas des molécules possédant un groupement ortho-dihydroxyle sur le cycle B, la minimalisation d'énergie du composé complexé a été effectuée à partir de ces différentes valeurs possibles de l'angle  $\theta$ .

Dans le cas de la modélisation des complexes de stœchiométrie Al : F = 1 : 1 et 2 : 1, pour compléter la valence de l'aluminium(III), les différents substituants proposés par la bibliographie à savoir MeO<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> et OH<sup>-</sup> ont été utilisés. Chacun des calculs précédemment décrits a donc été réalisé en utilisant Al(OMe)<sub>2</sub><sup>+</sup>, AlCl<sub>2</sub><sup>+</sup>, Al(OH)<sub>2</sub><sup>+</sup> comme entité complexante. A l'issue des différentes minimalisations d'énergie, il est apparu que la nature du substituant utilisé a peu de répercussions sur la géométrie adoptée par la molécule ainsi que sur la forme de son spectre électronique théorique. Afin d'appréhender l'influence du solvant sur les complexes formés, l'énergie des complexes obtenus entourés de dix molécules de méthanol a également été minimalisée. Les résultats de ces calculs ne seront pas présentés ici, néanmoins,

lorsque la minimalisation d'énergie a été effectuée à partir d'un complexe entouré de méthanol, formé avec l'entité  $\text{AlCl}_2^+$ , les liaisons Al-Cl ont été cassées au profit de la formation de liaisons Al-OMe et H-Cl alors que lorsque c'est l'entité  $\text{Al(OMe)}^{2+}$  qui est utilisée, le complexe adopte une structure moléculaire identique à celle obtenue dans le cas où il est isolé.

### I.5 - Description du matériel et des conditions expérimentales.

Les observations faites sur les complexes flavono-aluminiques indiquent que la réactivité des flavonoïdes est fortement influencée par la nature du solvant et qu'il y aurait intérêt à standardiser les méthodes de caractérisation de ces composés par les déplacements spectraux. Les résultats obtenus dans la littérature sont remarquablement dispersés : par exemple pour la quercétine ayant réagi avec  $\text{AlCl}_3$  dans l'éthanol, des maxima d'absorption situés à 431, 432, 440 ou 427 nm ont été obtenus [Jurd, 1969], leurs positions étant influencées par la teneur en eau ou en HCl des réactifs employés. Monties [1969(a)] remarque qu'en fonction de la nature du solvant utilisé, les maxima des bandes d'absorption UV-visible des flavonoïdes se déplacent sensiblement. Ces déplacements se font vers les faibles longueurs d'onde quand la polarité du solvant augmente et affectent essentiellement la bande I.

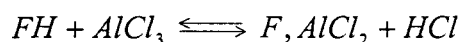
Le méthanol a été choisi comme solvant pour étudier les réactions des flavonoïdes avec  $\text{AlCl}_3$ , d'une part à cause de sa forte polarité et d'autre part à cause de la bonne solubilité des composés ou de leurs complexes dans ce solvant. De plus, d'après les travaux de Porter et Markham [1970(b)], l'éthanol est très sensible aux traces d'eau et peu adapté à l'étude de la formation de complexes entre les flavonoïdes et  $\text{AlCl}_3$ , notamment lorsque le site de complexation concerné est le groupement ortho-dihydroxyle.

Dans un premier temps, l'étude des réactions de complexation a été réalisée dans le méthanol pur. Puis, afin de savoir si l'ionisation partielle ou totale des hydroxyles présents sur les molécules influe sur les mécanismes de complexation et sur la stœchiométrie des complexes formés, ces mêmes réactions ont été étudiées dans des milieux plus alcalins : l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M et le méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M dans le méthanol.

Afin d'appréhender l'influence de l'eau sur la stabilité des complexes, l'étude des mécanismes de complexation a été envisagée dans différents mélanges méthanol - eau avec

une teneur en eau de 10%. Différentes conditions acido-basiques ont été considérées : un milieu de pH apparent égal à 2,5 en présence d'acide chlorhydrique et un second de pH apparent égal à 6,5 constitué d'un mélange aqueux acide acétique - acétate de sodium. L'étude dans un milieu plus basique en présence d'acétate de sodium ou de soude (pH = 8-9) a également été envisagée. Cependant, dans de telles conditions, l'interprétation des spectres UV-visible est impossible du fait de la précipitation partielle de l'aluminium sous la forme  $Al(OH)_3$ . Ces résultats ne seront donc pas présentés.

Le déplacement des maxima des spectres d'absorption dû aux réactions entre les flavonoïdes et  $AlCl_3$  est profondément modifié par la présence de HCl. Selon Monties [1969(a)], un tel phénomène est aisément compréhensible si l'on admet que la réaction générale entre les flavonoïdes  $FH$  et  $AlCl_3$  est de la forme :



HCl est alors un facteur susceptible de déplacer l'équilibre dans le sens de la dissociation du complexe. La présence d'eau dans le milieu est d'autant plus importante à considérer qu' $AlCl_3$  possède une très grande affinité pour l'eau et qu'il réagit avec elle en formant entre autres HCl. Selon Monties [1969(a)], l'eau produit un effet équivalent à l'addition d'HCl, bien que moins intense. De plus,  $AlCl_3$  est capable de s'hydrolyser au contact de l'eau, si bien que non seulement la réactivité intrinsèque des flavonoïdes mais également la nature du réactif peuvent être modifiées. La présence d'eau entraîne une diminution de la teneur en  $AlCl_3$  due à l'hydrolyse mais également à la formation d'ions du type  $AlCl_2^+$ ,  $AlCl^{2+}$ ,  $Al^{3+}$  capables de s'hydrater et dont on ne connaît pas la réactivité vis-à-vis des flavonoïdes. Toute caractérisation quantitative des complexes et notamment le calcul des constantes de complexation est alors difficilement envisageable. Satchell et Satchell [1969] ont vérifié que la grande affinité d' $AlCl_3$  pour l'eau rend difficile l'interprétation de résultats obtenus avec des concentrations en  $AlCl_3$  inférieures à  $10^{-4}$  M.

#### 1.5.1 - Les produits utilisés.

Les molécules de flavonoïdes étudiées sont des produits Extrasynthèse utilisés sans purification supplémentaire. Le chlorure d'aluminium anhydre Rectapur est un produit de

marque Prolabo. Le solvant utilisé est du méthanol Spectrosol commercialisé par S.D.S. Les solutions d'acide acétique et d'acide chlorhydrique sont obtenues à partir d'ampoules Titrisol (Merck). L'acétate de sodium anhydre et le chlorure de sodium sont de marque Fluka, le méthanoate de sodium anhydre de marque ACROS.

### *I.5.2 - Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible.*

Les spectres électroniques des différentes solutions ont été enregistrés avec un appareil VARIAN CARY1, double faisceau, avec une résolution spectrale de 1 nm sur la zone spectrale 210-600 nm.

#### I.5.2.a - Dans le méthanol par la méthode des rapports molaires.

Pour étudier les réactions de complexation des différents composés par la méthode des rapports molaires, des solutions de F  $5.10^{-5}$  M dans le méthanol pur et des solutions de concentration  $5.10^{-6}$  M,  $5.10^{-5}$  M,  $5.10^{-4}$  M,  $5.10^{-3}$  M,  $5.10^{-2}$  M d' $AlCl_3$  dans le méthanol sont préparées. Dans des fioles de 10 mL, 8 mL de solution de F et 2 mL des différentes solutions d' $AlCl_3$  de concentrations variables sont mélangés. Ainsi, chacune des solutions contient une concentration en F de  $4.10^{-5}$  M et une concentration en  $AlCl_3$  variant de  $4.10^{-7}$  M à  $4.10^{-3}$  M. Après avoir attendu environ 1 heure, les spectres UV-visible de chacune de ces solutions sont enregistrés.

#### I.5.2.b - Dans le méthanol par la méthode des variations continues.

Pour déterminer la stœchiométrie des complexes formés par la méthode des variations continues, des solutions équimolaires  $5.10^{-5}$  M de F et de Al(III) (solutions mères) sont préparées. Une première série de solutions (série 1) est réalisée en mélangeant dans des proportions variables les deux solutions mères dans un volume total constant de 10 mL. Afin de déterminer la fonction de Job, une seconde série de solutions (série 2) constituée uniquement de solution F avec des volumes identiques à ceux de la série 1, complétés à 10 mL avec du méthanol est préparée. Après avoir attendu environ une heure, les spectres des deux séries de solutions sont enregistrés.

I.5.2.c - Dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M ou de méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M par la méthode des rapports molaires.

Le protocole expérimental est identique à celui utilisé pour l'étude dans le méthanol pur, mais la solution de F  $5.10^{-5}$  M est préparée dans du méthanol contenant de l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M ou du méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M. Les solutions de Al(III) sont réalisées dans le méthanol pur. L'enregistrement des spectres d'absorption est effectué environ 40 minutes après la préparation des différents mélanges.

I.5.2.d - Dans un mélange méthanol - eau.

La solution de référence contient un mélange méthanol (90%) – eau (10%) et du chlorure de sodium  $10^{-1}$  M permettant de conserver une force ionique constante. La solution aqueuse utilisée est constituée dans un premier temps d'acide chlorhydrique  $3,2.10^{-2}$  M (solution de référence A, pH apparent égal à 2,5) et dans une seconde étude d'un mélange acide acétique ( $10^{-1}$  M) - acétate de sodium ( $10^{-1}$  M) (solution de référence B, pH apparent égal à 6,5). Les solutions de F  $5.10^{-5}$  M et de Al(III)  $5.10^{-1}$  à  $5.10^{-5}$  M sont préparées dans ces solutions de référence. Pour que la réaction soit totale et enregistrer les spectres, il est nécessaire d'attendre trois jours lorsque la réaction est étudiée en présence d'HCl et deux jours lorsque celle-ci a lieu dans le mélange acide acétique – acétate de sodium.

*I.5.3 - Etude des molécules et de leurs complexes par spectroscopie Raman.*

Les spectres Raman à transformée de Fourier (RTF) des molécules et des complexes en solution dans le méthanol ont été enregistrés avec un spectromètre BRUCKER FT-IFS 88 muni d'un accessoire Raman FRA 106, sur la gamme spectrale  $500-3500\text{ cm}^{-1}$  avec  $4\text{ cm}^{-1}$  de résolution spectrale. La puissance de la radiation excitatrice (à  $1.06\text{ }\mu\text{m}$ ) est de 1W et 400 accumulations ont été effectuées. La concentration des molécules en solution varie de  $5.10^{-2}$  à  $5.10^{-3}$  M selon la solubilité du composé, elle sera précisée dans le texte ainsi que le rapport  $[\text{AlCl}_3] / [\text{F}]$  utilisé pour enregistrer les spectres des molécules complexées.

*I.5.4 - Etude des molécules et de leurs complexes par spectroscopie RMN.*

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés avec un spectromètre BRUCKER AC300. Ils ont été réalisés dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  et dans le  $\text{DMSO}-d_6$  pour les molécules libres et ceux des complexes uniquement dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  ( $\text{AlCl}_3$  étant trop faiblement soluble dans le  $\text{DMSO}-d_6$ ). Le nombre d'accumulations est variable et sera précisé dans le texte. Néanmoins, malgré un nombre élevé d'accumulations (environ 20h), les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  obtenus n'ont pas toujours été de qualité suffisante pour être exploités. Des problèmes dus à l'utilisation du méthanol- $d_4$  comme solvant ont également été rencontrés, bien que la préparation des échantillons ait été effectuée sous atmosphère inerte, celui-ci s'est parfois hydrolysé.

## *Chapitre II : Complexation de la 3'4'-dihydroxyflavone avec l'aluminium(III).*

### **II.1 - Introduction.**

L'ion  $Al^{3+}$  en présence d'HCl (moins de 0,008 N) a été utilisé en premier lieu pour détecter les groupements ortho-dihydroxyles des anthocyanes [Geissman, 1955]. En 1954, Harborne suggère qu' $AlCl_3$  peut également servir à identifier ces groupements sur d'autres flavonoïdes [Harborne, 1954]. La 3'4'-dihydroxyflavone (3'4'diHF) qui possède le groupement ortho-dihydroxyle est donc susceptible de se chélater avec l'aluminium(III). En 1956, Jurd et Geissman remarquent que le groupement catéchol en solution neutre ou faiblement acide, forme difficilement des complexes avec l'aluminium(III). Cependant, contrairement aux dérivés catéchols simples (catéchol, pyrogallol, catéchine), lorsque de l'acétate de sodium est présent dans la solution, l'ajout d' $AlCl_3$  à une solution éthanoïque de 3'4'diHF entraîne un déplacement bathochrome important de la bande I du spectre d'absorption UV-visible de ce composé. La nécessité d'un pH basique pour que la réaction de complexation ait lieu est attribuée au fait que la formation du complexe est associée à l'ionisation d'au moins une fonction hydroxyle et que sa stabilisation résulte de la perte de ce proton lors de l'étape de chélation [Jurd, 1956]. Markham et Mabry [1968] montrent que les conditions acides généralement utilisées avec  $AlCl_3$  pour détecter les groupements 3-hydroxyle ou 5-hydroxyle empêchent la formation de complexes entre le groupement ortho-dihydroxyle et  $AlCl_3$ . Cette caractéristique est utilisée pour différencier ce site des autres sites de chélation. Plus récemment, Jurd [1969] a présenté une alternative pour distinguer le groupement ortho-dihydroxyle en observant que ce site, contrairement aux groupements 3-hydroxy-4-carbonyl et 5-hydroxy-4-carbonyl, complexait  $Al(III)$  dans le méthanol mais pas dans l'éthanol. Porter et Markham [1970(b)] remettent en cause ces conclusions en montrant qu'il n'y a aucune différence entre l'éthanol et le méthanol dans leur capacité à stabiliser le complexe entre la 3'4'diHF et  $Al(III)$  quand l'eau est totalement absente du milieu de réaction. Dans l'éthanol, de faibles quantités d'eau mènent à une forte dissociation du



complexe alors que dans le méthanol, la présence d'eau a peu d'influence. Jurd n'observe pas la réaction de complexation dans l'éthanol car il utilise du  $\text{AlCl}_3$  aqueux.

La figure II.1 présente la molécule de 3'4'-diHF ainsi que la numérotation utilisée dans le texte.

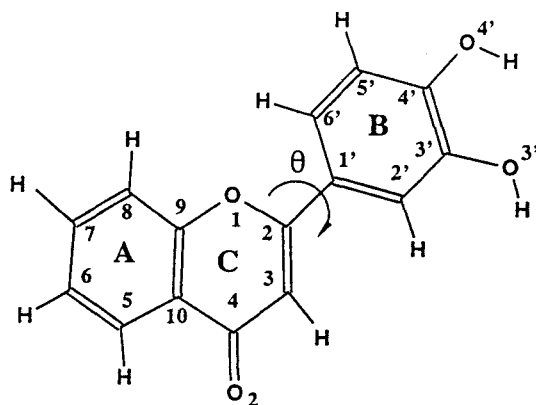


Fig. II.1 : Présentation et numérotation de la 3'4'-diHF.

## II.2 - Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 3'4'-diHF dans le méthanol.

### II.2.1 – Méthode des rapports molaires.

L'ajout d'une quantité croissante d' $\text{AlCl}_3$  à des solutions équimolaires de 3'4'-diHF dans le méthanol provoque une réduction de l'intensité de la bande I à 342 nm relative à la flavone libre et l'apparition d'une nouvelle bande à 384 nm dont l'absorbance augmente avec la quantité d'aluminium(III). La famille de spectres pour la molécule se complexant avec  $\text{AlCl}_3$  présente un point isobestique à 359 nm indiquant la formation d'un unique complexe en équilibre avec la molécule libre (Fig. II.2). La complexation devient visible pour un rapport  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{-diHF}] = 0,02$  et on peut considérer que l'équilibre de complexation est totalement déplacé lorsque ce rapport est proche de 1,8.

La stœchiométrie du complexe formé est déterminée en traçant les courbes de rapports molaires, c'est-à-dire les courbes de variation de l'absorbance en fonction du rapport des concentrations  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{-diHF}]$ , aux maxima d'absorption du complexe (384 nm) et de la molécule libre (342 nm) (Fig. II.3).

Pour les deux courbes, la tangente à l'origine et la droite correspondant aux valeurs constantes de l'absorbance se coupent au niveau du rapport molaire  $[AlCl_3] / [3'4'diHF] = 1$ . La stœchiométrie du complexe formé est 1 : 1.

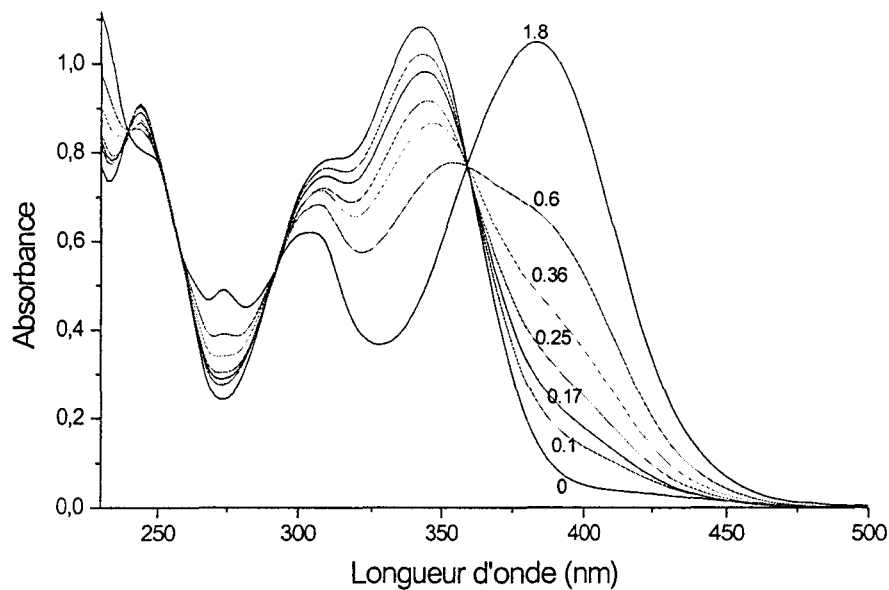


Fig. II.2 : Spectres UV-visible de la 3'4'-diHF  $4 \cdot 10^{-5}$  M dans le méthanol en présence d' $AlCl_3$  pour différents rapports molaires  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$ .

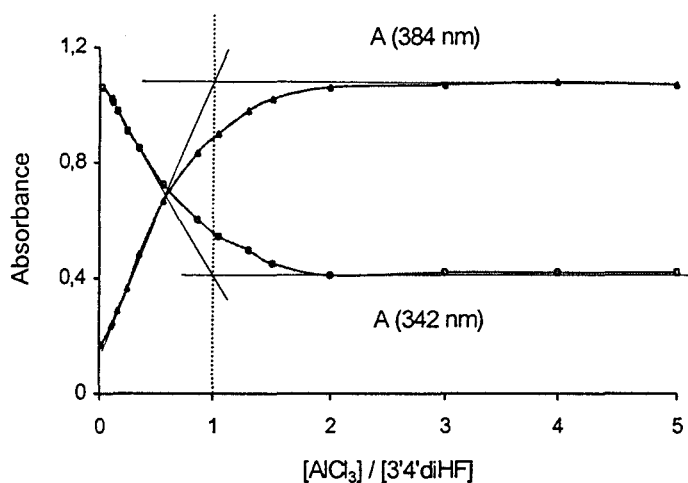


Fig. II.3 : Evolution de l'absorbance à 342 nm et à 384 nm en fonction des rapports  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$  ;  $[3'4'diHF] = 4 \cdot 10^{-5}$  M.

II.2.2 – Méthode des variations continues.

Des solutions équimolaires de flavone et d' $\text{AlCl}_3$  sont mélangées dans des proportions variables de telle façon que le volume total soit constant (10 mL). On obtient ainsi une gamme de solutions dans lesquelles la somme des concentrations est constante mais où le rapport  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  est variable. Les spectres d'absorption de ces différents mélanges sont représentés sur la figure II.4.

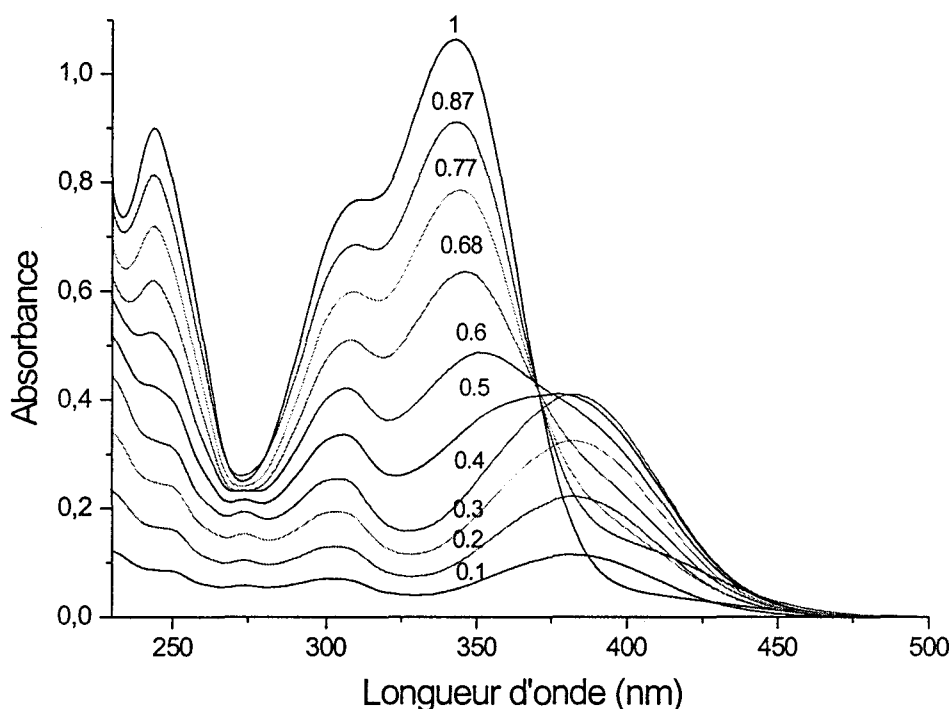


Fig. II.4 : Spectres des solutions de la gamme des variations continues correspondant à la formation du complexe entre la 3'4'-diHF et  $\text{AlCl}_3$  dans le méthanol. Les nombres figurant sur les spectres correspondent à la fraction molaire en flavone :  $x_{(3'4'\text{diHF})}$ .

Sur le réseau de spectres, un point pseudo-isobestique à 371 nm indique la formation d'un unique complexe. Sur la figure II.5 sont représentées en fonction de la fraction molaire de flavone  $x_{(3'4'\text{diHF})}$ , la courbe de variation de l'absorbance au maximum de la bande I du complexe (384 nm) ainsi que la fonction de Job correspondante ( $J = \text{Absorbance à } 384 \text{ nm de la } 3'4'\text{diHF complexée} - \text{Absorbance à } 384 \text{ nm de la } 3'4'\text{diHF s'il n'y avait pas eu de réaction}$ ). La courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique (371 nm) permet également de valider la stœchiométrie du complexe

Le maximum de la courbe de Job coïncide avec le maximum d'absorption du complexe à 384 nm et correspond à une fraction molaire en 3'4'diHF égale à 0,5. Les tangentes tracées en  $x_{(3'4'diHF)} = 0$  et en  $x_{(3'4'diHF)} = 1$  à la courbe de Job et à la courbe de variation de l'absorbance à 384 nm se coupent en  $x_{(3'4'diHF)} = 0,5$ . Pour la courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique (371 nm), l'intersection de la tangente à l'origine et de la droite correspondant aux valeurs constantes de l'absorbance se situe également à  $x_{(3'4'diHF)} = 0,5$ .

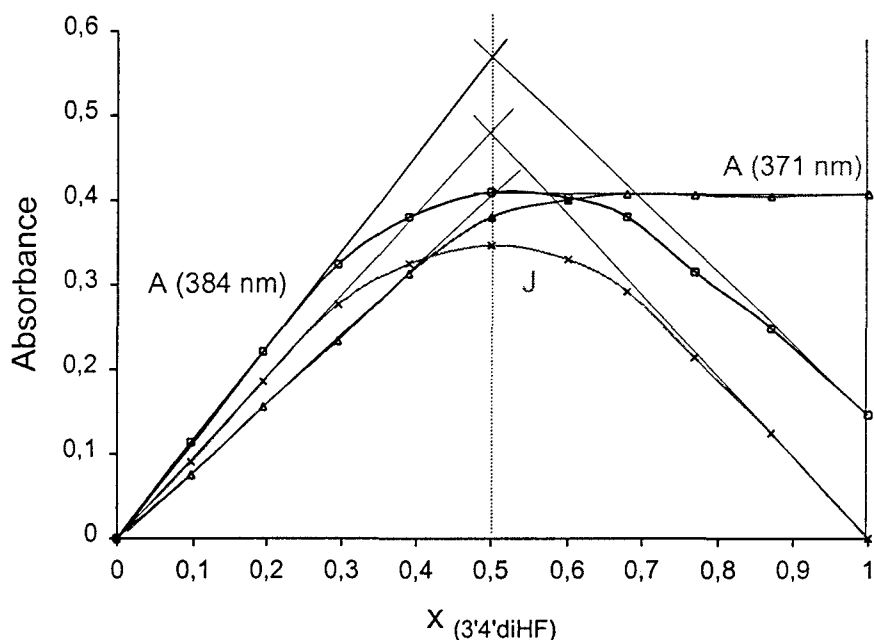


Fig. II.5 : Caractérisation du complexe 3'4'diHF-Aluminium(III) par la méthode des variations continues au maximum d'absorption du complexe (384 nm), par la fonction de Job correspondante J, ainsi qu'au point pseudo-isobestique (371 nm).

L'ensemble des résultats conduit à la même conclusion que ceux de la méthode des rapports molaires et confirme que le complexe formé entre la 3'4'diHF et l'aluminium(III) dans le méthanol a une stœchiométrie 1 : 1, il est noté  $Al(3'4'diHF)$ .

Porter et Markham [1969] détectent également un complexe de composition 1 : 1 entre la 3'4'diHF et  $AlCl_3$  dans le méthanol mais uniquement pour des rapports  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$  élevés. Selon ces auteurs, pour des faibles rapports  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$ , l'obtention de ce chélate est précédée de la formation de complexes du type  $Al(III) : 3'4'diHF = 1 : 3$  et  $1 : 2$ . Dans notre cas, seul le complexe  $Al(3'4'diHF)$  est formé. La présence d'un point isobestique par lequel passe l'ensemble des spectres y compris ceux

correspondant à de faibles rapports  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$  ainsi que le point pseudo-isobestique obtenu sur le réseau de spectres des variations continues confirme l'unicité de ce complexe

### II.3 - Analyse conformationnelle de la 3'4'diHF et du complexe Al(3'4'diHF).

L'optimisation de la géométrie de la 3'4'diHF à l'état isolé montre que la conformation la plus stable est une conformation gauche, avec un angle  $\theta$  (O1-C2-C1'-C6') qui peut adopter quatre valeurs préférentielles :  $\pm 28^\circ$  ;  $\pm 152^\circ$ . Cependant, une valeur de  $\theta$  de  $\pm 28^\circ$  est légèrement plus favorable énergétiquement (Table II.1). Les deux hydroxyles en ortho sur le cycle B forment une liaison hydrogène intramoléculaire (O4'-H---O3' = 2,25 Å).

|  | 3'4'diHF |        |        |         |
|--|----------|--------|--------|---------|
| $\theta$ (°)                           | 28,00    | 152,00 | -28,00 | -152,00 |
| $\Delta_f H$ (kcal.mol <sup>-1</sup> ) | -81,75   | -81,46 | -81,75 | -81,46  |

Table II.1 : Enthalpie de formation des différents conformères de la 3'4'diHF.

La minimalisation d'énergie de la flavone complexée avec les entités  $AlCl_2^+$ ,  $Al(OMe)_2^+$ ,  $Al(OH)_2^+$  a été effectuée à partir des deux valeurs possibles de l'angle  $\theta$  à savoir  $28^\circ$  ou  $152^\circ$ . A l'issue des différents calculs, il est apparu que :

(i) les structures du complexe obtenues à partir de la molécule libre présentant un angle  $\theta$  de  $28^\circ$  sont plus stables que celles pour lesquelles l'angle  $\theta$  vaut  $152^\circ$ .

(ii) la nature du substituant X (Cl, OMe, OH) de l'Al(III) a peu de répercussions sur la géométrie adoptée par la molécule. Seules de légères modifications dues à des différences d'encombrement stérique entre ces entités apparaissent au niveau de la valeur de l'angle  $\theta$  ( $20,54^\circ \leq \theta \leq 23,54^\circ$ ).

La complexation au niveau du catéchol provoque la déprotonation des deux hydroxyles du cycle B et conduit à la formation d'une espèce de charge -1. La répartition électronique sur la molécule est ainsi modifiée (Fig. II.6). Cette nouvelle distribution des charges affecte l'ensemble de la molécule et plus particulièrement la chaîne carbonée reliant le

site de complexation à la fonction carbonyle. Les charges portées par les atomes O4', O3', C5', C4', C3', C1', C2, C3 et O2 sont les plus fortement modifiées. Cette modification de la répartition des charges partielles ajoutée à l'encombrement stérique dû à la présence de Al(III) entraînent quelques variations structurales. Les tables II.2, II.3 et II.4 rassemblent respectivement les longueurs de liaison, les angles de liaison et les angles dièdres obtenus à partir des structures optimisées de la 3'4'diHF et de son complexe.

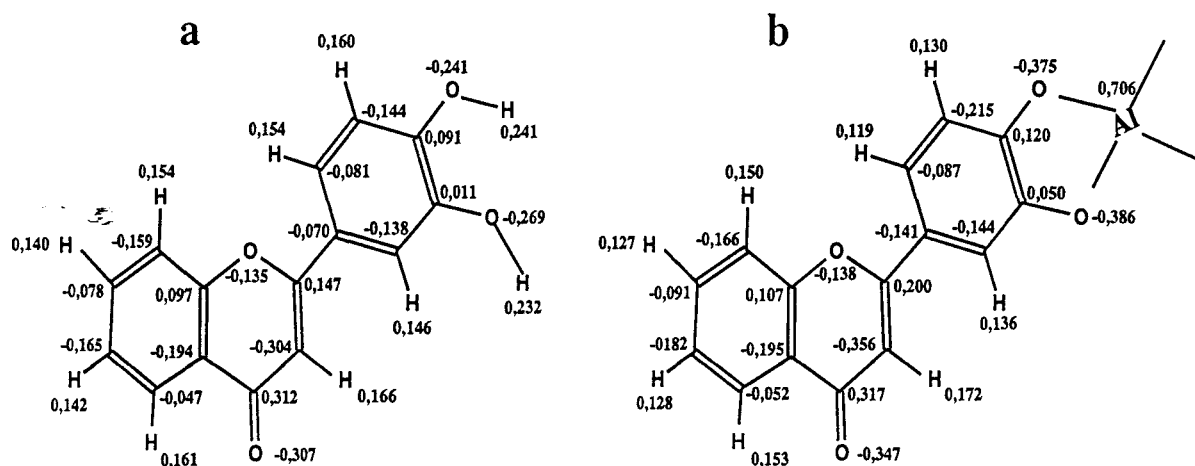


Fig. II.6 : Distribution des charges de Mulliken de la 3'4'diHF et de son complexe avec Al(III) sous la forme Al(OMe)<sub>2</sub><sup>+</sup>.

La comparaison des paramètres géométriques de la molécule libre et de la molécule complexée indique que les modifications structurales générées par la complexation sont minimales. Le cycle A de la molécule n'est absolument pas perturbé et seuls le site de complexation et le lien inter-cycle, c'est-à-dire le cycle B et la chaîne carbonée qui le relie à la fonction carbonyle, sont légèrement affectés. Au niveau de l'inter-cycle, la liaison C2-C1' voit sa longueur diminuer faiblement et bien que restant coplanaire à la partie chromone, cette liaison bascule légèrement (augmentation de l'angle C3-C2-C1'). Une rotation du cycle B est observée : la valeur de l'angle  $\theta$  diminue d'environ 7°. Une faible diminution de la longueur des liaisons C3-C4 et C2'-C3' reliée à une augmentation des liaisons C2-C3, C1'-C2' et C5'-C6' est également remarquée.

Au niveau du site de chélation, la valeur de l'angle C3'-C4'-O4' diminue de 4° alors que celle de l'angle C2'-C3'-O3' reste quasiment inchangée. La liaison C3'-C4' s'allonge de

0,04 Å alors que les liaisons C3'-O3' et C4'-O4' rétrécissent de 0,03 Å. Ces modifications structurales engendrent un rapprochement des atomes d'oxygène O3' et O4' dont la distance passe de 2,76 Å dans la 3'4'diHF à 2,64 Å dans le complexe. Le site chélateur et Al(III) forment ainsi un cycle à 5 chaînons parfaitement plan et coplanaire au cycle B.

|         | 3'4'diHF | Complexe |
|---------|----------|----------|
| O1-C2   | 1,388    | 1,394    |
| C2-C3   | 1,353    | 1,360    |
| C3-C4   | 1,461    | 1,450    |
| C4-C10  | 1,471    | 1,475    |
| C10-C5  | 1,403    | 1,403    |
| C5-C6   | 1,389    | 1,389    |
| C6-C7   | 1,400    | 1,401    |
| C7-C8   | 1,389    | 1,387    |
| C8-C9   | 1,407    | 1,410    |
| C9-C10  | 1,403    | 1,403    |
| C9-O1   | 1,387    | 1,380    |
| C2-C1'  | 1,464    | 1,454    |
| C1'-C2' | 1,403    | 1,416    |
| C2'-C3' | 1,394    | 1,385    |
| C3'-C4' | 1,414    | 1,448    |
| C4'-C5' | 1,401    | 1,396    |
| C5'-C6' | 1,391    | 1,395    |
| C6'-C1' | 1,401    | 1,399    |
| C4-O2   | 1,239    | 1,244    |
| C3'-O3' | 1,380    | 1,347    |
| C4'-O4' | 1,371    | 1,336    |
| O3'-H3' | 0,968    |          |
| O4'-H4' | 0,971    |          |
| O4'-Al  |          | 1,800    |
| O3'-Al  |          | 1,794    |

Table II.2 : Longueurs de liaison (Å)

|             | 3'4'diHF | Complexe |
|-------------|----------|----------|
| C9-O1-C2    | 117,01   | 117,60   |
| O1-C2-C3    | 123,43   | 122,27   |
| C2-C3-C4    | 122,31   | 122,97   |
| C3-C4-C10   | 114,02   | 114,15   |
| C4-C10-C5   | 121,54   | 121,77   |
| C10-C5-C6   | 120,34   | 120,45   |
| C5-C6-C7    | 120,27   | 120,16   |
| C6-C7-C8    | 120,72   | 120,72   |
| C7-C8-C9    | 118,60   | 118,78   |
| C8-C9-C10   | 121,44   | 121,13   |
| C3-C2-C1'   | 125,29   | 126,32   |
| C2-C1'-C2'  | 119,45   | 119,13   |
| C2'-C3'-C4' | 120,59   | 120,39   |
| C3'-C4'-C5' | 119,55   | 119,71   |
| C4'-C5'-C6' | 119,67   | 119,15   |
| C5'-C6'-C1' | 120,80   | 121,44   |
| C6'-C1'-C2' | 119,97   | 120,26   |
| C3-C4-O2    | 122,78   | 123,78   |
| C2'-C3'-O3' | 123,47   | 123,38   |
| C3'-C4'-O4' | 122,87   | 116,55   |
| C3'-O3'-H3' | 107,94   |          |
| C4'-O4'-H4' | 108,23   |          |
| O3'-Al-O4'  |          | 94,54    |

Table II.3 : Angles de liaison (°).

|                 | 3'4'diHF | Complexe |
|-----------------|----------|----------|
| O1-C2-C1'-C2'   | -152,16  | -158,64  |
| O1-C2-C1'-C6'   | 28,15    | 21,57    |
| C2-C3-C4-O2     | 179,15   | 179,62   |
| C9-O1-C2-C3     | 0,03     | -0,20    |
| C9-O1-C2-C1'    | -179,59  | -179,71  |
| C2'-C3'-O3'-H3' | 0,61     |          |
| C5'-C4'-O4'-H4' | -179,93  |          |
| C2'-C3'-O3'-Al  |          | 178,93   |
| C5'-C4'-O4'-Al  |          | -178,78  |

Table II.4 : Angles dièdres (°).

Une étude similaire réalisée pour la conformation un peu moins stable de la 3'4'diHF ( $\theta = 152^\circ$ ) a conduit à l'obtention d'un complexe dont la valeur de l'angle  $\theta$  est de  $159,7^\circ$ .

Utilisant la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  et la spectroscopie d'absorption UV-visible, Elhabiri [1997] a montré que la complexation des anthocyanes avec  $\text{Al(III)}$  modifie la structure de l'ion flavylum et que la molécule adopte une structure quinonique. La minimalisation d'énergie de la 3'4'diHF complexée n'a pas conduit à l'obtention de cette structure quinonique. Le phénomène de complexation s'effectuant à la suite d'une double déprotonation de la molécule, nous avons étudié de manière théorique l'influence de la déprotonation sur la structure moléculaire de la 3'4'diHF. Parmi les deux hydroxyles présents sur la molécule, celui en position 4' possède l'hydrogène le plus labile du fait de sa conjugaison avec la fonction carbonyle. D'ailleurs, la comparaison des enthalpies de formation des formes mono-déprotonées montre que la molécule déprotonée en 4' ( $\Delta_f H = -124,31 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ) est plus stable que celle déprotonée en 3' ( $\Delta_f H = -109,02 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ). Les calculs semi-empiriques ont permis de montrer que la déprotonation en position 4' génère une structure quinonique (Fig. II.7).

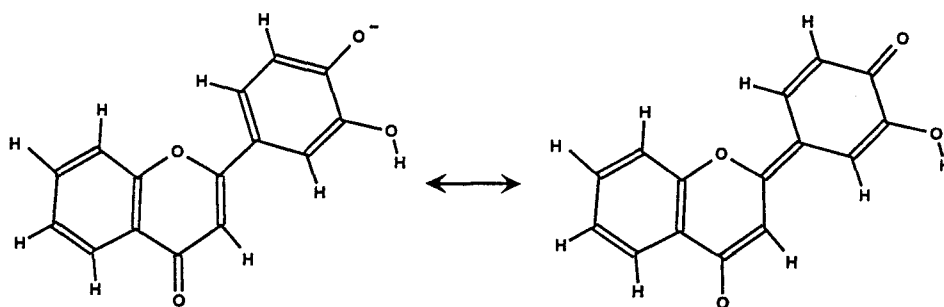


Fig. II.7 : Formes limites de la 3'4'diHF déprotonée en position 4'.

La minimalisation d'énergie de la molécule doublement déprotonée conduit à l'obtention de cette même forme quinonique. Par rapport à la molécule de 3'4'diHF, cette structure est totalement plane ( $\theta = 0^\circ$ ) et présente des modifications très importantes au niveau des longueurs de liaison du cycle B et de la chaîne carbonée C2-C3-C4-O2 (Fig. II.8). Ainsi, contrairement aux anthocyanes, même si la complexation de la 3'4'diHF s'accompagne de l'ionisation des deux hydroxyles en ortho présents sur le cycle B, la molécule complexée ne conserve pas la structure quinonique générée par cette double déprotonation. La géométrie de la molécule est peu perturbée par l'interaction avec l'aluminium(III) et le complexe adopte



une conformation proche de celle de la molécule libre avec certaines modifications structurales au niveau du site de chélation (Fig. II.9a). La forme mésomère cinnamoyle (Fig. II.9b) ne contribue que très faiblement à la géométrie du complexe.

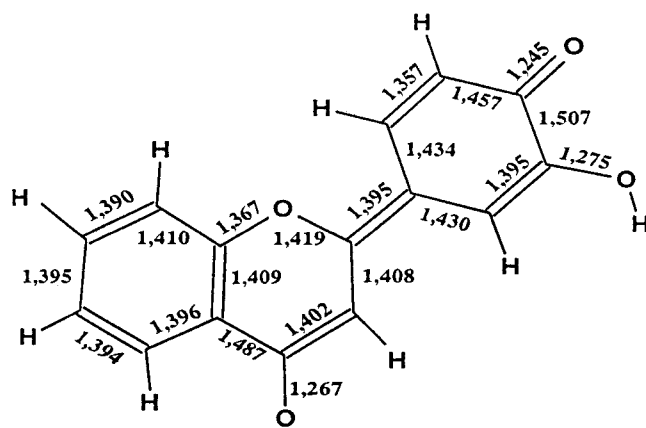


Fig. II.8 : Longueurs de liaison (Å) de la forme quinonique de la 3'4'diHF déprotonée.

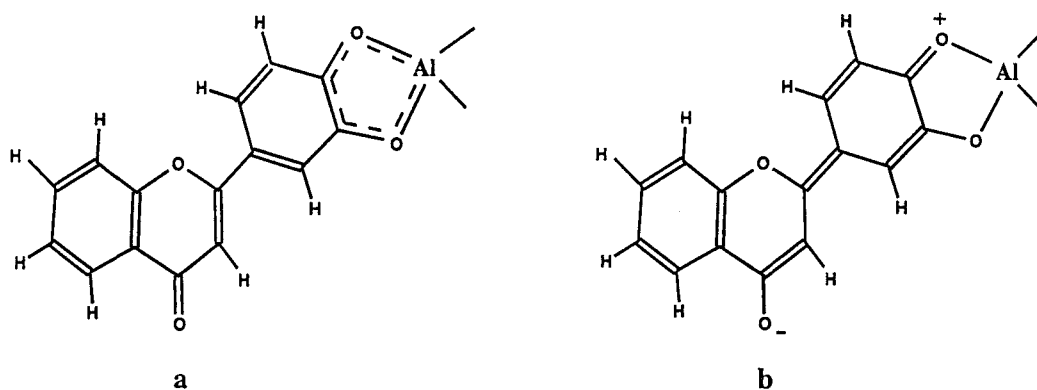


Fig. II.9 : Géométrie adoptée par la 3'4'diHF complexée avec l'aluminium(III) (a) et forme mésomère limite cinnamoyle.

#### II.4 - Etude Spectroscopique de la 3'4'diHF et de son complexe dans le méthanol.

Seuls les spectres électroniques et les spectres de diffusion Raman de la molécule et du complexe formé dans le méthanol sont présentés. En effet, aucun spectre RMN de qualité suffisante pour être exploité n'a pu être obtenu pour la molécule complexée.

II.4.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible.

A partir des modèles structuraux de la 3'4'diHF et de son complexe, un calcul des spectres électroniques théoriques a été effectué par interaction de configurations, CI = 9\*9.

La figure II.10 représente les spectres UV-visible de la 3'4'diHF (a) et de la 3'4'diHF complexée (b) en solution dans le méthanol ainsi que la position théorique des bandes d'absorption.

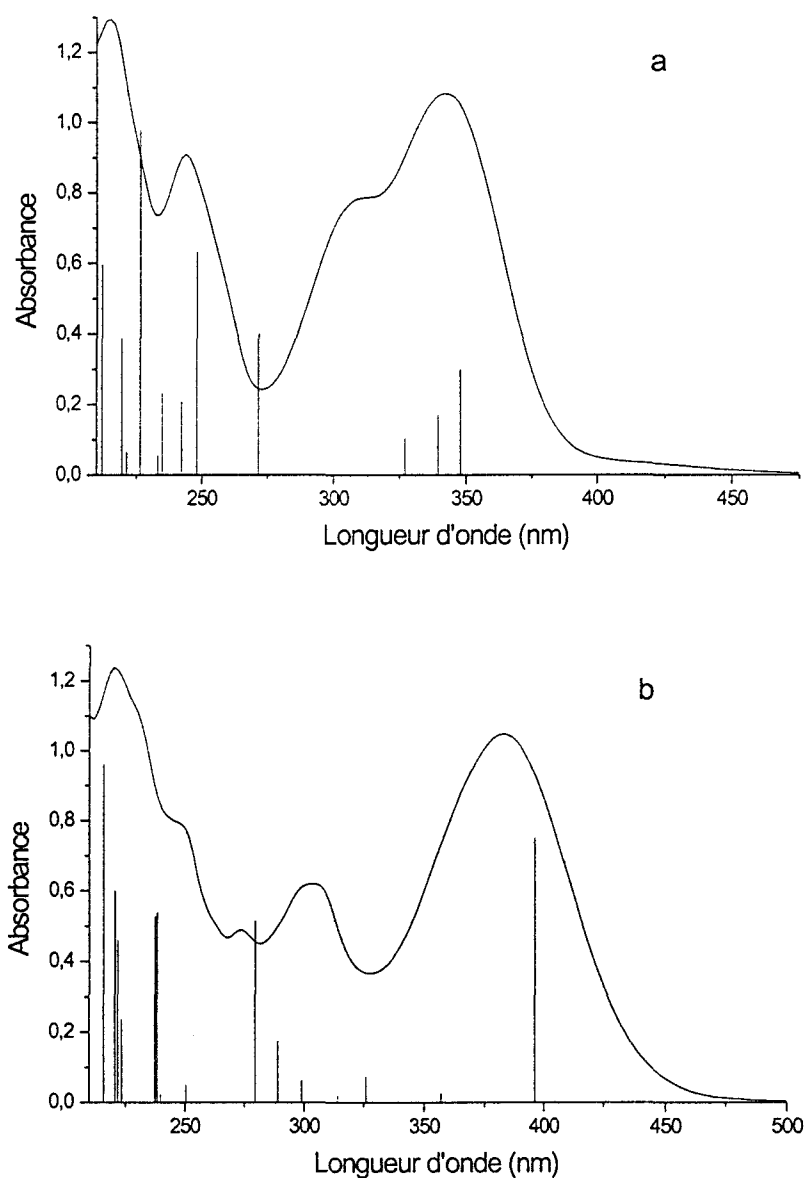


Fig. II.10 : Spectres UV-visible de la 3'4'diHF libre (a) et complexée  $[AlCl_3] / [3'4'diHF] = 1,8$  (b) en solution dans le méthanol ( $[3'4'diHF] = 4 \cdot 10^{-5} M$ ). Spectres électroniques théoriques calculés par interaction de configurations (CI = 9\*9).

Conformément aux observations de Jurd [1962], l'introduction de deux groupements hydroxyles en ortho sur le cycle B de la flavone augmente sa contribution de résonance et produit un déplacement bathochrome de la bande I sur le spectre électronique. Ainsi, dans le méthanol, la bande I de la 3'4'diHF apparaît à 342 nm alors que celle de la flavone se situe à 294 nm.

Les spectres électroniques théoriques des deux conformères les plus stables de la 3'4'diHF ( $\theta = 28^\circ$  et  $\theta = 152^\circ$ ) sont en tout point identiques. Dans le cas du complexe, ces calculs ont été effectués pour les différentes natures possibles de l'agent complexant d'une part et pour les deux conformations les plus stables ( $\theta = 21,57^\circ$  et  $\theta = 159,70^\circ$ ) d'autre part. Les modèles présentant un angle  $\theta$  de  $-159,70^\circ$  conduisent à des spectres électroniques calculés différents de leurs homologues où l'angle  $\theta$  vaut  $21,57^\circ$ , avec notamment une bande correspondant à la transition HOMO-LUMO dont la position est décalée vers les grandes longueurs d'onde par rapport au spectre expérimental.

La correspondance entre les spectres théoriques et expérimentaux est satisfaisante et permet de valider le modèle structural théorique.

#### II.4.2 – La spectroscopie de vibration.

Les spectres Raman à transformée de Fourier de la 3'4'diHF et de son complexe avec l'aluminium(III) dans le méthanol sont de qualité moyenne et un grand nombre d'accumulations n'a pas permis d'améliorer de manière significative leur allure générale. Compte tenu de la faible amplitude des modifications structurales entre la molécule libre et la molécule complexée, des spectres Raman peu différents sont attendus. Il semble évident que les modes de vibration relatifs uniquement au cycle A de la molécule ne soient nullement affectés par la complexation mais que certaines fréquences correspondant aux vibrations du cycle B soient légèrement décalées. De même, il est envisageable que certains modes voient leur fréquence perturbée par des modifications de couplages mécaniques. En ce qui concerne les intensités, la redistribution relative des charges de Mulliken sur une partie de la molécule peut engendrer des modifications de la polarisabilité moléculaire et ainsi influencer sur les intensités relatives des bandes Raman. La figure II.11 présente les spectres Raman sur la gamme spectrale  $1250 - 1700 \text{ cm}^{-1}$  de la 3'4'diHF (a), de la 3'4'diHF complexée avec Al(III) (b) et de la 3'4'diHF déprotonée en solution dans le méthanoate de sodium  $5.10^{-3} \text{ M}$  (c).

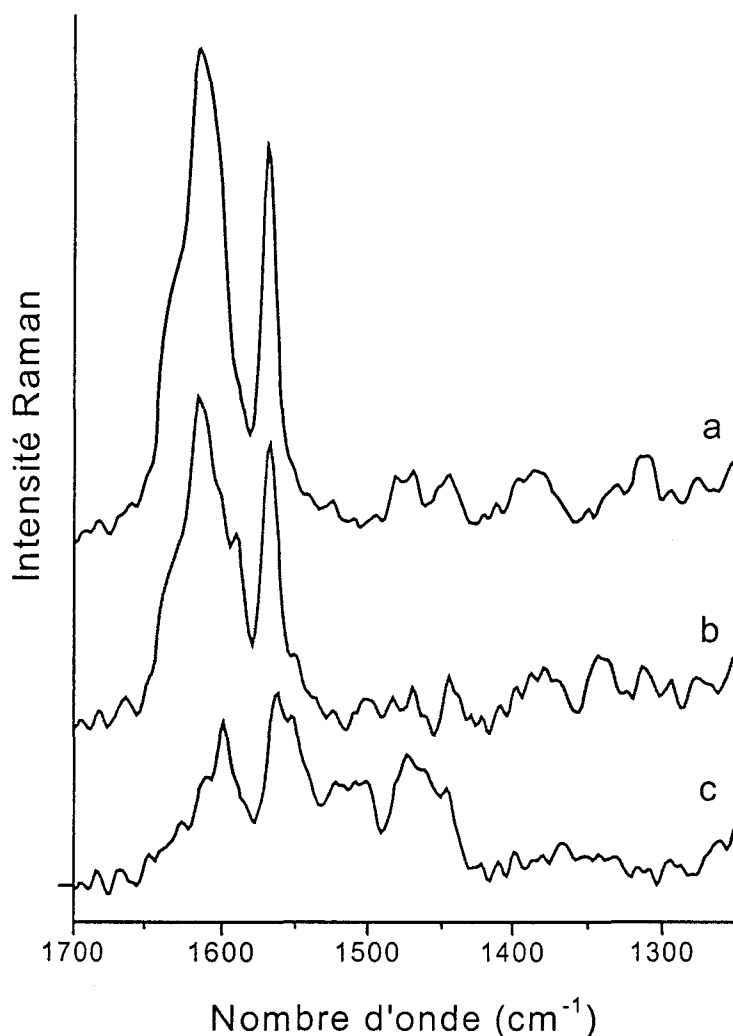


Fig. II.11 : Spectres Raman de la 3'4'-diHF  $10^{-2}$  M dans le méthanol (a), de la 3'4'-diHF  $10^{-2}$  M complexée avec  $AlCl_3$  dans le méthanol ( $[3'4'\text{-diHF}] / [AlCl_3] = 1$ ) (b), de la 3'4'-diHF  $10^{-2}$  M dans le méthanol en présence de  $MeONa^+ 5 \cdot 10^{-1}$  M (c).

La comparaison des spectres Raman de la molécule libre (a) et de la molécule ionisée (c) met en évidence une profonde modification de la position et de l'intensité des bandes présentes dans la gamme spectrale des hautes fréquences. Ces modifications reflètent les changements structuraux importants engendrés par la déprotonation des positions 4' et 3' qui conduisent à l'obtention d'une structure quinonique plane. Le spectre Raman de la molécule complexée (b) présente davantage de similitudes avec celui de la molécule libre (a). Le massif situé entre  $1550$  et  $1700\text{ cm}^{-1}$  où apparaissent les elongations  $\nu(C4=O2)$ ,  $\nu(C2=C3)$  et les modes 8a et 8b des cycles A et B est relativement peu perturbé par la complexation. Les

études antérieures concernant les composés flavoniques ont montré que cette zone spectrale présente des modes de vibration dont la fréquence est sensible aux changements conformationnels.

L'étude des spectres Raman mène aux mêmes conclusions que les résultats de la modélisation moléculaire. La complexation de la 3'4'diHF avec l'aluminium(III) dans le méthanol ne modifie pas sensiblement la géométrie adoptée par la molécule et une structure quinonique pour le complexe ne peut pas être retenue.

## II.5 - Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 3'4'diHF dans différents milieux.

### II.5.1 - Complexation dans le méthanol en milieu basique.

En présence d'acétate de sodium, base relativement faible, seuls les groupements hydroxyles phénoliques les plus acides peuvent être ionisés significativement. Par contre, le méthanoate de sodium est une base forte capable de déprotoner dans une certaine mesure tous les groupements hydroxyles présents sur la flavone [Markham, 1975].

Les pKa obtenus par Wolfbeis [1984] pour les fonctions hydroxyles en position 3' et 4' sont respectivement de 9,75 et 8,28. Ainsi, l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M est susceptible de déprotoner l'hydroxyle en position 4' alors que le méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M peut ioniser les deux fonctions hydroxyles. D'après les résultats de la modélisation moléculaire, la déprotonation de l'hydroxyle en position 4' accompagnée ou non de celle de l'hydroxyle en 3', engendre des modifications structurales importantes. Elle conduit à la formation d'une structure quinonique plane et perturbe profondément la répartition électronique des charges de la molécule. L'ensemble de ces modifications peut entraîner des changements de réactivité de la molécule vis-à-vis d' $\text{AlCl}_3$ . Sur la figure II.12 sont représentés les spectres d'absorption UV-visible de la 3'4'diHF dans le méthanol (a), dans l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et dans le méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M (c).

Le spectre de la 3'4'diHF dans l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M présente des bandes identiques à celles du spectre de la 3'4'diHF dans le méthanol avec cependant une nouvelle bande large et peu intense située vers 400 nm. Ces observations suggèrent que la fonction

hydroxyle en position 4' n'est que partiellement ionisée dans ce milieu et que de nombreuses molécules non déprotonées sont encore présentes en solution.

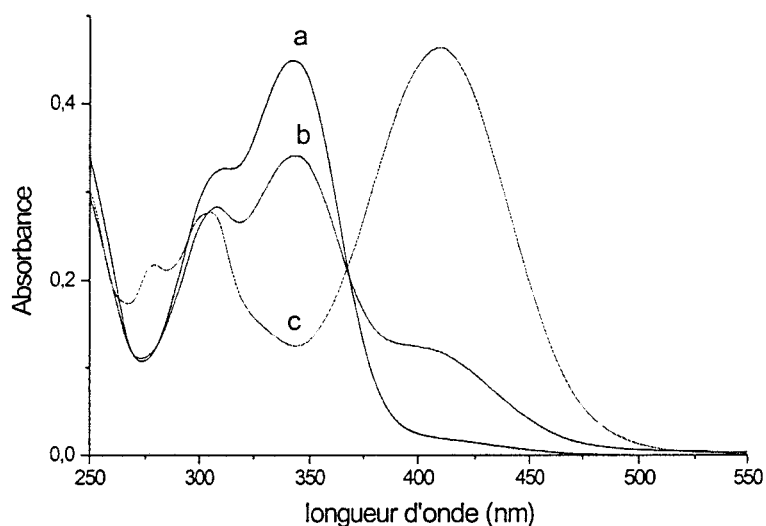


Fig. II.12 : Spectres d'absorption UV-visible de la 3'4'-diHF dans le méthanol pur (a), en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et en présence de méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M (c).

Le spectre de la molécule dans le méthanoate de sodium est profondément différent de celui de la molécule en solution dans le méthanol pur : la bande à 342 nm a totalement disparu et une nouvelle bande large et intense apparaît à 403 nm. Ce spectre présente également des bandes plus faibles à 302 nm et 279 nm. Dans le méthanoate de sodium, la fonction hydroxyle en 4' est donc totalement déprotonée. Les caractéristiques spectrales spécifiques à la déprotonation d'un hydroxyle en position 4' décrites dans la littérature sont observées : un déplacement bathochrome de 40 à 65 nm de la bande I, sans diminution d'intensité [Markham, 1975]. Le degré d'ionisation de l'hydroxyle en position 3' est plus difficile à connaître. L'étude théorique par modélisation moléculaire conduit à l'obtention d'une même structure que la molécule soit uniquement déprotonée en 4' ou doublement déprotonée. De plus, les spectres UV-visible théoriques calculés à partir de la géométrie optimisée des deux modèles sont peu représentatifs de ceux obtenus expérimentalement. Il est certain que la déprotonation de la molécule entraîne des interactions intermoléculaires importantes avec le milieu qui peuvent être à l'origine du déplacement de certaines bandes et qui compliquent tout traitement théorique.

II.5.1.a - Etude de la complexation dans le méthanol en présence d'acétate de sodium.

L'ajout d'une quantité croissante d' $\text{AlCl}_3$  à la solution de 3'4'diHF dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M entraîne une diminution d'intensité de la bande à 342 nm et l'apparition de deux nouvelles bandes dont l'intensité augmente avec la quantité d'aluminium(III). La première, d'intensité relativement faible, se situe à 277 nm et est identique à celle observée à 270 nm pour la molécule complexée dans le méthanol pur. La seconde est plus large et située à 408 nm pour des rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  compris entre 0 et 0,17. Son intensité augmente et elle forme un point isobestique avec le spectre de la molécule libre puis elle se déplace vers les plus faibles longueurs d'onde jusqu'à 402 nm (Fig. II.13). Les spectres présentant cette bande à 402 nm ne passent plus par le point isobestique formé initialement. Il semble donc que pour des faibles rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  un premier complexe dont le maximum d'absorption se situe à 408 nm se forme puis, lorsque la quantité d'aluminium(III) augmente au sein de la solution, celui-ci se transforme en un second complexe dont le maximum d'absorption est à 402 nm. Afin de déterminer la stœchiométrie de ces deux chélates, les courbes de variation de l'absorbance à 408 nm et à 402 nm en fonction du rapport des concentrations  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  sont tracées (Fig. II.14a et II.14b).

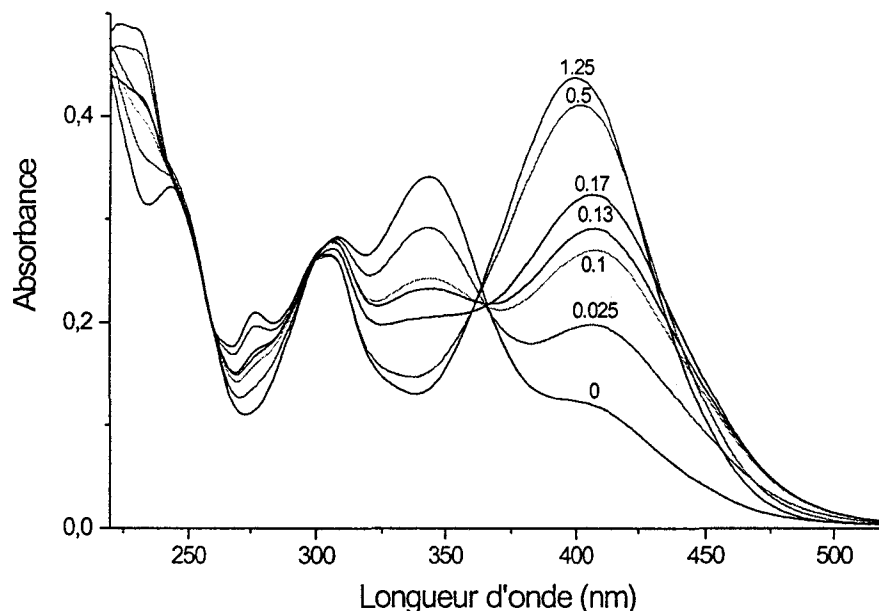


Fig. II.13 : Spectres UV-visible de la 3'4'diHF  $4 \cdot 10^{-5}$  M dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M pour différents rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$ .

Sur la courbe représentant la variation de l'absorbance à 408 nm en fonction du rapport des concentrations  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$ , la tangente à l'origine de la courbe et la droite correspondant aux valeurs constantes de l'absorbance se coupent pour un rapport  $[AlCl_3] / [3'4'diHF] = 0,33$ . Le premier complexe formé dont le maximum d'absorption se situe à 408 nm est un complexe de stœchiométrie  $Al(III) : 3'4'diHF = 1 : 3$ , il est noté  $Al(3'4'diHF)_3$ .

Pour la courbe représentant la variation de l'absorbance à 402 nm, le point d'intersection de la tangente à la courbe au point  $[AlCl_3] / [3'4'diHF] = 0,2$  (rapport à partir duquel la formation du second complexe commence) avec la droite des valeurs constantes de l'absorbance correspond à un rapport  $[AlCl_3] / [3'4'diHF] = 0,5$ . La stœchiométrie du second complexe est de type  $Al(III) : 3'4'diHF = 1 : 2$ , il est noté  $Al(3'4'diHF)_2$ .

Ainsi, pour des faibles rapports  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$ , un premier complexe de type  $Al(3'4'diHF)_3$  est formé, puis, lorsque la quantité d'aluminium(III) augmente au sein de la solution, celui-ci se transforme en un second complexe du type  $Al(3'4'diHF)_2$ . La complexation de la molécule dans ce milieu relativement basique est donc plus facile que dans le méthanol puisque de plus faibles quantités d' $AlCl_3$  permettent la formation de complexes présentant une stœchiométrie plus élevée.

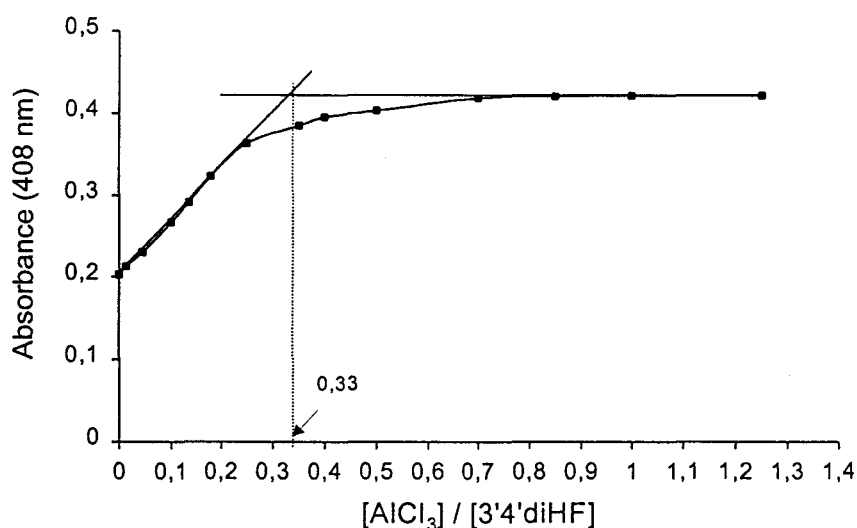


Fig. II.14a : Courbe de rapports molaires tracée à 408 nm correspondant à la complexation de la 3'4'diHF  $4 \cdot 10^{-5} M$  dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1} M$ .



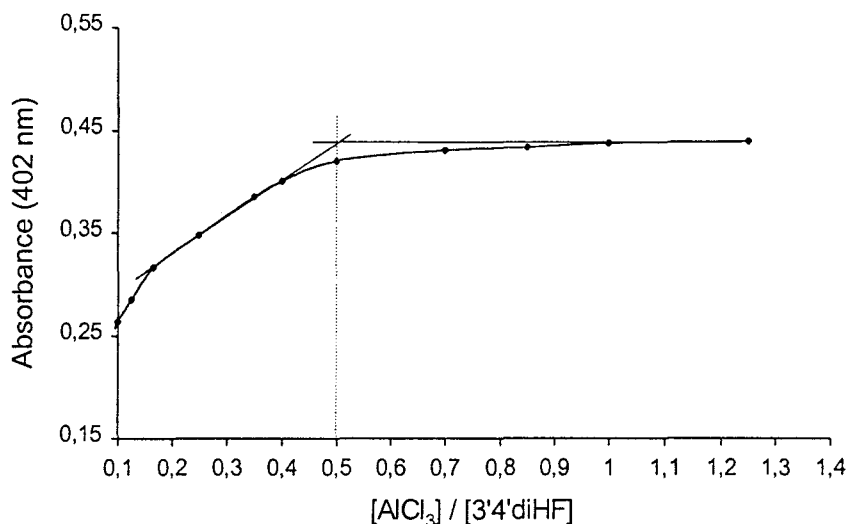


Fig. II.14b : Courbe de rapports molaires tracée à 402 nm correspondant à la complexation de la 3'4'diHF  $4 \cdot 10^{-5}$  M dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

#### II.5.1.b – Complexation dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium.

La complexation de la 3'4'diHF avec Al(III) en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M se traduit par un léger déplacement bathochrome de la bande I de 403 nm à 410 nm et de la bande II de 302 nm à 305 nm. L'épaule à 279 nm devient plus intense et forme une nouvelle bande (Fig. II.15). Le point isobestique à 352 nm indique la présence d'un unique complexe. La position de la bande I (410 nm) ainsi que l'allure générale du spectre, semblable à celle observée précédemment pour le premier complexe formé dans l'acétate de sodium, laisse supposer que le complexe formé est de type  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$ .

Afin de vérifier la stœchiométrie du complexe formé dans le méthanoate de sodium, la courbe de l'absorbance à 410 nm en fonction du rapport  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  est tracée (Fig. II.16). Les tangentes à la courbe en  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}] = 0$  et  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}] = 1$  se coupent en  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}] = 0,33$ . Le complexe formé est constitué de trois molécules de 3'4'diHF coordonnées à un aluminium(III). La bande I de ce complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  est plus intense que dans l'acétate de sodium et elle se situe non plus à 408 nm mais à 410 nm. En effet, en présence d'acétate de sodium, la formation du complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  commence avant que l'ensemble des molécules de 3'4'diHF soient complexées sous la forme

$Al(3'4'diHF)_3$  et un mélange des deux chélates est présent dans la solution. Ceci peut provenir (i) de la valeur des constantes de complexation qui, si elles sont proches, conduisent à la présence simultanée des deux complexes

(ii) de la diminution du pH, due à l'ajout d' $AlCl_3$ , qui est plus rapide avec l'acétate qu'avec le méthanoate de sodium.

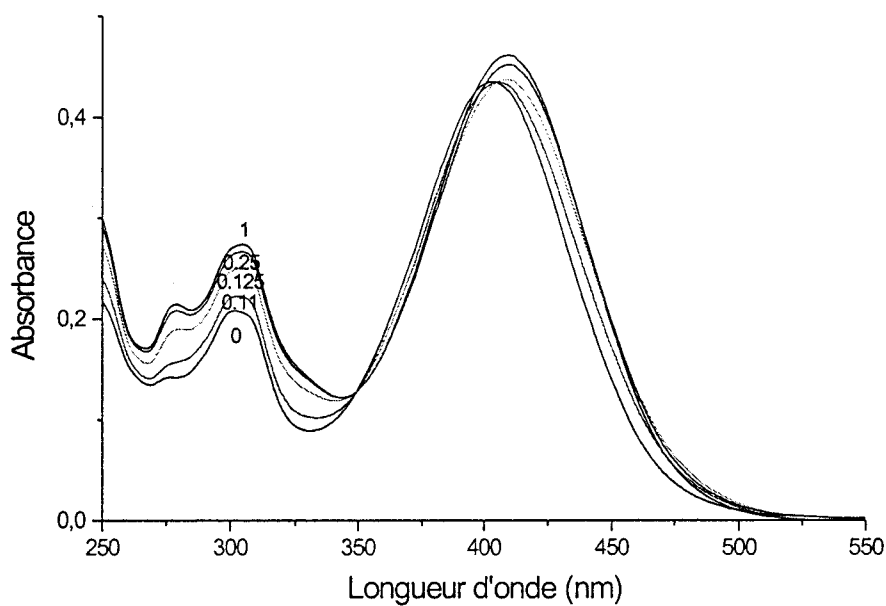


Fig. 11.15 : Spectres UV-visible de la 3'4'diHF ( $4.10^{-5}$  M) dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M pour différents rapports  $[AlCl_3]/[3'4'diHF]$ .

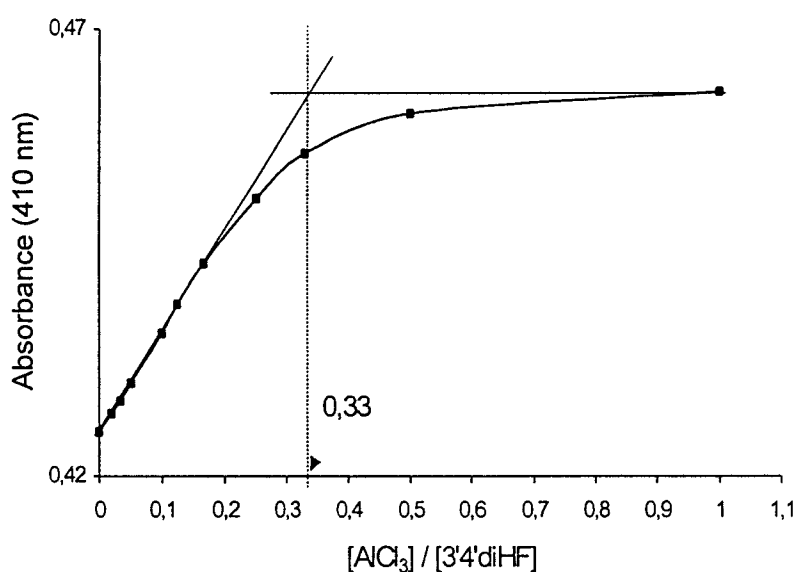


Fig. 11.16 : Courbe de rapports molaires tracée pour la complexation de la 3'4'diHF dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M.

En présence de méthanoate de sodium, seuls des complexes de type  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  sont formés. Il apparaît que plus le milieu est basique, plus la formation de complexe de stœchiométrie élevée est favorisée.

#### II.5.1.c - Modélisation du complexe $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$ .

L'optimisation géométrique du complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  effectuée à partir des deux valeurs possibles de l'angle  $\theta$  ( $28^\circ$  ou  $152^\circ$ ) conduit à l'obtention de chélates où  $\theta$  vaut respectivement  $23,3^\circ$  et  $157,8^\circ$  (Fig. II.17). Les deux structures présentent des stabilités comparables, les enthalpies de formation des deux structures valent respectivement  $-273,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$  ( $\theta = 157,8^\circ$ ) et  $-273,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$  ( $\theta = 23,3^\circ$ ). Le complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  est composé de deux molécules de 3'4'diHF strictement identiques géométriquement et présentant la même distribution électronique. La conformation adoptée par ces molécules est très proche de celle du complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  obtenu dans le méthanol. La valeur de l'angle  $\theta$  est cependant un peu plus importante du fait de l'encombrement stérique généré par la présence de deux molécules de 3'4'diHF liées à un Al(III). La répartition des charges partielles est sensiblement identique à celle observée pour le complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$ .

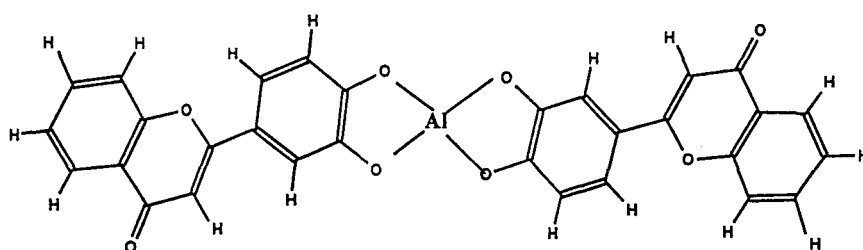


Fig. II.17 : Modèle du complexe formé entre deux molécules de 3'4'-diHF et l'aluminium(III).

#### II.5.1.d – Conclusion sur la complexation en milieu basique.

L'étude de la complexation de la 3'4'diHF dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1} \text{ M}$  et dans le méthanoate de sodium  $5.10^{-3} \text{ M}$  indique qu'un milieu basique favorise la formation de complexes de stœchiométrie plus élevée entre la molécule et l'aluminium(III). L'ajout d'une quantité plus importante d' $\text{AlCl}_3$  diminue progressivement le

pH de ces solutions et détruit les complexes  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  et  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  pour former le complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  obtenu dans le méthanol pur. Néanmoins, dans ces milieux, la quantité d' $\text{AlCl}_3$  requise pour former un complexe de stœchiométrie 1 : 1 est plus importante que dans le méthanol. En présence d'acétate et de méthanoate de sodium, le groupement catéchol est en compétition avec les entités  $\text{AcO}^-$  et  $\text{MeO}^-$  fortement complexantes de l'aluminium. Cependant, une quantité d' $\text{AlCl}_3$  moins importante est nécessaire pour former les complexes  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  et  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  que pour obtenir le complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  dans le méthanol. Ces résultats permettent de conclure que le groupement ortho-dihydroxyle a un fort pouvoir chélateur en milieu basique.

La figure II.18 représente les spectres d'absorption UV-visible des complexes  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  (a),  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  (b) et  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  (c) enregistrés respectivement dans le méthanol pur, dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M et en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M.

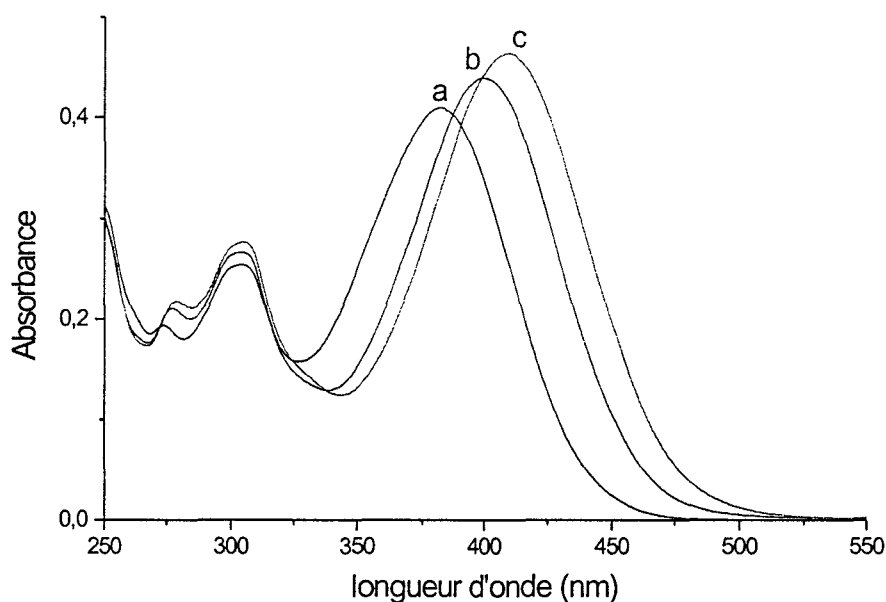


Fig. II.18 : Spectres UV-visible des complexes  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  (a),  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$  (b) et  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  (c) obtenus respectivement dans le méthanol pur, dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M et en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M.

Ces trois spectres sont comparables :

(i) La bande à 302 nm est présente sur les trois spectres.

(ii) les bandes situées à 270 nm et 384 nm pour le complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  se déplacent vers les grandes longueurs d'onde lorsque la stœchiométrie du chélate augmente.

D'après l'analyse structurale, la 3'4'diHF adopte la même conformation dans les complexes  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  et  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$ , avec néanmoins un angle  $\theta$  un peu plus important dans le cas du complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$ . Il est envisageable que dans le cas du complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$ , la conformation de la 3'4'diHF soit similaire à celle qu'elle adopte dans les deux autres complexes avec toutefois un angle  $\theta$  encore plus important du fait de l'encombrement stérique généré par la présence de trois molécules liées à un Al(III).

#### II.5.2 - Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en milieu acide.

##### II.5.2.a – Complexation en présence d'HCl.

Expérimentalement, l'ajout de quelques gouttes d'HCl  $5.10^{-3}$  M à la solution de 3'4'diHF complexée avec l'aluminium(III) dans le méthanol entraîne la destruction du complexe et restitue le spectre d'absorption de la molécule libre. De même, dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl  $3,2.10^{-2}$  M (pH apparent égal à 2,5), la molécule ne se complexe pas avec Al(III) même pour des concentrations importantes en  $\text{AlCl}_3$ . Les résultats obtenus par Markham et Mabry [1968] qui indiquent que les fonctions ortho-dihydroxyles du cycle B des flavonoïdes ne se complexent pas avec l'aluminium(III) en présence d'HCl sont confirmés.

##### II.5.2.b – Complexation en présence d'un mélange acide acétique - acétate de sodium.

La réaction de complexation entre la 3'4'diHF et l'aluminium(III) se fait très difficilement dans un tel milieu et un rapport de concentrations  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  élevé est nécessaire pour que la formation de complexes soit observable. Pour un rapport  $[\text{AlCl}_3] / [3'4'\text{diHF}]$  égal à 200, la complexation n'est pas totale et de nombreuses molécules libres sont encore présentes en solution (Fig. II.19). Cela peut provenir :

(i) de la présence d'eau dans le milieu de réaction qui selon Monties [1969(b)] produit sur les complexes un effet équivalent, mais moins prononcé, à celui engendré par l'addition d'HCl.

(ii) du pH de la solution qui est trop acide pour que la réaction de complexation ait lieu.

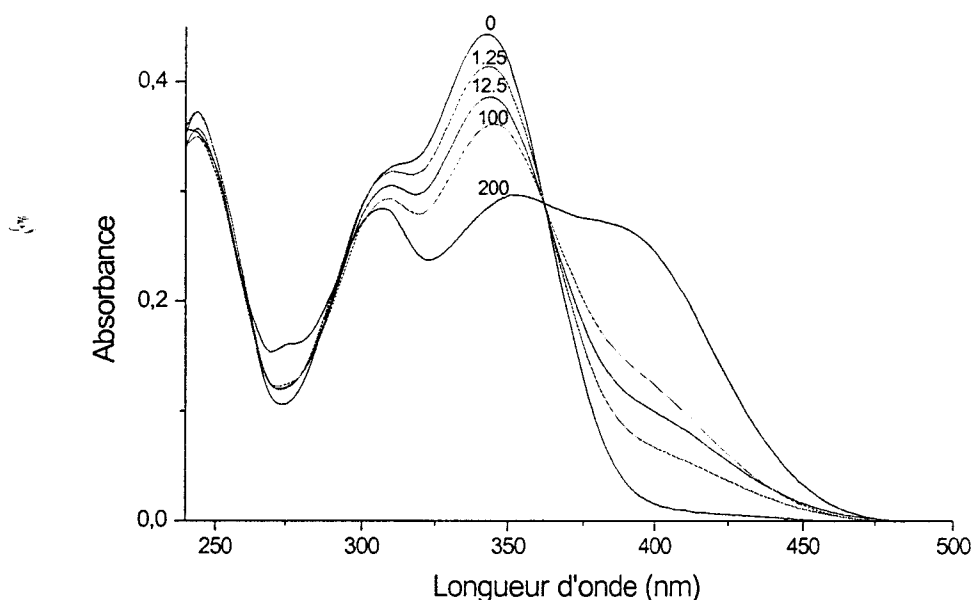


Fig. II.19 : Complexation de la 3'4'diHF dans la solution méthanol (90%) – eau (10%) en présence du mélange acide acétique – acétate de sodium.

### II.5.2.c – Conclusion sur la complexation en milieu acide.

Comme l'avait annoncé la bibliographie, la molécule de 3'4'diHF ne se complexe pas ou peu avec l'aluminium(III) en milieu acide et la présence d'HCl dans le milieu de réaction rétrograde l'équilibre de complexation. Dans un milieu faiblement acide, la complexation de la molécule est difficile et incomplète, même si l'on tient compte de la présence d'eau qui nécessite la présence d'une quantité plus importante d'aluminium(III).

## II.6 – Conclusion.

L'étude de la complexation de la 3'4'diHF nous a permis de mieux connaître les interactions entre le groupement ortho-dihydroxyle des flavonoïdes et l'aluminium(III). Ce phénomène de complexation est particulièrement sensible au milieu dans lequel la réaction est étudiée. Dans le méthanol pur, la 3'4'diHF forme avec l'aluminium(III) un complexe de type  $Al(3'4'diHF)$ .

Dans des milieux plus basiques, le groupement ortho-dihydroxyle a un fort pouvoir chélateur puisque, malgré la présence d'entité  $AcO^-$  et  $MeO^-$  complexantes de l'aluminium(III), la molécule se complexe très facilement et forme des chélates de stœchiométrie élevée  $Al(3'4'diHF)_2$  et  $Al(3'4'diHF)_3$ . Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Dubey et Mehrotra [1964] qui ont montré que dans l'eau, le pyrocatechol (P) formait avec l'aluminium(III) les espèces  $AlP$ ,  $AlP_2$  et  $AlP_3$  selon le pH de la solution. De même, l'acide protocatechique et le pyrocatechol sont connus pour former une série semblable de complexes avec le fer [Sommer, 1962].

Comme le mentionne la bibliographie, l'ajout de HCl à une solution de 3'4'diHF complexée détruit les complexes formés et réciproquement la molécule ne se complexe pas avec l'aluminium(III) lorsque HCl est présent dans le milieu de réaction. En milieu acide et en présence d'eau, le groupement ortho-dihydroxyle a un pouvoir complexant très faible. Cela ne semble pas spécifique à la chélation avec l'aluminium(III) : Harper [1969(a)] et Detty [1955] montrent que la 3'4'diHF ne se complexe pas avec le cuivre(II) en solutions acides et que le groupement ortho-dihydroxyle forme des complexes stables avec celui-ci uniquement lorsque le pH de la solution est élevé.

L'analyse conformationnelle de la 3'4'diHF et des complexes  $Al(3'4'diHF)$  et  $Al(3'4'diHF)_2$  a montré que la géométrie de la molécule est peu perturbée par la complexation. Bien que la chélation s'effectue avec ionisation des deux hydroxyles, la molécule complexée ne conserve pas la structure quinonique générée par cette double déprotonation contrairement aux anthocyanes. La complexation de la molécule provoque essentiellement une diminution de la valeur de l'angle  $\theta$ . Cet angle présente la valeur la plus petite pour un complexe de stœchiométrie 1 : 1 et est légèrement plus important pour le complexe  $Al(3'4'diHF)_2$ .

### Chapitre III : Complexation de la 3-hydroxyflavone avec l'aluminium(III).

#### III.1 - Introduction.

En 1966, Bayer remarque que la formation de chélates entre les anthocyanes et l'aluminium ou le fer est inhibée par la présence de quercitrine et que les ions métalliques déjà complexés avec les anthocyanes sont déplacés par la présence de cette molécule. Cette plus forte tendance des flavonols à complexer les métaux par rapport aux anthocyanes est attribuée à la présence du groupement hydroxycétone [Bayer, 1966]. Ainsi, la 3-hydroxyflavone (3HF) est capable de se complexer avec de nombreux ions métalliques par le biais de son groupement 3-hydroxy-4-carbonyl (Fig. III.1).

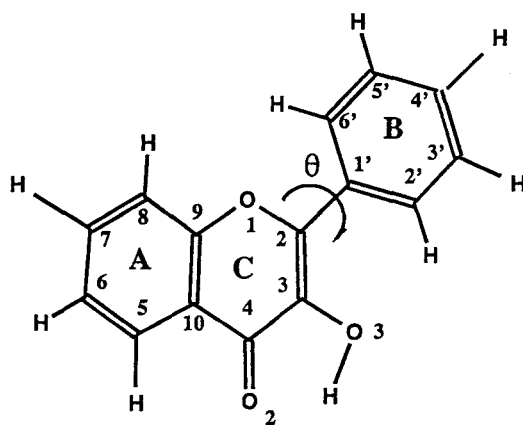


Fig. III.1 : Molécule de 3HF et numérotation utilisée dans le texte.

Utilisant l'éthanol comme solvant, Jurd et Geissman [1956] montrent que l'addition d' $\text{AlCl}_3$  à une solution de 3HF provoque sur le spectre d'absorption UV-visible du composé un déplacement bathochrome de 60 nm de la bande I. Un déplacement d'une si large amplitude est alors considéré comme caractéristique de la complexation au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyl. La chélation entre l'aluminium(III) et la 3HF est rapide et s'effectue avec ionisation de l'hydroxyle en position 3. La molécule complexée adopte une structure flavylium fortement stabilisée par son caractère quasi aromatique (Fig. III.2) [Jurd, 1956].



Le complexe formé entre la 3HF et l'aluminium(III) est très stable et n'est pas détruit en présence d'HCl  $6.10^{-2}$  M [Jurd, 1956]. Hörhammer et Hansel [1952(b), 1953] ont notamment utilisé la stabilité de ces complexes en milieu acide pour différencier les flavones hydroxylés des flavones glycosylés en position 3.

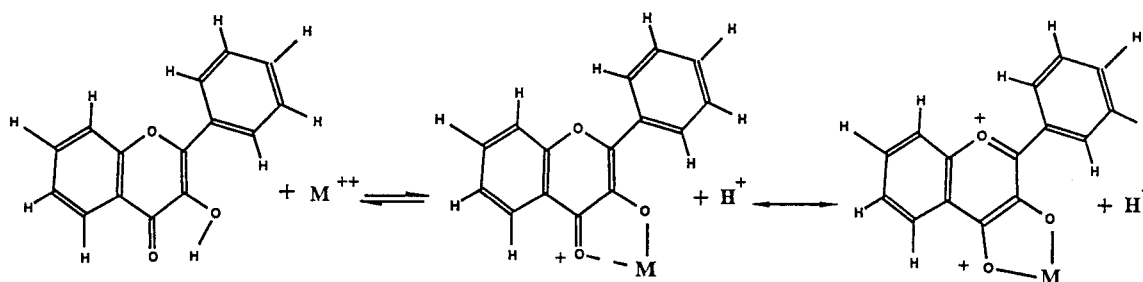


Fig. III.2 : Mécanisme de complexation de la 3HF avec un ion métallique divalent ( $M^{2+}$ ) proposé par Jurd et Geissman [1956].

### III.2 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 3HF dans le méthanol.

#### III.2.1 – Méthode des rapports molaires.

La complexation de la 3HF se traduit sur son spectre d'absorption par une diminution de l'absorbance de la bande I à 344 nm relative à la molécule libre et l'apparition d'une nouvelle bande large située à 402 nm dont l'absorbance augmente avec la quantité d'aluminium(III) présente dans la solution (Fig. III.3). La famille de spectres obtenue pour différents rapports de concentration  $[AlCl_3] / [3HF]$  présente un point isobestique à 364 nm indiquant la formation d'un unique complexe. La molécule se complexe rapidement, pour un rapport  $[AlCl_3] / [3HF] = 0,03$  la bande à 402 nm est nettement visible et celle-ci n'évolue plus à partir d'un rapport égal à 1, la réaction de complexation étant totale. Afin de connaître la stœchiométrie du complexe formé, les courbes de variation de l'absorbance en fonction du rapport molaire aux maxima d'absorption de la flavone libre (344 nm) et de la molécule complexée (402 nm) sont tracées (Fig. III.4).

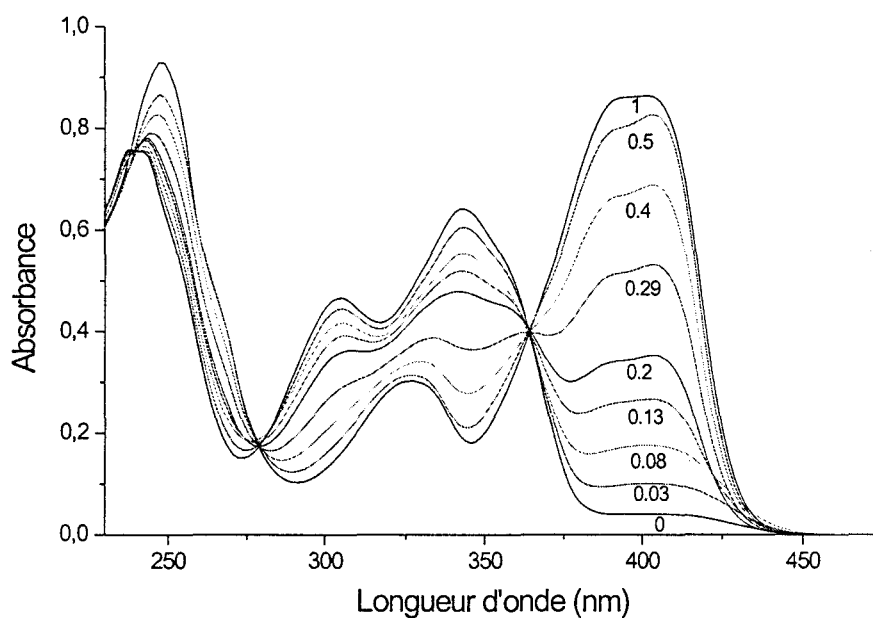


Fig. III.3 : Spectres d'absorption UV-visible de la 3HF  $4.10^{-5}$  M dans le méthanol en présence d' $AlCl_3$  pour différents rapports molaires  $[AlCl_3] / [3HF]$ .

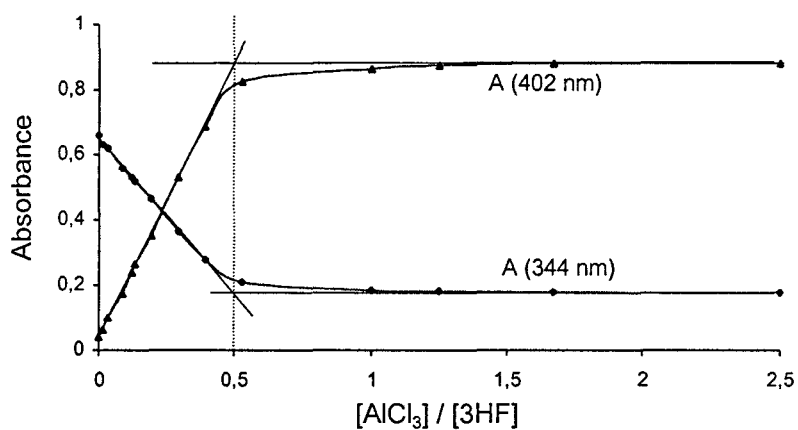


Fig. III.4 : Courbes de rapports molaires tracées aux maxima d'absorption de la 3HF libre (344 nm) et de la 3HF complexée avec  $AlCl_3$  dans le méthanol (402 nm).

Pour les deux courbes, la tangente à l'origine et la droite correspondant aux valeurs constantes de l'absorbance se coupent au niveau du rapport  $[AlCl_3] / [3HF] = 0,5$ . Le complexe formé est donc constitué de deux molécules de 3HF coordonnées à un  $Al(III)$ .

III.2.2 – Méthode des variations continues.

Les mélanges de la gamme des variations continues sont préparés à partir de solutions équimolaires  $5.10^{-5}$  M de 3HF et de  $AlCl_3$  dans le méthanol. La figure III.5 représente les spectres d'absorption de ces différentes solutions. Sur ce réseau de spectres, un point pseudo-isobestique à 368 nm confirme l'unicité du complexe formé.

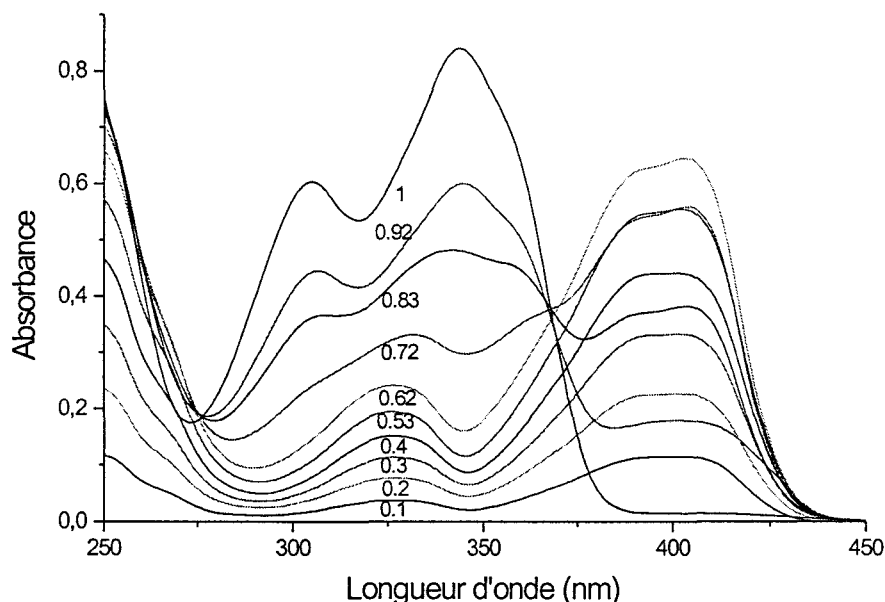


Fig. III.5 : Spectres des différentes solutions de la gamme des variations continues correspondant à la complexation de la 3HF avec  $AlCl_3$  dans le méthanol. La fraction molaire,  $x_{(3HF)}$ , figure sur chacun des spectres.

La courbe de variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe (402 nm) et la courbe de Job (J) indiquent que la stœchiométrie du complexe formé est  $Al(III) : 3HF = 1 : 2$ , il est noté  $Al(3HF)_2$ . La courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique (368 nm) conforte la stœchiométrie obtenue pour le chélate (Fig. III.6).

L'ensemble des résultats confirme les conclusions obtenues par la méthode des rapports molaires, un unique complexe du type  $Al(3HF)_2$  est formé entre la 3HF et l'aluminium(III) dans le méthanol.

Dans le méthanol, Porter et Markham détectent en titrant le flavonol par  $AlCl_3$  un complexe de type  $Al(3HF)_2$  lorsque la concentration en 3HF est de  $6.10^{-4}$  M. Cependant, pour des concentrations en 3HF plus faibles ( $3.10^{-5}$  M), la présence simultanée des espèces

Al(3HF) et Al(3HF)<sub>2</sub> est mise en évidence [Porter, 1969]. Dans notre cas, la concentration en ligand est de  $4 \cdot 10^{-5}$  M et seule l'espèce Al(3HF)<sub>2</sub> est présente en solution. Le point isobestique formé par le réseau de spectres confirme l'unicité de ce complexe.

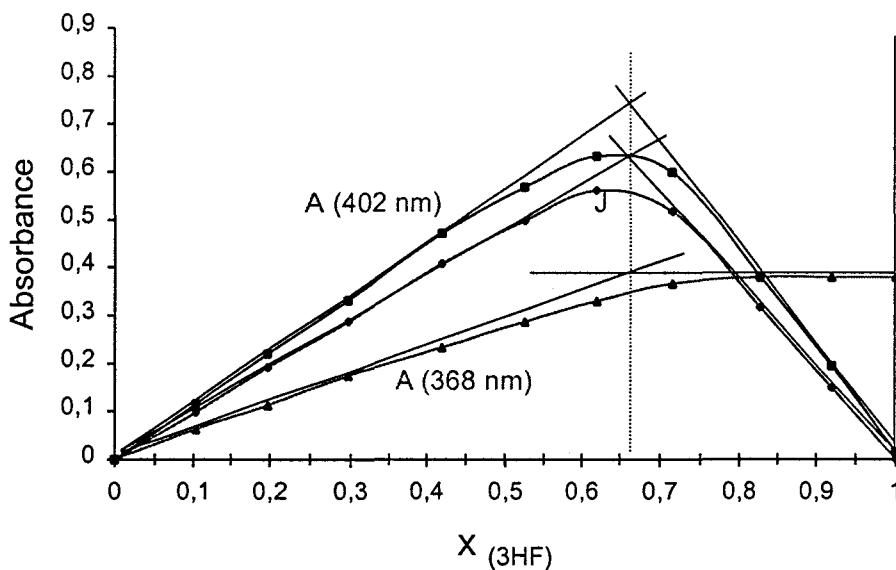


Fig. III.6 : Courbe de variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe formé entre la 3HF et AlCl<sub>3</sub> (402 nm), fonction de Job correspondante (J) et courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique (368 nm) en fonction de la fraction molaire de 3HF.

Dans une solution éthanoïque (70%) en présence d'un tampon de pH = 6,3, la 3HF forme également un complexe de stœchiométrie MoO<sub>4</sub><sup>-</sup> : 3HF = 1 : 2 avec le molybdate [Malesev, 1991]. Par contre, ce ligand forme avec le cuivre un complexe 1 : 1 dans le méthanol pur, une espèce de stœchiométrie plus élevée du type Cu(II) : 3HF = 1 : 2 est obtenue uniquement lorsque de l'acétate de sodium 10<sup>-1</sup> M est présent dans la solution [Takamura, 1978].

### III.3 – Analyse conformationnelle de la 3HF et du complexe Al(3HF)<sub>2</sub>.

Les résultats de la minimalisation d'énergie par la méthode AM1 indiquent que la 3HF à l'état isolé, adopte une conformation gauche avec un angle  $\theta$  de 27,9° ou de 152,1° (180- $\theta$ ). La structure de la molécule est stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire qui s'établit entre O2 de la fonction carbonyle et l'hydroxyle en position 3 (O2---H-O3 = 2,24 Å).

Cette liaison hydrogène permet la formation d'un cycle à cinq atomes qui n'est pas coplanaire au cycle C de la molécule ( $C2-C3-O3-H = 173,25^\circ$ ). Le déplacement du proton en position 3 par coordination avec l'aluminium(III) entraîne la rupture de cette liaison hydrogène intramoléculaire.

La minimalisation d'énergie du chélate  $Al(3HF)_2$ , formé entre la 3HF et  $Al(III)$  (Fig. III.7), conduit à l'obtention de deux molécules de 3HF strictement identiques : elles présentent la même répartition électronique et sont d'un point de vue géométrique totalement semblables.

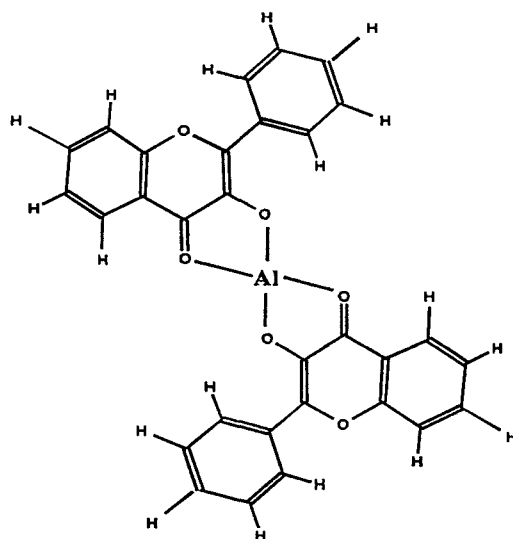


Fig. III.7 : Modèle du complexe  $Al(3HF)_2$  formé dans le méthanol.

La figure III.8 présente la distribution des charges de Mulliken de la 3HF libre et complexée. Le complexe formé possède une charge +1 essentiellement localisée sur l'aluminium(III) (+0,844). Les atomes de la molécule voient leur charge modifiée par la coordination avec  $Al(III)$ . Les atomes du cycle C, notamment les atomes  $O3$  et  $C2$ , sont les plus perturbés. Il s'ensuit une variation de la charge portée par les atomes voisins  $O1$ ,  $C1'$ ,  $C6'$ ,  $C2'$ ,  $C10$ , ainsi que de celle portée par  $C4'$  et  $C7$  dont la position est conjuguée avec la fonction carbonyle, directement impliquée dans la chélation.

La modification de la répartition électronique associée à l'encombrement stérique dû à la présence de  $Al(III)$  et d'une deuxième molécule de 3HF se traduit par des variations structurales importantes (Tables III.1, 2 et 3).



|               | 3HF     | Complexe |
|---------------|---------|----------|
| O1-C2-C1'-C6' | 27,88   | 15,15    |
| C2-C3-C4-O2   | -178,91 | -178,88  |
| C9-O1-C2-C3   | 0,30    | 0,33     |
| C9-O1-C2-C1'  | -179,51 | -179,32  |
| C2-C3-O3-H3   | 173,25  |          |
| O1-C2-C3-O3   | 179,35  | 179,81   |
| C2-C3-O3-Al   |         | 178,42   |
| C10-C4-O2-Al  |         | 179,49   |

Table II.4 : Angles dièdres (°).

La géométrie du cycle C de la molécule est profondément modifiée par la chélation et la molécule adopte la structure pyronium (Fig. III.9(a)) proposée par Jurd et Geissman [1956]. Ceci se traduit par une diminution des longueurs des liaisons C3-C4, C4-C10 et O1-C2 alors que celles des liaisons C2-C3 et C9-C10 augmentent. Les différents angles de liaison du cycle C se rapprochent tous d'une valeur commune de 120° dans Al(3HF)<sub>2</sub>. Néanmoins, si la structure pyronium est celle adoptée par la molécule complexée, les formes mésomères cynamoyle et benzoyle (Fig. III.9(b) et (c)) participent également, bien que plus faiblement, à la géométrie du complexe. En effet, une légère diminution de la longueur de la liaison C2-C1' accompagnée de l'allongement des liaisons C1'-C2' et C1'-C6' ainsi qu'une modification des longueurs de liaison du cycle A sont observées. La contribution relative de ces deux formes limites à la résonance totale du complexe est aisément explicable par la relation de conjugaison qui relie la fonction carbonyle, directement impliquée dans la chélation, et les positions 4' et 7 de la molécule.

L'extension de la conjugaison jusqu'au cycle B de la molécule et l'augmentation de l'angle C2-C3-O3 sont reliées à une rotation importante du cycle B, la valeur de l'angle  $\theta$  diminue de 12° et devient égale à 15,5°. L'encombrement stérique généré par la présence de l'aluminium(III) au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle conduit à un léger basculement de ce cycle dans le plan de la partie chromone (augmentation des angles C3-C2-C1' et C2-C1'-C2'). La rotation et le basculement du cycle B occasionnent de nouvelles interactions électroniques entre O1 et H6' d'une part et entre O3 et H2' d'autre part. Les distances séparant O1 et H6' et, O3 et H2' passent respectivement de 2,41 Å et 2,22 Å dans la 3HF à 2,36 Å et 2,16 Å dans le complexe.

Au niveau du site de complexation, la liaison C4=O2 s'allonge de 0,07 Å et la liaison C3-O3 diminue de 0,02 Å sans que ces deux liaisons deviennent égales. L'augmentation

d'environ  $4^\circ$  de l'angle C2-C3-O3 et la diminution d'une valeur identique de l'angle C3-C4-O2 permettent le rapprochement des atomes O2 et O3 dont la distance passe de 2,76 Å dans la 3HF à 2,61 Å dans le complexe. Alors que le cycle à cinq chaînons formé avec la liaison hydrogène dans la 3HF libre n'est pas plan, le site de complexation forme avec l'aluminium(III) un cycle à cinq atomes parfaitement plan et coplanaire au cycle C de la molécule. L'angle O2-Al-O3 est de  $94^\circ$ , comme l'angle O4'-Al-O3' du complexe Al(3'4'diHF) étudié précédemment. La liaison O2-Al a la même longueur que les liaisons O4'-Al et O3'-Al alors que la liaison O3-Al est un peu plus courte.

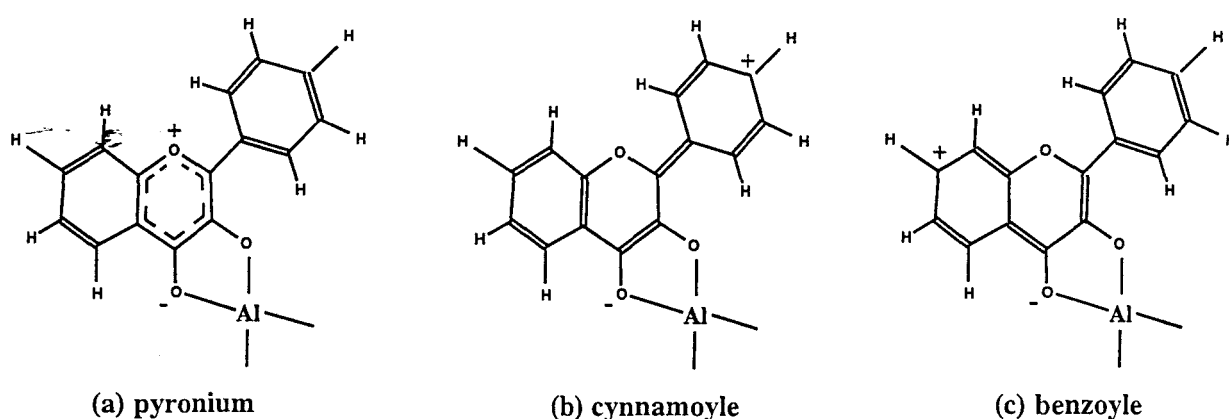


Fig. III.9 : Structure pyronium (a) adoptée par le complexe et formes mésomères limites cynamoyle (b) et benzoyle(c).

Contrairement à la 3'4'diHF, la complexation de la 3HF avec Al(III) engendre d'importantes modifications tant électroniques que structurales de la molécule. Le chélate formé entre la 3HF et Al(III) est très fortement stabilisé par la participation de différentes formes de résonance, la contribution relative de la forme pyronium étant la plus importante.

#### III.4 – Etude spectroscopique de la 3HF libre et complexée dans le méthanol.

Les spectres de diffusion Raman ainsi que les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de la 3HF et du complexe avec  $\text{AlCl}_3$  dans le méthanol sont présentés dans cette partie. Les spectres électroniques théoriques calculés par la méthode semi-empirique AM1 à partir des modèles structuraux des molécule libre et complexée ne reflètent pas de façon satisfaisante les résultats expérimentaux. La bande correspondant à la transition HOMO-LUMO observée à 402 nm



expérimentalement est notamment calculée à 415 nm. La suite de l'étude indique que la position des bandes d'absorption du complexe formé est fortement dépendante du milieu de réaction et les calculs réalisés au niveau de la molécule isolée peuvent difficilement reproduire les interactions soluté – solvant.

#### III.4.1 – La spectroscopie de vibration.

La présence d'agents complexants forts tels qu' $\text{AlCl}_3$  ou  $\text{BF}_3$  provoque généralement un déplacement important ( $\approx 100 \text{ cm}^{-1}$ ) de la bande correspondant à l'élongation de la fonction carbonyle  $\nu(\text{C4=O2})$  alors que la fréquence de vibration du mode  $\nu(\text{C2=C3})$  est nettement moins modifiée ( $\approx 10 - 20 \text{ cm}^{-1}$ ) [José, 1974]. Ainsi José, qui étudie par spectroscopie infrarouge la complexation du flavonol avec  $\text{BF}_3$  à partir des produits dispersés dans le nujol, remarque que les fréquences des vibrations  $\nu(\text{C4=O2})$  et  $\nu(\text{C2=C3})$  passent respectivement de 1605 et 1620  $\text{cm}^{-1}$  pour la molécule libre à 1495 et 1618  $\text{cm}^{-1}$  lorsque la molécule est complexée.

Les spectres Raman de la 3HF libre et complexée avec  $\text{AlCl}_3$  dans le méthanol sont dominés par des bandes intenses situées sur la gamme spectrale 1300 - 1700  $\text{cm}^{-1}$ . Sur la zone 1100 – 1400  $\text{cm}^{-1}$ , la présence de nombreux couplages mécaniques entre les modes de vibration et l'absence de modes spécifiques et caractéristiques des différents cycles de la molécule rendent cette région difficilement exploitable. Sur la figure III.10, les spectres Raman à transformée de Fourier de la 3HF libre (a) et complexée avec  $\text{AlCl}_3$  (b) dans le méthanol sont représentés entre 1350 et 1680  $\text{cm}^{-1}$ . D'importantes modifications de fréquences sont observées entre ces deux spectres indiquant que la chélation provoque des variations structurales. Les larges bandes à 1626  $\text{cm}^{-1}$  (spectre a) et à 1531  $\text{cm}^{-1}$  (spectre b) sont mal résolues, les dérivées secondes des spectres font apparaître deux composantes pour ces bandes respectivement à 1626 et 1614  $\text{cm}^{-1}$  et à 1531 et 1525  $\text{cm}^{-1}$ .

La fréquence de l'élongation de la fonction carbonyle  $\nu(\text{C4=O2})$  se situe à 1646  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre de la 3HF et la bande correspondante apparaît sous la forme d'un épaulement peu intense. La complexation de la 3HF avec  $\text{AlCl}_3$  entraîne une diminution de la longueur de la liaison C3-O3 alors que la longueur de la liaison C4=O2 augmente. Les élongations de ces deux liaisons sont donc susceptibles de se coupler et de donner naissance à :

- (i) un mode de vibration antisymétrique, attribué à 1531  $\text{cm}^{-1}$ .

- (ii) un mode d'élongation symétrique, attribué à une des composantes du massif situé vers 1450-1500  $\text{cm}^{-1}$ .

La bande à 1626  $\text{cm}^{-1}$  du spectre de la molécule libre, associée à la vibration d'élongation  $\nu(\text{C}2=\text{C}3)$ , se déplace légèrement vers les basses fréquences et apparaît à 1620  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre du complexe.

La diminution de la fréquence des modes de vibration  $\nu(\text{C}4=\text{O}2)$  et  $\nu(\text{C}2=\text{C}3)$  reflète bien la diminution du caractère double des liaisons  $\text{C}4=\text{O}2$  et  $\text{C}2=\text{C}3$  due à la structure pyronium adoptée par le chélate.

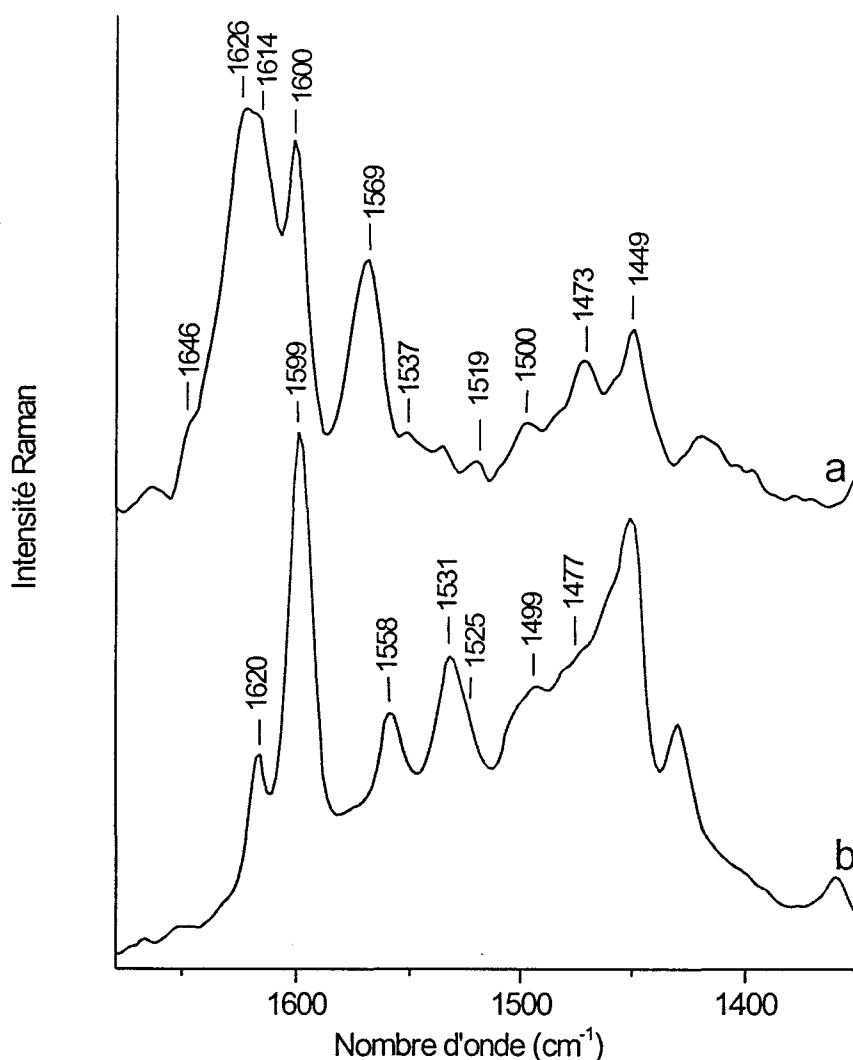


Fig. III.10 : Spectres Raman sur la gamme spectrale 1350-1680  $\text{cm}^{-1}$  de la 3HF ( $10^{-2}$  M) dans le méthanol (a) et de la 3HF complexée avec  $\text{AlCl}_3$  ( $[3\text{HF}] / [\text{AlCl}_3] = 1$ ) (b).

Pour la 3HF, les modes 8a et 8b des cycles A et B sont attendus entre 1570 et 1616  $\text{cm}^{-1}$  [Varsanyi, 1974 ; Steele, 1961] et ils sont attribués aux bandes à 1614, 1600 et 1569  $\text{cm}^{-1}$ . Les fréquences relatives à ces modes de vibration doivent également être perturbées par la chélation. En effet, ils impliquent essentiellement des vibrations  $\nu(\text{C}=\text{C})$  du squelette des cycles. Les modifications des longueurs de liaison dues aux contributions des différentes formes limites dans la structure adoptée par le chélate peuvent entraîner un déplacement en fréquence de ces modes. Ils peuvent également apparaître couplés avec des modes de vibration du cycle intermédiaire dont la géométrie est profondément modifiée par la chélation. Ces modes sont attribués aux bandes présentes à 1599, 1558 et 1525  $\text{cm}^{-1}$  du spectre de la 3HF complexée.

Les fréquences de vibration des modes 19a et 19b, attendues pour la 3HF libre dans la gamme spectrale 1500-1450  $\text{cm}^{-1}$  [Varsanyi, 1974 ; Steele, 1961], doivent apparaître dans les larges massifs mal résolus présents sur les deux spectres entre 1500 et 1440  $\text{cm}^{-1}$ .

Même si une attribution complète des spectres est difficilement proposable, les déplacements de fréquences observés dans la gamme des hautes fréquences entre les spectres de la molécule libre et du complexe sont en accord avec les modifications structurales prévues par le modèle.

#### III.4.2 – La spectroscopie RMN $^{13}\text{C}$ et $^1\text{H}$ .

##### III.4.2.a – La spectroscopie RMN $^{13}\text{C}$ .

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de la molécule libre et du complexe ont été enregistrés sur la gamme spectrale 0 – 200 ppm et 17000 accumulations ont été nécessaires (Fig. II.11). L'attribution du spectre de la 3HF a été effectuée en utilisant les données bibliographiques [Agrawal, 1989]. Couramment, les spectres RMN des flavonoïdes sont enregistrés dans le DMSO- $\text{d}_6$  qui se révèle le solvant le mieux adapté à l'étude de ces composés. Cependant, la trop faible solubilité du chlorure d'aluminium dans le DMSO- $\text{d}_6$  rend la réaction de complexation impossible et les spectres des molécules libre et complexée ont été enregistrés à partir de solution dans le méthanol- $\text{d}_4$ . La comparaison des signaux des différents carbones de la 3HF obtenus dans le DMSO- $\text{d}_6$  et dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  fait apparaître une légère variation des déplacements chimiques entre ces deux solvants ( $\leq 2,5$  ppm). De légères interactions entre le

solvant et la molécule sont donc présentes. On note que tous les carbones résonnent à des champs plus faibles dans CD<sub>3</sub>OD.

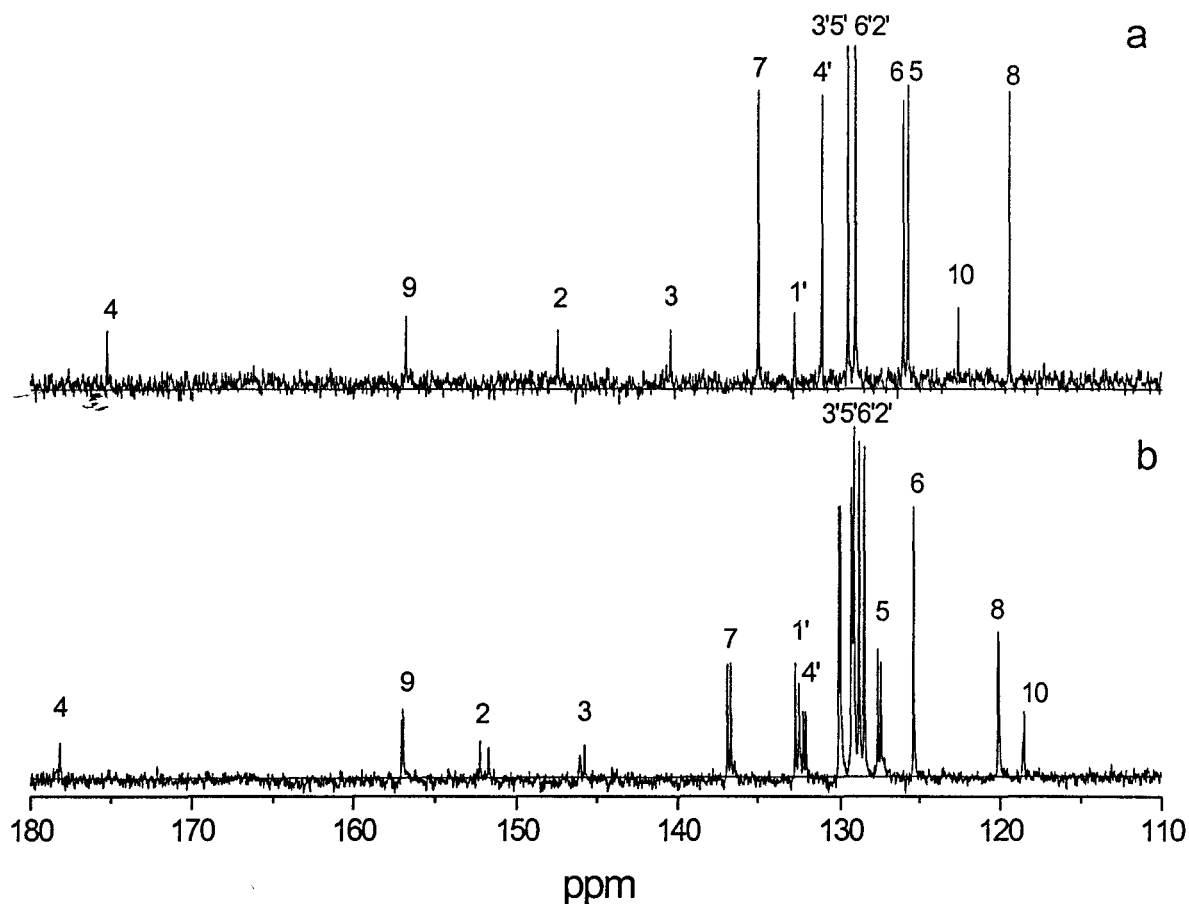


Fig. III.11 : Spectres RMN <sup>13</sup>C et attribution de la 3HF libre (a) et complexée avec AlCl<sub>3</sub> (b) enregistrés dans CD<sub>3</sub>OD sur la zone spectrale 110 - 180 ppm (17000 accumulations).

L'analyse du spectre de la molécule complexée (Fig. III.11b) confirme que la stœchiométrie adoptée par le chélate est du type Al : 3HF = 1 : 2. En effet, chacun des signaux se compose de deux pics très proches. En considérant Al(III) hexacoordonné, les deux molécules de 3HF peuvent se lier différemment avec celui-ci et cinq configurations possibles sont envisageables (Fig. III.12).

Dans les configurations I et II, les deux molécules de 3HF ont le même environnement chimique et un même carbone sur chacune des deux molécules donne un signal unique. La présence simultanée des formes I et II peut alors expliquer la présence de double pic. Dans les

configurations III, IV et V, l'environnement chimique des deux molécules de 3HF est différent et la présence d'une seule de ces formes conduit au dédoublement des signaux. Néanmoins, quel que soit le nombre de configurations présentes, l'observation de deux pics pour chacun des signaux confirme la présence d'un complexe  $Al(III) : 3HF = 1 : 2$ .

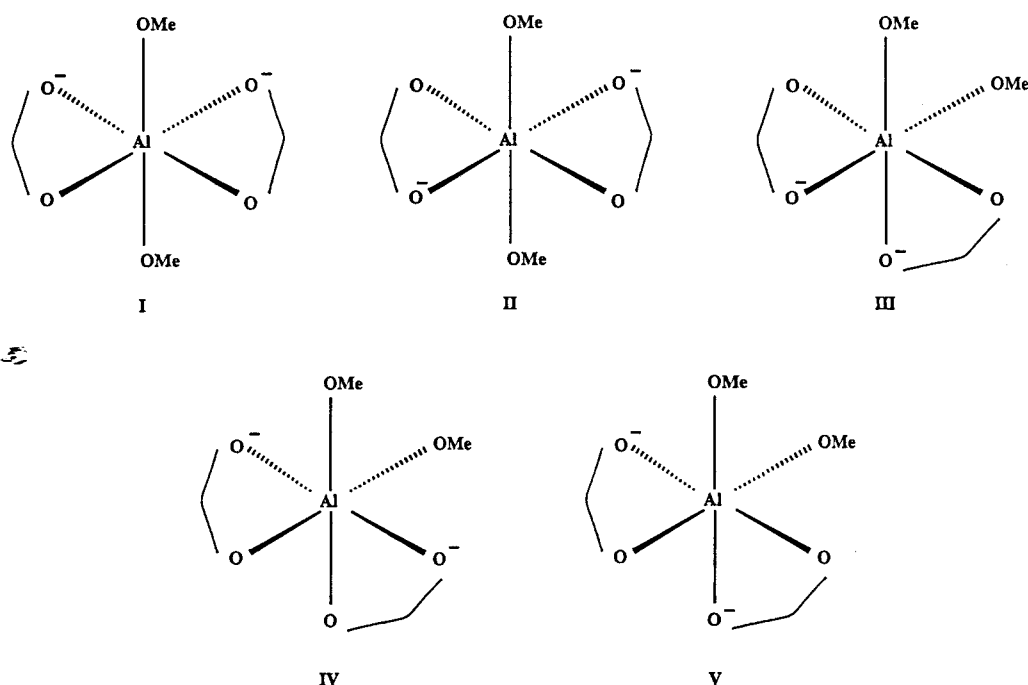


Fig. III.12 : Configurations possibles pour le complexe formé entre  $Al(III)$  et deux molécules de 3HF.

Même si la complexation affecte l'ensemble du spectre de la molécule libre, elle se traduit essentiellement par le déblindage des carbones C4, C2, C3 de 3,1 ; 4,9 et 5,2 ppm respectivement. La diminution du caractère double des liaisons  $C4=O2$  et  $C2=C3$  due à la structure pyronium adoptée par le complexe provoque un déficit en électrons des atomes C4, C3 et C2 qui résonnent alors à des champs plus faibles. La comparaison de la répartition électronique de la molécule libre et de la molécule complexée présentée sur la figure III.8 confirme ces observations. C10 observé à 126 ppm sur le spectre de la 3HF se blinde et est attribué à 118,5 ppm sur le spectre du chélate. Ceci rejoint également les conclusions de l'analyse structurale qui indique une diminution de 0,04 Å de la longueur de la liaison C4-C10 dans la structure pyronium.

La contribution des formes mésomères limites cynamoyle et benzoyle à la géométrie du complexe conduit à une diminution de la charge portée par les atomes C4' et C7 dont la position est conjuguée avec le groupement carbonyle. Par conséquent, ces carbones sont

déblindés de 1,1 et 1,8 ppm. Sur le spectre de la 3HF libre, les signaux observés à 129,5 ppm et à 129,1 ppm sont attribués respectivement aux carbones magnétiquement équivalents C5', C3' d'une part et C2', C6' d'autre part. Sur le spectre de la molécule complexée, ces signaux se dédoublent, indiquant que ces carbones n'ont plus le même environnement chimique. Les nouvelles interactions intramoléculaires observées entre le cycle B et les atomes O1 et O3, dues notamment à la rotation et au basculement du cycle B dans le plan de la partie chromone peuvent expliquer que les carbones C1', C6' ne sont désormais plus équivalents et qu'ils résonnent à des valeurs de champ différentes.

L'ensemble de ces considérations permet de valider la stœchiométrie ainsi que les modèles structuraux obtenus pour la 3HF et son complexe par modélisation moléculaire. Une corrélation entre charges calculées et déplacements chimiques observés a été tentée (résultats non présentés). L'accord est peu satisfaisant, notamment pour les carbones situés au niveau du site de complexation. La coordination de l'ion  $Al^{3+}$  ainsi que l'influence du solvant sur la répartition électronique du complexe pourraient expliquer ce phénomène.

#### III.4.2.b – La spectroscopie RMN $^1H$ .

Pour attribuer le spectre RMN  $^1H$  de la 3HF, les données issues de la littérature sont utilisées [Grouiller, 1966 ; Gaydou, 1978]. Les protons étant les atomes périphériques des molécules, on peut s'attendre à ce que leurs déplacements chimiques soient plus perturbés par le milieu environnant que ceux des carbones. La comparaison des spectres RMN  $^1H$  de la 3HF enregistrés dans le méthanol- $d_4$  et dans le DMSO- $d_6$  indique que les déplacements chimiques des protons de la molécule sont légèrement différents ( $\leq 0,07$  ppm) :

- (i) les atomes les plus perturbés par le changement de solvant sont ceux qui résonnent aux champs les plus faibles et ils sont davantage déblindés dans  $CD_3OD$  (H2', H6', H5).
- (ii) les signaux des hydrogènes en position 7 et 8 ne sont pas affectés.
- (iii) les hydrogènes qui résonnent à des champs plus forts (H3', H4', H5') ont des déplacements chimiques plus faibles dans  $CD_3OD$ .

La comparaison des spectres de la 3HF libre et complexée (Fig. III.13) mène aux observations suivantes :

- (i) Le signal apparaissant à 7,32 ppm est attribué à une impureté puisqu'il apparaît sous la forme d'un singulet et que l'ensemble des protons de la molécule sont couplés.

(ii) Comme dans le cas du spectre RMN  $^{13}\text{C}$ , tous les signaux du spectre de la molécule complexée sont constitués de deux composantes, ce qui indique qu'un mélange de deux configurations avec des molécules de même environnement ou qu'une configuration présentant deux molécules de 3HF dans un environnement chimique différent sont présentes.

(iii) Tous les hydrogènes de la molécule complexée résonnent à des champs plus faibles que ceux de la molécule libre, ce qui signifie que tous les protons du chélate sont moins riches en électrons. Cette constatation rejoint les résultats obtenus par le calcul AM1 des charges électroniques (Fig. III.8).

(iv) Les protons H2' et H6' voient leurs déplacements chimiques profondément perturbés par la complexation (+0,38 ppm) et ne sont plus magnétiquement équivalents. La présence dans le chélate d'interactions entre ces hydrogènes et les oxygènes O1 et O3 peuvent expliquer cette observation.

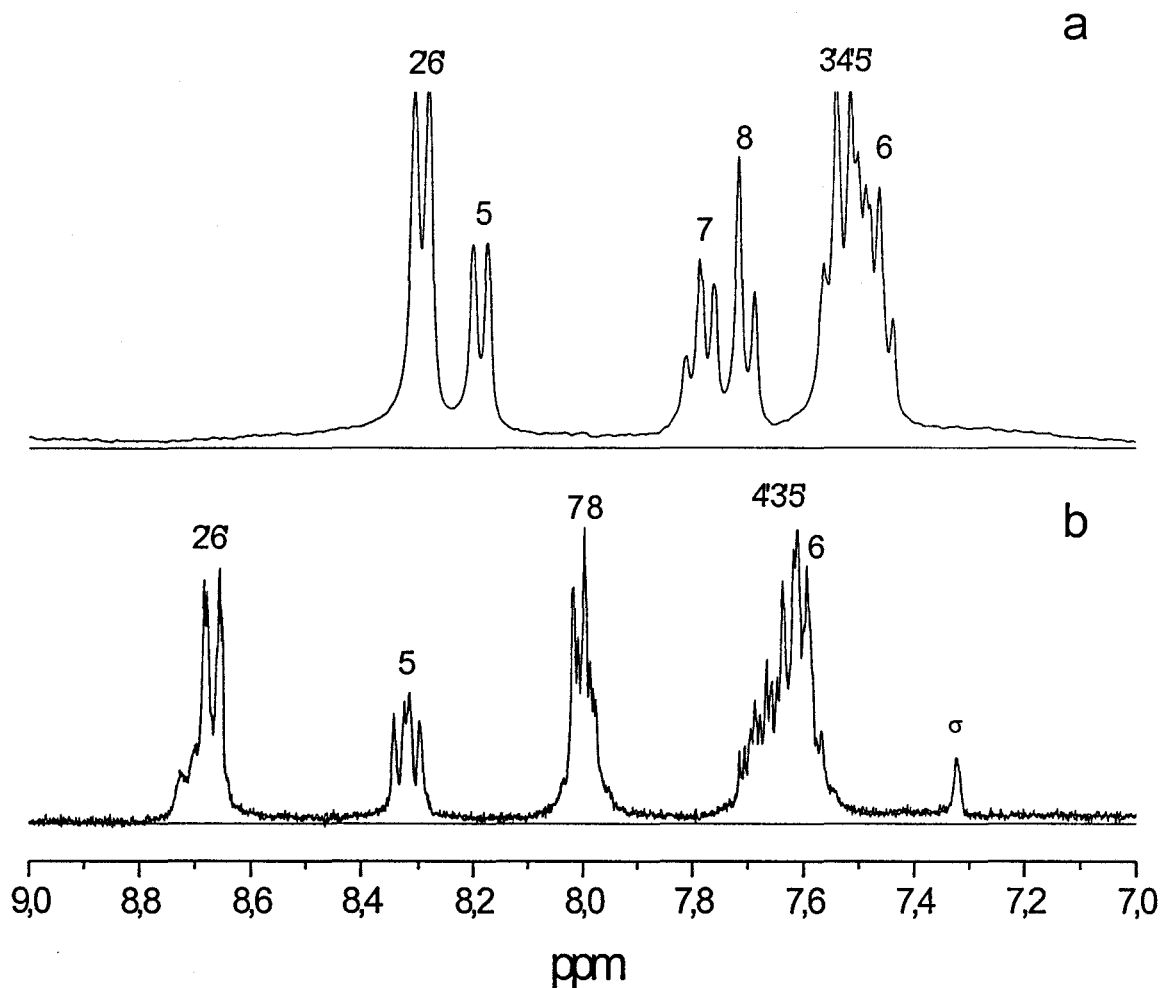


Fig. III.13 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  et attribution de la 3HF libre (a) et complexée avec  $\text{AlCl}_3$  (b) enregistrés dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  sur la zone spectrale 7 – 9 ppm (60 accumulations).

Les signaux des hydrogènes en position 7, 8 et 6 se déplacent sensiblement ( $\approx +0,2$  ppm). Le déblindage du proton en position 7 peut s'expliquer par la contribution de la forme benzoylé à la géométrie du complexe. Même s'il est difficile d'attribuer les différents signaux présents dans le large massif situé vers 7,6 et 7,7 ppm, du fait de la contribution de la forme limite cynamoylé à la résonance du chélate, il paraît vraisemblable que le proton en position 4' soit le plus déblindé.

Les informations obtenues à partir de la comparaison des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  et  $^1\text{H}$  de la 3HF libre et complexée rejoignent les conclusions issues de l'analyse conformationnelle par modélisation moléculaire. Le modèle structural théorique obtenu pour la molécule complexée peut donc être considéré comme une bonne approche de la géométrie adoptée par le complexe à l'état isolé.

### III.5 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation dans différents milieux.

#### III.5.1 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en milieu acide.

Le complexe formé entre la 3HF et l'aluminium(III) est reconnu pour être très stable en milieu acide. La mise en évidence d'un groupement hydroxyle en position 3 est généralement effectuée en ajoutant HCl à la solution contenant la molécule complexée.

##### III.5.1.a – Complexation en présence d'HCl.

De manière à conserver un pH constant, quelle que soit la quantité d' $\text{AlCl}_3$  ajoutée à la solution de 3HF lors de la réaction de complexation, les solutions d' $\text{AlCl}_3$  de concentrations variables ainsi que la solution de 3HF sont préparées dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%). La solution aqueuse est constituée d'HCl  $3,2 \cdot 10^{-2}$  M et le pH apparent du mélange est égal à 2,5. La mesure du pH dans chacun des mélanges successifs indique que celui-ci varie de 2,56 à 2,43. Comme dans le méthanol pur, l'ajout d'une quantité croissante d' $\text{AlCl}_3$  à la solution de 3HF provoque une diminution de l'absorbance de la bande à 344 nm relative à la molécule libre et une nouvelle bande large et intense apparaît à 404 nm. Le réseau de spectres présente un point isobestique à 366 nm indiquant la formation d'un seul complexe en équilibre avec la molécule libre (Fig. III.14).



Du fait de la présence d'eau dans le milieu, les réactions de complexation et d'hydratation sont en compétition. Une quantité beaucoup plus importante d' $\text{AlCl}_3$  est requise pour complexer l'ensemble des molécules de 3HF.

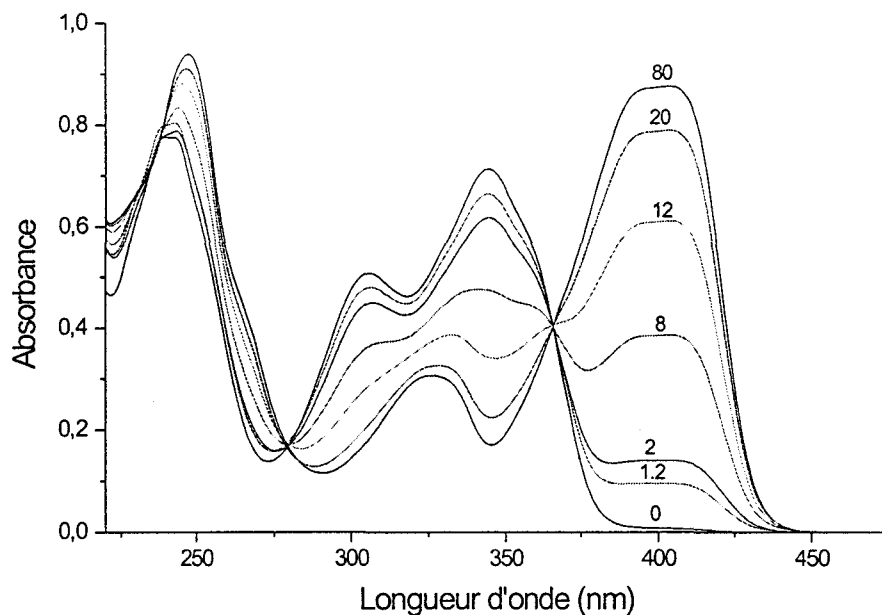


Fig. III.14 : Complexation de la 3HF ( $4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ) avec  $\text{AlCl}_3$  dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d' $\text{HCl}$  pour différents rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3\text{HF}]$ .

D'après la courbe de variation de l'absorbance à 404 nm, la réaction de complexation est complète lorsque la concentration en  $\text{AlCl}_3$  est au minimum vingt fois supérieure à celle du flavonol (Fig. III.15a). Le point isobestique à 366 nm indiquant la présence d'un seul complexe, il est possible de déterminer la stœchiométrie de l'espèce formée en observant cette courbe pour des rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3\text{HF}]$  plus faibles (Fig. III.15b). Le changement de pente observé sur la courbe pour un rapport  $[\text{AlCl}_3] / [3\text{HF}] = 2$  indique que le complexe formé à une stœchiométrie  $\text{Al(III)} : 3\text{HF} = 2 : 1$ , il est noté  $\text{Al}_2(3\text{HF})$ .

Urbach et Timmick [1968] ont étudié par fluorescence la complexation de la 3HF avec l'aluminium(III) dans l'éthanol absolu. Ils ont détecté un complexe de stœchiométrie  $\text{Al(III)} : 3\text{HF} = 2 : 1$ . Le modèle proposé pour ce chélate est une espèce pont solvaté similaire à celle suggérée par Ohnesorge [1962] pour les complexes formés entre la 8-hydroxyquinoline et l'aluminium(III) dans l'éthanol. Il paraît vraisemblable que cette structure soit également celle adoptée par le chélate de la 3HF (Fig. III.16).

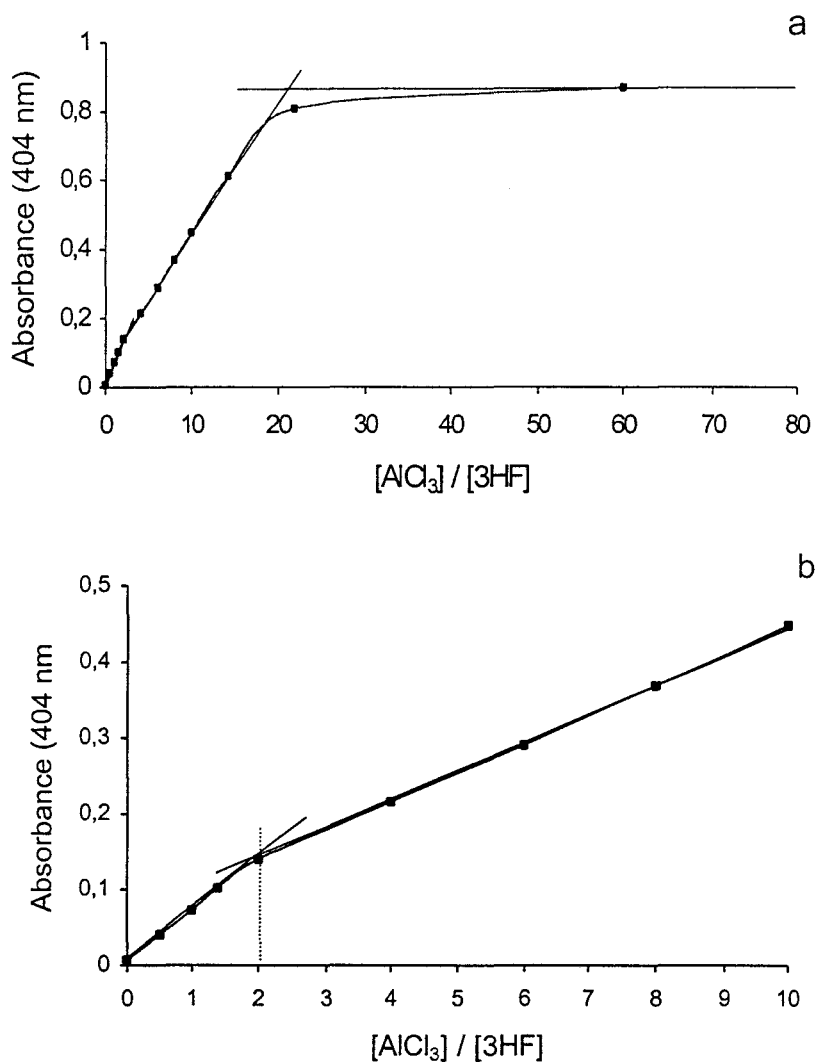


Fig. III.15 : Courbe de rapports molaires pour la complexation de la 3HF dans un mélange méthanol – eau en présence d'HCl pour des rapports  $[AlCl_3] / [3HF]$  compris entre 0 et 80 (a) et entre 0 et 10 (b).

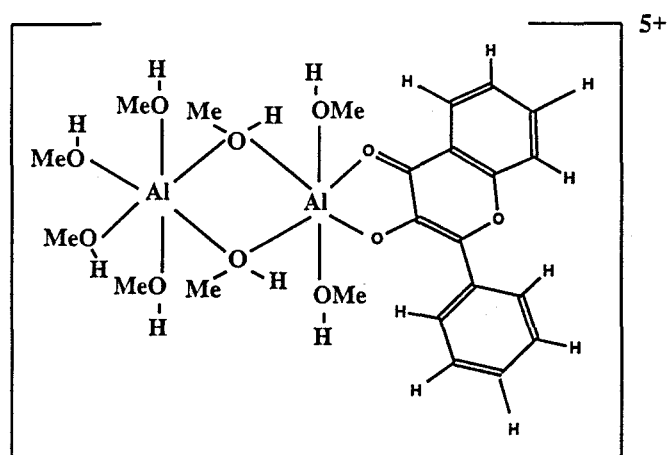


Fig. III.16 : Modèle du complexe formé entre la 3HF et Al(III) en milieu acide.

Les spectres d'absorption UV-visible obtenus pour la molécule complexée dans le méthanol pur d'une part et dans le mélange méthanol - eau de pH apparent égal à 2,5 d'autre part sont très proches. Néanmoins, la bande I située à 402 nm dans l'alcool apparaît dans le mélange acide à 404 nm (Fig. III.17). Réciproquement, l'ajout d'HCl  $5.10^{-3}$  M à une solution méthanoïque de 3HF complexée avec  $AlCl_3$  provoque sur le spectre d'absorption du chélate un léger déplacement bathochrome de la bande I et génère le spectre de la 3HF complexée en milieu acide.

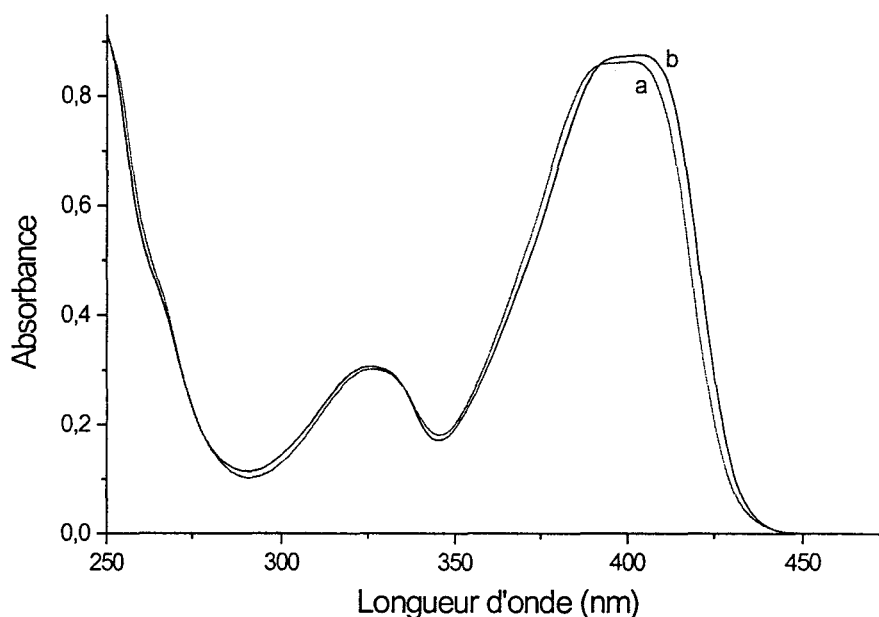


Fig. III.17 : Spectres d'absorption de la 3HF complexée avec l'aluminium(III) dans le méthanol pur (a) et dans le mélange méthanol (90%) - eau (10%) en présence d'HCl (b).

Ainsi, l'addition d'acide à une solution de 3HF complexée sous la forme  $Al(3HF)_2$  ou la formation directe du chélate en présence d'acide conduisent à la même espèce  $Al_2(3HF)$ .

La 3HF forme avec  $Al(III)$  un chélate très stable puisque, contrairement au complexe formé avec la 3'4'diHF, l'ajout d'HCl modifie la stœchiométrie mais ne restitue pas le spectre d'absorption du composé libre en reprotonant la molécule. Il est envisageable que le complexe  $Al(3HF)_2$  présent dans le méthanol soit également une espèce pont solvaté dont la stœchiométrie réelle serait  $Al_2(3HF)_4$ .

### III.5.1.b – Complexation en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium.

La 3HF se complexé très difficilement dans le milieu méthanol - eau de pH initial égal à 6,5 lorsque la solution aqueuse est constituée d'un mélange équimolaire  $10^{-1}$  M d'acide

acétique et d'acétate de sodium. La quantité d'aluminium(III) nécessaire pour former le chélate est très importante puisque la réaction est complète lorsque le rapport  $[AlCl_3] / [3HF]$  est égal à 200. Le pH de la solution pour un rapport de concentrations aussi élevé est alors de 4,7. Le spectre du complexe formé est légèrement différent de celui obtenu précédemment en présence d'HCl : le maximum d'absorption de la bande I se situe à 398 nm et cette bande n'a plus la même forme. La famille de spectres présente un point isobestique indiquant la formation d'une seule espèce (Fig. III.18) dont la stœchiométrie est donnée par la courbe de variation de l'absorbance à 398 nm (Fig. III.19a et b). Cependant, l'enregistrement d'un plus grand nombre de spectres correspondant à de faibles rapports de concentrations  $[AlCl_3] / [3HF]$  est nécessaire (Fig. III.19b). Par souci de clarté, ces spectres n'apparaissent pas sur la figure III.18. La courbe présente un changement de pente au niveau du rapport  $[AlCl_3] / [3HF] = 2$ , le complexe formé est du type  $Al_2(3HF)$ .

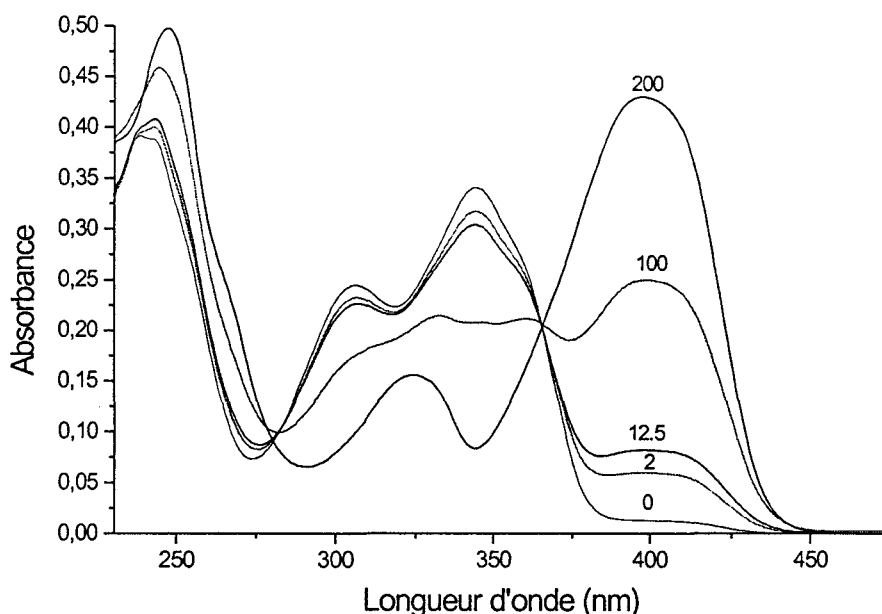


Fig. III.18 : Famille de spectres pour la complexation de la 3HF avec  $AlCl_3$  dans un mélange méthanol – eau en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium pour différents rapports  $[AlCl_3] / [3HF]$ .

Le complexe formé dans le mélange acide acétique – acétate de sodium a donc la même stœchiométrie que celui formé en présence d'HCl. Néanmoins, dans un tel milieu, la quantité d' $AlCl_3$  requise pour former le complexe est encore plus importante. Du fait de la présence d'acétate au sein de la solution, il y a compétition entre le site de complexation et les entités  $AcO^-$  pour se lier à Al(III). Dans ce chélate, l'aluminium(III) doit être ponté par les

espèces  $\text{AcO}^-$  ou  $\text{OH}^-$  présentes en solution. Le type de complexe est alors légèrement différent de celui obtenu précédemment en présence d' $\text{HCl}$ , ceci peut expliquer les variations observées pour la position des bandes d'absorption.

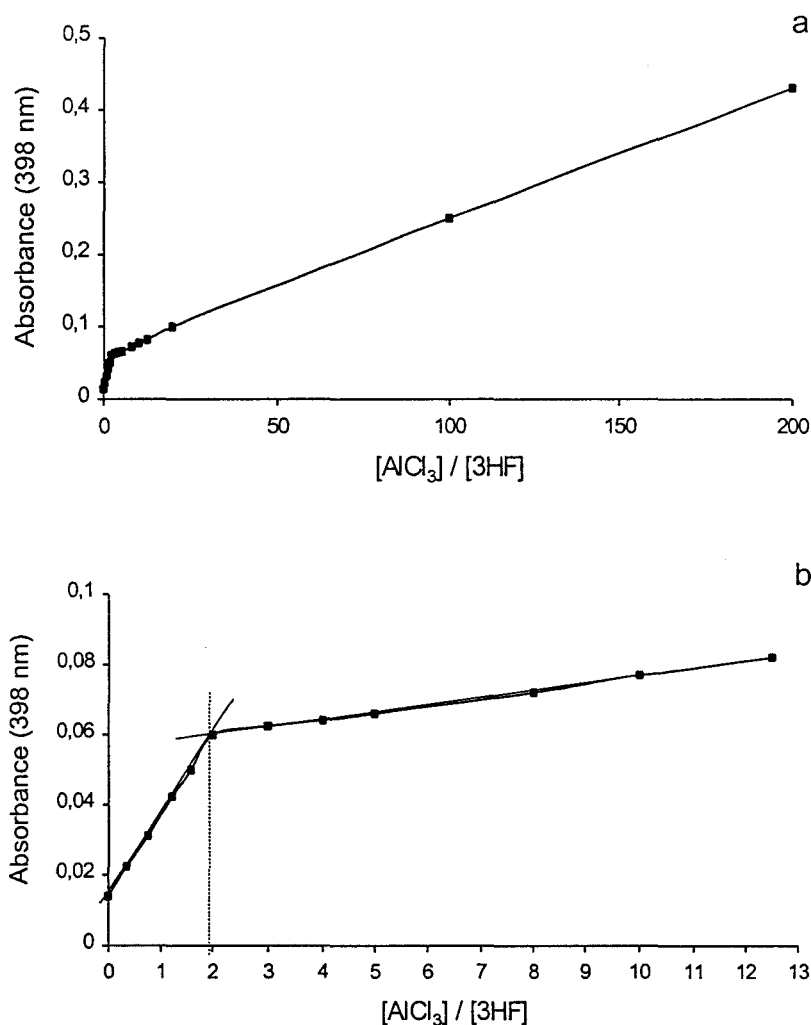


Fig. III.19b : Courbe de variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe formé le mélange méthanol – eau en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium pour des rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3\text{HF}]$  compris entre 0 et 200 (a) et entre 0 et 12,5 (b).

### III.5.1.c – Conclusion sur la complexation en milieu acide.

La 3HF forme un complexe du type  $\text{Al}_2(3\text{HF})$  en milieu acide. C'est un chélate de type pont solvate où l'aluminium(III) est ponté par les entités présentes dans la solution. Dans le mélange méthanol – eau en présence d' $\text{HCl}$ , l'aluminium(III) doit être ponté par des entités

$\text{OH}^-$  ou  $\text{MeO}^-$  présentes dans la solution alors que dans le mélange contenant de l'acétate de sodium, ce sont les entités  $\text{AcO}^-$  qui doivent se lier préférentiellement à l'aluminium(III). Comme le remarquent Urbach et Timmick [1968], la stœchiométrie des espèces formées reflète le caractère binucléaire ou même polynucléaire de l'aluminium(III) en solution alcoolique. D'ailleurs, ces auteurs ont détecté par fluorescence, pour de faibles rapports  $[\text{AlCl}_3] / [3\text{HF}]$ , un complexe du type  $\text{Al(III)} : 3\text{HF} = 6 : 1$ . Celui-ci n'est pas détecté par spectroscopie

UV-visible, peut-être à cause des constantes de complexation des deux complexes qui ne sont pas suffisamment différentes ou à cause de la faible différence dans la position des bandes d'absorption caractéristiques des deux espèces. De plus, la spectroscopie de fluorescence est une technique beaucoup plus sensible que la spectrométrie d'absorption UV-visible.

### III.5.2 – Complexation dans le méthanol en milieu basique.

La présence de base dans le milieu réactionnel devrait aider à neutraliser les protons issus de la réaction de complexation ainsi que ceux provenant de la solvation de l'aluminium(III) avec le méthanol. Ainsi, dans l'acétate ou le méthanoate de sodium, la formation de chélates entre la 3HF et Al(III) devrait être facilitée et l'obtention de complexes de stœchiométrie plus élevée favorisée.

D'après Wolfbeis [1984], le pKa de la fonction hydroxyle en position 3 est de 9,6. Par comparaison avec la 3'4'diHF dont les pKa sont de 9,75 et 8,28 pour les hydrogènes en 4' et 3' respectivement, l'hydrogène en position 3 est moins acide que celui en position 4' mais plus labile que celui en 3'. Il est donc probable que l'hydroxyle en position 3 ne soit que partiellement ionisé dans l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M mais totalement déprotoné dans le méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M.

La figure III.20 représente les spectres d'absorption UV-visible de la 3HF en solution dans le méthanol pur (a), en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M (c).

Le spectre de la 3HF enregistré en présence d'acétate de sodium est proche de celui enregistré pour la molécule dans le méthanol pur. Les maxima sont inchangés et seule la bande large à 404 nm a une absorbance plus élevée. Dans les deux cas les mêmes espèces sont présentes en solutions, le proton en position 3 n'est pas suffisamment acide pour être appréciablement ionisé par l'acétate de sodium. Ces conclusions rejoignent les observations

de Jurd et Geissman [1956] qui remarquent que la présence d'acétate de sodium n'est pas nécessaire pour déprotoner la 3HF et favoriser sa complexation avec Al(III). Par contre le spectre de la 3HF dans le méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M est profondément différent de celui de la molécule dans le méthanol pur, ces modifications peuvent être attribuées à la conversion du flavonol en sa forme anionique. Les bandes relatives à la molécule libre à 344 nm et 305 nm ont totalement disparu et une nouvelle bande large et intense apparaît à 407 nm. Le spectre de la 3HF déprotonée en position 3 présente également une bande à 275 nm avec un épaulement à 310 nm. Les modifications spectrales caractéristiques de l'ionisation d'un hydroxyle en position 3 telles qu'elles sont décrites dans la littérature sont observées [Markham, 1975], à savoir un déplacement bathochrome de 50 à 60 nm de la bande I avec diminution d'intensité sans que la position de la bande II soit affectée.

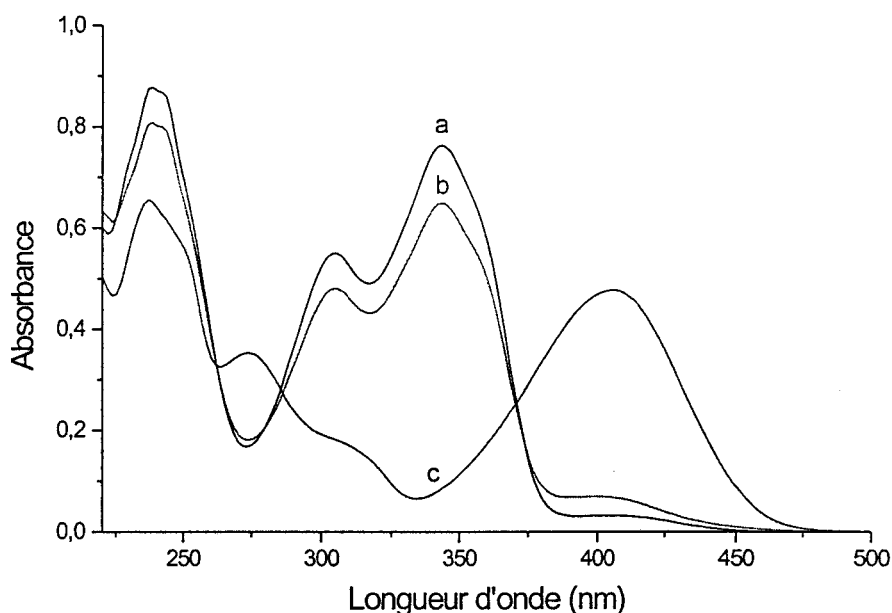


Fig. III.20 : Spectres d'absorption UV-visible de la 3HF dans le méthanol pur (a), en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M (c).

### III.5.2.a – Complexation en présence d'acétate de sodium $10^{-1}$ M.

L'ajout d' $\text{AlCl}_3$  à la solution de 3HF dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M se traduit sur le spectre d'absorption du composé par une diminution d'absorbance de la bande I à 344 nm et la naissance d'une nouvelle bande à 406 nm. La formation d'un unique complexe en équilibre avec les réactifs est mise en évidence par un

point isobestique situé à 367 nm (Fig. III. 21). La courbe de variation de l'absorbance à 406 nm en fonction de  $[AlCl_3] / [3HF]$  (Fig. III.22) présente un changement de pente lorsque ce rapport est égal à 0,5. Comme dans le méthanol, le complexe formé est du type  $Al(3HF)_2$ .

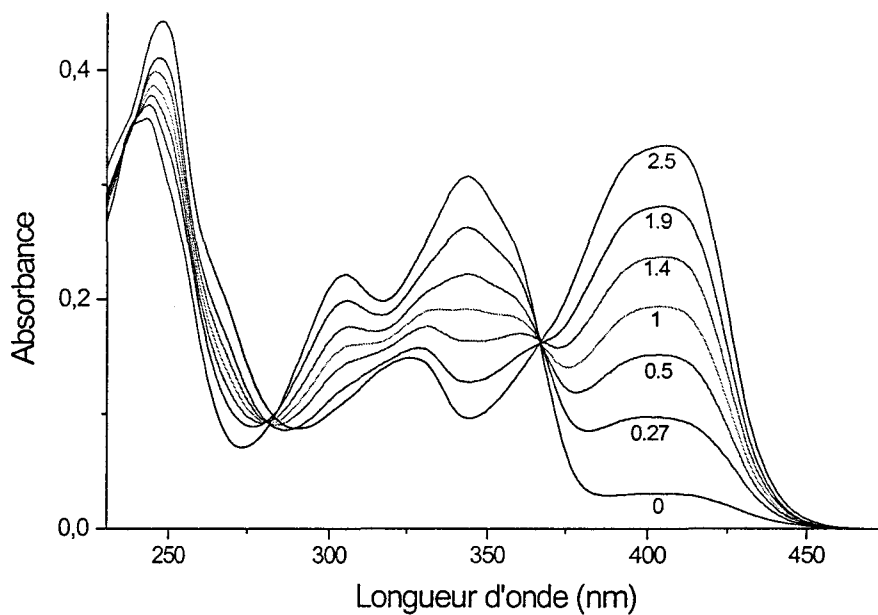


Fig. III.21 : Spectres d'absorption UV-visible relatifs à la complexation de la 3HF avec l'aluminium(III) dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

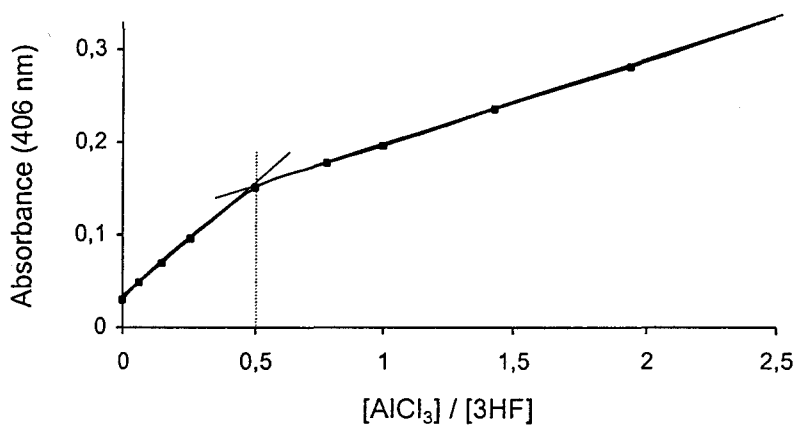


Fig. III.22 : Courbe de rapports molaires tracée pour la complexation de la 3HF avec l'aluminium(III) dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

En comparaison avec le méthanol pur, la 3HF se chélate plus difficilement avec Al(III) en présence d'acétate de sodium. Alors que dans le méthanol pur, toutes les molécules en



solution sont complexées pour un rapport  $[AlCl_3] / [3HF] = 1$ , en présence d'acétate de sodium la réaction de complexation est totale lorsque ce rapport vaut 2,5. Il y a compétition entre le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle et les entités  $AcO^-$  pour se coordonner à l'aluminium(III).

Le complexe formé dans les deux milieux a une composition identique. Néanmoins, en présence d'acétate de sodium, la bande d'absorption I du chélate est moins intense et légèrement décalée vers les grandes longueurs d'onde (située à 402 nm dans le méthanol, elle apparaît à 406 nm en présence d'acétate de sodium) (Fig. III.23).

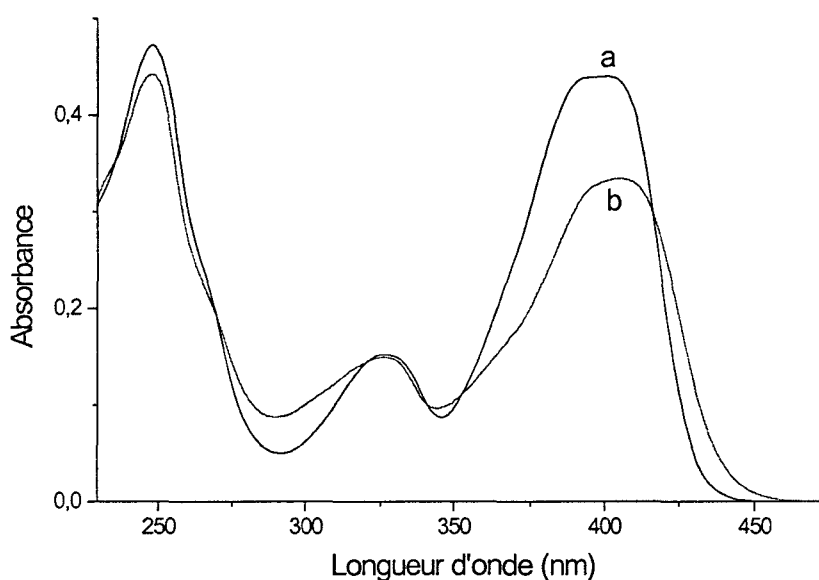


Fig. III.23 : Spectres d'absorption UV-visible du complexe formé entre la 3HF et l'aluminium(III) dans le méthanol pur (a) et en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b).

Comme dans le méthanol, le chélate formé en présence d'acétate de sodium doit être une espèce binucléaire du type  $Al_2(3HF)_4$ , mais l'aluminium(III) est très probablement ponté par des ions  $AcO^-$ , fortement complexants. De tels complexes de l'aluminium(III) sont connus pour se former avec la 8-hydroxyquinoline dans le méthanol [Ohnersorge, 1967] ou dans le DMSO [Scherer, 1968]. Les différences spectrales observées entre le spectre d'absorption du complexe formé dans le méthanol pur d'une part et en présence d'acétate de sodium d'autre part peuvent être attribuées à une modification de la sphère de solvation de l'aluminium(III) entre les deux milieux de réaction.

Selon Porter et Markham [1969], dans l'acétate de potassium, un complexe non fluorescent de composition  $Al_4(3HF)$  est présent en plus de celui du type  $Al(3HF)_2$  détecté dans l'acétate de sodium. Dans notre cas, l'ensemble des spectres, même ceux correspondant à de faibles rapports  $[AlCl_3] / [3HF]$  passent par le point isobestique. La position des bandes d'absorption étant très sensible à la composition du chélate formé, il est peu probable qu'une seconde espèce du type  $Al_4(3HF)$  soit également présente.

#### III.5.2.b – Complexation en présence de méthanoate de sodium $5.10^{-3}$ M.

Dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M, la 3HF se complexa avec Al(III) uniquement en présence d'un large excès d' $AlCl_3$ . Des concentrations si élevées en  $AlCl_3$  ne permettent plus de considérer le milieu de réaction comme basique. Le chélate formé pour un rapport  $[AlCl_3] / [3HF]$  proche de 100 présente un spectre d'absorption UV-visible identique à celui obtenu pour la molécule complexée dans le méthanol pour un rapport égal à 1. Réciproquement, l'ajout de méthanoate de sodium à une solution de 3HF complexée dans le méthanol pur provoque la dissociation du complexe et restitue le spectre d'absorption de la molécule libre. Le site chélateur 3-hydroxy-4-carbonyl rivalise difficilement avec les ions  $MeO^-$  présents en solution et fortement complexants.

#### III.5.2.c – Conclusion sur la complexation en milieu basique.

Contrairement à la 3'4'diHF, la présence d'acétate ou de méthanoate de sodium dans le milieu réactionnel ne favorise pas la complexation de la 3HF. Par rapport au méthanol pur, une quantité plus importante d' $AlCl_3$  est nécessaire pour que la réaction soit totale. Le groupement 3-hydroxy-4-carbonyl est en compétition défavorable avec les entités  $AcO^-$  et surtout  $MeO^-$  fortement complexantes de l'aluminium(III). En milieu basique, ce site a donc un pouvoir chélateur plus faible que le groupement catéchol puisque ce dernier forme des complexes stables et de stœchiométries élevées avec de faibles concentrations en  $AlCl_3$ .

Comme dans le méthanol pur, le complexe formé entre la 3HF et l'aluminium(III) en présence d'acétate et de méthanoate de sodium est une espèce binucléaire du type  $Al_2(3HF)_4$ . Dans le premier cas, Al(III) est vraisemblablement ponté par des ions  $AcO^-$  et la modification de sa sphère de solvatation se traduit sur le spectre d'absorption UV-visible du complexe par un déplacement bathochrome de la bande I. En présence de méthanoate de sodium comme

dans le méthanol pur, Al(III) est ponté par des ions  $\text{MeO}^-$  ou des entités  $\text{MeOH}$  et un complexe identique ou peu différent est présent dans les deux milieux.

En titrant des solutions de flavonol par  $\text{AlCl}_3$  en présence de soude, Porter et Markham [1969] détectent des complexes non fluorescents possédant de faibles coefficients d'extinction molaire. Ils remarquent que plus la quantité de soude augmente au sein de la solution, plus la proportion d'Al(III) présente dans la composition du complexe formé est importante. Ainsi, ils obtiennent successivement des chélates du type  $(3\text{HF})\text{Al}(\text{OH})$ ,  $(3\text{HF})\text{Al}_2(\text{OH})_4$  et  $(3\text{HF})\text{Al}_3(\text{OH})_6$  où Al(III) est ponté par des ions hydroxydes.

### III.6 – Conclusion.

L'étude de la complexation de la 3HF avec  $\text{AlCl}_3$  indique que les interactions entre la molécule et l'aluminium(III) dépendent fortement du milieu réactionnel. En milieu acide, la 3HF forme un chélate du type  $\text{Al}_2(3\text{HF})$ , c'est à dire une espèce pont solvaté où l'aluminium(III) est ponté par des ions ou molécules présentes dans la solution. Dans le méthanol pur ou en milieu basique, la composition du chélate formé est  $\text{Al}(\text{III}) : 3\text{HF} = 1 : 2$ . Néanmoins, le caractère binucléaire voire polynucléaire de l'aluminium(III) en solution alcoolique, mis en évidence par la stœchiométrie inhabituelle obtenue pour le complexe en milieu acide, laisse penser que le chélate formé en milieu neutre ou basique est en fait du type  $\text{Al}_2(3\text{HF})_4$ .

Pour mieux comprendre la réaction de complexation, Urbach et Timmick [1968] ont titré par de la soude des solutions éthanoïques d'aluminium(III) d'une part et de flavonols chélatés avec l'aluminium(III) d'autre part. Ils remarquent que la quantité de base nécessaire pour titrer les chélates est moins importante que celle requise pour titrer Al(III) seul, bien que le flavonol libère un proton lors de la réaction de complexation. Il semble donc que l'interaction flavonol – Al(III) neutralise les protons en solution. Ce phénomène est expliqué par le fait que le flavonol en se complexant déplace deux ions éthoxydes de l'espèce Al(III) solvatée sous la forme  $[\text{Al}(\text{OEt})_5(\text{EtOH})_n]^+$ . En effet, le déplacement d'un ion  $\text{EtO}^-$  et d'une molécule d' $\text{EtOH}$  n'entraînerait pas de changement net sur la courbe de titration et le déplacement de deux molécules d' $\text{EtOH}$  nécessiterait une quantité de base plus importante pour titrer le chélate. Ces auteurs réitèrent la procédure de titration à partir d'un chélate de stœchiométrie  $\text{Al}(\text{III}) : 3\text{HF} = 1 : 1$ . Ils concluent que la coordination avec une seconde

molécule de flavonol s'effectue en déplaçant un ion  $\text{EtO}^-$  et une molécule d' $\text{EtOH}$  à l'espèce  $[\text{Al}(\text{OEt})_3(\text{EtOH})_n(\text{FIO})]^{2+}$  où  $\text{FIO}^-$  est la 3HF complexée.

En présence d'acétate ou de méthanoate de sodium, la complexation de la 3HF est plus difficile que dans le méthanol pur. Le site chélateur est en compétition défavorable avec les entités  $\text{AcO}^-$  et surtout  $\text{MeO}^-$  fortement complexantes d' $\text{Al(III)}$ .

D'un point de vue structural, la chélation engendre d'importantes modifications électroniques et géométriques de la molécule. Le complexe formé est fortement stabilisé par la participation de formes limites de résonance, la contribution relative de la forme pyronium étant largement prédominante. La comparaison des spectres Raman et de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  des molécules libre et complexée conduit aux mêmes conclusions que l'analyse conformationnelle et permet de valider le modèle structural théorique du complexe obtenu par modélisation moléculaire.

## Chapitre IV : Complexation de la 5-hydroxyflavone avec l'aluminium(III).

### IV.1 - Introduction.

Comme la 3HF étudiée précédemment, la 5-hydroxyflavone (5HF) possède le groupement hydroxycétone reconnu comme pouvant être impliqué dans la formation de complexes avec les métaux (Fig. IV.1). Néanmoins, la liaison hydrogène intramoléculaire étant plus forte que dans la 3HF, des propriétés complexantes différentes sont attendues.

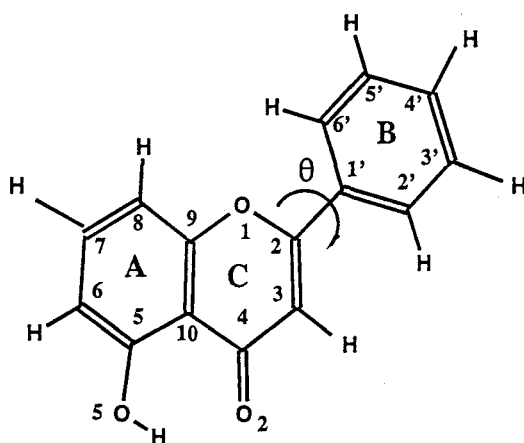


Fig. IV.1 : Molécule de 5HF et numérotation utilisée dans le texte.

En 1956, Jurd et Geissman remarquent que la 5HF forme un complexe avec  $\text{AlCl}_3$  dans l'éthanol (95%). Cependant, par rapport à la 3HF, la complexation est plus difficile et le spectre UV-visible du composé peu modifié. La formation du chélate est incomplète pour un rapport  $[\text{AlCl}_3] / [5\text{HF}] = 1 / 10$  mais lorsque ce rapport vaut  $1 / 132$ , une nouvelle bande d'absorption à 293 nm remplace celle de la flavone libre à 272,5 nm et un nouveau maximum de faible absorbance apparaît à 400 nm [Jurd, 1956]. Ces auteurs constatent que l'ajout d'HCl à la solution de flavone complexée n'altère en rien son spectre d'absorption et suggèrent alors que la réaction de complexation s'effectue sans que la molécule soit déprotonée (Fig. IV.2).

Ces conclusions sont remises en cause par Jurd [1962, 1969] qui souligne que les 5-hydroxyflavone et 5-hydroxyflavonol dont le groupement en position 3 est protégé par

méthylation ou glycosylation, forment des complexes jaunes, très stables en milieu acide et que la complexation s'accompagne de l'ionisation de l'hydroxyle en position 5 (Fig. IV.3).

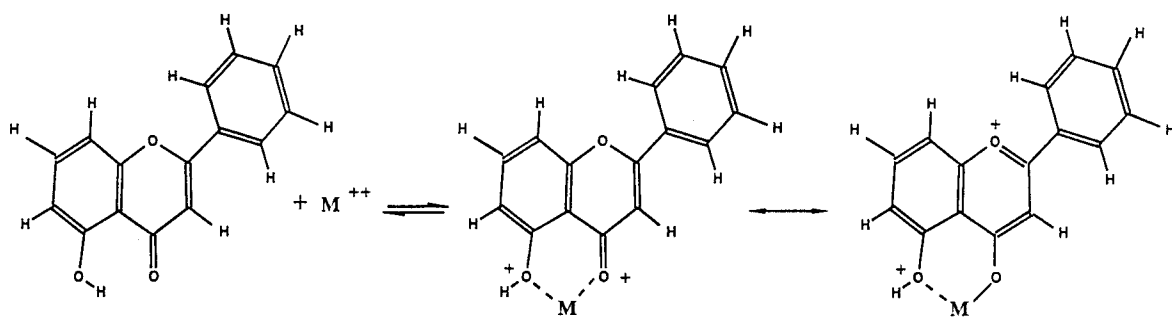


Fig. IV.2 : Mécanisme de complexation de la 5HF avec un ion métallique divalent ( $M^{2+}$ ) proposée par Jurd et Geissman [1956].

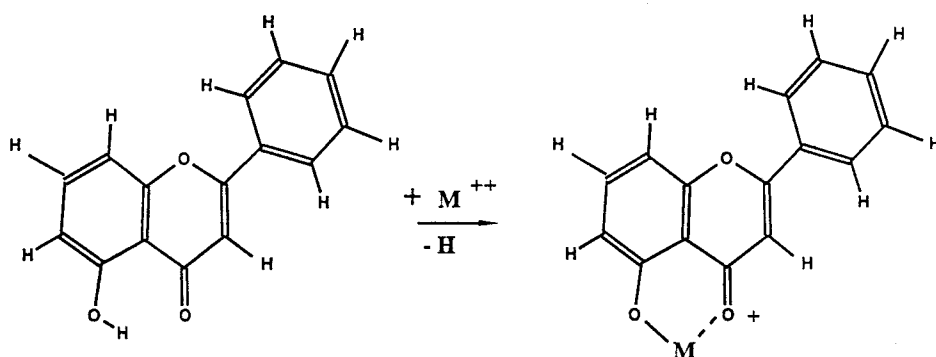


Fig. IV.3 : Réaction de complexation de la 5HF proposée par Jurd [1962].

La formation du complexe entraîne un déplacement bathochrome des bandes I et II du spectre d'absorption UV-visible de la molécule. Chacune de ces bandes se présente sous la forme de deux pics ou inflexions distinctes et caractéristiques. Le déplacement bathochrome de la bande I est de 20 à 45 nm, alors que celui observé dans le cas d'un chélate formé au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle est de 60 nm. La différence d'amplitude entre ces deux déplacements spectraux permet de différencier les deux sites de complexation [Jurd, 1962].

## IV.2 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation de la 5HF dans le méthanol

### IV.2.1 – Méthode des rapports molaires.

L'ajout d'une quantité croissante d' $\text{AlCl}_3$  à la solution de 5HF dans le méthanol provoque un déplacement bathochrome de l'ensemble des bandes d'absorption du composé. La bande II à 269 nm et l'épaule à 297 nm sur le spectre de la 5HF libre se déplacent respectivement à 292 nm et 318 nm. La bande I à 336 nm disparaît au profit d'une nouvelle bande de faible intensité à 397 nm (Fig. IV.4). Le réseau de spectres présente deux points isobestiques à 241 et 362 nm. Ces deux points se forment simultanément et indiquent la présence d'un unique complexe.

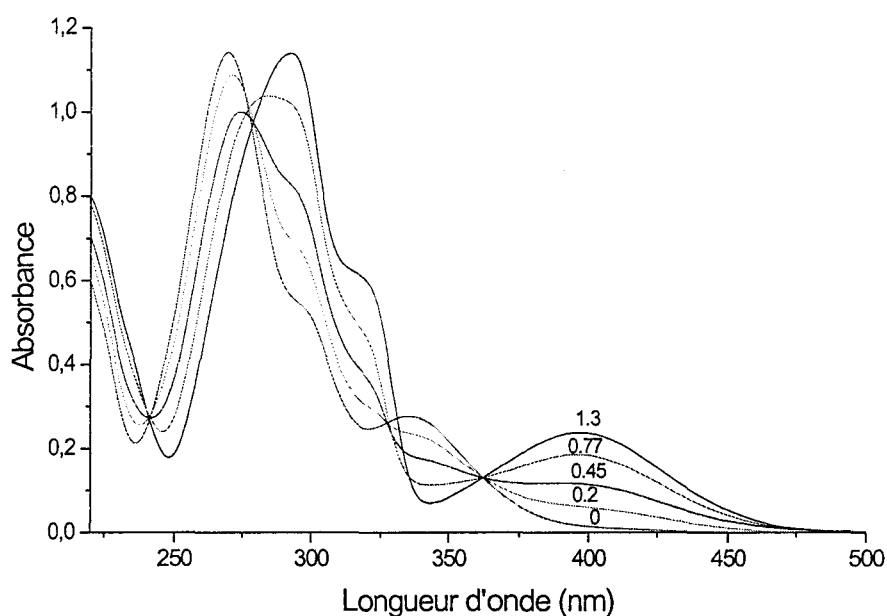


Fig. IV.4 : Spectres d'absorption UV-visible de la 5HF  $4 \cdot 10^{-5}$  M dans le méthanol en présence d' $\text{AlCl}_3$  pour différents rapports  $[\text{AlCl}_3] / [5\text{HF}]$ .

Les courbes de variation de l'absorbance aux maxima d'absorption de la 5HF libre (336 nm) et du complexe formé (397 nm) en fonction du rapport  $[\text{AlCl}_3] / [5\text{HF}]$  indiquent que le complexe formé est du type  $\text{Al(III)} : 5\text{HF} = 1 : 1$  (Fig. IV.5).

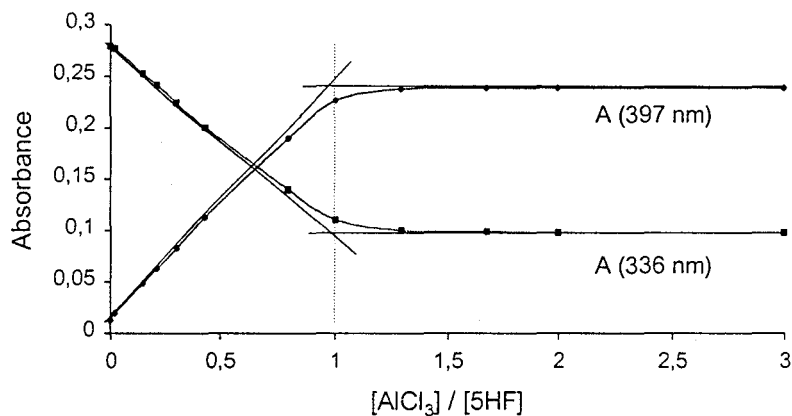


Fig. IV.5 : Courbes de rapports molaires aux maxima d'absorption de la 5HF libre (336 nm) et de la 5HF complexée (397 nm).

#### IV.2.2 – Méthode des variations continues.

Le réseau de spectres des différentes solutions de la gamme des variations continues, présente un point pseudo-isobestique à 369 nm qui confirme l'unicité du complexe formé (Fig. IV.6).

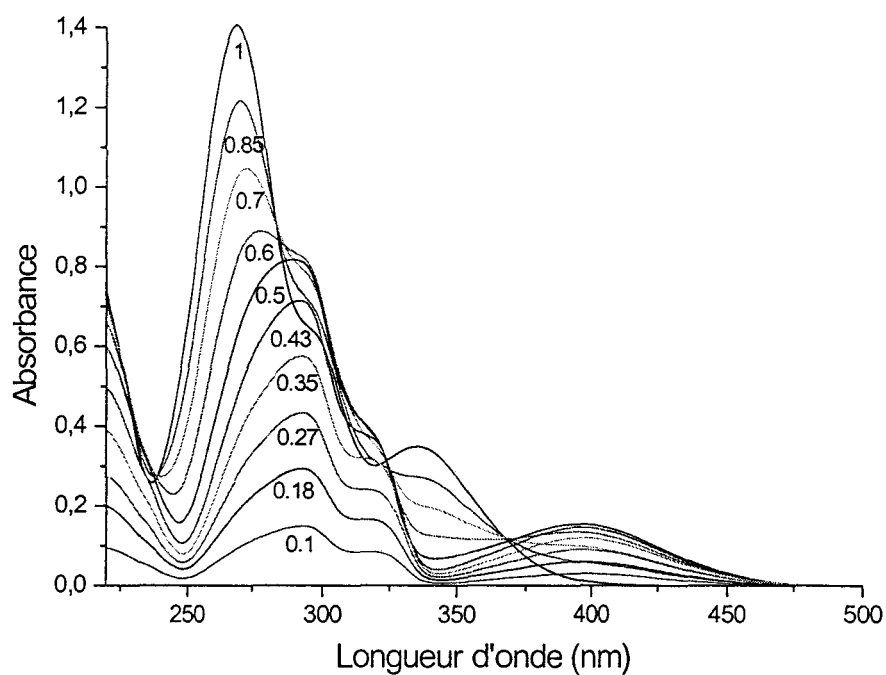


Fig. IV.6 : Réseau de spectres des différentes solutions de la gamme des variations continues correspondant à la complexation de la 5HF avec  $AlCl_3$  dans le méthanol.



La courbe de variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe (397 nm), la fonction de Job correspondante (J) ainsi que la courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique (369 nm) (Fig. IV.7) confortent les conclusions obtenues par la méthode des rapports molaires. La stœchiométrie du complexe formé entre la 5HF et  $\text{AlCl}_3$  dans le méthanol est  $\text{Al(III)} : 5\text{HF} = 1 : 1$ , il est noté  $\text{Al(5HF)}$ .

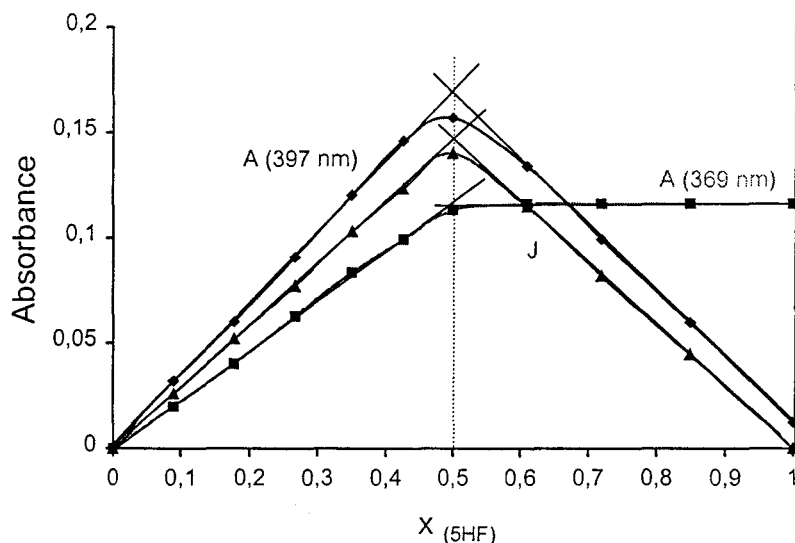


Fig. IV.7 : Détermination de la composition du complexe formé entre la 5HF et  $\text{AlCl}_3$  par la méthode des variations continues. Variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe (397 nm), fonction de Job correspondante (J) et variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique (369 nm).

### IV.3 – Analyse conformationnelle de la 5HF et du complexe $\text{Al(5HF)}$ .

La minimalisation d'énergie de la 5HF par la méthode semi-empirique AM1 indique que la molécule adopte à l'état isolé une conformation gauche avec un angle  $\theta$  de  $28,29^\circ$  ou de  $151,71^\circ$  ( $180^\circ - \theta$ ). La structure est stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire qui s'établit entre l'oxygène O2 de la fonction carbonyle et l'hydrogène de l'hydroxyle en position 5 :  $\text{O2} \cdots \text{H-O5} = 1,99 \text{ \AA}$ . Cette liaison hydrogène, nettement plus forte que celle observée dans la 3HF ( $2,24 \text{ \AA}$ ), permet la formation d'un cycle à six chaînons qui, pour des raisons stériques, est énergétiquement plus stable qu'un cycle à cinq chaînons. Ce cycle est parfaitement coplanaire à la partie chromone ( $\text{C6-C5-O5-H} = 179,98^\circ$ ). La liaison hydrogène intramoléculaire étant plus forte que celle présente dans la 3HF, la coordination avec  $\text{Al(III)}$  par déplacement du proton en position 5 nécessite probablement une énergie plus importante.

La complexation de la 5HF modifie la répartition des charges de la molécule (Fig. IV.8). Les atomes présents au niveau du site de complexation : O5, C5, C10, C4, O2 voient leurs charges fortement modifiées tandis que les charges des atomes C2, C6, C7 et C8 sont plus faiblement perturbées. Les charges portées par les atomes du cycle B sont très peu affectées par la coordination avec l'aluminium(III).

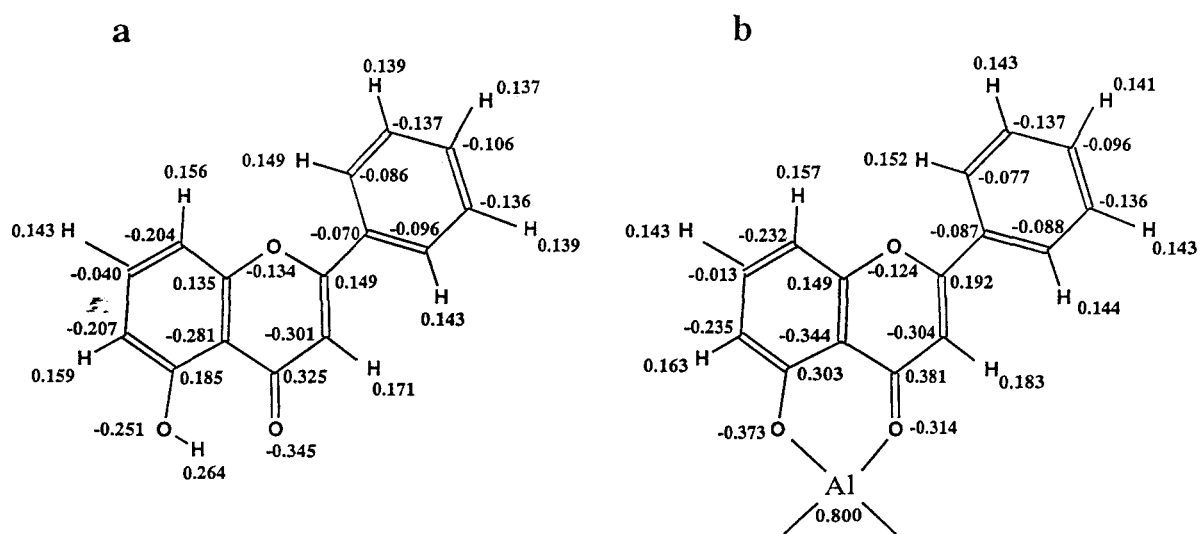


Fig. IV.8 : Distribution des charges de Mulliken de la 5HF (a) et du complexe Al(5HF) (b) avec Al(III) sous la forme  $Al(OMe)_2^+$ .

Les paramètres géométriques de la 5HF libre et complexée sont rassemblés dans les Tables IV.1, 2 et 3.

La comparaison des paramètres géométriques de la molécule libre et complexée indique que la géométrie du cycle B n'est absolument pas perturbée par la chélation tant au niveau des longueurs qu'au niveau des angles de liaison. En ce qui concerne la position de ce cycle par rapport à la partie chromone, une légère diminution de l'angle  $\theta$  ( $2^\circ$ ) ainsi que de l'angle C3-C2-C1' est observée ( $0,5^\circ$ ).

Sur l'ensemble de la partie chromone, une faible augmentation de la longueur des doubles liaisons (C2=C3, C9=C10, C5=C6, C7=C8) accompagnée de la diminution de celles présentant un caractère simple (O1-C2, C3-C4, C6-C7) est constatée. Néanmoins, les variations structurales au niveau du cycle C sont nettement moins importantes que celles observées dans le cas où la complexation s'effectue au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle.

|         | 5HF   | Complexe |
|---------|-------|----------|
| O1-C2   | 1,386 | 1,379    |
| C2-C3   | 1,353 | 1,362    |
| C3-C4   | 1,459 | 1,445    |
| C4-C10  | 1,465 | 1,433    |
| C10-C5  | 1,414 | 1,428    |
| C5-C6   | 1,409 | 1,426    |
| C6-C7   | 1,393 | 1,378    |
| C7-C8   | 1,393 | 1,405    |
| C8-C9   | 1,402 | 1,389    |
| C9-C10  | 1,410 | 1,420    |
| C9-O1   | 1,386 | 1,389    |
| C2-C1'  | 1,464 | 1,463    |
| C1'-C2' | 1,402 | 1,403    |
| C2'-C3' | 1,393 | 1,393    |
| C3'-C4' | 1,395 | 1,395    |
| C4'-C5' | 1,395 | 1,395    |
| C5'-C6' | 1,393 | 1,393    |
| C6'-C1' | 1,402 | 1,403    |
| C4-O2   | 1,245 | 1,288    |
| C5-O5   | 1,363 | 1,316    |
| O5-H5   | 0,973 |          |
| O5-Al   |       | 1,776    |
| O2-Al   |       | 1,800    |

Table IV.1: Longueurs de liaison (Å)

|             | 5HF    | Complexe |
|-------------|--------|----------|
| C9-O1-C2    | 117,56 | 118,07   |
| O1-C2-C3    | 123,07 | 123,12   |
| C2-C3-C4    | 122,12 | 120,67   |
| C3-C4-C10   | 114,86 | 117,02   |
| C4-C10-C5   | 123,54 | 122,99   |
| C10-C5-C6   | 120,73 | 122,99   |
| C5-C6-C7    | 119,92 | 120,55   |
| C6-C7-C8    | 121,05 | 121,64   |
| C7-C8-C9    | 118,60 | 118,24   |
| C8-C9-C10   | 122,44 | 122,59   |
| C3-C2-C1'   | 125,42 | 124,97   |
| C2-C1'-C2'  | 120,53 | 120,42   |
| C2'-C3'-C4' | 120,17 | 120,46   |
| C3'-C4'-C5' | 119,96 | 120,00   |
| C4'-C5'-C6' | 120,24 | 120,24   |
| C5'-C6'-C1' | 119,94 | 119,90   |
| C6'-C1'-C2' | 119,67 | 119,72   |
| C3-C4-O2    | 121,86 | 118,22   |
| C10-C5-O5   | 124,41 | 123,45   |
| C6-C5-O5    | 114,86 | 117,52   |
| C5-O5-H5    | 110,43 |          |
| O5-Al-O2    |        | 101,48   |

Table IV.2: Angles de liaison (°)

|               | 5HF     | Complexe |
|---------------|---------|----------|
| O1-C2-C1'-C6' | 28,29   | 26,37    |
| C2-C3-C4-O2   | 179,53  | -179,75  |
| C9-O1-C2-C3   | -0,18   | -0,90    |
| C9-O1-C2-C1'  | -179,95 | 179,74   |
| C10-C5-O5-H5  | -0,03   |          |
| C7-C6-C5-O5   | -179,99 | -177,81  |
| C6-C5-O5-Al   |         | -164,06  |
| C3-C4-O2-Al   |         | 168,06   |
| C10-C5-O5-Al  |         | 18,52    |
| C10-C4-O2-Al  |         | -13,10   |

Table IV.3: Angles dièdres (°)

Les modifications géométriques les plus importantes interviennent au niveau du site de chélation. L'allongement de C5-C10 et la diminution de C4-C10 conduisent à l'égalisation de la longueur de ces deux liaisons. De même la longueur de la liaison C4=O2 augmente de 0,05 Å et celle de C5-O5 diminue de 0,04 Å. Ces deux liaisons deviennent quasiment égales en longueur. Dans la 3HF complexée, les longueurs des liaisons C4=O2 et C3-O3 valent

respectivement 1,31 Å et 1,36 Å et dans le complexe Al(3'4'diHF), les liaisons C4'-O4' et C3'-O3' valent 1,34 Å et 1,35 Å. Dans le cas du chélate Al(5HF), ces liaisons sont plus courtes puisque C4=O2 et C5-O5 ont pour longueur respective 1,29 Å et 1,32 Å.

Les deux atomes d'oxygène du site de complexation (O2 et O5) se rapprochent très légèrement, leur distance passe de 2,80 à 2,77 Å. Cette distance est plus importante que celle observée dans Al(3HF)<sub>2</sub> entre les atomes O3 et O2 (2,61 Å) et dans Al(3'4'diHF) entre O3' et O4' (2,64 Å). L'angle O5-Al-O2 vaut 101,48° alors que les angles O3-Al-O2 et O4'-Al-O3' des chélates précédemment étudiés ont une valeur de 94°.

Le groupement 5-hydroxy-4-carbonyl forme avec Al(III) un cycle à six chaînons moins tendu et donc plus stable qu'un cycle à cinq atomes tel que celui formé au niveau des groupements ortho-dihydroxyle ou 3-hydroxy-4-carbonyl. Néanmoins, ce cycle n'est pas plan, les liaisons C5-O5 et C4-O2 sont toujours dans le plan de la partie chromone (C2-C3-C4-O2 = -179,75° ; C7-C6-C5-O5 = -177,81°) mais les liaisons O5-Al et O2-Al s'écartent de ce plan (C6-C5-O5-Al et C3-C4-O2-Al valent respectivement -164,06° et 168,06°). Le modèle proposé pour la structure du chélate formé entre la 5HF et l'aluminium(III) est représenté sur la figure IV.9(a). La forme mésomère pyronium (Fig. IV.9(b)) contribue très faiblement à la géométrie du complexe.

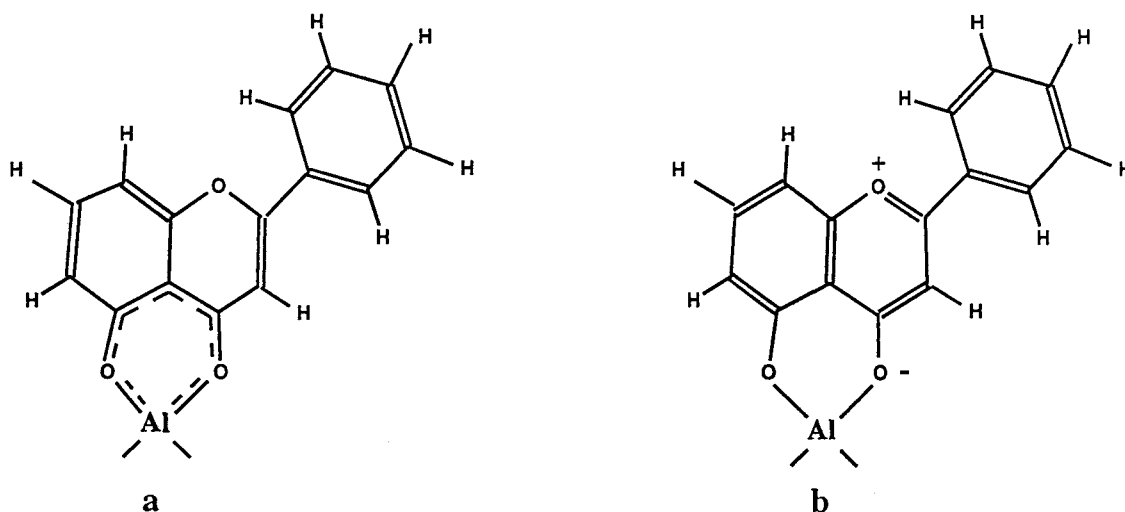


Fig. IV.9 : Géométrie adoptée par la 5HF complexée (a) et forme mésomère limite pyronium (b)

#### IV.4 – Etude spectroscopique de la 5HF libre et complexée dans le méthanol.

##### IV.4.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible.

A partir des géométries optimisées par la méthode semi-empirique AM1 de la molécule libre et complexée, un calcul des spectres électroniques théoriques a été effectué par interaction de configurations, CI : 9\*9. La figure IV.10 représente les spectres d'absorption UV-visible expérimentaux, enregistrés dans le méthanol pur, de la 5HF (a) et de la 5HF complexée avec l'aluminium(III) pour un rapport  $[AlCl_3] / [5HF] = 1,3$  (b) ainsi que les spectres électroniques théoriques correspondants.

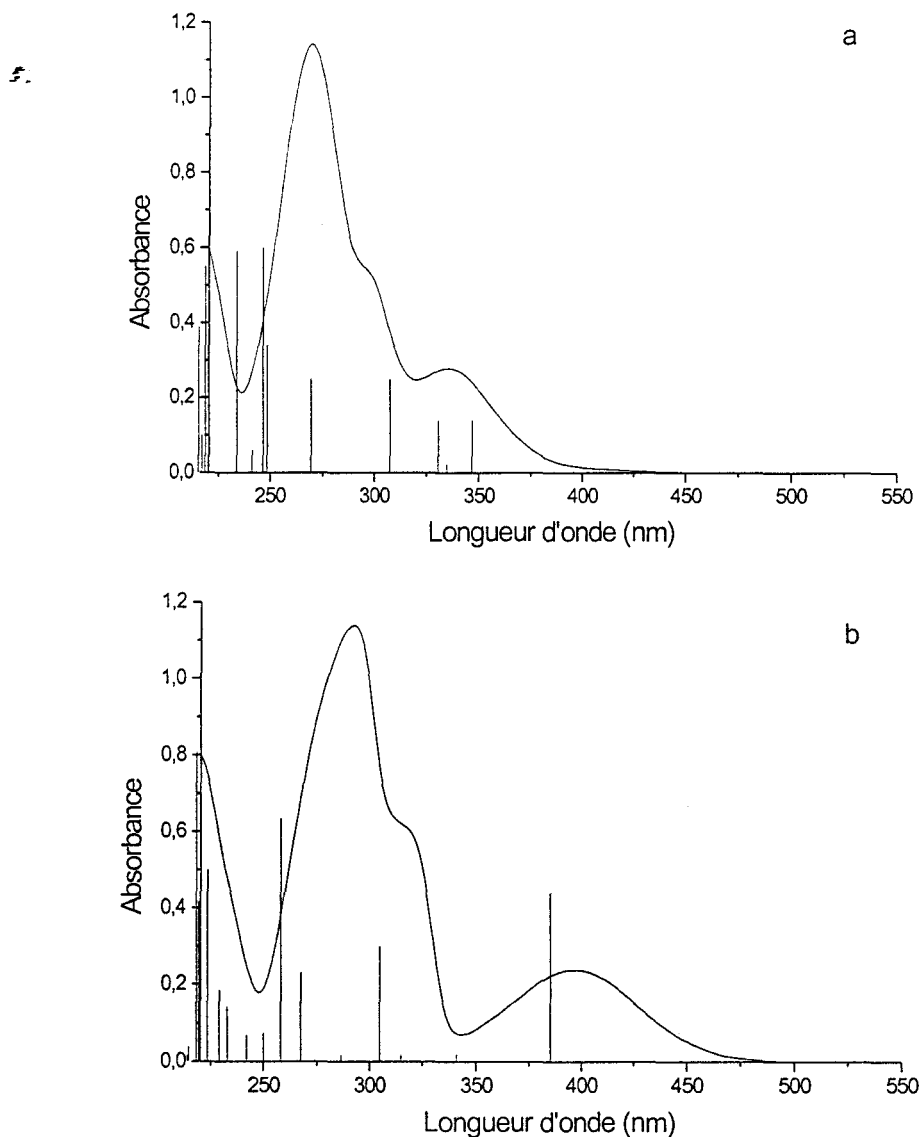


Fig. IV.10 : Spectres UV-visible de la 5HF libre (a) et complexée (b) en solution dans le méthanol ( $[5HF] = 4 \cdot 10^{-5} M$ ) et spectres électroniques théoriques CI : 9\*9, Al(III) est sous la forme  $Al(OMe)_2^+$ .

La concordance entre la force de l'oscillateur calculée et l'absorbance des bandes expérimentales est peu satisfaisante. Cependant, la position des transitions théoriques est conforme à celle des bandes observées expérimentalement. La position de la transition située vers les plus grandes longueurs d'onde, qui met principalement en jeu la transition HOMO  $\rightarrow$  LUMO, reproduit de manière correcte le déplacement bathochrome de la bande I observé expérimentalement lors de la complexation.

#### IV.4.2 – La spectroscopie de vibration.

Comme dans la 3HF, la complexation de la 5HF avec  $\text{AlCl}_3$  doit entraîner une diminution importante de la fréquence de l'élongation de la fonction carbonyle  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  ainsi qu'un déplacement moins marqué de la bande correspondant à la vibration  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$ . D'après José *et al.*, la complexation de la 5HF avec  $\text{BF}_3$  provoque une diminution de fréquence de la vibration  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  de 1612 à 1525  $\text{cm}^{-1}$  alors que celle de  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$  passe de 1645 à 1635  $\text{cm}^{-1}$ . Ces auteurs remarquent que contrairement à la 3HF, la 5HF ne se complexent pas avec l'iode. La présence d'une forte liaison hydrogène intramoléculaire rend le pouvoir complexant du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle moins important que celui du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle [José, 1974].

Les spectres Raman à transformée de Fourier de la 5HF libre et complexée enregistrés dans le méthanol sont représentés sur la figure IV.11. Comme dans le cas des autres molécules étudiées, seule la plage spectrale 1450-1680  $\text{cm}^{-1}$  où apparaissent les vibrations  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$ ,  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$  et  $\nu(\text{C}=\text{C})$  du squelette des cycles A et B présente des bandes suffisamment intenses pour être exploitées. Les différentes composantes des bandes les plus larges ont été mises en évidence par un calcul de dérivée seconde.

Comme de nombreux auteurs [Shaw, 1955 ; Looker, 1962 ; Briggs, 1962 ; Lebreton, 1963], on attribue les bandes situées à 1654  $\text{cm}^{-1}$  et à 1643  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre de la 5HF aux élongations  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  et  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$  respectivement. Suite à la chélation, la bande correspondant à la  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$  subit un léger déplacement vers les basses fréquences et apparaît à 1634  $\text{cm}^{-1}$ . La modélisation moléculaire indique qu'au sein du chélate, la longueur de la liaison  $\text{C4}=\text{O2}$  est quasiment identique à celle de la liaison  $\text{C5}-\text{O5}$ . Ainsi, les élongations de ces deux liaisons doivent se coupler et engendrer un mode d'élongation antisymétrique et un mode d'élongation symétrique (à plus basse fréquence). D'après Bellamy [1958], dans les

de la molécule libre et de son complexe, la coordination avec Al(III) perturbe profondément la géométrie du cycle A sans affecter celle du cycle B. Ainsi, les fréquences des modes 8a et 8b du cycle A doivent être modifiées par la complexation alors que celles relatives aux modes du cycle B doivent être inchangées. Les bandes situées à 1605 et 1585  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre de la 5HF libre sont présentes à des fréquences proches sur le spectre du complexe. Elles peuvent être attribuées aux modes 8a et 8b du cycle B. La complexation de la molécule entraîne la disparition des deux composantes de la large bande du spectre de la molécule libre à 1623 et 1613  $\text{cm}^{-1}$ , celles-ci devant correspondre aux modes 8a et 8b du cycle A. Sur le spectre du chélate, ces modes sont attribués aux bandes à 1576 et 1563  $\text{cm}^{-1}$ .

La complexation au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle perturbe essentiellement la géométrie de la partie chromone de la molécule sans affecter le cycle B. Les modifications en fréquences observées pour les vibrations mettant en jeu cette partie de la molécule confirment le modèle structural du complexe.

#### IV.4.3 – La spectroscopie RMN $^{13}\text{C}$ et $^1\text{H}$ .

##### IV.4.3.a – La spectroscopie RMN $^{13}\text{C}$ .

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de la molécule libre et complexée ont été enregistrés sur la gamme spectrale 0 – 200 ppm avec respectivement 19000 et 18000 accumulations. L'attribution du spectre de la 5HF a été faite en utilisant les données de la littérature concernant la molécule en solution dans le DMSO- $\text{d}_6$  [Agrawal, 1989]. Les déplacements chimiques des différents carbones sont toujours plus importants dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  (+1 à +3 ppm) que ceux observés dans le DMSO- $\text{d}_6$ . Le signal correspondant au carbone en position 5 est le plus affecté (+3 ppm), il indique la présence d'interactions entre la 5HF et le solvant.

Contrairement au spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de la 3HF complexée, les signaux correspondant aux carbones du chélate formé avec la 5HF ne sont pas dédoublés, ce qui confirme que sa stœchiométrie est du type 1 : 1.

D'après la comparaison des spectres de la molécule libre et complexée (Fig. IV.12), les carbones C2', C3', C5' et C6' du cycle B de la molécule subissent peu l'effet de la chélation, leurs déplacements chimiques restent quasiment inchangés (variation inférieure à 1 ppm). De plus, C6' et C2' ainsi que C5' et C3' résonnent toujours à des valeurs de champs

identiques. Seul C4' se déblindé légèrement, ce qui peut s'expliquer par la position de conjugaison qui le relie avec la fonction carbonyle.

La coordination avec Al(III) affecte essentiellement les déplacements chimiques des carbones du cycle A. La modification de la répartition électronique sur l'ensemble de ce cycle se traduit par un déblindage des carbones en position para et méta du site de complexation (C8, +5,2 ppm ; C7 +3,32 ppm) alors que C6 résonne à des champs plus faibles (-2,26 ppm). L'augmentation de la longueur de la liaison C9-C10 entraîne un déblindage de ces deux carbones, l'effet est néanmoins plus nuancé. En effet, C10 est directement impliqué dans le site de complexation et la délocalisation des électrons sur l'ensemble de ce site contribue à enrichir ce carbone en électron.

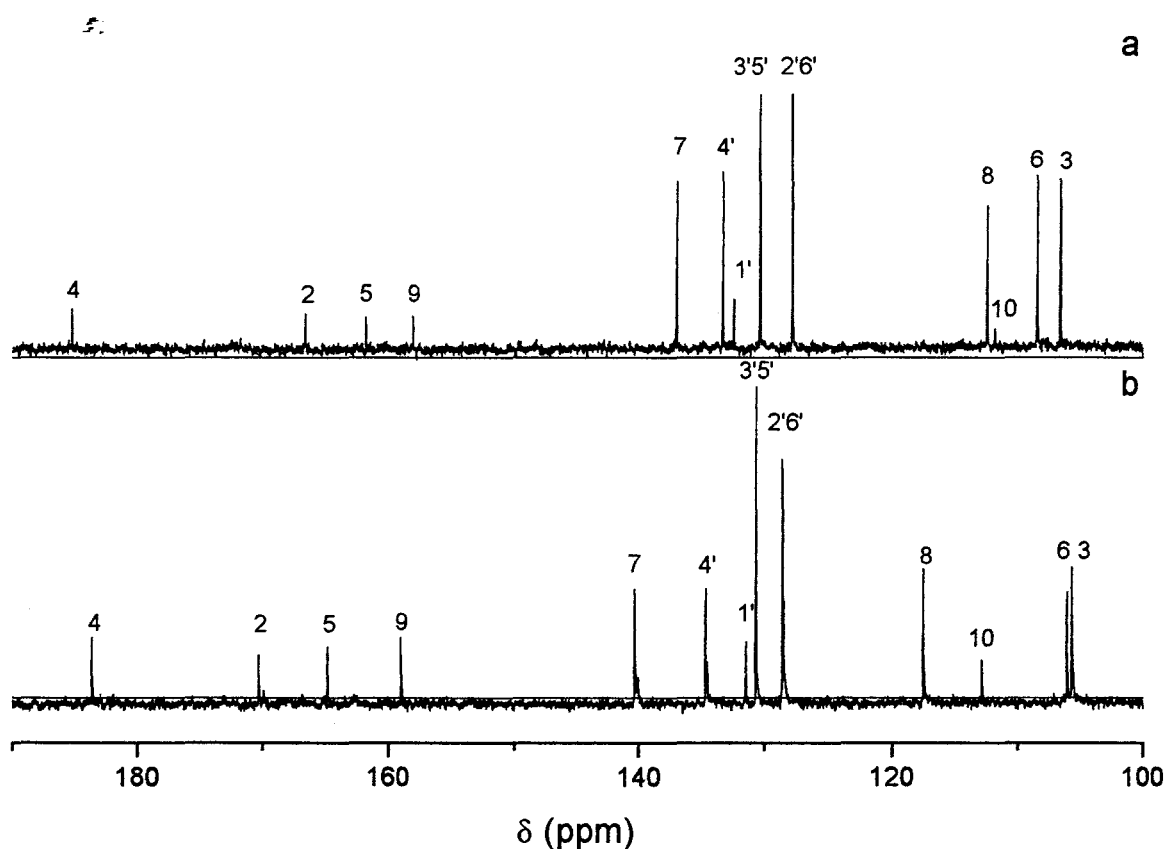


Fig. IV.12 : Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  et attribution de la 5HF libre (a) et complexée avec  $\text{AlCl}_3$  (b) enregistrés dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  sur la gamme spectrale 0 – 200 ppm (18000 et 19000 accumulations respectivement).

Au niveau du site de complexation, la valeur du déplacement chimique de C4 et C5 résulte de deux effets. L'augmentation de la longueur C4=O2 et la diminution de la longueur C5-O5 entraînent un déficit de C4 et un enrichissement de C5 en électrons et devrait conduire



au déblindage de C4 et au blindage de C5. Cependant la délocalisation des électrons sur l'ensemble du site chélateur conduit également à une diminution de la longueur C4-C10 (C4 s'enrichit en électrons) et à une augmentation de la longueur C5-C10 (C5 s'appauvrit en électrons), compensant ainsi l'effet précédemment décrit. De ces deux effets antagonistes résultent une diminution de 1,60 ppm du déplacement chimique de C4 et une augmentation de 1,94 ppm de celui correspondant à C5.

En ce qui concerne le cycle C de la molécule, la complexation provoque un déblindage important de C2 (+3,79 ppm) et un blindage moins marqué de C3 (-0,85 ppm). La contribution de la forme mésomère pyronium à la géométrie du chélate avec notamment la diminution du caractère double de la liaison C2-C3 peut expliquer cette observation.

#### IV.4.3.b – La spectroscopie RMN <sup>1</sup>H.

L'attribution du spectre de la 5HF libre enregistré dans CD<sub>3</sub>OD a été réalisée à l'aide des données bibliographiques relatives au spectre de la molécule enregistré dans le DMSO-d<sub>6</sub> [Grouillier, 1966 ; Gaydou, 1978].

La complexation de la 5HF avec l'aluminium(III) se traduit par un déblindage de l'ensemble des signaux du spectre. Les hydrogènes du complexe portent une charge positive plus importante que ceux de la molécule libre. Cette observation rejoint les résultats du calcul des charges électroniques par la méthode semi-empirique AM1 selon lequel les atomes d'hydrogène de la 5HF voient leurs charges augmentées suite à la chélation avec l'aluminium(III) (Fig. IV.8). Le déblindage le plus important concerne H3 dont le déplacement chimique augmente de 0,56 ppm. La comparaison des spectres de la 5HF libre dans le DMSO-d<sub>6</sub> et dans le méthanol-d<sub>4</sub> a montré que la position du signal de ce proton dépend fortement de l'environnement électronique de la fonction carbonyle. En plus de la coordination avec Al(III), la diminution de la longueur de la liaison C3-C4 associée à la diminution de l'angle C3-C4-O2 tendent à rapprocher H3 de la fonction carbonyle. L'environnement chimique de cet hydrogène est donc particulièrement affecté par la complexation et les protons H2' et H6', qui résonnent dans le chélate comme dans la molécule libre à des valeurs de champs identiques, voient leur déplacement chimique augmenter de 0,19 ppm. D'après la bibliographie, la résonance de ces deux protons est en étroite relation avec celle de H3 [Harborne, 1975]. Les protons dont la position est conjuguée avec la fonction carbonyle (4' et 7) se déblindent légèrement. Mise à part la modification

importante du déplacement chimique de H3, la variation de la position des autres signaux est moins importante que dans le cas de la complexation en position 3.

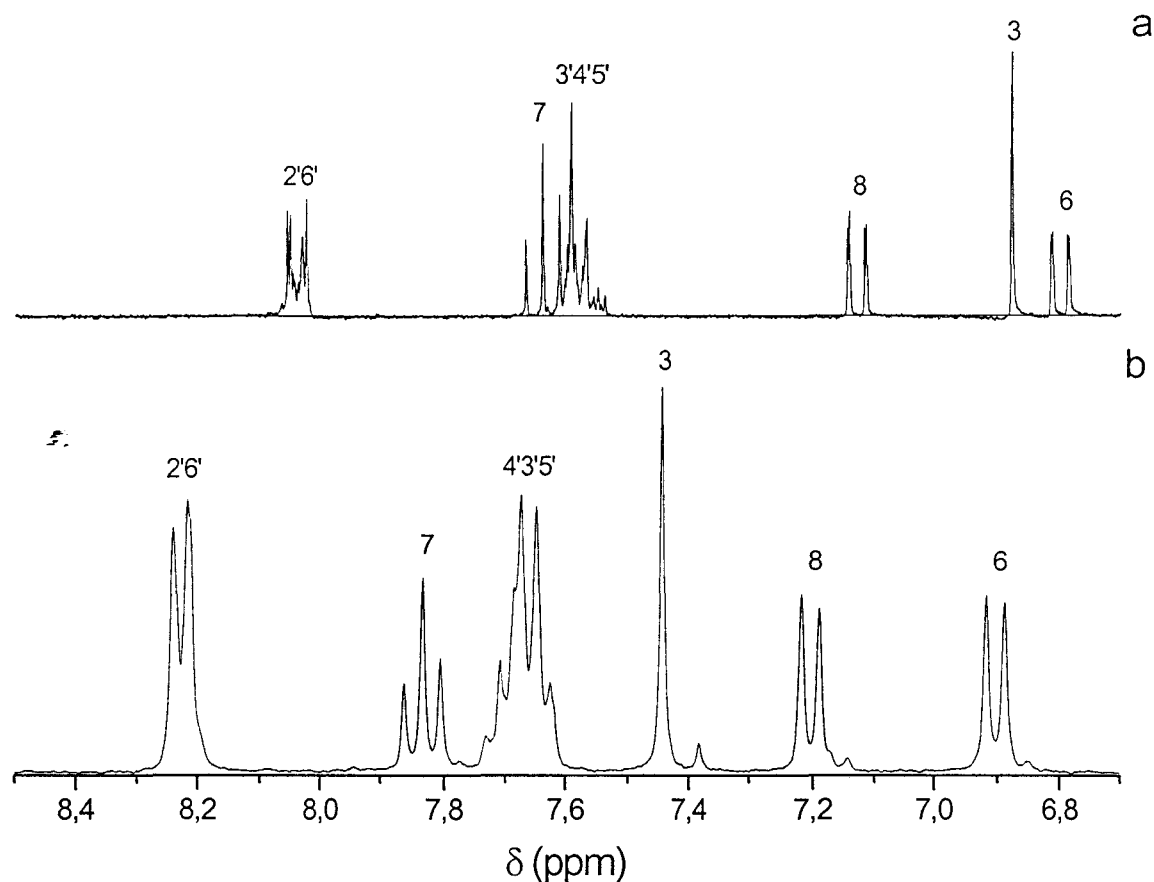


Fig. IV.13 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  et attribution de la 5HF libre (a) et complexée avec  $\text{AlCl}_3$  (b) sur la gamme spectrale 6,7 – 8,5 ppm en solution dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  (32(a) et 172 (b) accumulations).

Silva [1994] a étudié par RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , le complexe du type  $\text{Ru}(5\text{HF})_2$  formé dans le  $\text{DMSO-d}_6$  entre la 5HF et le ruthénium. Similairement à la complexation avec  $\text{Al(III)}$ , ces auteurs remarquent que la chélation avec le ruthénium affecte majoritairement les cycles A et C de la molécule alors que le déplacement chimique des atomes du cycle B ne varie pas (à l'exception de  $\text{C1}'$  qui se blinde d'1 ppm). La complexation avec le ruthénium, comme avec l'aluminium(III), est un processus qui augmente la délocalisation électronique le long du groupement cétonique- $\alpha,\beta$  insaturé de la molécule, ce qui se traduit par un déblindage de C2 et un blindage de C3. Néanmoins si la complexation de la 5HF avec ces deux métaux présente des similitudes, des différences apparaissent au niveau de l'amplitude du déplacement des signaux indiquant que la densité électronique autour des atomes diffère selon l'agent

complexant. Ainsi, la conformation adoptée par le chélate dépend de sa stœchiométrie et de l'agent complexant. A titre d'exemple, la complexation avec le ruthénium provoque une diminution du déplacement chimique de tous les protons du spectre RMN  $^1\text{H}$  alors que dans le cas de l'aluminium(III), tous les signaux du spectre se déplacent vers les champs faibles. De même, la formation de chélate  $\text{Ru}(\text{5HF})_2$  conduit à un blindage de C8 et C7 et à un déblindage de C6. Le phénomène inverse est observé lorsque la molécule se complexe avec Al(III).

La comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de la 5HF libre et complexée conduit aux mêmes conclusions que l'analyse structurale. La coordination de la molécule avec l'aluminium(III) modifie la géométrie de la partie chromone du composé sans affecter celle du cycle B. Le modèle structural théorique obtenu pour le chélate Al(5HF) est validé.

£.

#### IV.5 – Etude par spectroscopie UV-visible de la complexation dans différents milieux.

##### IV.5.1 - Complexation dans le méthanol en présence de base.

D'après Wolfbeis [1984], le pKa de l'hydroxyle en position 5 est de 11,6. L'hydrogène en position 5 est donc beaucoup moins labile que les protons des fonctions hydroxyles des sites chélateurs précédemment étudiés. Seule la présence d'une base forte dans le milieu réactionnel peut permettre l'ionisation de la fonction hydroxyle de la 5HF. Les spectres de la molécule en solution dans le méthanol pur et en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M sont en tout point identiques, l'acétate de sodium n'étant pas une base assez forte pour déprotoner l'hydroxyle en position 5. Le spectre de la molécule enregistré en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M est également très proche de celui correspondant à la molécule dans le méthanol pur. Un déplacement de la bande II de 269 à 270 nm et une légère diminution de l'absorbance de la bande I à 336 nm au profit d'une nouvelle bande d'intensité très faible vers 400 nm sont observés (Fig. IV.14). La fonction hydroxyle en position 5 n'est donc que très faiblement ionisée dans la solution contenant du méthanoate de sodium.

Dans le méthanol, en présence d'acétate ou de méthanoate de sodium, la complexation de la 5HF est très difficile et nécessite des quantités d' $\text{AlCl}_3$  très importantes qui ne permettent plus de considérer le milieu réactionnel comme un milieu basique. Dans les deux cas, la famille de spectres est identique à celle correspondant à la complexation dans le

méthanol pur (Fig. IV.4), seuls les rapports  $[AlCl_3] / [5HF]$  sont beaucoup plus grands. L'équilibre est totalement déplacé pour un rapport égal à 100 en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M et à 200 en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M. Les spectres électroniques correspondant au chélate sont, dans les deux milieux, totalement identiques à ceux obtenus pour le complexe dans le méthanol pur. Les courbes de rapports molaires présentent une inflexion au niveau du rapport  $[AlCl_3] / [5HF] = 1$ , indiquant que le complexe formé à une stœchiométrie 1 : 1 (Fig. IV.15 et IV.16).

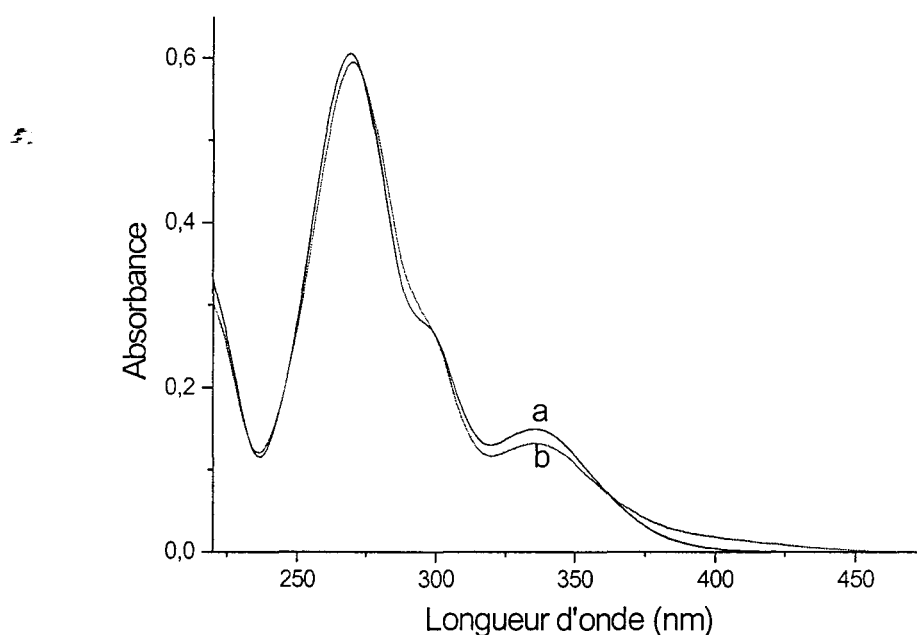


Fig. IV.14 : Spectres d'absorption UV-visible de la 5HF dans le méthanol pur et en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (a) ainsi que dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M.

La présence de base dans le milieu réactionnel rend la réaction de complexation de la 5HF avec l'aluminium(III) très difficile, le groupement 5-hydroxychromone est en compétition défavorable avec les ions  $AcO^-$  et  $MeO^-$  dont le pouvoir complexant est plus important. Il a été vérifié que l'ajout de méthanoate ou d'acétate de sodium à une solution de 5HF complexée avec Al(III) dans le méthanol conduit à un déplacement de l'équilibre dans le sens de la dissociation du complexe et tend à restituer le spectre d'absorption de la molécule libre.

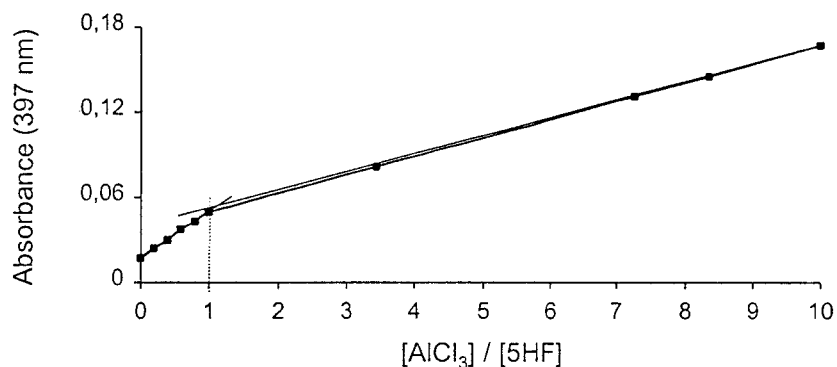


Fig. IV.15 : Courbes de rapports molaires tracées au maximum d'absorption du complexe (397 nm) dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

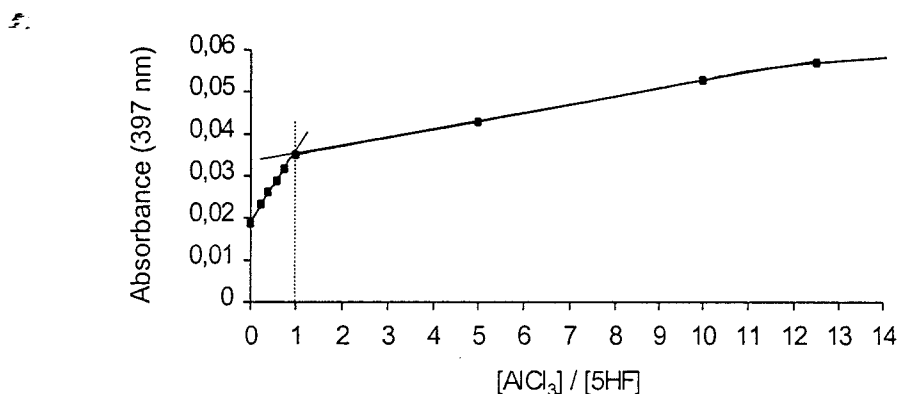


Fig. IV.16 : Courbes de rapports molaires tracées au maximum d'absorption du complexe (397 nm) dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M.

#### IV.5.2 - Complexation en milieu acide dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%), en présence d'HCl et en présence d'un mélange acide acétique – acétate de sodium.

La complexation de la 5HF en milieu acide et en présence d'eau est particulièrement difficile et la spectroscopie d'absorption UV-visible permet de l'observer uniquement pour des rapports  $[AlCl_3] / [5HF]$  élevés. En présence d'HCl, le pH apparent de chacun des mélanges est compris entre 2,5 et 2,6. En présence d'un mélange équimolaire ( $10^{-1}$  M) acide acétique – acétate de sodium, le pH apparent passe de 6,7 à 4,0. Cette variation importante s'explique par la quantité importante d' $AlCl_3$  nécessaire pour que la complexation devienne observable.

Dans les deux milieux, les familles de spectres obtenues sont les mêmes et seuls les rapports  $[AlCl_3] / [5HF]$  correspondant à un même spectre sont différents (une seule famille est donc représentée sur la figure IV.17). Dans les deux cas, pour un rapport égal à 1000, la complexation n'est pas complète et elle paraît être plus difficile dans le mélange acide acétique – acétate de sodium. D'après la position des bandes d'absorption et étant donné les proportions élevées en  $AlCl_3$  nécessaires à la formation du complexe, le seul chélate que la molécule soit susceptible de former est une espèce de stœchiométrie 1 : 1.

Jurd et Geissman [1956] ont observé que dans une solution éthanoïque à 95% la 5HF ne se complexait pas avec l'aluminium(III) pour des proportions  $Al(III) : 5HF = 10 : 1$  mais uniquement pour un rapport 100 : 1. Ces résultats indiquent que la présence d'eau dans le milieu inhibe la réaction de complexation de la 5HF. Dans le mélange acide acétique – acétate de sodium, la réaction de complexation est encore plus difficile que dans la solution contenant HCl, du fait de la présence d'ions  $AcO^-$  qui se complexent préférentiellement avec  $Al(III)$ .

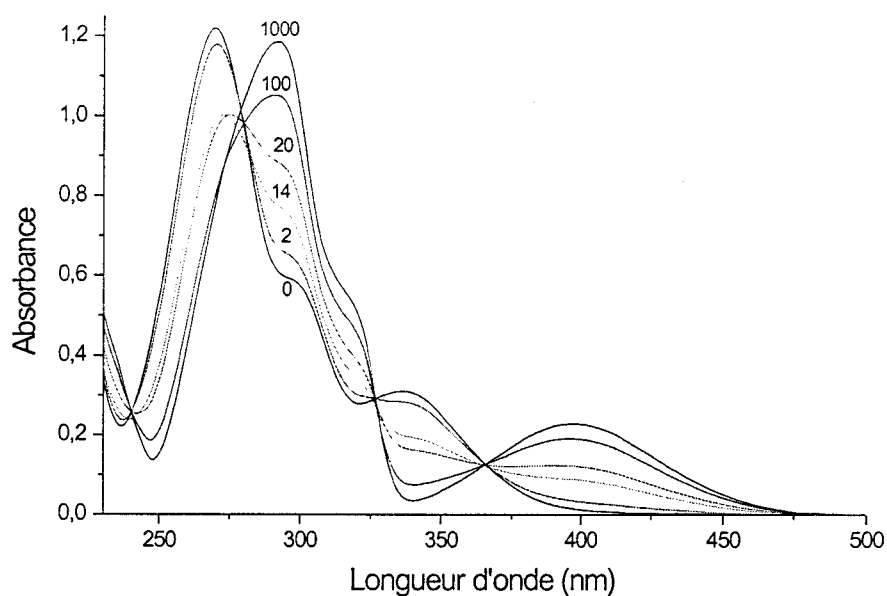


Fig. IV.17 : Spectres d'absorption UV-visible correspondant à la complexation de la 5HF dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl.

#### IV.6 – Conclusion.

L'étude de la complexation de la 5HF révèle que ce composé forme un complexe de type  $Al(5HF)$  quel que soit le milieu réactionnel. Cependant, le groupement 5-hydroxy-4-carbonyl est en compétition défavorable avec l'eau et les ions  $AcO^-$  ou  $MeO^-$  dont le pouvoir complexant vis à vis de l'aluminium(III) est plus important. Ainsi, la quantité d' $AlCl_3$  nécessaire pour complexer la molécule dans ces différents milieux est nettement plus importante que celle requise pour former ce même chélate dans le méthanol pur.

Concernant la conformation adoptée par la molécule complexée, il apparaît que la coordination de la 5HF avec l'aluminium(III) provoque d'importantes modifications structurales au niveau de la partie chromone et essentiellement au niveau du site de complexation. Le cycle B de la molécule n'est pas affecté par la chélation. Le modèle structural théorique du chélate  $Al(5HF)$  obtenu par modélisation moléculaire est validé par la bonne adéquation entre les spectres électroniques théoriques et expérimentaux. La comparaison des spectres Raman et RMN de la molécule libre et complexée a permis de confirmer les modifications structurales générées par la complexation, observées au moyen des calculs quantiques.

## Conclusion

Les résultats concernant les interactions entre l'aluminium et la 3'4'diHF, la 3HF et la 5HF dans les différents milieux réactionnels étudiés sont rassemblés dans les tableaux III.1, III.2 et III.3.  $([AlCl_3] / [F])_i$  correspond au rapport de concentration approximatif pour lequel la complexation de la molécule devient observable sur les spectres d'absorption UV-visible.  $([AlCl_3] / [F])_f$  est le rapport approximatif à partir duquel la réaction de complexation est considérée comme totale. Dans chacun des milieux considérés, on note  $\lambda_{max}$  (F) et  $\lambda_{max}$  (CP) les longueurs d'onde aux maxima d'absorption de la bande I de la flavone libre (F) et de la flavone complexée avec l'aluminium (CP),  $\Delta\lambda_{max}$  correspond au déplacement spectral entre ces deux maxima.

|          | Méthanol             |                      |                      |                     |                      |                       |
|----------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
|          | $([AlCl_3] / [F])_i$ | $([AlCl_3] / [F])_f$ | stoechio             | $\lambda_{max}$ (F) | $\lambda_{max}$ (CP) | $\Delta\lambda_{max}$ |
| 3'4'diHF | 0,02                 | 1,8                  | Al(3'4'diHF)         | 342 nm              | 384 nm               | 42 nm                 |
| 3HF      | 0,03                 | 1                    | Al(3HF) <sub>2</sub> | 344 nm              | 402 nm               | 58 nm                 |
| 5HF      | 0,03                 | 1,3                  | Al(5HF)              | 336 nm              | 397 nm               | 61 nm                 |

Tableau III.1: Résultats obtenus pour la complexation de la 3'4'diHF, la 3HF et la 5HF dans le méthanol pur.

Au regard des résultats obtenus dans le méthanol pur, certaines conclusions de Jurd et Geissman [1956] peuvent être remises en cause. A l'issue d'une étude de la complexation dans l'éthanol, ces auteurs concluent que la complexation au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle induit un déplacement bathochrome de 60 nm de la bande I du composé. Lorsque c'est le groupement 5-hydroxy-4-carbonyle qui se lie à l'aluminium, ce déplacement est de 20 à 45 nm. Ainsi, ils différencient ces deux sites par l'amplitude du déplacement spectral de la bande I suite à la chélation. Dans le méthanol, la complexation de la 3HF et de la 5HF conduit respectivement à un déplacement bathochrome de la bande I de

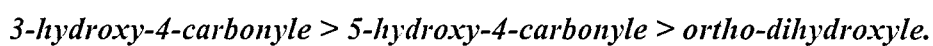


58 nm et 61 nm. Il semble donc difficile de connaître le site impliqué dans la chélation en observant uniquement ce déplacement. En revanche, la stœchiométrie des complexes formés en chacun de ces sites est différente et peut aider à les différencier.

La réactivité des trois sites de complexation étudiés ainsi que la stœchiométrie des complexes formés sont très différentes et dépendent fortement du milieu de réaction.

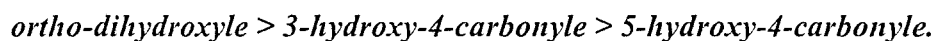
\* Dans le méthanol pur.

Les trois molécules se complexent rapidement dans le méthanol pur. La 3'4'diHF et la 5HF forment des complexes de stœchiométrie 1 : 1 alors que le chélate obtenu avec la 3HF est du type  $\text{Al}(3\text{HF})_2$ . Ainsi, dans le méthanol, le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle est le plus réactif. En comparant les valeurs du rapport  $([\text{AlCl}_3] / [\text{F}])_f$  obtenus pour les trois composés, les trois sites peuvent être classés en fonction de leur pouvoir chélateur vis-à-vis de l'aluminium de la façon suivante :



\* Dans le méthanol, en présence de base.

Le groupement ortho-dihydroxyle est le plus réactif en présence de base puisque, malgré la présence d'ions  $\text{AcO}^-$  ou  $\text{MeO}^-$  fortement complexants de l'aluminium, de faibles quantités d' $\text{AlCl}_3$  permettent l'obtention de chélates de stœchiométrie élevée, du type  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_3$  et  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})_2$ . Le groupement ortho-dihydroxyle est plus complexant que les entités  $\text{AcO}^-$  et  $\text{MeO}^-$ . Le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle rivalise avec les entités  $\text{AcO}^-$  mais est en compétition défavorable avec les ions  $\text{MeO}^-$ . Le pouvoir chélateur du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle est nettement moins important que celui des ions  $\text{AcO}^-$  et  $\text{MeO}^-$  et la réaction de complexation a lieu uniquement lorsque ces entités ont été neutralisées. En présence de base, les trois sites de chélation peuvent donc être classés dans l'ordre suivant :



| Méthanol en présence de AcO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> (10 <sup>-1</sup> M) |   |                           |                      |                       |
|---|---|---------------------------|----------------------|-----------------------|
|   | ([AlCl <sub>3</sub> ] / [F]) <sub>f</sub> | stoechio                  | λ <sub>max</sub> (F) | λ <sub>max</sub> (CP) |
| 3'4'diHF  | 0,17                                      | Al(3'4'diHF) <sub>3</sub> | 342 nm               | 408 nm                |
|   | 1,25                                      | Al(3'4'diHF) <sub>2</sub> |                      | 402 nm                |
| 3HF   | 2,25                                      | Al(3HF) <sub>2</sub>      | 344 nm               | 406 nm                |
| 5HF   | 100                                       | Al(5HF)                   | 336 nm               | 397 nm                |

| Méthanol en présence de MeO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> (5.10 <sup>-3</sup> M) |   |                           |                      |                       |
|---|---|---------------------------|----------------------|-----------------------|
|   | ([AlCl <sub>3</sub> ] / [F]) <sub>f</sub> | stoechio                  | λ <sub>max</sub> (F) | λ <sub>max</sub> (CP) |
| 3'4'diHF  | 1   | Al(3'4'diHF) <sub>3</sub> | 403 nm               | 410 nm                |
| 3HF   | 100                                       | Al(3HF) <sub>2</sub>      | 407 nm               | 402 nm                |
| 5HF   | 200                                       | Al(5HF)                   | 336 nm               | 397 nm                |

Tableau III.2: Résultats obtenus pour la complexation de la 3'4'diHF, la 3HF et la 5HF dans le méthanol en présence de base.

\* Dans un mélange méthanol (90%) –eau (10%), en milieu acide.

En milieu acide et en présence d'eau, la chélation est en compétition avec le phénomène d'hydratation. Pour favoriser les interactions entre les molécules et l'aluminium, des quantités d'AlCl<sub>3</sub> plus importantes dans le milieu réactionnel sont nécessaires. La 3HF est la molécule qui se complexe le plus facilement et le chélate formé, Al<sub>2</sub>(3HF), a une stœchiométrie inhabituelle qui reflète le caractère binucléaire de l'aluminium en solution alcoolique déjà mis en évidence par Urbach et Timmick [1968]. La 3'4'diHF ne se complexe pas en présence d'HCl, quelle que soit la quantité d'AlCl<sub>3</sub> ajoutée à la solution et la formation d'un chélate en présence d'acide acétique est difficile. La complexation au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle est inhibée par la présence d'eau et seul un important excès d'AlCl<sub>3</sub> rend la réaction possible. La réactivité des différents sites en milieu acide peut être classée de la façon suivante :

*3-hydroxy-4-carbonyle > 5-hydroxy-4-carbonyle > ortho-dihydroxyle.*

| Mélange méthanol (90%) - eau (10%)         |  |                       |                      |  |                       |                      |
|--|--|-----------------------|----------------------|--|-----------------------|----------------------|
| en présence d'HCl ( $3,2 \cdot 10^{-2}$ M) |  |                       |                      | en présence d'AcOOH ( $10^{-1}$ M) - AcO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> ( $10^{-1}$ M) |                       |                      |
|  | $([AlCl_3] / [F])_f$   | stoechio              | $\lambda_{max}$ (CP) | $([AlCl_3] / [F])_f$   | stoechio              | $\lambda_{max}$ (CP) |
| 3'4'diHF                                   | Pas de complexation  |                       |                      | réaction incomplète pour $[AlCl_3] / [F] = 200$                                      |                       |                      |
| 3HF  | 80   | Al <sub>2</sub> (3HF) | 404 nm               | 200  | Al <sub>2</sub> (3HF) | 398 nm               |
| 5HF  | réaction de complexation incomplète pour $[AlCl_3] / [5HF] = 1000$ |                       |                      |  |                       |                      |

Tableau III.3: Résultats obtenus pour la complexation de la 3'4'diHF, la 3HF et la 5HF en milieu acide.

D'un point de vue structural, la complexation au niveau du groupement catéchol n'affecte pas la structure de la partie chromone. Une diminution de l'angle  $\theta$  ainsi que certaines variations des valeurs des longueurs et angles de liaison du cycle B, notamment au niveau du site de complexation, sont observées.

Lorsque la chélation avec l'aluminium met en jeu le groupement 5-hydroxy-4-carbonyle, la géométrie de la partie chromone est perturbée. Ces modifications touchent essentiellement le cycle A et l'ensemble du site chélateur. Le cycle B de la molécule n'est nullement affecté.

Les plus importantes modifications structurales sont observées lorsque la complexation a lieu au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle. Le chélate adopte une structure flavylum fortement stabilisée par résonance.

La confrontation des spectres électroniques théoriques avec les spectres UV-visible expérimentaux, ainsi que la comparaison des spectres Raman, de RMN <sup>13</sup>C et <sup>1</sup>H des molécules libres et des chélates formés ont permis de conforter chacun des modèles moléculaires obtenus par les calculs quantiques.

## Partie IV

5.

*Complexation de la quercétine  
et de l'isoquercitrine  
avec l'aluminium(III).*

## Introduction

L'étude de molécules possédant uniquement un site de chélation, la 3'4'-dihydroxyflavone (3'4'diHF), la 3-hydroxyflavone (3HF) et la 5-hydroxyflavone (5HF) nous a permis de mieux appréhender les interactions pouvant intervenir entre l'aluminium et les principaux éléments structuraux chélateurs des flavonoïdes.

Dans cette partie, la complexation de la quercétine et de l'isoquercitrine avec l'aluminium est envisagée. Ces ligands possèdent respectivement trois et deux sites de complexation et un choix plus important s'offre à l'ion métallique pour se coordonner avec la molécule. Il semble évident que la réactivité des différents sites et le milieu réactionnel joueront un rôle primordial sur la nature des complexes formés.

Après avoir étudié la complexation de ces molécules dans les différents milieux de réaction, un modèle structural des chélates sera proposé, modèle que nous tenterons de valider en confrontant les conclusions issues du traitement théorique aux données expérimentales. Seule la spectroscopie électronique et la spectroscopie Raman seront présentées dans cette partie. Malgré un nombre important d'accumulations, des spectres RMN de qualité suffisante pour être exploités n'ont pas pu être obtenus.



## Chapitre I : Complexation de la quercétine avec l'aluminium(III).

### I.1 - Introduction.

La molécule de quercétine (Q) présente les trois principaux sites de chélation (Fig. I.1). Ceux-ci sont désormais en compétition vis-à-vis de l'aluminium(III) et selon le milieu réactionnel étudié, divers complexes de composition variable sont attendus.

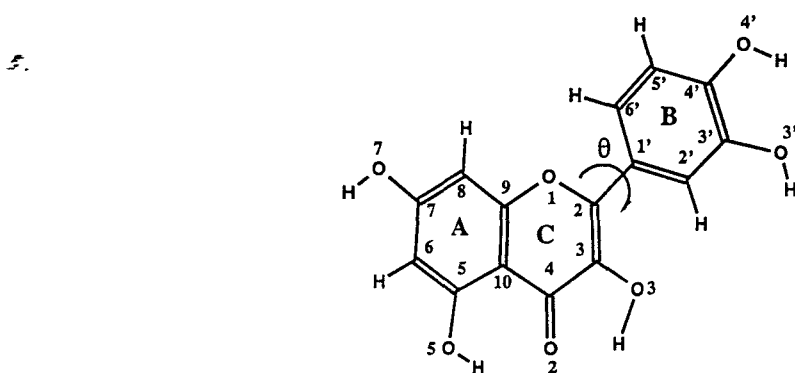


Fig. I.1 : Molécule de quercétine et numérotation utilisée.

L'étude précédente concernant la complexation de la 3'4'diHF a permis de vérifier les résultats obtenus par Markham et Mabry [1968], à savoir que le groupement ortho-dihydroxyle ne se complexe pas avec  $AlCl_3$  en présence d' $HCl$ . Avant de considérer les interactions entre l'aluminium(III) et la quercétine dans le méthanol, la réaction de complexation sera donc étudiée dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d' $HCl$ .

### I.2 – Complexation de la quercétine dans le méthanol et en milieu acide.

#### I.2.1. – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d' $HCl$ .

L'ajout d'une quantité croissante d' $AlCl_3$  à une solution de quercétine provoque une diminution de la bande I relative à la molécule libre à 372 nm et une nouvelle bande à 425 nm

apparaît (Fig. I.2). Le pH apparent, mesuré dans chacune des solutions de rapports molaires différents, varie de 2,45 à 2,50 et l'équilibre de complexation est totalement déplacé pour un rapport  $[AlCl_3] / [Q]$  proche de 100. Sur le réseau de spectres, un unique point isobestique à 394 nm indique qu'un seul complexe se forme, c'est-à-dire qu'un seul site de complexation est impliqué dans la réaction. La courbe de variation de l'absorbance en fonction du rapport  $[AlCl_3] / [Q]$  présente une inflexion pour un rapport égal à 2, le complexe formé est du type  $Al_2(Q)$  (Fig. I.3).

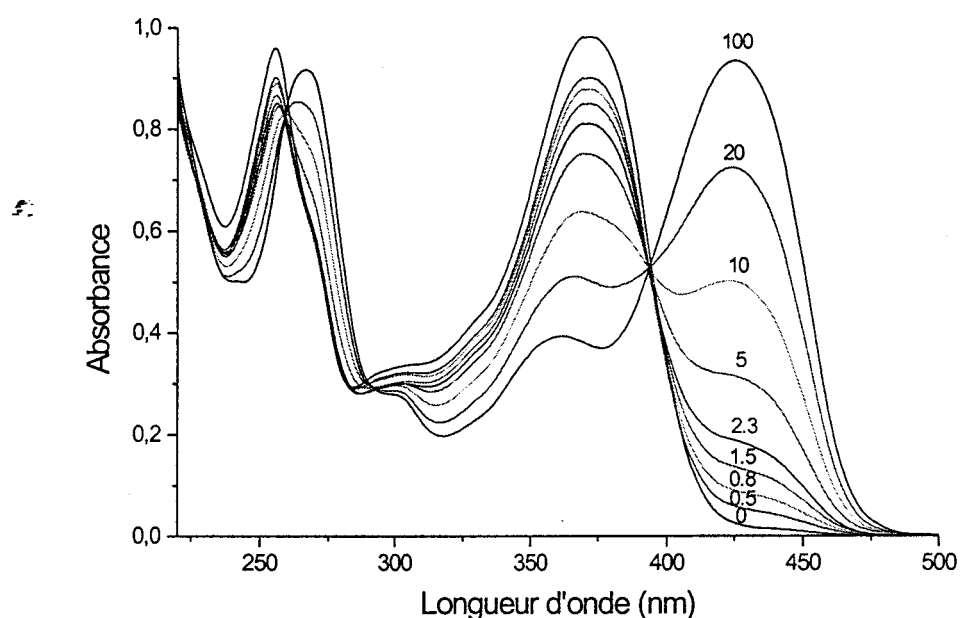


Fig. I.2 : Réseau de spectres correspondant à la complexation de la quercétine ( $4.10^{-5} M$ ) avec  $AlCl_3$  dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d' $HCl$   $3.2.10^{-2} M$ .

En présence d' $HCl$ , le groupement ortho-dihydroxyle ne réagit pas avec l'aluminium(III) et seuls les groupements 3-hydroxy-4-carbonyle ou 5-hydroxy-4-carbonyle sont à l'origine de la formation d'un complexe. D'après les résultats antérieurs, il est difficilement concevable de différencier ces deux sites en se référant à l'amplitude du déplacement spectral de la bande I induit par la chélation. Par contre, au regard de la stœchiométrie du chélate formé  $Al_2(Q)$  et de la valeur du rapport  $[AlCl_3] / [Q]$  pour laquelle la réaction est totale (environ 100), il apparaît que le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle est le site impliqué dans la chélation. En effet, les résultats préalables indiquent que :

(i) la complexation de la 3HF dans ce même milieu réactionnel conduit à l'obtention d'un chélate du type  $Al_2(3HF)$ .

(ii) la complexation au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle est inhibée par la présence d'eau dans le milieu réactionnel et la stœchiométrie du chélate formé avec la 5HF en milieu acide est 1 : 1.

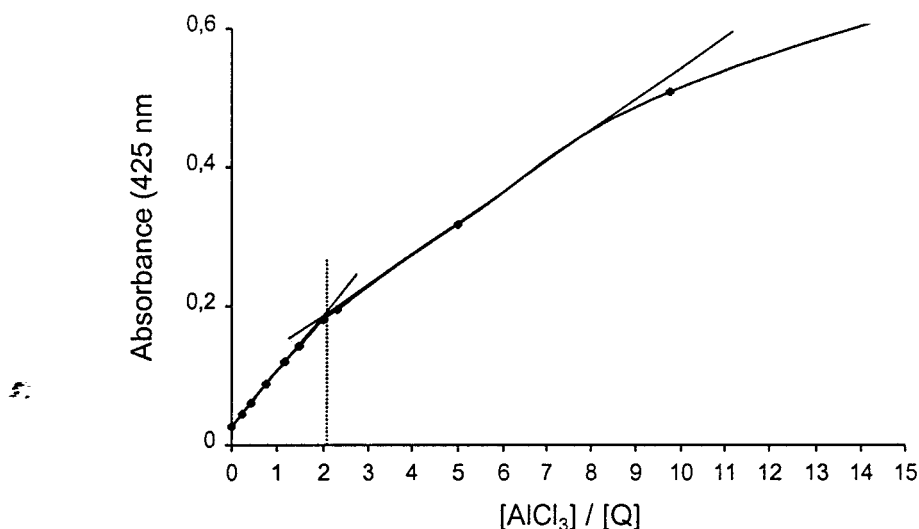


Fig. I.3 : Courbes de rapports molaires correspondant à la complexation de la quercétine dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl, pour des rapports  $[AlCl_3] / [Q]$  compris entre 0 et 15.

Ainsi, dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl  $3,2 \cdot 10^{-2}$  M, un complexe du type  $Al_2(Q)$  se forme au niveau du groupement 3-hydroxychromone, il est noté  $Al_2(Q)^{(3)}$  (Fig. I.4). La composition du chélate formé est identique à celle obtenue pour le complexe de la 3HF, c'est à dire une espèce  $Al_2L^{(3)}$  de type pont solvaté reflétant le caractère binucléaire de l'aluminium(III) en solution alcoolique.

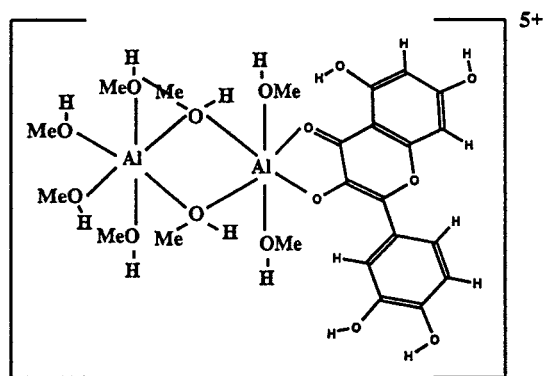


Fig. I.4 : Modèle du complexe  $Al_2(Q)^{(3)}$  formé entre la quercétine et  $AlCl_3$  dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl.



Monties [1969(c)] a étudié par la méthode des variations continues la complexation de la quercétine avec  $AlCl_3$  dans le méthanol chlorhydrique et a obtenu un complexe de type  $Al(Q)^{(3)}$ , c'est à dire un complexe se formant au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyl mais dont la composition est  $Al(III) : Q = 1 : 1$ . Néanmoins, en présence d'acide perchlorique et avec des ligands (L) tels que la morine (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavone) et la 3,3',4'-trihydroxyflavone, Porter et Markham [1970(c)] ont également détecté des complexes du type  $Al_2L^{(3)}$ .

### I.2.2. – Complexation dans le méthanol pur.

#### I.2.2.a – Méthode des rapports molaires.

Les spectres correspondant à la complexation de la quercétine dans le méthanol pur sont représentés sur la figure I.5. Pour des rapports  $[AlCl_3] / [Q]$  compris entre 0 et 0,5, la bande I à 372 nm diminue au profit d'une nouvelle bande à 428 nm, en formant un point isobestique à 392 nm. A partir d'un rapport  $[AlCl_3] / [Q]$  sensiblement égal à 1, la bande à 428 nm se déplace vers les grandes longueurs d'onde jusqu'à 456 nm et un second point isobestique à 434 nm apparaît.

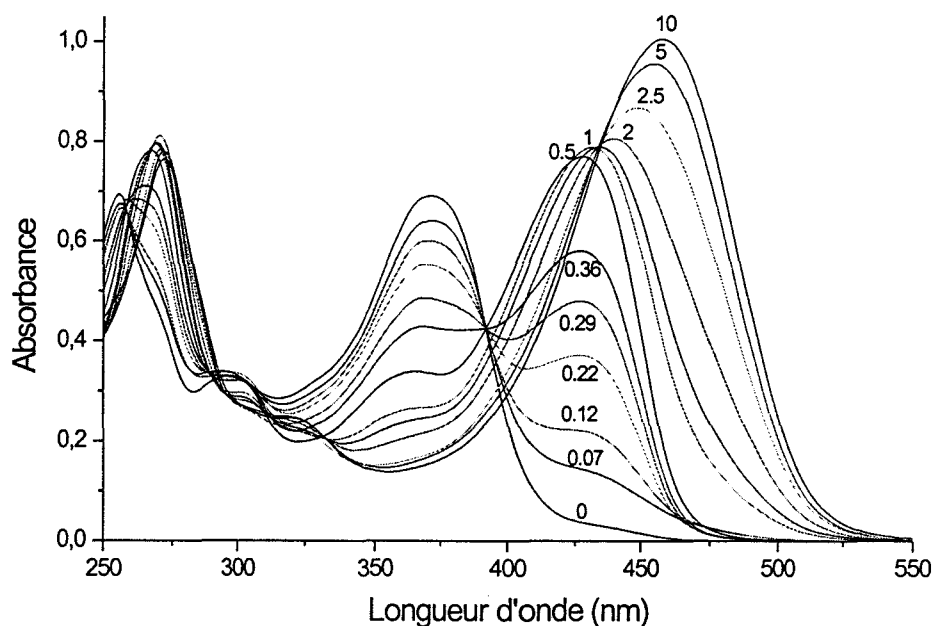


Fig. I.5 : Complexation de la quercétine avec  $AlCl_3$  dans le méthanol pur.

Ainsi, en présence d'un excès de quercétine dans le mélange réactionnel, un premier complexe (QCP1) dont le maximum d'absorption de la bande I se situe à 428 nm se forme, puis lorsque la concentration en  $\text{AlCl}_3$  augmente au sein de la solution, un second complexe (QCP2) dont le maximum d'absorption est à 456 nm apparaît. La formation successive de deux points isobestiques distincts indique que deux sites chélateurs de la molécule sont occupés successivement. D'après les courbes de rapports molaires tracées à 428 nm et à 456 nm (Fig. I.6 et I.7), les stœchiométries de QCP1 et de QCP2 sont respectivement  $\text{Al}(\text{Q})_2$  et  $\text{Al}_2(\text{Q})$ .

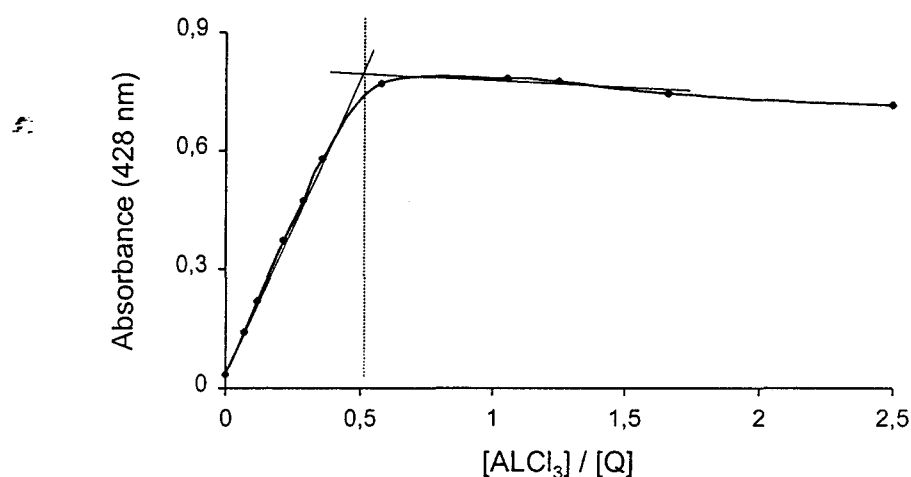


Fig. I.6 : Courbe de rapports molaires correspondant à la complexation de la quercétine dans le méthanol pur tracée au maximum d'absorption de la bande I de QCP1 (428 nm)

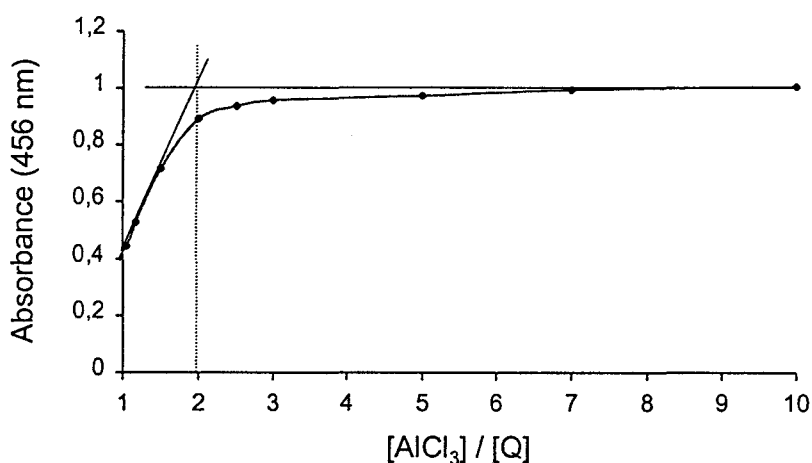


Fig. I.7 : Courbe de rapports molaires correspondant à la complexation de la quercétine dans le méthanol pur tracée au maximum d'absorption de la bande I de QCP2 (456 nm).

La position de la bande I de QCP1 est quasiment identique à celle de  $Al_2(Q)^{(3)}$  formé en milieu acide et la composition de ce chélate est analogue à celle du complexe formé avec la 3HF dans le méthanol pur. Le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle est donc le premier site impliqué dans la chélation de la quercétine.

QCP2 ne se forme pas lorsque le milieu de réaction contient HCl et réciproquement, l'ajout de HCl à une solution méthanoïque contenant ce second chélate restitue le spectre d'absorption de QCP1. Le groupement ortho-dihydroxyle est donc le second site engagé dans la réaction de complexation de la quercétine.

Ainsi, dans le méthanol pur, en présence d'un excès de quercétine, un premier complexe se forme au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle, QCP1 noté également  $Al(Q)_2^{(3)}$ . Pour une quantité plus importante en  $AlCl_3$  au sein de la solution, le groupement catéchol se complexe également et un chélate du type 1 : 1 au niveau des deux sites se forme, QCP2 ou  $Al_2(Q)^{(3,3')}$  (Fig. I.8).

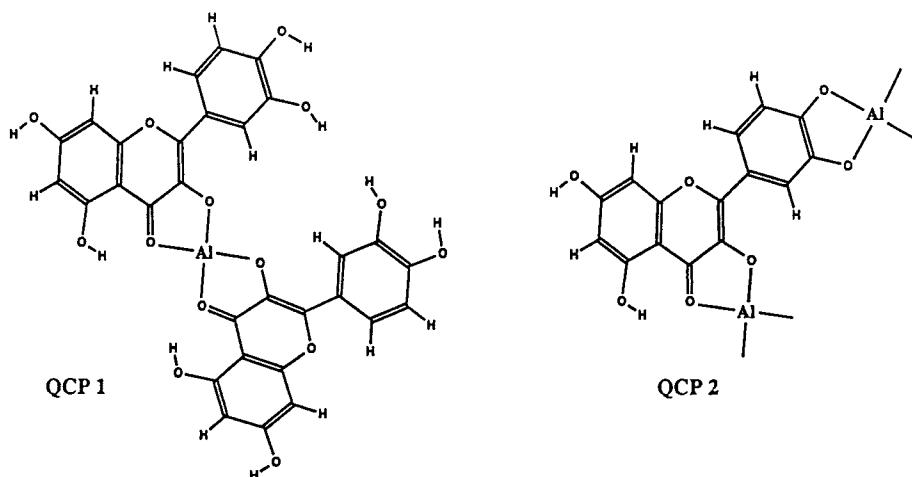


Fig. I.8 : Modèle des deux complexes formés successivement entre la quercétine et  $Al(III)$  dans le méthanol pur : QCP1 ou  $Al(Q)_2^{(3)}$  et QCP2 ou  $Al_2(Q)^{(3,3')}$ .

### I.2.2.b – Méthode des variations continues.

La figure I.9 représente les différents spectres des éléments de la gamme des variations continues de la quercétine se complexant avec  $Al(III)$  dans le méthanol pur. Sur ce réseau de spectres, deux points pseudo-isobestiques situés respectivement à 396 et 450 nm, indiquent

que lors de la réaction deux espèces différentes se forment. Le premier point correspond aux solutions où la fraction molaire en quercétine est supérieure à celle d'Al(III) et le second, à celles où Al(III) est en excès par rapport à la quercétine.

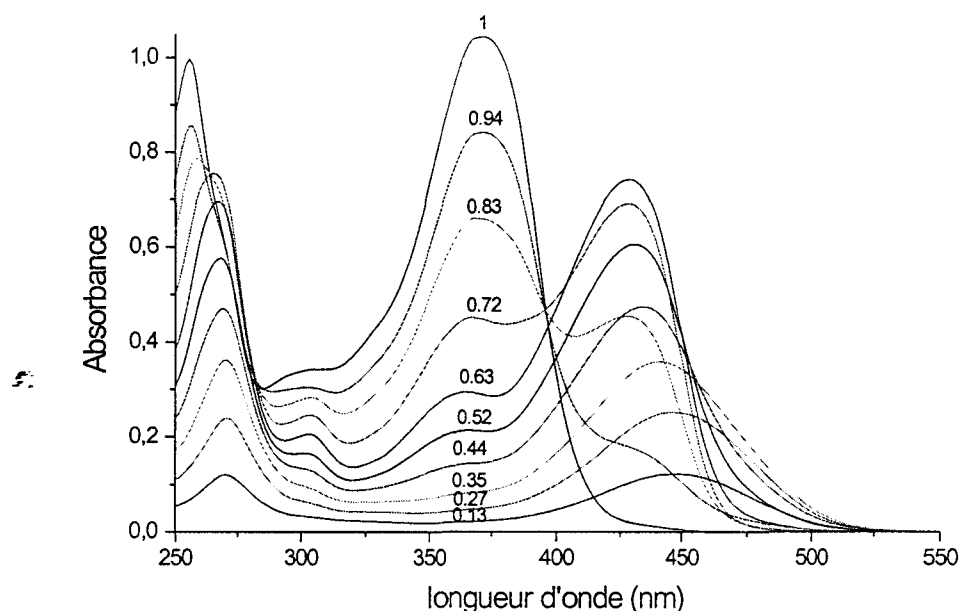


Fig. 1.9 : Spectres des différentes solutions de la gamme des variations continues correspondant à la complexation de la quercétine avec  $AlCl_3$  dans le méthanol pur. La fraction molaire  $x_{(Q)}$  est indiquée sur chacun des spectres.

Le premier complexe formé correspond à la bande I située à 428 nm et au point pseudo-isobestique à 396 nm. Ce premier point pseudo-isobestique, commun à quatre spectres, permet d'affirmer que dans le domaine de concentration où il apparaît, un seul complexe en équilibre avec la quercétine libre existe majoritairement [Monties, 1969(b)]. Sur la figure I.10, la courbe de Job calculée au maximum d'absorption du premier complexe formé ainsi que la courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique à 396 nm sont représentées. Les deux courbes donnent des résultats concordants, la stœchiométrie du premier complexe est Al(III) : Q = 1 : 2. La position de la bande d'absorption I ainsi que la composition de ce premier chélate permettent d'affirmer que celui-ci est QCP1 précédemment déterminé.

Le second complexe se forme lorsque les solutions contiennent un excès d'aluminium(III) par rapport au ligand, c'est-à-dire pour des fractions molaires en quercétine inférieures à 0,5. Le point pseudo-isobestique à 450 nm permet de concevoir que ce second chélate existe d'une manière prépondérante dans cette gamme de concentration. Ainsi, l'absorbance totale de la solution à 477 nm est essentiellement due à l'absorbance du second chélate, les absorbances de la quercétine libre et de QCP1 étant négligeables à cette longueur d'onde. La méthode de Job généralisée, décrite par Vosburg et Copper [1941], peut alors être appliquée à 477 nm. Sur la figure I.11, la fonction de Job ( $J'$ ) calculée à 477 nm et la courbe de variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique à 450 nm indiquent que la stœchiométrie du second complexe est Al(III) : Q = 2 : 1. Il a été vérifié que ce second complexe se dégrade en présence d'HCl, c'est-à-dire qu'il implique le groupement ortho-dihydroxyle. Celui-ci correspond donc à QCP2 préalablement identifié.

On peut remarquer que la courbe correspondant à la variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique à 450 nm permet d'obtenir la composition des deux complexes formés successivement.

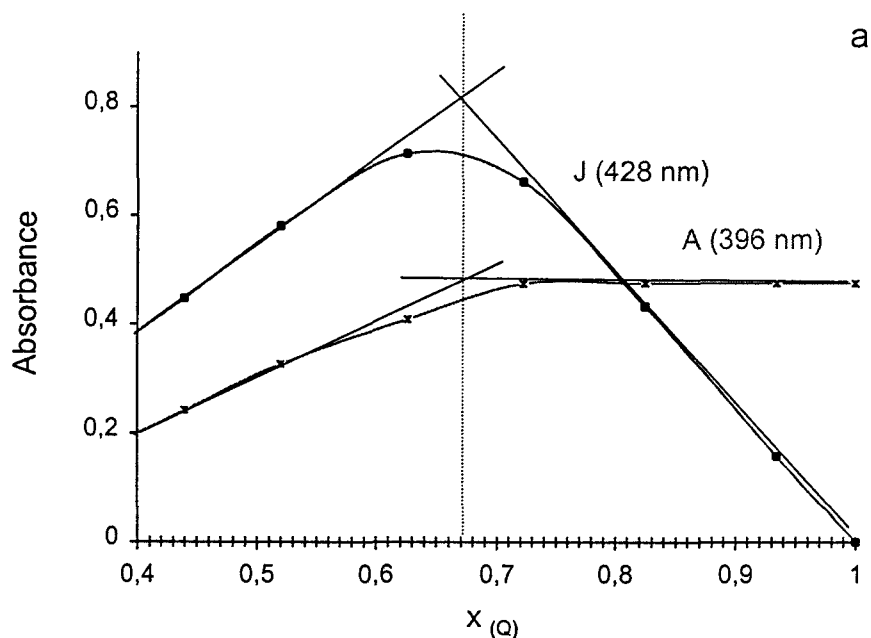


Fig. I.10 : Fonction de Job ( $J$ ) calculée au maximum d'absorption du premier complexe (428 nm) et variation de l'absorbance au premier point pseudo-isobestique (396 nm).

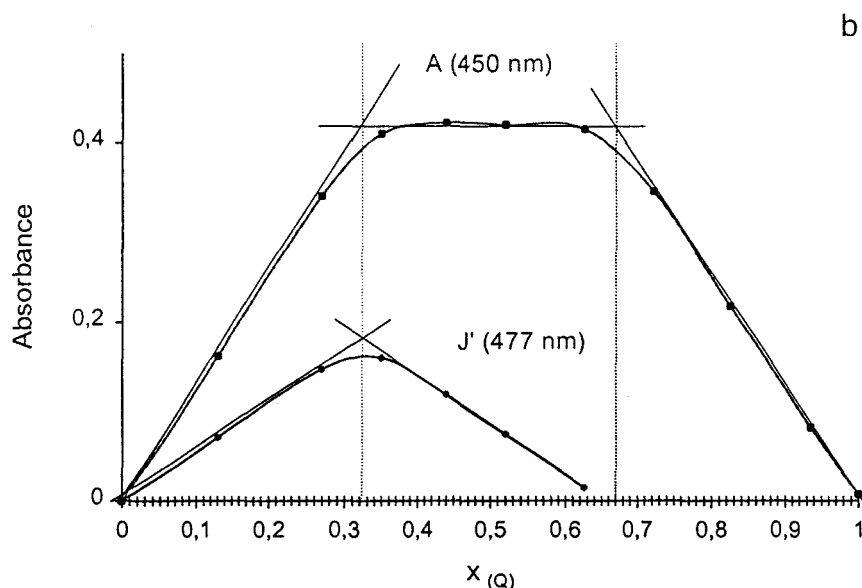


Fig. I.11 : Fonction de Job ( $J'$ ) calculée à une longueur d'onde où le second complexe est majoritaire (477 nm) et variation de l'absorbance au second point pseudo-isobestique (450 nm).

L'ensemble des résultats obtenus par la méthode des variations continues concorde avec ceux issus de la méthode des rapports molaires. Des conclusions identiques concernant la composition de ces deux complexes ont été obtenues par Monties [1969(c)].

### I.2.3 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium.

Dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique ( $10^{-1}$  M) et d'acétate de sodium ( $10^{-1}$  M), le pH apparent des différentes solutions varie de 6,8 à 5,8. Pour de faibles proportions en  $\text{AlCl}_3$ ,  $[\text{AlCl}_3] / [\text{Q}]$  de 0 à 1,3, la complexation de la quercétine se traduit par l'apparition d'une bande relativement large et peu intense à 431 nm avec formation d'un point isobestique à 400 nm. L'ajout d'une quantité plus importante d' $\text{AlCl}_3$  provoque le déplacement de cette bande vers les grandes longueurs d'onde et aucun point isobestique n'est observé. Pour des rapports  $[\text{AlCl}_3] / [\text{Q}]$  compris entre 10 et 100, les spectres forment un second point isobestique à 414 nm (Fig. I.12) et le maximum de la bande d'absorption est centré sur 452 nm.

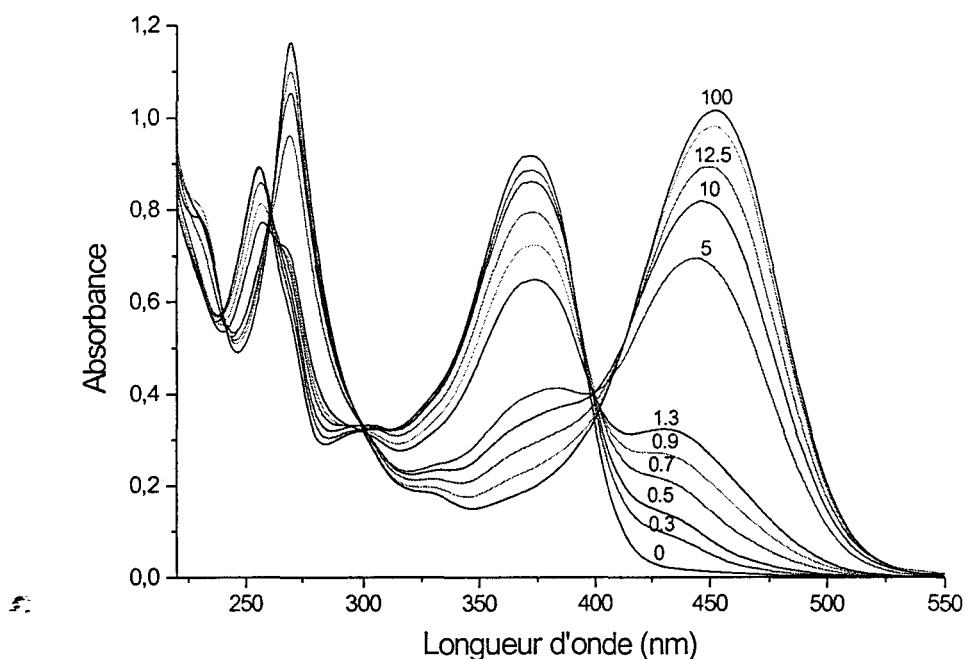


Fig. 1.12 : Réseau de spectres correspondant à la complexation de la quercétine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) avec  $AlCl_3$  dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique  $10^{-1} M$  et d'acétate de sodium  $10^{-1} M$ .

Les courbes de rapports molaires tracées à 431 nm et à 452 nm indiquent que les stœchiométries respectives des deux chélates sont  $Al(III) : Q = 1 : 1$  (431 nm) et  $2 : 1$  (452 nm) (Fig. I.13).

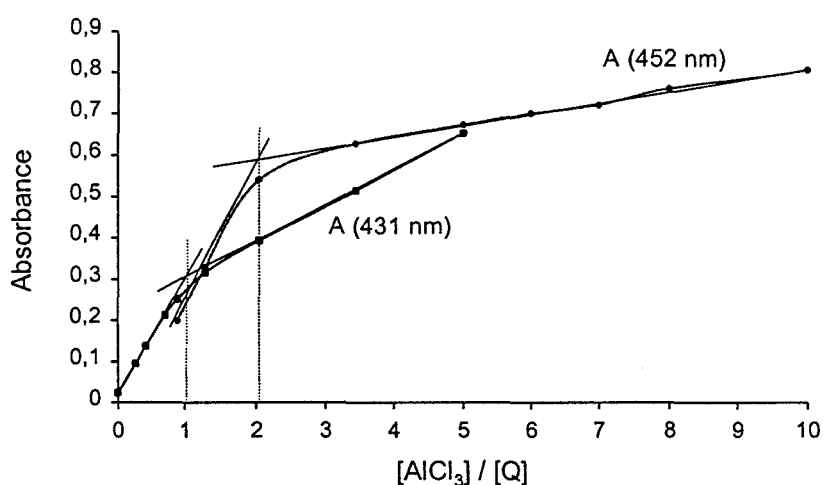


Fig. 1.13 : Courbes de rapports molaires tracées à 431 nm et à 452 nm correspondant à la complexation de la quercétine dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique ( $10^{-1} M$ ) et d'acétate de sodium ( $10^{-1} M$ ).

Le complexe final obtenu dans ce milieu réactionnel est QCP2 formé dans le méthanol pur. Néanmoins, la réaction est plus difficile en présence d'eau et le spectre obtenu pour un rapport  $[AlCl_3] / [Q] = 100$  dans le mélange correspond à celui où  $[AlCl_3] / [Q] = 2,5$  dans le méthanol.

Bien que la complexation de la quercétine dans le mélange étudié conduise pour des concentrations élevées en  $AlCl_3$  à la formation de QCP2 obtenu dans le méthanol, l'allure générale du réseau de spectres dans ce milieu est différente de celle du réseau obtenu dans le méthanol. Le mécanisme de formation de QCP2 n'est donc pas le même dans les deux milieux réactionnels et la formation préalable de QCP1 n'est pas observée dans le mélange acide. La comparaison des spectres d'absorption des différents complexes obtenus dans les divers milieux (Fig. I.14) indique que le premier site occupé dans le mélange acide acétique – acétate de sodium n'est pas le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle. En effet :

(i) la bande d'absorption à 431 nm (Fig. I.14, spectre b) est beaucoup plus large que la bande I correspondant à QCP1 et à  $Al_2(Q)^{(3)}$  obtenus respectivement dans le méthanol pur et en présence d'HCl (Fig. I.14, spectre QCP1 et a).

(ii) d'après l'étude préalable, la 3HF se complexe difficilement dans ce mélange acide et forme un chélate de type pont solvaté, de stœchiométrie  $Al_2(3HF)$ . La composition obtenue pour le premier chélate de la quercétine dans ce milieu est  $Al(III) : Q = 1 : 1$ .

La présence d'eau et d'acétate inhibe la réactivité du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle vis-à-vis de l'aluminium(III). Bien que la réaction de complexation de la 3'4'diHF soit difficile et incomplète dans un tel milieu réactionnel, le groupement ortho-dihydroxyle semble être le premier site impliqué dans la complexation de la quercétine dans le mélange acide acétique - acétate.

Le premier chélate est donc du type  $Al(Q)^{(3')}$  et sa formation correspond à la présence du premier point isobestique sur le réseau de spectre. Lorsque suffisamment d'entités  $AcO^-$  ont été neutralisées par cette première réaction, la quercétine se complexe au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle. Cette seconde réaction commence avant que le premier équilibre soit totalement déplacé et les deux sites se chélatent simultanément, ceci se traduit par une absence de point isobestique.



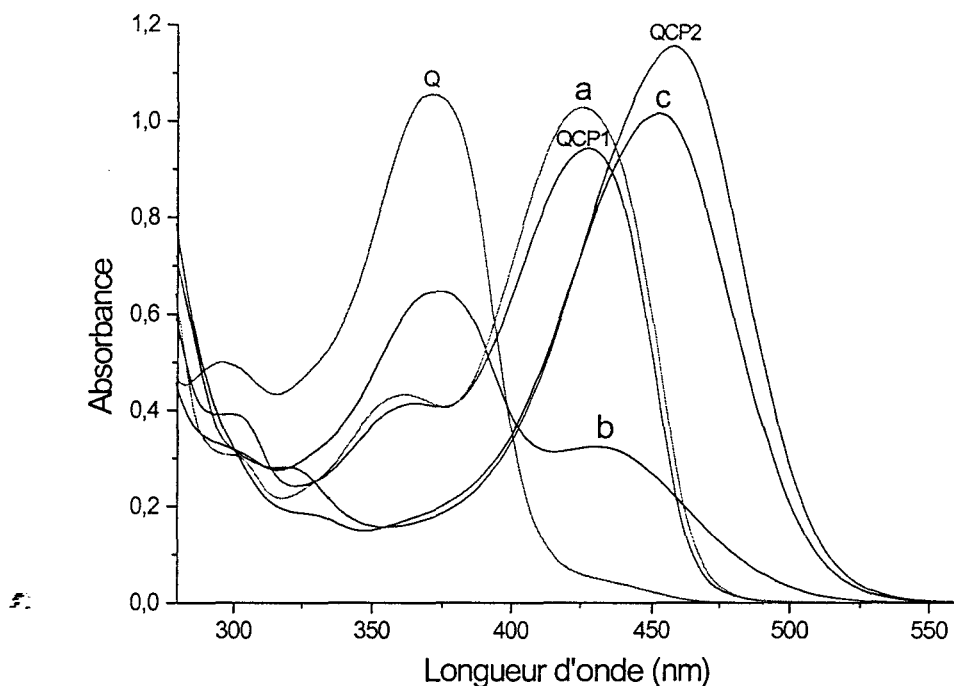


Fig. I. 14 : Spectres d'absorption de la quercétine dans le méthanol (Q), du complexe formé en présence d'HCl (a), des deux complexes successivement formés dans le méthanol pur (QCP1 et QCP2) et des deux complexes formés en présence du mélange aqueux acide acétique - acétate de sodium (b et c).

### I.3 –Complexation de la quercétine en milieu basique.

L'étude préalable réalisée avec des ligands plus simples a montré que la présence de base dans le milieu réactionnel ne favorisait pas toujours la complexation et l'obtention de complexe de stœchiométrie plus élevée. Les groupements 3-hydroxy-4-carbonyle et 5-hydroxy-carbonyle rivalisent difficilement avec le fort pouvoir chélateur des entités  $\text{AcO}^-$  et  $\text{MeO}^-$  et seul le groupement ortho-dihydroxyle permet la formation de chélate de stœchiométrie élevée. La figure I.15 représente les spectres d'absorption UV-visible de la quercétine en solution dans le méthanol pur (a), dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M (c).

Selon Jurd [1962], un déplacement bathochrome de 8 à 20 nm de la bande II est caractéristique de l'ionisation de la fonction hydroxyle en position 7 et la déprotonation du groupement hydroxyle en position 4' conduit à un déplacement de la bande I de 40 à 65 nm vers les grandes longueurs d'onde.

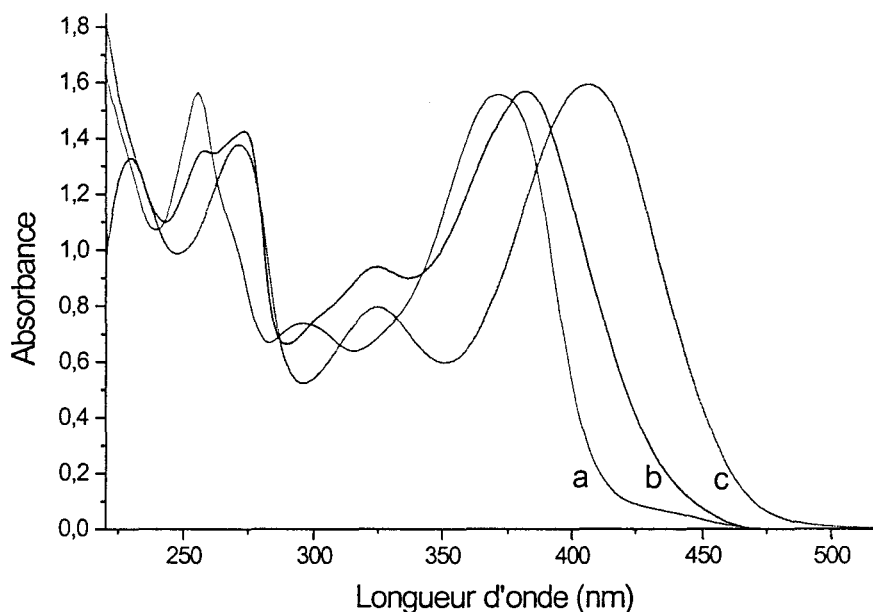


Fig. I.15 : Spectres d'absorption UV-visible de la quercétine dans le méthanol pur (a), dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et en présence de méthanoate de sodium  $5.10^{-3}$  M (c).

(i) La bande I de la quercétine observée à 372 nm dans le méthanol pur se déplace de 10 nm vers les grandes longueurs d'onde en présence d'acétate de sodium et se situe à 406 nm dans la solution contenant du méthanoate de sodium.

(ii) La bande II à 255 nm dans le méthanol pur apparaît à 273 nm en présence de méthanoate de sodium. Le spectre correspondant à la molécule en solution dans le méthanol en présence d'acétate de sodium présente les deux composantes 255 nm et 273 nm.

D'après ces observations, les fonctions hydroxyles les plus acides de la molécule, c'est-à-dire celles en position 7, 3 et 4', semblent donc être partiellement déprotonées en présence d'acétate de sodium et totalement ionisées en présence de méthanoate de sodium. Toutes les fonctions hydroxyles présentes sur le noyau flavonique sont néanmoins plus ou moins déprotonées dans le méthanoate de sodium. Cependant, comme le prévoit la bibliographie la quercétine qui possède des groupements hydroxyles libres en position 3 et 4' n'est pas stable dans ce milieu [Dechene, 1951]. Elle s'oxyde rapidement et l'intensité de la bande I diminue en fonction du temps (Fig. I.16) : l'étude de la complexation dans ce milieu n'est donc pas envisageable.

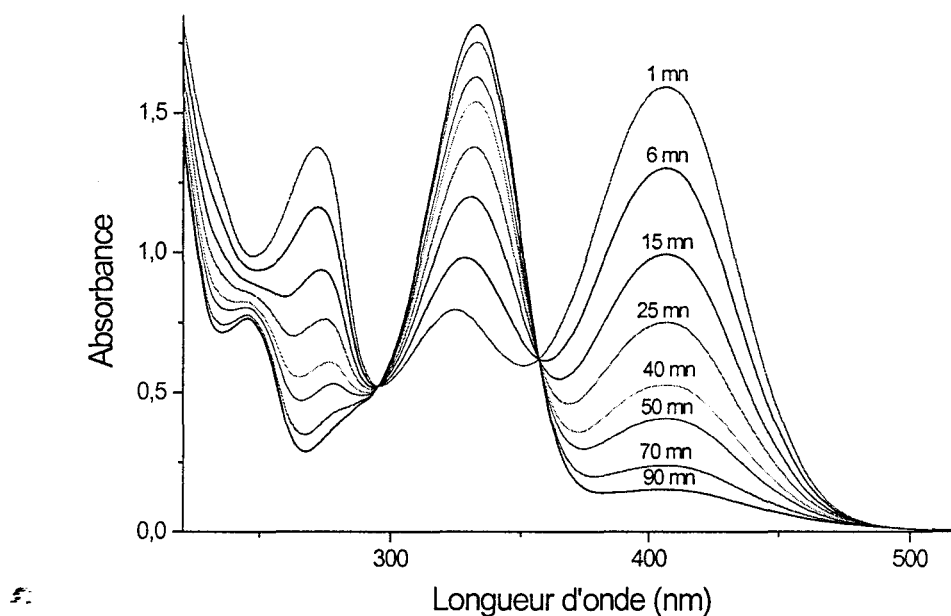


Fig. I.16 : Evolution en fonction du temps (en minute, mn), du spectre d'absorption de la quercétine en solution dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} M$ .

La famille de spectres correspondant à la complexation de la quercétine dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1} M$  est relativement compliquée et par soucis de clarté, seuls certains spectres sont représentés (Fig. I.17).

(i) Pour  $0 \leq [AlCl_3] / [Q] \leq 0,76$ , la bande I du complexe apparaît vers 443 nm et les spectres forment un premier point isobestique à 412 nm.

(ii) Pour  $0,76 \leq [AlCl_3] / [Q] \leq 1,85$ , les spectres ne passent plus par un point isobestique et la bande I relative à la molécule complexée se déplace vers les grandes longueurs d'onde.

(iii) Pour  $1,85 \leq [AlCl_3] / [Q] \leq 100$ , la bande I du complexe se déplace jusqu'à 456 nm et un second point isobestique à 440 nm est observé.

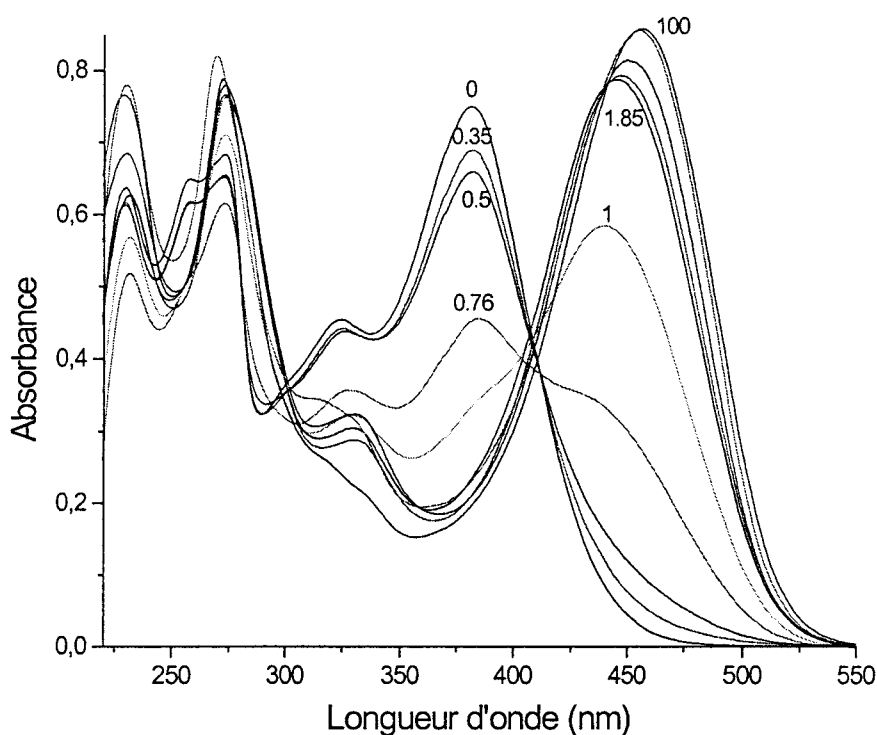


Fig. I.17 : Spectres d'absorption UV-visible correspondant à la complexation de la quercétine dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M, pour différents rapports  $[AlCl_3] / [Q]$ .

Les courbes de rapports molaires sont tracées à 443 nm, à 456 nm ainsi qu'à 382 nm, maximum d'absorption de la molécule libre (Fig. I.18). On peut remarquer que :

- (i) La courbe de variation de l'absorbance à 443 nm présente deux inflexions pour  $[AlCl_3] / [Q]$  égal à 0,5 et à 1.
- (ii) Une inflexion apparaît pour un rapport  $[AlCl_3] / [Q] = 2$  sur la courbe représentant l'évolution de l'absorbance à 456 nm.
- (iii) Les trois inflexions sont présentes sur le tracé de l'absorbance au maximum d'absorption de la molécule libre (382 nm).

Dans l'acétate de sodium  $10^{-1}$  M, l'obtention du complexe  $Al_2(Q)$  est donc précédée de la formation  $Al(Q)_2$  et de  $Al(Q)$ .

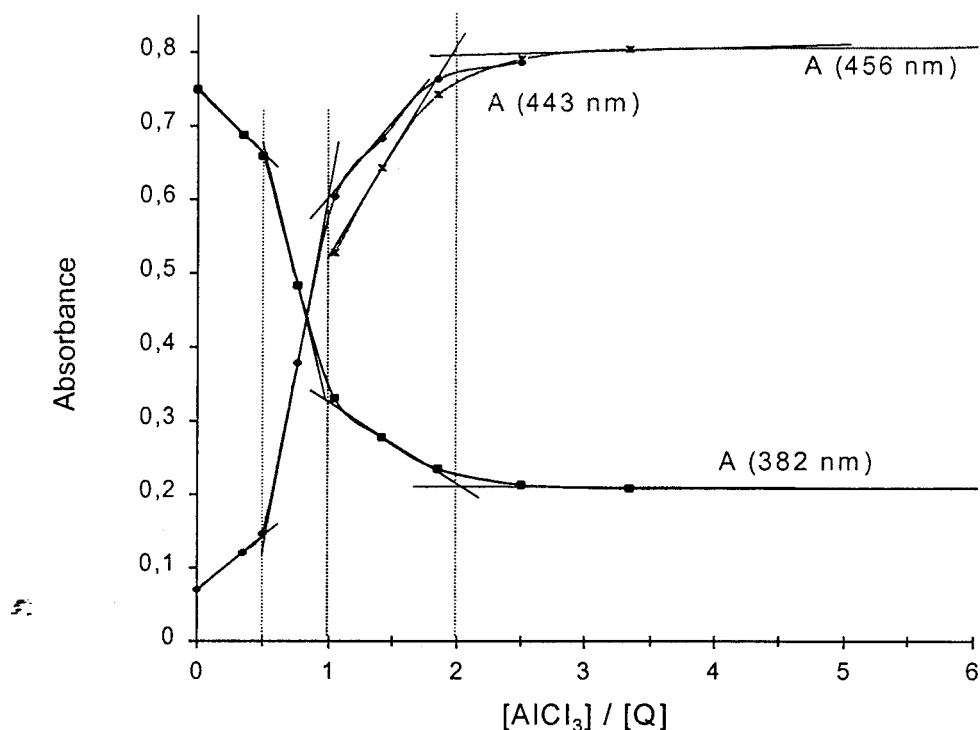


Fig. 1.18 : Courbes de rapports molaires tracées à 443 nm, à 456 nm et au maximum d'absorption de la molécule libre (382 nm) correspondant à la complexation de la quercétine en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

Le premier complexe dont le maximum d'absorption de la bande I se situe vers 443 nm, est constitué de deux molécules de quercétine liées à Al(III). Bien que l'état d'ionisation de la quercétine soit différent dans le méthanol et dans l'acétate de sodium avec notamment la fonction hydroxyle en position 7 qui est déprotonée, il est peu probable que ce complexe corresponde à QCP1, dont le maximum d'absorption est à 428 nm. Pour de faibles quantités d'aluminium(III), seul le groupement 3'4'ortho-dihydroxyle peut rivaliser avec les entités  $AcO^-$  présentes en solution et former des complexes de stœchiométrie élevée. Les sites 3-hydroxy-4-carbonyl et surtout 5-hydroxy-4-carbonyl sont en compétition défavorable avec les ions  $AcO^-$ . Le premier complexe est donc constitué de deux molécules de quercétine coordonnées à un Al(III) au niveau du groupement catéchol, il est du type  $Al(Q)_2^{(3')}$ .

Le complexe final est obtenu pour d'importantes quantités d' $AlCl_3$  ( $[AlCl_3] / [Q]$  proche de 100) qui ne permettent plus de considérer le milieu réactionnel comme basique lorsque la réaction de complexation est totale. La composition  $Al_2(Q)$  et la position du

maximum d'absorption (456 nm) de ce dernier complexe indiquent que celui-ci est QCP2 obtenu dans le méthanol.

Le complexe intermédiaire dont le maximum d'absorption est mal défini puisqu' aucun point isobestique n'est observé, a une stœchiométrie Al(III) : Q = 1 : 1 qui laisse supposer qu'un unique site de la quercétine est chélaté. Ce site ne peut être que le groupement ortho-dihydroxyle impliqué à la fois dans le premier et le dernier complexe. Cependant, un chélate 1 : 1 au niveau de ce site a déjà été observé dans le mélange acide acétique - acétate de sodium, son maximum d'absorption se situe à 431 nm. Bien que le spectre de ce même complexe soit légèrement différent dans l'acétate de sodium où la quercétine est partiellement déprotonée, le passage de  $Al(Q)_2^{(3')}$  à  $Al(Q)^{(3')}$  présenterait un déplacement hypsochrome de la bande I. Il semble plus vraisemblable que la stœchiométrie de ce complexe intermédiaire soit  $Al(III) : Q = 2 : 2$ , c'est à dire que ce soit un double chélate au niveau des deux sites : 3'4'dihydroxyle et 3-hydroxy-4-carbonyle. La formation de ce complexe,  $Al_2(Q)_2^{(3,3')}$ , commence lorsque suffisamment d'entités  $AcO^-$  ont été neutralisées par la première réaction, c'est-à-dire avant que la formation de  $Al(Q)_2^{(3')}$  soit complète. La chélation simultanée des deux sites ne permet pas l'observation de point isobestique.

#### I.4 – Analyse conformationnelle des complexes QCP1 et QCP2.

L'optimisation de la géométrie de la quercétine par la méthode semi-empirique AM1 a montré que la molécule à l'état isolé adopte une conformation gauche avec quatre valeurs possibles pour l'angle  $\theta$  :  $\pm 26,70^\circ$  et  $\pm 152,70^\circ$ . Une valeur de  $\theta$  égale à  $26,70^\circ$  est plus favorable énergétiquement qu'une valeur de  $152,7^\circ$ . La molécule est stabilisée par trois liaisons hydrogènes intramoléculaires :  $O2---H-O5 = 2,004 \text{ \AA}$ ,  $O2---H-O3 = 2,221 \text{ \AA}$  et  $O3'---H-O4' = 2,260 \text{ \AA}$ .

La coordination avec Al(III) pour former QCP1 s'effectue par déplacement du proton en position 3, c'est-à-dire par rupture de la liaison hydrogène  $O2---H-O3$ . La formation de QCP2 provoque la déprotonation des deux hydroxyles du cycle B et la rupture de la liaison hydrogène  $O3'---H-O4'$ .

La minimalisation d'énergie de QCP1 effectuée à partir des deux valeurs possibles de l'angle  $\theta$  conduit à l'obtention de deux formes de stabilité équivalente pour le complexe :

$\theta = 11,26^\circ$  et  $\theta = -166,55^\circ$  (Table I.1). Dans les deux cas, le chélate est constitué de deux molécules de quercétine strictement identiques d'un point de vue structural et électronique.

Bien que l'étude réalisée sur la complexation de la 3HF indique qu'Al(III) en solution méthanoïque est certainement sous la forme  $\text{Al(OMe)}_2^+$ , la minimalisation d'énergie de QCP2 a été effectuée à partir des deux valeurs de l'angle  $\theta$ , en utilisant pour compléter la valence de l'aluminium(III), les différentes entités X possibles (OMe, OH, Cl). Les valeurs obtenues, à l'issue de ces différents calculs, pour l'enthalpie de formation et l'angle  $\theta$  sont présentées dans la table I.1. Le choix de X pour compléter la valence de l'aluminium(III) a des répercussions sur la valeur de l'angle  $\theta$  dues à des différences d'encombrement stérique entre les trois entités. Néanmoins, quelle que soit la nature de ce substituant X, les structures issues de la conformation de la quercétine avec  $\theta$  égal à  $26,70^\circ$  sont plus stables que celle optimisées à partir de  $\theta = 152,70^\circ$ . Les autres paramètres géométriques de QCP2 sont peu affectés par le choix du substituant X.

|  | Q       |         | QCP1    |         | QCP2                 |         |                     |         |                   |         |
|--|---------|---------|---------|---------|----------------------|---------|---------------------|---------|-------------------|---------|
|  |         |         |         |         | $\text{Al(OMe)}_2^+$ |         | $\text{Al(OH)}_2^+$ |         | $\text{AlCl}_2^+$ |         |
| $\theta$ (°)                           | 26,70   | 152,70  | 11,26   | -166,55 | -6,56                | -177,05 | -6,86               | 179,66  | -0,57             | 179,91  |
| $\Delta H_f$ (kcal.mol <sup>-1</sup> ) | -215,37 | -214,81 | -332,38 | -332,37 | -575,44              | -573,13 | -583,71             | -581,52 | -581,52           | -580,10 |

Table I.1 : Enthalpie de formation (en kcal.mol<sup>-1</sup>) et angle  $\theta$  (en °) des deux conformères de la quercétine, de QCP1 et des différents modèles possibles pour QCP2.

Les paramètres structuraux ainsi que la distribution des charges atomiques de la quercétine, de QCP1 et de QCP2 sont présentés respectivement dans les tables I.2, I.3, I.4 et sur la figure I.19.

Les deux molécules de la quercétine étant similaires dans QCP1, une seule est représentée sur la figure I.19. Pour QCP2, l'entité complexante choisie est  $\text{Al(OMe)}_2^+$ .

Partie IV : Chapitre I : Complexation de la quercétine avec l'aluminium(III)

|         | Q                     | QCP1                   | QCP2                   |
|---------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|         | $\theta = 26,7^\circ$ | $\theta = 11,26^\circ$ | $\theta = -6,56^\circ$ |
| O1-C2   | 1,392                 | 1,381                  | 1,392                  |
| C2-C3   | 1,363                 | 1,384                  | 1,394                  |
| C3-C4   | 1,471                 | 1,441                  | 1,434                  |
| C4-C10  | 1,451                 | 1,415                  | 1,430                  |
| C10-C5  | 1,418                 | 1,427                  | 1,421                  |
| C5-C6   | 1,403                 | 1,397                  | 1,398                  |
| C6-C7   | 1,401                 | 1,406                  | 1,406                  |
| C7-C8   | 1,403                 | 1,408                  | 1,396                  |
| C8-C9   | 1,399                 | 1,393                  | 1,406                  |
| C9-C10  | 1,412                 | 1,426                  | 1,414                  |
| C9-O1   | 1,380                 | 1,380                  | 1,372                  |
| C2-C1'  | 1,460                 | 1,449                  | 1,434                  |
| C1'-C2' | 1,402                 | 1,407                  | 1,421                  |
| C2'-C3' | 1,395                 | 1,391                  | 1,382                  |
| C3'-C4' | 1,412                 | 1,417                  | 1,449                  |
| C4'-C5' | 1,402                 | 1,405                  | 1,404                  |
| C5'-C6' | 1,390                 | 1,387                  | 1,386                  |
| C6'-C1' | 1,404                 | 1,409                  | 1,412                  |
| C4-O2   | 1,248                 | 1,320                  | 1,311                  |
| C3-O3   | 1,379                 | 1,362                  | 1,352                  |
| C5-O5   | 1,381                 | 1,358                  | 1,362                  |
| C7-O7   | 1,370                 | 1,360                  | 1,373                  |
| C4'-O4' | 1,371                 | 1,363                  | 1,326                  |
| C3'-O3' | 1,381                 | 1,379                  | 1,349                  |
| O3-H3   | 0,974                 |                        |                        |
| O5-H5   | 0,974                 | 0,972                  | 0,975                  |
| O7-H7   | 0,970                 | 0,973                  | 0,969                  |
| O4'-H4' | 0,971                 | 0,973                  |                        |
| O3'-H3' | 0,968                 | 0,968                  |                        |
| Al-O3   |                       | 1,768                  | 1,790                  |
| Al-O2   |                       | 1,797                  | 1,823                  |
| O3'-Al  |                       |                        | 1,806                  |
| O4'-Al  |                       |                        | 1,792                  |

|             | Q                     | QCP1                   | QCP2                   |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|             | $\theta = 26,7^\circ$ | $\theta = 11,26^\circ$ | $\theta = -6,56^\circ$ |
| C9-O1-C2    | 118,76                | 120,53                 | 120,77                 |
| O1-C2-C3    | 121,23                | 119,50                 | 118,86                 |
| C2-C3-C4    | 122,57                | 121,09                 | 121,17                 |
| C3-C4-C10   | 115,07                | 119,50                 | 119,42                 |
| C4-C10-C9   | 119,10                | 116,62                 | 116,60                 |
| C4-C10-C5   | 123,36                | 125,96                 | 125,41                 |
| C10-C5-C6   | 121,00                | 120,75                 | 120,71                 |
| C5-C6-C7    | 119,20                | 119,59                 | 119,23                 |
| C6-C7-C8    | 121,79                | 121,72                 | 122,09                 |
| C7-C8-C9    | 117,81                | 117,86                 | 117,77                 |
| C8-C9-C10   | 122,67                | 122,67                 | 122,20                 |
| C8-C9-O1    | 114,06                | 114,57                 | 114,61                 |
| C10-C9-O1   | 123,27                | 122,77                 | 123,18                 |
| O1-C2-C1'   | 110,85                | 111,90                 | 111,56                 |
| C3-C2-C1'   | 127,92                | 128,61                 | 129,59                 |
| C2-C1'-C6'  | 120,07                | 120,13                 | 119,98                 |
| C1'-C6'-C5' | 120,28                | 121,04                 | 121,84                 |
| C6'-C5'-C4' | 119,68                | 119,73                 | 119,14                 |
| C5'-C4'-C3' | 119,48                | 119,35                 | 119,50                 |
| C4'-C3'-C2' | 120,70                | 120,82                 | 120,71                 |
| C3'-C2'-C1' | 119,43                | 119,50                 | 119,15                 |
| C2'-C1'-C6' | 119,82                | 119,56                 | 119,66                 |
| C3-C4-O2    | 120,08                | 116,29                 | 117,17                 |
| C10-C4-O2   | 124,86                | 124,21                 | 123,41                 |
| C2-C3-O3    | 119,57                | 123,62                 | 123,56                 |
| C4-C3-O3    | 117,86                | 115,29                 | 115,27                 |
| C10-C5-O5   | 124,16                | 123,84                 | 123,80                 |
| C6-C5-O5    | 114,85                | 115,41                 | 115,49                 |
| C6-C7-O7    | 122,10                | 122,43                 | 121,54                 |
| O7-C7-C8    | 116,12                | 115,85                 | 116,37                 |
| C5'-C4'-O4' | 117,59                | 117,58                 | 123,72                 |
| C4'-C3'-O3' | 116,03                | 115,53                 | 115,89                 |
| C3-O3-H     | 107,08                |                        |                        |
| C5-O5-H     | 110,47                | 110,68                 | 110,15                 |
| C7-O7-H     | 108,30                | 109,18                 | 108,04                 |
| C4'-O4'-H   | 108,13                | 108,85                 |                        |
| C3'-O3'-H   | 107,80                | 108,21                 |                        |
| O3-Al-O2    |                       | 94,06                  | 92,53                  |
| O3'-Al-O4'  |                       |                        | 94,18                  |
| C3'-O3'-Al  |                       |                        | 106,56                 |
| C4'-O4'-Al  |                       |                        | 106,54                 |
| C3-O3-Al    |                       |                        | 107,68                 |
| C4-O2-Al    |                       |                        | 107,24                 |

Table I.2 : Longueurs de liaisons (Å).

Table I.3 : Angles de liaison (°).



|                | Q                     | QCP1                   | QCP2                   |
|----------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|                | $\theta = 26,7^\circ$ | $\theta = 11,26^\circ$ | $\theta = -6,56^\circ$ |
| O1-C2-C1'-C2'  | -153,30               | -168,60                | 172,87                 |
| C3-C2-C1'-C6'  | -153,18               | -168,54                | 174,05                 |
| O1-C2-C1'-C6'  | 26,70                 | 11,26                  | -6,56                  |
| C6-C7-O7-H     | -0,14                 | -0,05                  | -0,04                  |
| C6-C5-O5-H     | -179,91               | 179,15                 | 178,36                 |
| C4-C3-O3-H     | -8,14                 |                        |                        |
| C5'-C4'-O4'-H  | 179,33                | -179,89                |                        |
| C2'-C3'-O3'-H  | -5,05                 | -0,74                  |                        |
| O1-C2-C3-O3    | 179,11                | 179,88                 | 179,38                 |
| C2-C3-O3-Al    |                       | 178,46                 | -178,28                |
| C10-C4-O2-Al   |                       | -178,91                | 177,19                 |
| C9-O1-C2-C1'   | -179,47               | -179,54                | -179,57                |
| C2-C3-C4-O2    | -178,77               | -179,35                | 179,23                 |
| C9-O1-C2-C3    | 0,41                  | 0,29                   | -0,109                 |
| C2'-C3'-O3'-Al |                       |                        | -178,79                |
| C5'-C4'-O4'-Al |                       |                        | 178,7                  |

f.

Table I.4 : Angles dièdres ( $^\circ$ ).

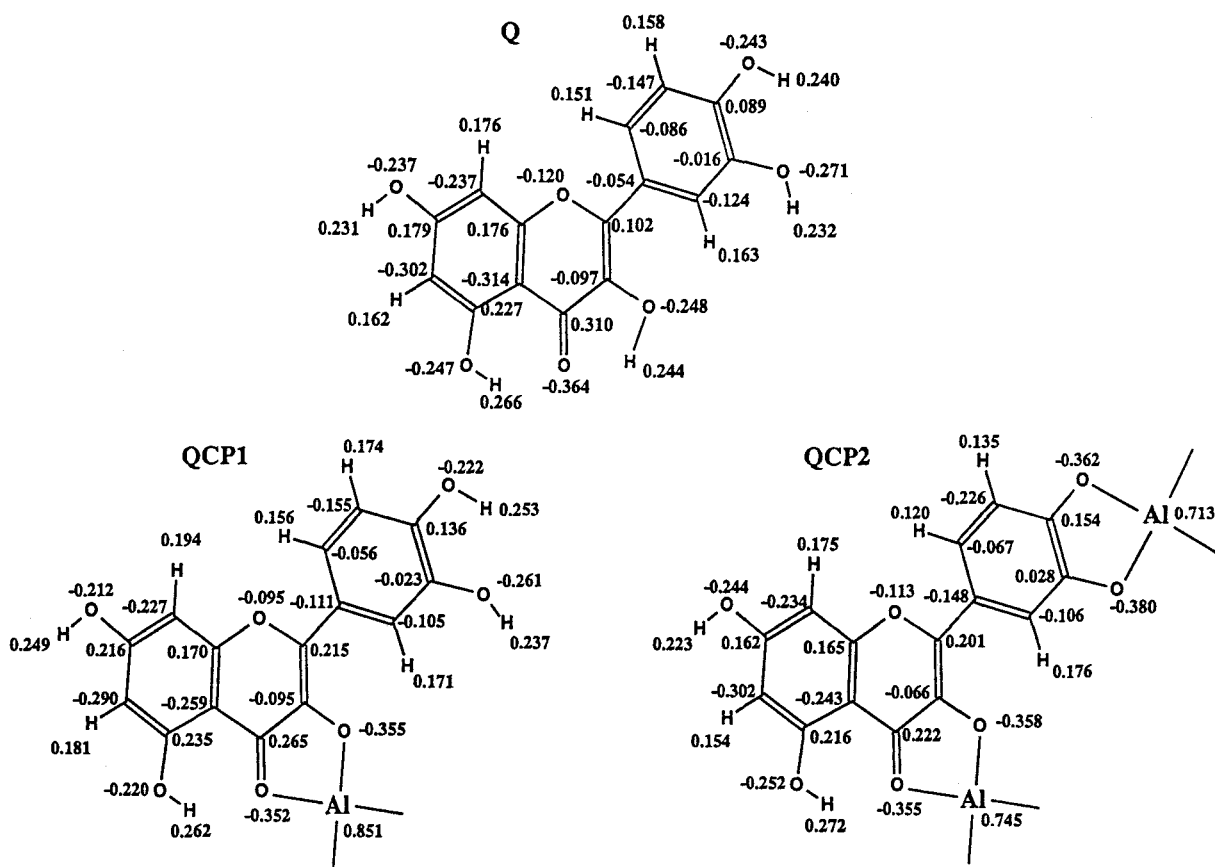


Fig. I.19 : Distribution des charges atomiques calculées pour la quercétine, QCP1 et QCP2.

## I.4.1 – Géométrie du complexe QCP1.

La coordination avec Al(III) modifie l'ensemble de la répartition des charges atomiques de la molécule et QCP1 possède une charge +1 essentiellement localisée sur Al(III) (+ 0,851). Les atomes les plus affectés sont C2 et C3 dont les charges varient respectivement de - 0,113 et + 0,107. Les charges portées par les carbones 4, 10 et 1' ainsi que celles des carbones en position conjuguée avec le carbonyle, 4' et 7, sont également perturbées.

D'un point de vue structural, la molécule est profondément modifiée par la coordination avec Al(III). Le cycle intermédiaire est le plus affecté et conformément à la géométrie du chélate formé avec la 3HF, QCP1 adopte une forme pyronium (Fig. I.20a) :

(i) les longueurs des liaisons C2-C3 et C9-C10 augmentent de 0,021 Å et 0,014 Å respectivement.

(ii) les longueurs des liaisons O1-C2, C3-C4 et C4-10 diminuent respectivement de 0,012 Å, 0,030 Å et 0,036 Å.

(iii) les angles de liaison du cycle C se rapprochent tous d'une valeur de 120°.

L'extension de la conjugaison jusqu'au cycle B se traduit par une diminution de la longueur de la liaison inter-cycle C2-C1' de 0,011 Å. La diminution des longueurs des liaisons C2'-C3' et C5'-C6' associée à l'augmentation des longueurs des liaisons C1'-C2', C1'-C6', C3'-C4' et C4'-C5' indiquent que la forme mésomère cynamoyle participe de manière significative à la géométrie de la molécule (Fig. I.20b). Ceci se traduit également par une légère modification de la valeur des angles de liaison de ce cycle et par une diminution de la longueur de la liaison C4'-O4'.

La géométrie du cycle A indique que la forme mésomère benzoyle participe également à la conformation du premier chélate. Les liaisons C10-C5, C6-C7, C7-C8 et C9-C10 voient leurs longueurs augmenter alors que celles des liaisons C5-C6 et C8-C9 diminuent. Les valeurs des angles de liaison de ce cycle sont également modifiées et la longueur de la liaison C7-O7 diminue.

La géométrie de QCP1 est donc essentiellement une forme pyronium. Néanmoins la présence de groupements hydroxyles en position conjuguée à la fonction carbonyle (7 et 4') permet une contribution plus importante que celle observée dans la 3HF des formes benzoyle et cynamoyle à la résonance totale de la molécule.

L'extension de la conjugaison jusqu'au cycle B entraîne une nette diminution de l'angle  $\theta$  dont la valeur est de  $11,6^\circ$ . L'encombrement stérique généré par la chélation en position 3 provoque un léger basculement du cycle B dans le plan  $\gamma$ -pyrone. La rotation et le basculement de ce cycle rendent les interactions entre les oxygènes O1 et O3 et les hydrogènes en position 2' et 6' plus fortes. La distance séparant O1 et H6' passe de 2,40 Å dans la quercétine libre à 2,32 Å dans QCP1 et celle séparant O3 et H2' passe de 2,20 Å à 2,13 Å.

Au niveau du site de complexation, la longueur de la liaison C4-O2 augmente de 0,072 Å alors que celle de C3-O3 diminue de 0,017 Å mais ces deux liaisons ne sont pas égales. La diminution de l'angle C3-C4-O2 et l'augmentation de C2-C3-O3 d'environ  $4^\circ$  occasionnent un rapprochement de O2 et O3 dont la distance passe de 2,744 Å dans la quercétine libre à 2,609 Å dans QCP1. Alors que dans la quercétine libre, le groupement hydroxyle en position 3 n'est pas inclus dans le plan  $\gamma$ -pyrone, le site de complexation forme avec Al(III), un cycle parfaitement plan et coplanaire à la partie chromone. L'angle O2-Al-O3 vaut  $94^\circ$  et les longueurs des liaisons Al-O3 et Al-O2 sont respectivement égales à 1,768 Å et 1,797 Å.

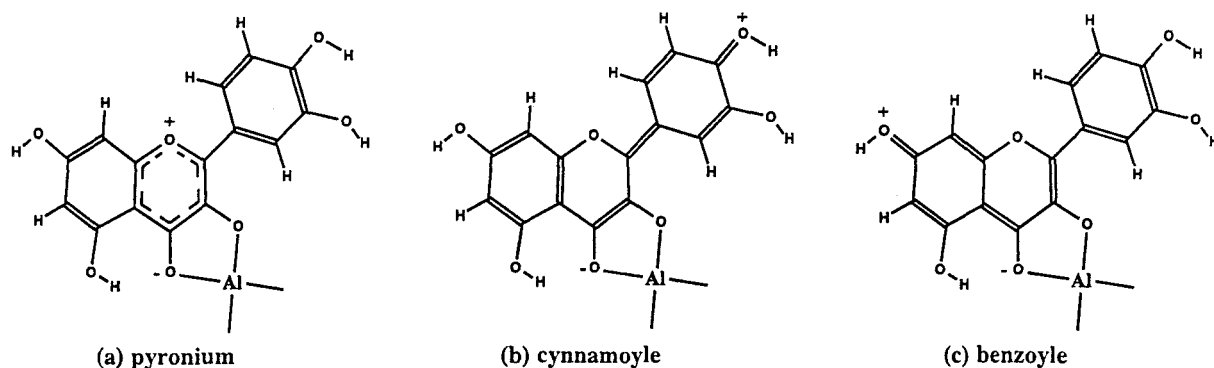


Fig.I. 20 : Structure pyronium (a) adoptée par QCP1 et formes mésomères cynamoyle (b) et benzoyle (c) participant à la géométrie du chélate.

Le rapprochement de O2 et de O3 associé à l'encombrement stérique génère une augmentation des angles C10-C5-O5 et C4-C10-C5 et conduit à une diminution de la force de la liaison hydrogène O5-H---O2 dont la longueur passe de 2,005 Å dans la quercétine à 2,056 Å dans QCP1. La liaison hydrogène O3'---H-O4' est toujours présente dans le complexe et a la même force que dans la molécule libre (2,254 Å).

## I.4.2 – Géométrie du complexe QCP2.

La chélation de la molécule au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle conduit à la formation d'une espèce de charge totale égale à  $-1$  et modifie la répartition électronique observée dans QCP1. Les charges portées par C3 et C4 passent respectivement de  $-0,095$  et  $0,265$  dans QCP1 à  $-0,066$  et  $0,222$  dans QCP2. L'ensemble des charges des atomes du cycle A tend à recouvrir les valeurs observées dans la quercétine libre. Les atomes C9 et C10 dont les charges diminuent lors du passage de la quercétine à QCP1, portent des charges encore plus faibles dans QCP2. La charge portée par C1' augmente et passe de  $-0,111$  dans QCP1 à  $-0,148$  dans QCP2. Au niveau du second site de complexation, les charges des atomes O3' et O4' respectivement égales à  $-0,261$  et  $-0,222$  dans QCP1 augmentent et deviennent égales à  $-0,380$  et  $-0,362$  respectivement dans QCP2.

La comparaison des paramètres géométriques de QCP1 et de QCP2 indique la présence de variations structurales importantes entre ces deux complexes, notamment au niveau des longueurs de liaison. L'allongement de la liaison C2-C3 associé à la réduction de C3-C4 et de C2-C1' mettent en évidence une augmentation de la conjugaison entre la partie chromone et le cycle B de la molécule. Au niveau du cycle B, une augmentation des longueurs des liaisons C1'-C2', C1'-C6' et C3'-C4' ainsi qu'une diminution des longueurs de C2'-C3' et C5'-C6' sont observées. La délocalisation électronique le long de la chaîne carbonée reliant les deux sites de complexation ainsi que les modifications géométriques du cycle B indiquent que QCP2 adopte une forme quinonique semblable à celle remarquée par Elhabiri [1997] pour les anthocyanes se complexant avec l'aluminium(III) au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle.

L'ensemble des longueurs des liaisons du cycle A adopte une valeur proche de celle observée dans la quercétine libre et la liaison C7-O7 augmente de  $0,013 \text{ \AA}$  entre QCP1 et QCP2. La forme mésomère benzoyle qui contribue à la géométrie de QCP1 ne participe plus à la structure de QCP2.

Les longueurs des liaisons O1-C2 et C4-C10 augmentent et, bien que les angles de liaison du cycle C aient toujours des valeurs proches de  $120^\circ$ , la forme pyronium adoptée par QCP1 participe peu à la géométrie de QCP2.

Alors que le chélate formé entre la 3'4'diHF et l'aluminium(III) présente une géométrie proche de celle de la molécule libre ( $\theta = 21,57^\circ$ ), la complexation préalable de la

quercétine au niveau du groupement 3-hydroxychromone permet une extension de la conjugaison jusqu'au groupement catéchol et QCP2 adopte une structure quinonique (Fig. I.21). Ce complexe est quasiment plan avec un angle  $\theta$  de  $-6,56^\circ$ .

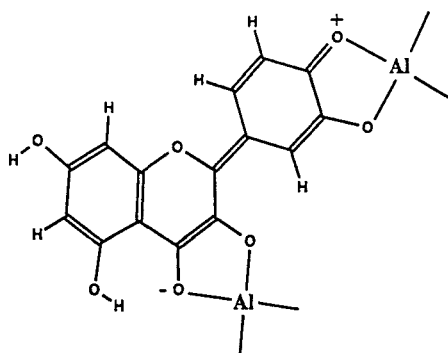


Fig. I.21 : Modèle structural de QCP2.

Au niveau de l'inter-cycle, la liaison C2-C1' voit sa longueur diminuer et est toujours incluse dans le plan de la partie chromone. Cependant, la double chélation de la molécule augmente l'encombrement stérique et conduit à un léger basculement de cette liaison (l'angle C3-C2-C1' égal à  $127,92^\circ$  dans la quercétine libre et à  $128,61^\circ$  dans QCP1 vaut  $129,59^\circ$  dans QCP2). La rotation et le basculement du cycle B rendent plus importantes les interactions entre O1 et H6' et entre O3 et H2'. La distance séparant O1 et H6' égale à  $2,40 \text{ \AA}$  dans la quercétine et à  $2,32 \text{ \AA}$  dans QCP1 vaut  $2,28 \text{ \AA}$  dans QCP2. La distance entre O3 et H2' passe de  $2,20 \text{ \AA}$  dans la quercétine à  $2,14 \text{ \AA}$  dans QCP2.

L'évolution de la stœchiométrie du chélate formé au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle modifie légèrement la géométrie du premier site. Les longueurs des liaisons Al-O3 et Al-O2 augmentent légèrement et passent respectivement de  $1,768 \text{ \AA}$  et  $1,797 \text{ \AA}$  dans QCP1 à  $1,790 \text{ \AA}$  et  $1,823 \text{ \AA}$  dans QCP2. Les longueurs des liaisons C4-O2 et C3-O3 diminuent d'environ  $0,01 \text{ \AA}$  et l'angle O3-Al-O2 est plus petit de  $1,5^\circ$ . L'oxygène O2 se rapproche du groupement hydroxyle en position 5 (C3-C4-O2 passe de  $116,29^\circ$  dans QCP1 à  $117,17^\circ$  dans QCP2) et la liaison hydrogène O2---H-O5 est plus forte ( $2,016 \text{ \AA}$ ).

Au niveau du second site de complexation, les liaisons C4'-O4' ( $1,326 \text{ \AA}$ ) et C3'-O3' ( $1,349 \text{ \AA}$ ) ne sont pas égales, ce qui conforte la contribution d'une forme quinonique. Les longueurs des liaisons Al-O3' et Al-O4' sont également différentes.

Les deux chélates forment avec l'aluminium(III) des cycles plans et coplanaires à la partie chromone d'une part et au cycle B d'autre part. Néanmoins, bien que ces deux cycles

soient constitués de cinq atomes, la valeur des angles O2-Al-O3 ( $92,53^\circ$ ) et O3'-Al-O4' ( $94,18^\circ$ ) est différente et les longueurs des liaisons Al-O2, Al-O3, Al-O4' et Al-O'3 ne sont pas égales.

## I.5 – Etude spectroscopique des complexes de la quercétine dans le méthanol.

### I.5.1 – La spectroscopie d'absorption UV-visible.

A partir des modèles structuraux de QCP1 et de QCP2 obtenus préalablement par la méthode semi-empirique AM1, un calcul des spectres électroniques par interactions de configurations, CI :  $9*9$ , a été effectué. Dans le cas de QCP1, pour éviter un choix arbitraire par le logiciel des orbitales présentes sur les deux molécules, les calculs ont été réalisés à partir d'un chélate de stœchiométrie 1 : 1, dans lequel la quercétine a une géométrie identique à celle du chélate Al(III) : Q = 1 : 2.

Les spectres expérimentaux de la quercétine libre et des deux complexes en solution dans le méthanol sont présentés sur la figure I.22. Les transitions théoriques calculées à partir des modèles les plus stables sont également présentées. Dans les deux cas, l'entité complexante est sous la forme  $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$ .

Pour QCP1 comme pour QCP2, les spectres électroniques théoriques obtenus à partir des deux valeurs possibles de l'angle  $\theta$  sont différents : l'ensemble du spectre théorique est plus ou moins affecté et un décalage de 10 nm peut être observé dans la position de la transition HOMO  $\rightarrow$  LUMO.

Dans le cas de QCP2, l'entité X choisie pour compléter la valence de Al(III) a une influence sur la valeur de l'angle  $\theta$  et une modification de la position de la transition HOMO  $\rightarrow$  LUMO de l'ordre de 20 nm peut être observée.

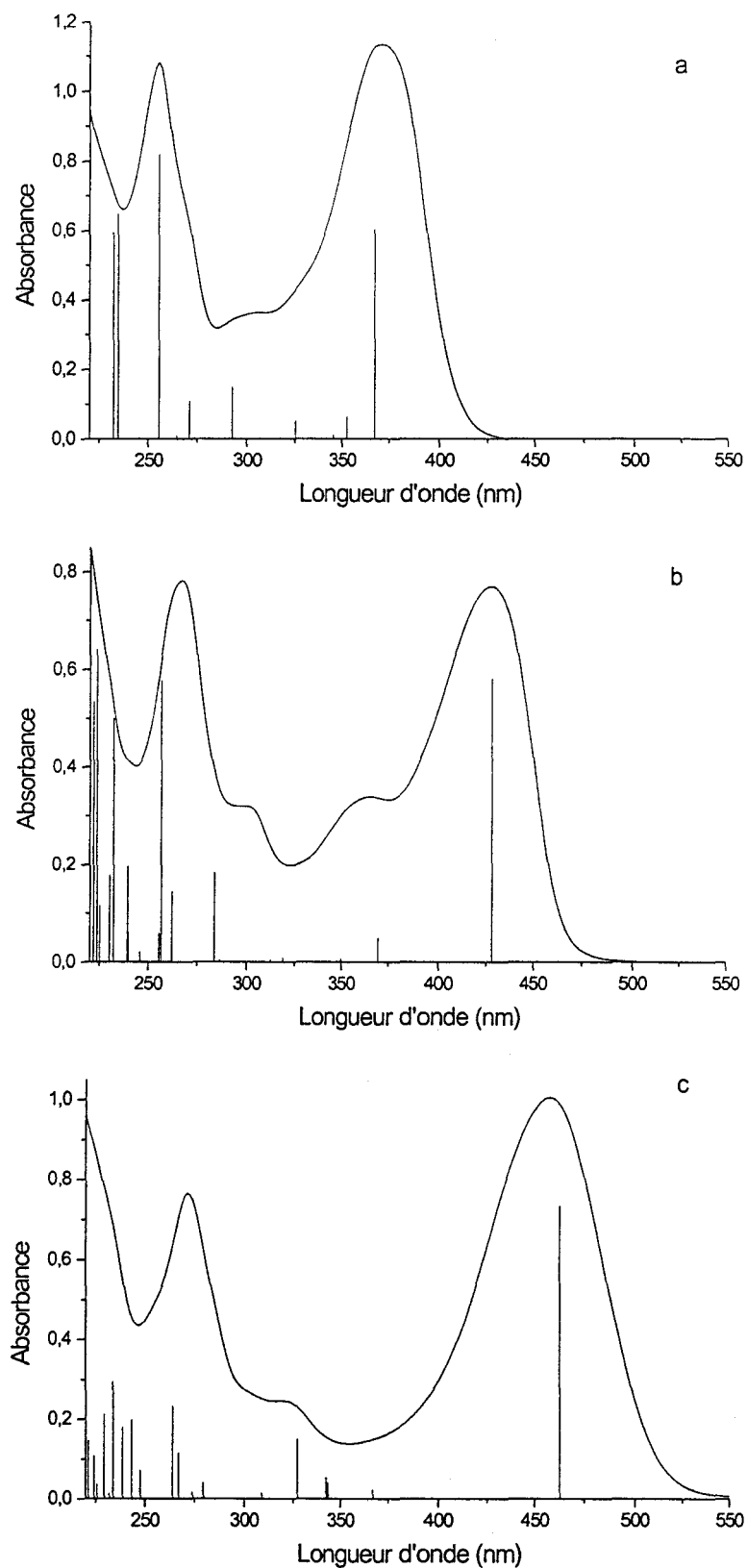


Fig. I.22 : Spectres expérimentaux de la quercétine (a), de QCPI (b) et de QCP2 (c) en solution dans le méthanol ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) et spectres électroniques théoriques calculés par CI : 9\*9.

La concordance entre la position des bandes expérimentales et les transitions électroniques calculées est satisfaisante. Le calcul reproduit correctement le déplacement bathochrome de la bande I observé lors des deux étapes successives de la réaction de complexation. Le calcul des transitions électroniques théoriques étant particulièrement sensible à la valeur adoptée par l'angle  $\theta$ , il permet de conforter les modèles obtenus par modélisation moléculaire mais également le choix de  $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$  comme entité complexante représentant correctement la forme sous laquelle l'aluminium(III) est présent en solution dans le méthanol.

### *1.5.2 – La spectroscopie de vibration.*

✱

Les spectres Raman de la quercétine libre, de QCP1 et de QCP2 en solution dans le méthanol sont présentés sur la figure I.23 sur la gamme spectrale  $1700\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ . Ces spectres ont été obtenus à partir d'une solution de quercétine  $10^{-2}\text{ M}$  dans le méthanol. Les spectres de QCP1 et QCP2 correspondent respectivement à un rapport  $[\text{Q}] / [\text{AlCl}_3]$  égal à 2 et 0,1. Dans le cas de QCP1, afin de s'assurer que la molécule soit uniquement complexée au niveau du groupement 3-hydroxychromone, quelques gouttes d'HCl  $10^{-2}\text{ M}$  ont été ajoutées à la solution.

Les déplacements de fréquences observés en comparant ces trois spectres indiquent que la chélation de la quercétine induit des modifications structurales importantes.

D'après l'analyse conformationnelle de la 3'4'diHF, la chélation au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle perturbe peu la géométrie de la molécule libre. L'étude des spectres Raman de la 3'4'diHF et de son chélate confirme ces résultats et prouve que la géométrie du complexe  $\text{Al}(3'4'\text{diHF})$  n'est pas une structure quinonique plane similaire à celle adoptée par la molécule déprotonée.

La comparaison des spectres Raman de QCP1 et de QCP2 met en évidence une profonde modification de la position et de l'intensité des bandes Raman situées notamment dans la zone spectrale  $1700\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ . Cette région particulièrement sensible aux changements structuraux reflète les modifications conformationnelles importantes engendrées par la chélation au niveau du groupement 3'4'ortho-dihydroxyle. Ces résultats rejoignent les conclusions issues de l'analyse conformationnelle : la complexation préalable de la molécule



au niveau du groupement 3-hydroxychromone permet une extension de la délocalisation électronique jusqu'au second site de chélation et QCP2 adopte une structure quinonique.

Sur le spectre Raman de la quercétine libre, les bandes à  $1657\text{ cm}^{-1}$  et à  $1628\text{ cm}^{-1}$  sont attribuées au mode faisant intervenir les élongations  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  et  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$  couplées entre elles. La chélation au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle induit une augmentation de la longueur de la liaison  $\text{C2}=\text{C3}$ , ce qui se traduit sur les spectres par un léger déplacement vers les basses fréquences de la bande correspondant à  $\nu(\text{C2}=\text{C3})$ . Elle est attribuée aux bandes situées à  $1639\text{ cm}^{-1}$  et à  $1633\text{ cm}^{-1}$  sur les spectres de QCP1 et de QCP2 respectivement.

La fréquence de l'élongation  $\nu(\text{C4}=\text{O2})$  est davantage perturbée. L'augmentation de la longueur de la liaison  $\text{C4}=\text{O2}$  associée à la diminution de la longueur de la liaison  $\text{C3}-\text{O3}$  peut conduire à un couplage des élongations de ces deux liaisons et donner naissance à un mode d'élongation antisymétrique et à un mode d'élongation symétrique. Les bandes à  $1551\text{ cm}^{-1}$  et à  $1541\text{ cm}^{-1}$  respectivement sur les spectres de QCP1 et de QCP2 sont attribuées au mode antisymétrique  $\nu(\text{C4}=\text{O2}) ; \nu(\text{C3}-\text{O3})$  et le mode de vibration symétrique est attribué aux bandes à  $1428\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP1 et à  $1422\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP2.

Les fréquences de vibrations des modes 8a et 8b des cycles A et B attribuées à 1612, 1583 et  $1569\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de la quercétine libre doivent également être affectées par la chélation. La participation importante des formes benzoyle et cynamoyle à la géométrie de QCP1 ainsi que les changements conformationnels qui conduisent QCP2 à adopter une structure quinonique peuvent modifier sensiblement les fréquences de vibrations de ces modes. En effet, ceux-ci impliquent les vibrations  $\nu(\text{C}-\text{C})$  du squelette des cycles et subissent directement les modifications des longueurs de liaisons. Ces modes peuvent également se coupler avec les modes de vibration du cycle  $\gamma$ -pyrone dont la géométrie est fortement perturbée par la coordination avec Al(III). Enfin, les fréquences de vibrations  $\nu(\text{C}-\text{O})$  des hydroxyles déprotonés apparaissent dans la même gamme spectrale rendant possible d'éventuels couplages mécaniques. Les bandes à 1614, 1598, 1585 et  $1567\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP1 ainsi que les raies présentes à 1613, 1591 et  $1559\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP2 sont attribuées à ces modes 8a et 8b des cycles A et B.

Les modes 19a et 19b des cycles A et B de la quercétine libre qui apparaissent sur la gamme spectrale  $1550-1400\text{ cm}^{-1}$  sont fortement couplés avec d'autres vibrations, notamment avec les élongations  $\nu(\text{C}-\text{O})$  des différents hydroxyles ainsi qu'avec les élongations  $\nu(\text{O1}-\text{C2})$

et  $\nu(\text{O1-C9})$ . La complexation de la molécule doit perturber ces modes et induire une modification des couplages mécaniques. Les bandes à  $1511$  et  $1447 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP1 et à  $1490$  et  $1445 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP2 sont attribuées à ces modes.

De la même façon que les modes 19, le mode 14 du cycle A est couplé mécaniquement à de nombreux modes normaux. Ce mode doit être inclus dans les raies situées à  $1352$  et  $1351 \text{ cm}^{-1}$  sur les spectres de QCP1 et QCP2 respectivement.

La fréquence de vibration du mode 14 du cycle B à  $1321 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de la quercétine semble peu perturbée par la chélation. Elle est attribuée à  $1322 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP1 et à  $1318 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de QCP2.

Le mode mettant en jeu des déformations du squelette du cycle  $\gamma$ -pyrone, à  $1215 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de la quercétine libre voit sa fréquence de vibration modifiée et devenir égale à  $1222 \text{ cm}^{-1}$  pour QCP1 et  $1232 \text{ cm}^{-1}$  pour QCP2.

Les raies situées à  $1407 \text{ cm}^{-1}$  et  $790 \text{ cm}^{-1}$  sur le spectre de la molécule libre et attribuées aux modes  $\nu(\text{C4'-OH})$ ;  $\delta(\text{C3'-OH})$  et  $\gamma(\text{C5'-OH})$ ;  $\gamma(\text{C6'-OH})$  ne sont plus présentes sur le spectre de QCP2.

Sur la gamme spectrale  $850\text{-}1280 \text{ cm}^{-1}$ , des modes de vibration spécifiques à chacun des cycles A et B de la molécule apparaissent, ce qui permet de proposer une attribution à certaines raies. Les modes intervenant dans ce domaine spectral font intervenir essentiellement les déformations des liaisons C-H dans le plan (modes 3, 7b, 18a et 18b) et hors du plan (mode 11, 17a et 5). Une attribution des fréquences des modes des cycles A et B est proposée dans la table I.5.

|      | Fréquences expérimentales ( $\text{cm}^{-1}$ ) |      |     |     |                  |      |      |      |
|------|--|------|-----|-----|------------------|------|------|------|
|      | Modes du cycle A                               |      |     |     | Modes du cycle B |      |      |      |
|      | 18b  | 18a  | 11  | 17a | 3                | 18a  | 7b   | 5    |
| Q    | 1185   | 1108 | 935 | 849 | 1275             | 1166 | 1046 | 998  |
| QCP1 | 1187   | 1118 | 941 | 859 | 1278             | 1178 | 1065 | 1019 |
| QCP2 | 1185   | 1119 | 859 | 862 | 1270             | 1170 | 1043 | 1020 |

Table I.5 : Attribution proposée pour certaines fréquences de vibrations observées dans la gamme spectrale  $1250\text{-}850 \text{ cm}^{-1}$  sur les spectres de la quercétine, QCP1 et QCP2.

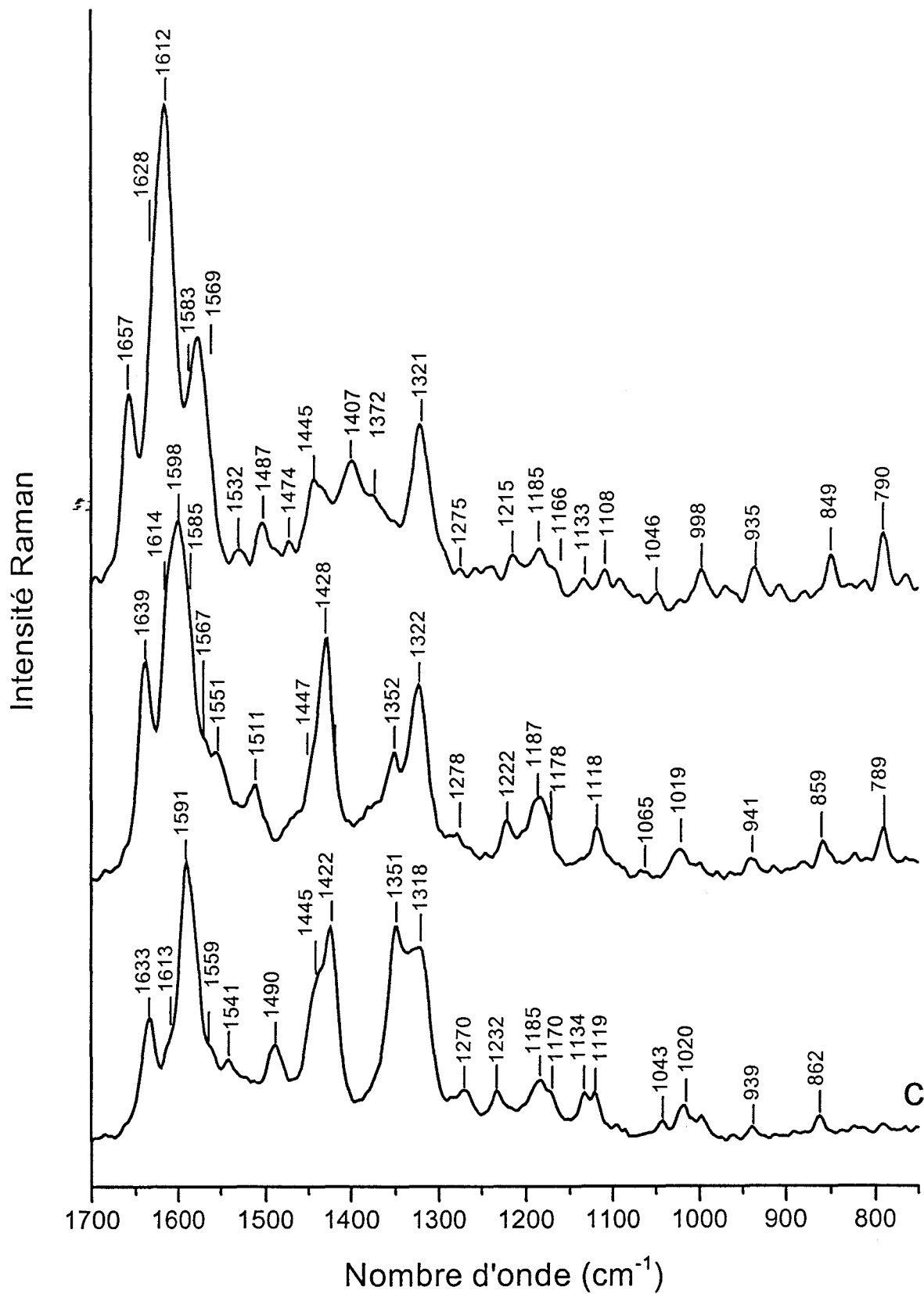


Fig. I.23 : Spectres Raman de la quercétine ( $10^{-2}$  M) (a), de QCP1 ( $[Q] / [AlCl_3] = 2$ ) (b) et QCP2 ( $[Q] / [AlCl_3] = 0,1$ ) (c) en solution dans le méthanol.

Les profondes modifications spectrales observées en comparant les trois spectres Raman rendent bien compte des changements géométriques importants occasionnés lors des deux étapes successives de complexation.

## I.6 – Conclusion.

Les trois principaux sites de complexation simultanément présents sur la quercétine sont en compétition vis-à-vis de l'aluminium(III). L'étude de ce composé permet donc de comparer le pouvoir chélateur de chacun de ces sites. La formation de complexes est particulièrement sensible au milieu réactionnel et des chélates de natures différentes sont obtenus selon les conditions de réaction utilisées. La table I.6 rassemble les résultats obtenus dans les différents milieux considérés.  $([AlCl_3] / [Q])_i$  correspond au rapport de concentrations approximatif pour lequel la complexation devient spectralement observable.  $([AlCl_3] / [Q])_f$  correspond soit au rapport où l'équilibre est totalement déplacé, soit au rapport où un second équilibre démarre.  $\lambda_{max}(Q)$  et  $\lambda_{max}(QCP)$  sont les longueurs d'onde au maximum d'absorption de la bande I de la quercétine libre et complexée.

Au regard des différents résultats, il apparaît que le groupement 5-hydroxy-4-carbonyle n'est pas impliqué dans le mécanisme de complexation de la quercétine quel que soit le milieu de réaction. Ce site est pourtant le seul qui permet la formation d'un chélate à six chaînons énergétiquement favorable.

Dans le méthanol pur, deux complexes sont successivement observés. Le premier,  $Al(Q)_2^{(3)}$ , se forme au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle et a la même stœchiométrie que le complexe obtenu avec la 3HF. Le second site engagé dans la chélation est le groupement 3'4'ortho-dihydroxyle et mène à l'obtention de  $Al_2(Q)^{(3,3)}$ . La seconde réaction de complexation démarre lorsque le premier équilibre est totalement déplacé, c'est-à-dire une fois que l'ensemble des molécules de quercétine est complexé au niveau du groupement 3-hydroxychromone. La formation du second chélate s'accompagne d'une modification de stœchiométrie au niveau du premier site. Ainsi, dans le méthanol, pur le pouvoir chélateur du groupement 3-hydroxy-chromone est très nettement supérieur à celui du groupement catéchol.

Le groupement 3-hydroxy-4-carbonyle est également plus complexant que le groupement 5-hydroxychromone. Cela peut provenir :

(i) de la plus forte acidité de l'hydrogène porté par l'hydroxyle en position 3 qui le rend plus labile que celui de l'hydroxyle en 5.

(ii) de la liaison hydrogène O2---H-O5 qui est plus forte que la liaison O2---H-O3 et qui nécessite une énergie plus importante pour être cassée.

| $[(AlCl_3) / [Q]]_i$   | $[(AlCl_3) / [Q]]_f$ | stoechiométrie<br>et site chélateur  | $\lambda_{max} (Q)$ | $\lambda_{max} (QCP)$ |
|--|----------------------|--------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| MeOH pur   |                      |                                      |                     |                       |
| 0,02   | 0,5                  | $Al(Q)_2^{(3)}$                      | 372 nm              | 428 nm                |
| 0,5  | 10                   | $Al_2(Q)^{(3,3')}$                   |                     | 456 nm                |
| Milieu acide MeOH (90%) - H <sub>2</sub> O (10%)                       |                      |                                      |                     |                       |
| HCl (3,2 10 <sup>-2</sup> M)   |                      |                                      |                     |                       |
| 0,2  | 100                  | $Al_2(Q)^{(3)}$                      | 372 nm              | 425 nm                |
| AcOOH (10 <sup>-1</sup> M) - AcOO-Na <sup>+</sup> (10 <sup>-1</sup> M) |                      |                                      |                     |                       |
| 0,1  | 1,3                  | $Al(Q)^{(3)}$                        | 372 nm              | 431 nm                |
| 1,3  | 10                   | $Al(Q)^{(3)} + Al_2(Q)^{(3,3')}$     |                     |                       |
| 10   | 100                  | $Al_2(Q)^{(3,3')}$                   |                     | 452 nm                |
| Milieu basique   |                      |                                      |                     |                       |
| MeOH + AcOO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> (10 <sup>-1</sup> M)          |                      |                                      |                     |                       |
| 0  | 0,76                 | $Al(Q)_2^{(3)}$                      | 382 nm              | 443 nm                |
| 0,76   | 1,85                 | $Al(Q)_2^{(3)} + Al_2(Q)_2^{(3,3')}$ |                     |                       |
| 1,85   | 100                  | $Al_2(Q)^{(3,3')}$                   |                     | 456 nm                |

Table I.6 : Résultats obtenus pour la complexation de la quercétine dans les différents milieux réactionnels étudiés.

Les forces de chélation des sites 5-hydroxychromone et catéchol ne peuvent pas être comparées. En effet, une fois la molécule complexée au niveau du groupement 3-hydroxychromone, une éventuelle complexation au niveau du groupement 5-hydroxychromone semble impossible du fait de l'encombrement stérique généré au niveau de la fonction carbonyle.

En milieu acide et en présence d'HCl, seul le groupement 3-hydroxychromone réagit avec l'aluminium(III). Le complexe formé est une espèce solvatée  $Al_2(Q)$  identique à celle détectée avec la 3HF. Dans le mélange acide acétique ( $10^{-1}$  M) – acétate de sodium ( $10^{-1}$  M), les groupements 3-hydroxychromone et 5-hydroxychromone sont en compétition défavorable avec les ions  $AcO^-$  et le groupement catéchol est le premier à se chélater, conduisant à la formation de  $Al(Q)^{(3)}$ . Après neutralisation de certaines entités  $AcO^-$ , le groupement 3-hydroxychromone réagit également et les deux sites se chélatent simultanément. La seconde réaction démarre alors que la complexation au niveau du premier site n'est pas totale.

En milieu basique, en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M, le groupement 3'4'ortho-dihydroxyle est le plus réactif et un complexe de stœchiométrie  $Al(III) : Q = 1 : 2$  est préalablement formé,  $Al(Q)_2^{(3)}$ . Lorsque cette première réaction a neutralisé certains ions  $AcO^-$ , le groupement 3-hydroxychromone se chélère également et un complexe de stœchiométrie 1 : 1 se forme au niveau des deux sites de chélation,  $Al_2(Q)_2^{(3,3)}$ . Pour des quantités en  $AlCl_3$  plus importantes, le complexe  $Al_2(Q)^{(3,3)}$  détecté dans le méthanol pur est obtenu.

L'analyse structurale des deux complexes formés successivement dans le méthanol indique que la chélation perturbe profondément la conformation de la molécule. Comme dans le cas du chélate formé avec la 3HF, le premier complexe obtenu avec la quercétine adopte une structure pyronium fortement stabilisée par une contribution importante des formes mésomères limites benzoyle et cynamoyle. Du fait de la présence de groupements hydroxyles en position 4' et 7, la participation de ces deux formes de résonance est nettement plus importante que celle observée dans le chélate  $Al(3HF)_2$ . La double chélation de la molécule conduit à une augmentation de la délocalisation électronique sur l'ensemble de la chaîne carbonée reliant les deux sites de complexation et la structure du complexe final est une forme quinonique plane ( $\theta = -6,56^\circ$ ).

Le groupement 3'4'ortho-dihydroxyle apparaît plus réactif en milieu basique, c'est-à-dire lorsque la fonction hydroxyle en position 4' est plus ou moins ionisée. La complexation préalable de la quercétine au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle conduit à un chélate fortement stabilisé par la forme cynamoyle qui rend l'hydrogène porté par l'hydroxyle en 4' beaucoup plus labile et qui doit augmenter la réactivité du groupement catéchol vis-à-vis de l'aluminium(III).

## Chapitre II : Complexation de l'isoquercitrine avec l'aluminium(III).

### II.1 - Introduction.

Alors que la quercétine possède les trois principaux sites de complexation pour réagir avec l'aluminium(III), le groupement hydroxyle en position 3 de l'isoquercitrine est substitué par un glucose et seuls les sites 3'4'ortho-dihydroxyle et 5-hydroxy-4-carbonyle sont susceptibles de former des chélates. (Fig. II.1).

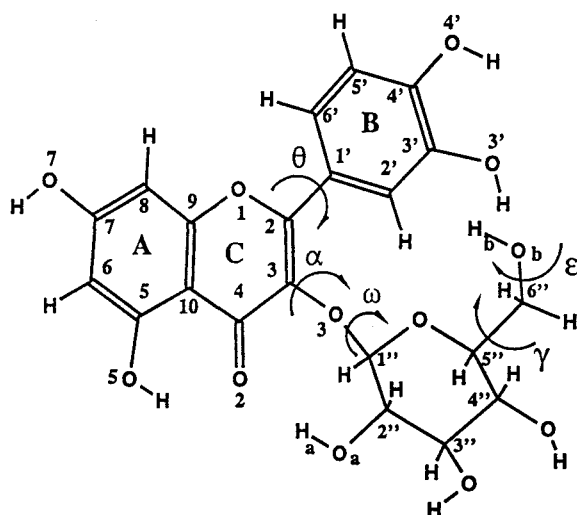


Fig. II.1 : Présentation de l'isoquercitrine et numérotation utilisée.

### II.2 – Complexation de l'isoquercitrine en milieu acide.

#### II.2.1 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'HCl.

La chélation au niveau du groupement 3'4'-dihydroxyle étant inhibée par la présence d'HCl, la formation d'un complexe entre l'isoquercitrine et Al(III) dans le mélange étudié provient nécessairement de la réaction du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle. La complexation se traduit par un déplacement bathochrome de la bande I de 359 nm à 402 nm et de la bande II de 257 nm à 269 nm (Fig. II.2). Le réseau de spectres présente deux points isobestiques à 263 et 292 nm. Formés simultanément, ces deux points correspondent respectivement au déplacement bathochrome des deux bandes d'absorption du composé libre.

Le pH apparent mesuré dans chacun des mélanges varie de 2,53 à 2,48 et l'équilibre est totalement déplacé pour un rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  proche de 100.

La courbe de variation de l'absorbance au maximum d'absorption du complexe (402 nm) présente une inflexion pour un rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  égal à 1. Le chélate formé au niveau du groupement 5-hydroxychromone est donc du type  $Al(Iso)^{(5)}$  (Fig. II.3).

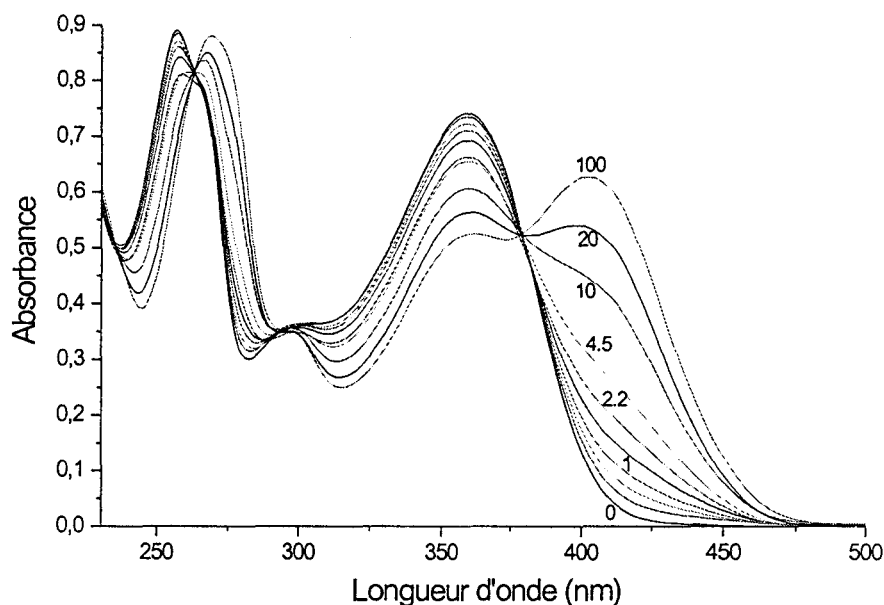


Fig. II.2 : Réseau de spectres correspondant à la complexation de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) dans un mélange méthanol (90%) - eau (10%) en présence d'HCl  $3,2 \cdot 10^{-2} M$ .

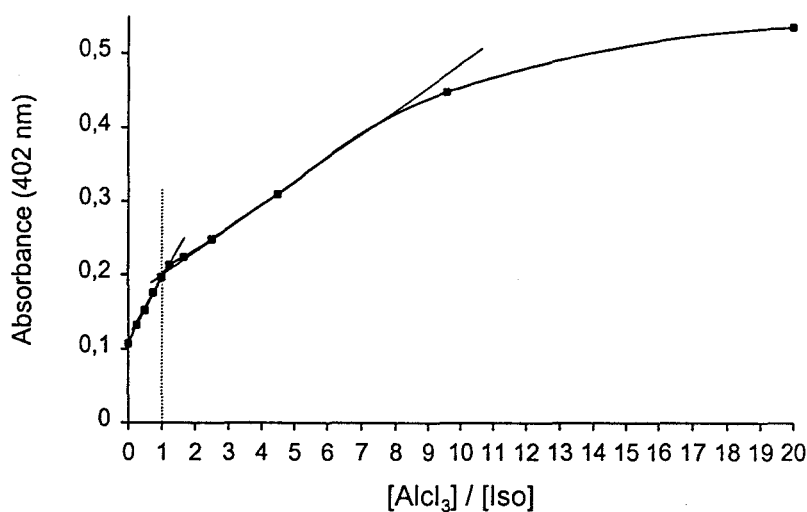


Fig. II.3 : Courbe de rapports molaires correspondant à la complexation de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) dans le mélange méthanol - eau en présence d'HCl, tracée pour  $[AlCl_3] / [Iso]$  compris entre 0 et 20.



II.2.2 – Complexation dans un mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium.

Dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique ( $10^{-1}$  M) et d'acétate de sodium ( $10^{-1}$  M), le pH apparent mesuré dans chacun des mélanges successifs varie de 6,7 à 6,3. La réaction semble totale pour un rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  proche de 50. La complexation de l'isoquercitrine se traduit par un déplacement bathochrome des deux bandes d'absorption du composé libre et par la formation simultanée de trois points isobestiques à 264, 297 et 383 nm (Fig. II.4). Dans ce milieu, un unique complexe dont le maximum d'absorption de la bande I se situe à 424 nm et dont la stœchiométrie est du type  $Al(III) : Iso = 1 : 1$  (Fig. II.5) est formé. L'allure générale du spectre ainsi que la position des maxima d'absorption de ce chélate sont différentes de celles relatives au complexe obtenu en présence d'HCl. Le site engagé dans la réaction de complexation n'est donc plus le même, le chélate se forme au niveau du groupement ortho-dihydroxyle.

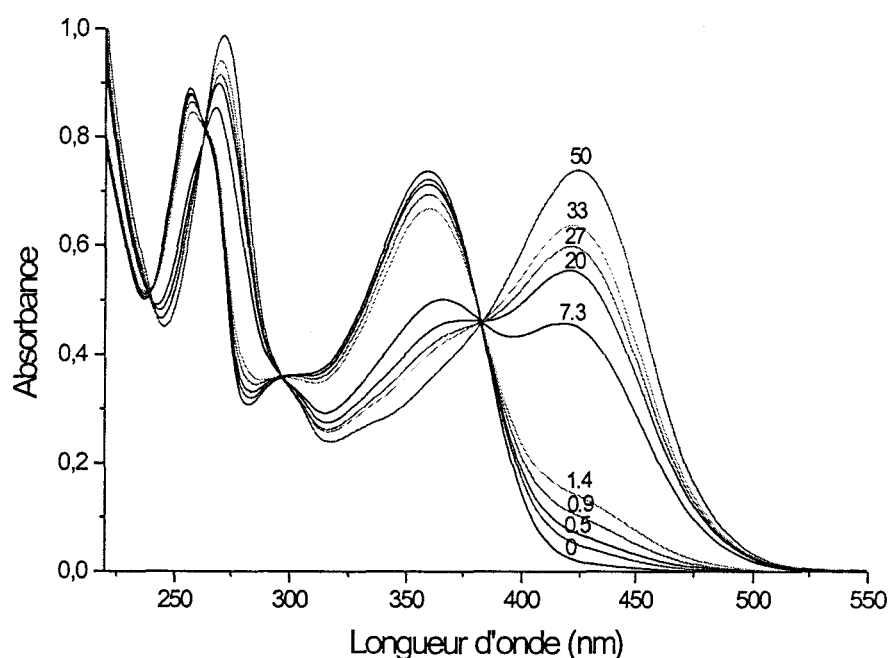


Fig. II.4 : Réseau de spectres correspondant à la complexation de l'isoquercitrine en solution dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%) en présence d'acide acétique ( $10^{-1}$  M) et d'acétate de sodium ( $10^{-1}$  M).

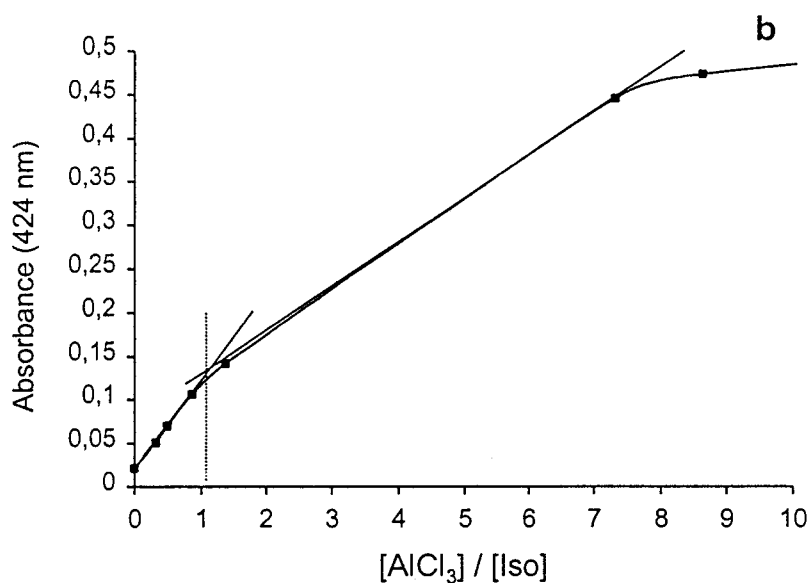


Fig. II.5 : Courbe de rapports molaires correspondant à la complexation de l'isoquercitrine dans le mélange méthanol – eau en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium, tracée pour  $[AlCl_3] / [Iso]$  compris entre 0 et 10.

Ces résultats sont confortés par l'étude préalable de la 5HF qui indique que la complexation au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyl est inhibée par la présence d'acétate dans le milieu de réaction.

### II.3 – Complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol.

#### II.3.1 – Méthode des rapports molaires.

La famille de spectres représentant la complexation de l'isoquercitrine avec l'aluminium(III) dans le méthanol est représentée sur la figure II.6.

(i) pour  $[AlCl_3] / [Iso]$  compris entre 0 et 0,5, la bande I de l'isoquercitrine libre à 359 nm diminue et une nouvelle bande à 406 nm apparaît en formant un point isobestique à 380 nm. La complexation devient spectralement visible pour un rapport égal à 0,02 environ.

(ii) pour  $[AlCl_3] / [Iso]$  compris entre 0,5 et 1, la bande à 406 nm se déplace vers les grandes longueurs d'onde et les spectres ne se coupent pas en un point isobestique.

(iii) pour  $[AlCl_3] / [Iso]$  compris entre 1,1 et 10, la bande I continue à se déplacer vers les grandes longueurs d'onde jusqu'à 436 nm. Un second point isobestique est observé à 409 nm et la réaction est totale pour un rapport proche de 10.

Ainsi, la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol conduit à la formation de deux complexes. Le premier (ICP1) dont le maximum d'absorption de la bande I se situe à 406 nm est obtenu lorsque l'isoquercitrine est en excès dans la solution. Le second (ICP2) se forme lorsque les solutions contiennent un excès d' $AlCl_3$ , son maximum d'absorption est à 436 nm.

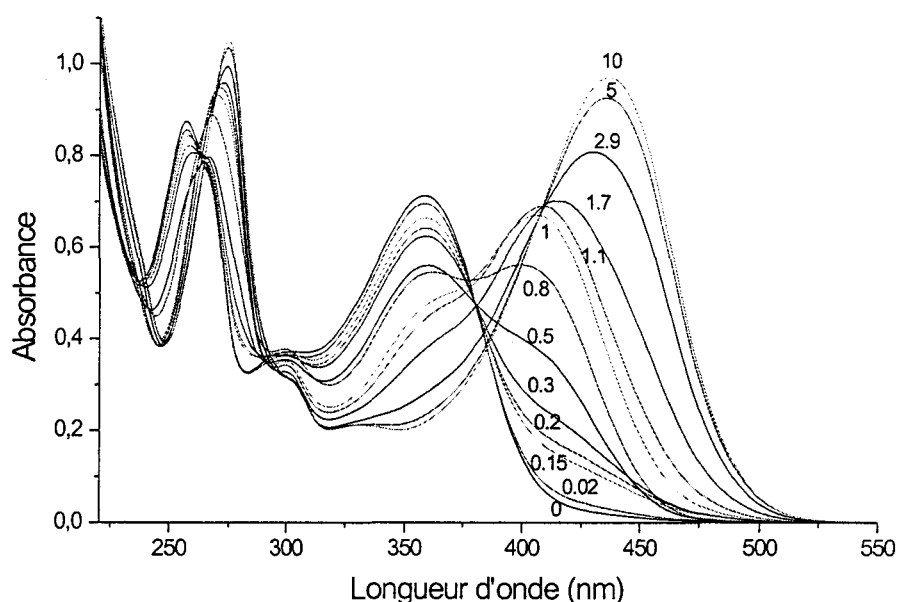


Fig. II.6 : Spectres d'absorption UV-visible correspondant à la complexation de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) dans le méthanol pur.

D'après les courbes de rapports molaires tracées à 406 et 436 nm, ICP1 et ICP2 ont pour stœchiométrie  $Al(III) : Iso = 1 : 1$  et  $2 : 1$  respectivement (Fig. II.7 et II.8). L'allure générale du spectre ainsi que la position des maxima d'absorption de ICP1 sont similaires à celles du complexe obtenu en présence d' $HCl$ , le groupement 5-hydroxy-4-carbonyle est donc le premier site impliqué dans la réaction de chélation. Le second chélate ne se forme pas lorsque le milieu de réaction contient  $HCl$  et réciproquement l'ajout d' $HCl$  à une solution méthanoïque de ICP2 restitue le spectre d'absorption de ICP1. Le groupement 3'4'dihydroxyle est donc le second site complexé.

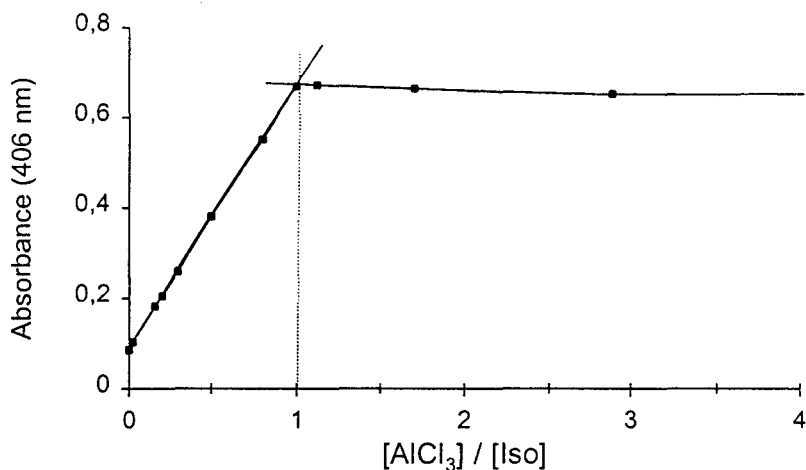


Fig. II.7 : Courbe de rapports molaires correspondant à la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol pur au maximum d'absorption de la bande I de ICP1 (406 nm).

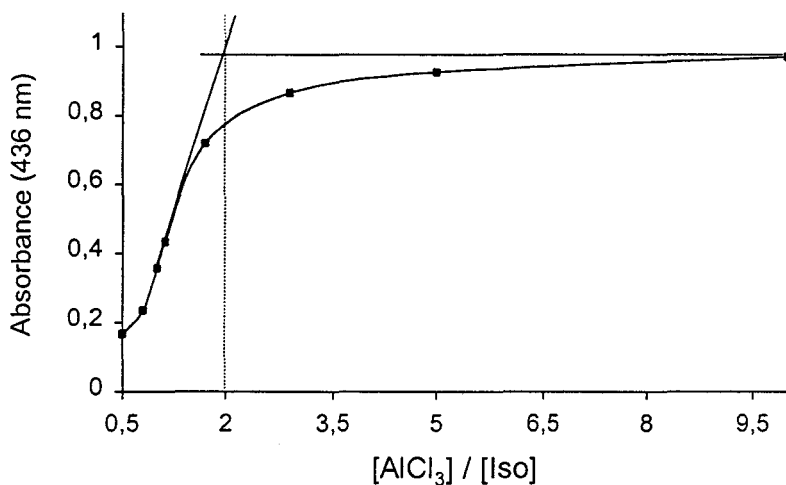


Fig. II.8 : Courbe de rapports molaires correspondant à la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol pur au maximum d'absorption de la bande I de ICP2 (436 nm).

La complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol pur conduit à la formation de deux complexes ICP1 et ICP2 également notés  $Al(Iso)^{(5)}$  et  $Al(Iso)^{(5,3')}$  respectivement (Fig. II.9). Néanmoins, contrairement à la quercétine, les deux sites concernés ne se chélatent pas successivement, la seconde réaction de complexation démarre avant que la réaction correspondant à la formation de ICP1 soit complètement terminée. Cette simultanéité des équilibres se traduit par un ensemble de spectres qui ne passent pas par les points isobestiques.

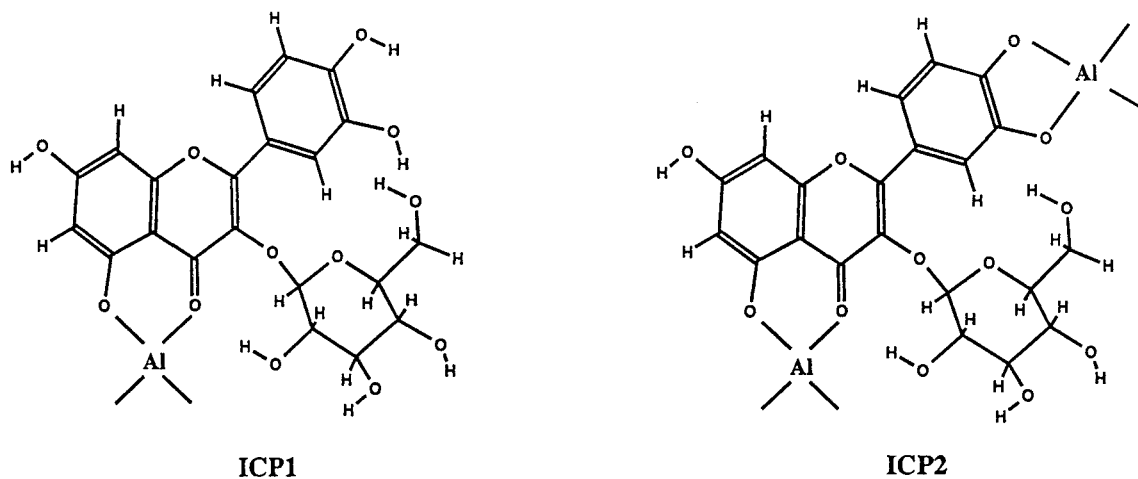


Fig. II.9 : Modèles des deux complexes formés entre l'isoquercitrine et Al(III) dans le méthanol :

$\xi$ :  $ICP1$  ou  $Al(Iso)^{(5)}$  et  $ICP2$  ou  $Al(Iso)^{(5,3')}$ .

### II.3.2 – Méthode des variations continues.

Les spectres des solutions de la gamme des variations continues sont présentés sur la figure II.10.

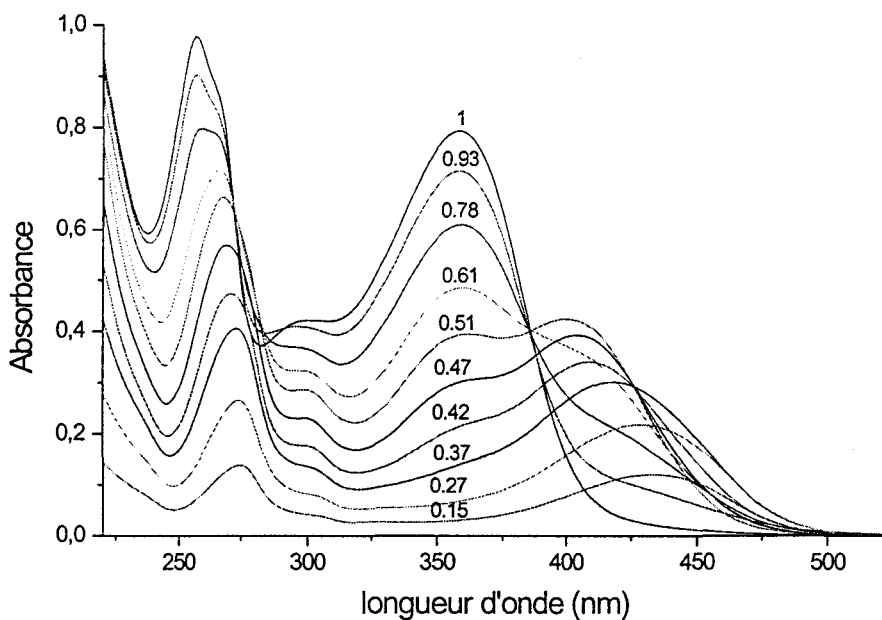


Fig. II.10 : Réseau de spectres des solutions de la gamme des variations continues correspondant à la complexation de l'isoquercitrine avec  $AlCl_3$  dans le méthanol pur. La fraction molaire  $x_{Iso}$  est indiquée sur chacun des spectres.

Les deux points pseudo-isobestiques situés à 385 et 426 nm indiquent la formation de deux espèces différentes. Le premier point, commun à cinq spectres, correspond aux solutions présentant une fraction molaire en isoquercitrine supérieure à celle de Al(III) et le second, commun à quatre spectres, se forme lorsque les solutions contiennent un excès d'Al(III) par rapport à l'isoquercitrine.

Le premier complexe, dont le maximum d'absorption est à 406 nm, existe majoritairement dans la gamme de concentration où apparaît le premier point pseudo-isobestique (385 nm). La courbe de Job calculée à 406 nm ainsi que la courbe de variation de l'absorbance à 385 nm confirme que la stœchiométrie de ce premier complexe est 1 : 1 (Fig. II.11).

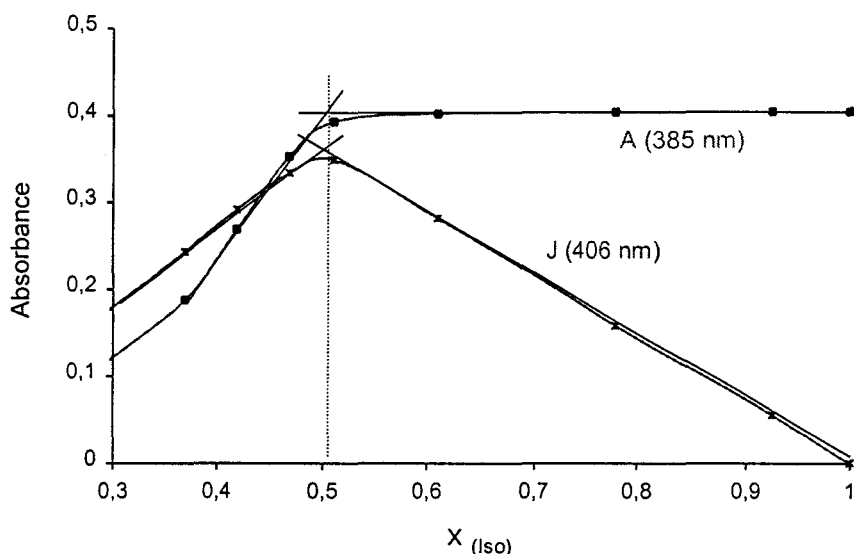


Fig. II.11 : Fonction de Job (J) calculée au maximum d'absorption du premier complexe ICP1 (406 nm) et variation de l'absorbance au point pseudo-isobestique correspondant (385 nm).

Le second chélate, présent dans les solutions où la fraction molaire en Al(III) est supérieure à celle de l'isoquercitrine, existe de façon prépondérante dans la zone où apparaît le second point pseudo-isobestique (426 nm). L'absorbance totale de la solution à 455 nm est principalement due à l'absorbance de ce second complexe (les absorbances de l'isoquercitrine libre et du premier complexe étant négligeables). La méthode de Job généralisée peut donc être appliquée à cette longueur d'onde. La courbe de Job calculée à 455 nm ainsi que la courbe de variation de l'absorbance à 426 nm indiquent que la stœchiométrie du second

complexe est Al(III) : Iso = 2 : 1 (Fig. II.12). Il a été vérifié que ce second chélate se dégrade en présence d'HCl, celui-ci est ICP2.

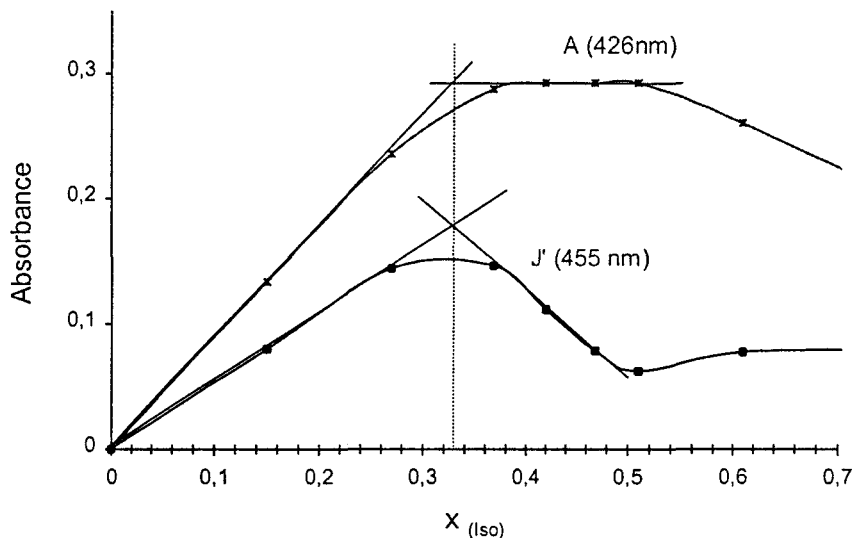


Fig. II.12 : Fonction de Job ( $J'$ ) calculée à une longueur d'onde où ICP2 existe majoritairement en solution (455 nm) et variation de l'absorbance au second point pseudo-isobestique (426 nm).

La méthode des variations continues confirme les stœchiométries obtenues par la méthode des rapports molaires pour les deux complexes de l'isoquercitrine. Monties [1969c] a obtenu des résultats similaires en étudiant la complexation de la rutine (quercétine glycosylée par un sucre différent en position 3) avec l'aluminium(III) dans le méthanol.

#### II.4 – Complexation de l'isoquercitrine en milieu basique.

Sur la figure II.13, les spectres d'absorption de l'isoquercitrine en solution dans le méthanol pur (a), dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M (b) et en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M (c) sont présentés. L'ajout de base à la solution méthanoïque d'isoquercitrine provoque un déplacement bathochrome des bandes d'absorption I et II de la molécule et une augmentation de leurs intensités. L'épaule située à 298 nm sur le spectre de la molécule en solution dans le méthanol pur disparaît au profit d'une nouvelle bande à 324 nm.

(i) La bande I de l'isoquercitrine, observée à 359 nm dans le méthanol pur, apparaît à 378 nm en présence d'acétate de sodium et à 407 nm dans la solution contenant du méthanoate de sodium. Le groupement hydroxyle en position 4' semble être partiellement ionisé en présence d'acétate et totalement déprotoné en présence de méthanoate.

(ii) La bande II à 257 nm dans le méthanol pur se situe à 272 nm sur les spectres correspondant aux solutions contenant de l'acétate ou du méthanoate de sodium. Le groupement hydroxyle en position 7 semble totalement ionisé dans les deux milieux basiques considérés [Jurd, 1962].

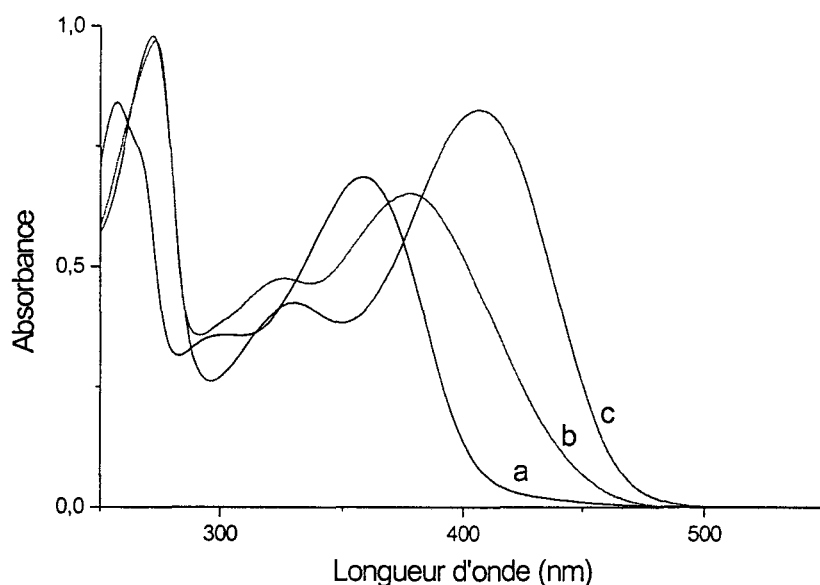


Fig. II.13 : Spectres d'absorption de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) en solution dans le méthanol pur (a), dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1} M$  (b) et en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} M$  (c).

En présence de méthanoate de sodium, les fonctions hydroxyles les plus acides de la molécule, c'est-à-dire celles en position 7 et 4' semblent totalement ionisées. Contrairement à la quercétine, le groupement hydroxyle en position 3 de l'isoquercitrine est substitué par un glucose et la molécule est stable dans ce milieu réactionnel [Jurd, 1961].

#### II.4.1 – Complexation en présence d'acétate de sodium $10^{-1} M$ .

Les spectres correspondant à la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol en présence d'acétate de sodium sont présentés sur la figure II.14.



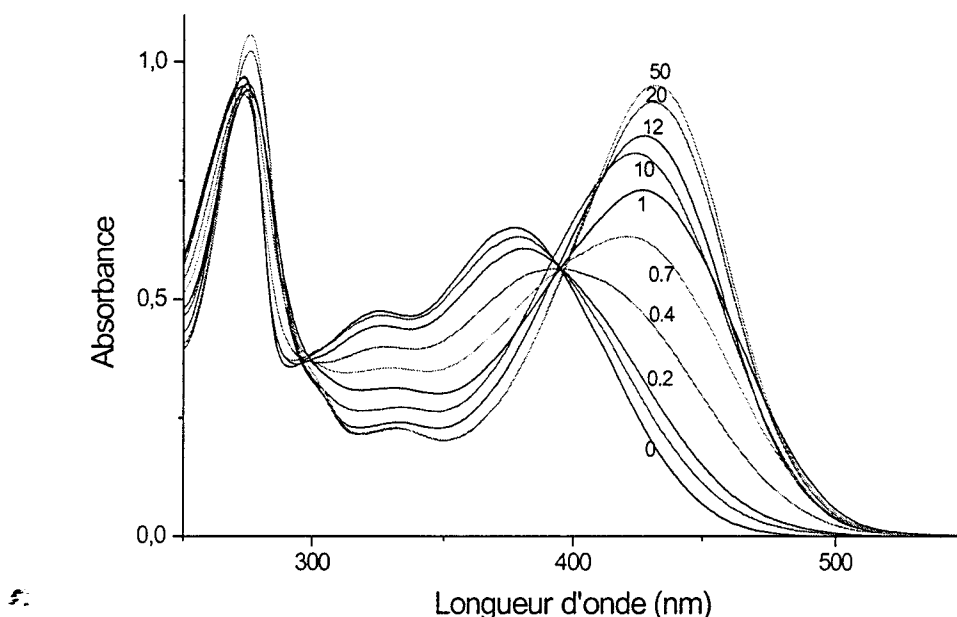


Fig. II.14 : Spectres d'absorption UV-visible correspondant à la complexation de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) en solution dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1} M$ .

(i) pour  $0 < [AlCl_3] / [Iso] < 1$ , la bande à 378 nm diminue et une bande à 422 nm apparaît. Les spectres forment un point isobestique à 396 nm indiquant la formation d'un premier complexe. La courbe de variation de l'absorbance à 422 nm en fonction du rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  indique que sa stœchiométrie est 1 : 1 (Fig. II.15). Le spectre d'absorption de ce premier chélate est similaire à celui du complexe obtenu dans le mélange équimolaire acide acétique - acétate de sodium, il s'agit donc de  $Al(Iso)^{(3')}$ .

(ii) pour  $[AlCl_3] / [Iso] > 1$ , la bande à 422 nm se déplace jusqu'à 432 nm en formant un second point isobestique à 409 nm. Le spectre final obtenu pour des rapports  $[AlCl_3] / [Iso]$  élevés correspond au spectre de ICP2 formé dans le méthanol pur. La courbe de variation de l'absorbance à 432 nm en fonction du rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  confirme que la stœchiométrie de ce second complexe est  $Al(III) : Iso = 2 : 1$  (Fig. II.16). Celui-ci est ICP2 ou  $Al_2(Iso)^{(5,3')}$ .

Remarques :

(i) La courbe de variation de l'absorbance à 432 nm permet de déterminer la stœchiométrie des deux chélates formés successivement dans l'acétate de sodium.

(ii) Dans le mélange acide acétique – acétate de sodium, la quantité d' $AlCl_3$  nécessaire pour former le chélate  $Al(Iso)^{(3')}$  est plus importante. L'ionisation partielle de l'hydroxyle en

position 4' ainsi que l'absence d'eau dans le milieu de réaction facilite la chélation au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle.

(iii) Par rapport au méthanol pur, ICP2 est obtenu pour des quantités d'aluminium(III) beaucoup plus importantes. La complexation au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle a lieu après que la première réaction soit totalement terminée, lorsque les entités  $\text{AcO}^-$  ont été neutralisées.

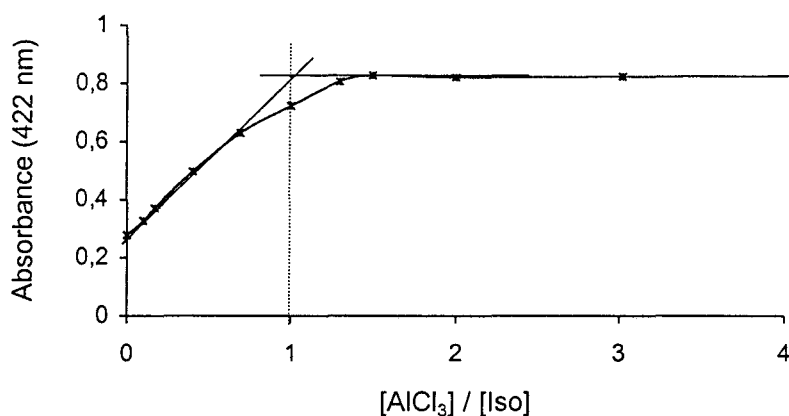


Fig. II.15 : Courbe de variation de l'absorbance à 422 nm en fonction de  $[\text{AlCl}_3] / [\text{Iso}]$ , tracée pour la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

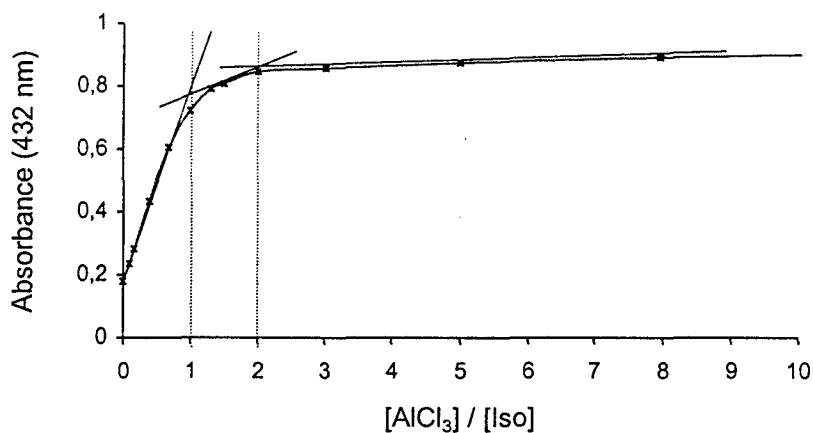


Fig. II.16 : Courbe de variation de l'absorbance à 432 nm en fonction de  $[\text{AlCl}_3] / [\text{Iso}]$ , tracée pour la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol en présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M.

II.4.2 – Complexation en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} M$ .

Le déplacement bathochrome de la bande I dû à la complexation est nettement moins important en présence de méthanoate de sodium que celui observé précédemment. Le réseau de spectres est plus difficile à exploiter et seul un nombre restreint de spectres sont présentés sur la figure II.17.

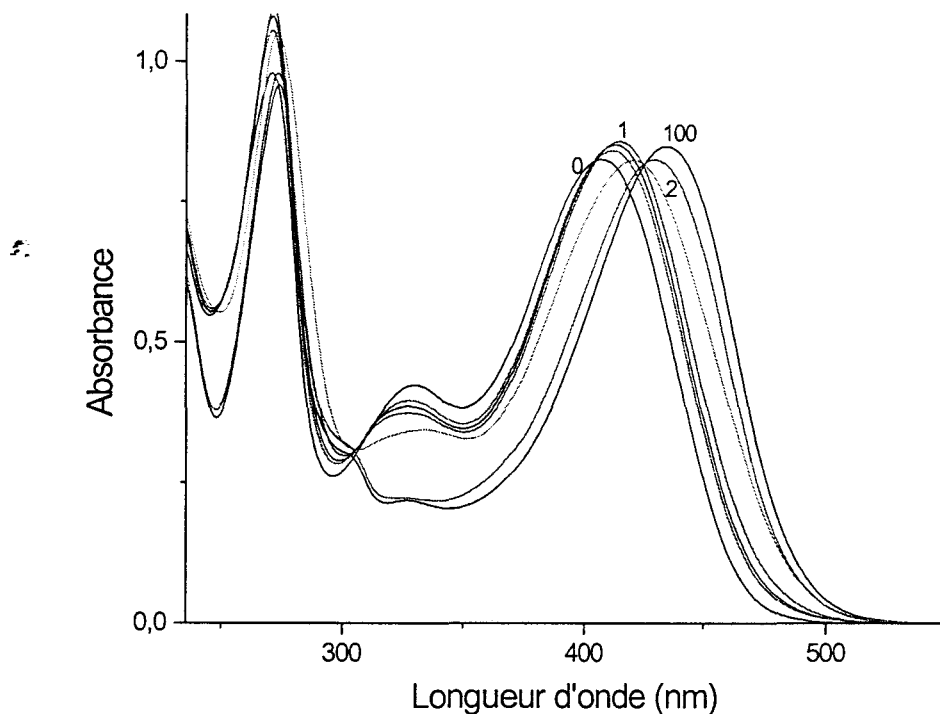


Fig. II.17 : Spectres d'absorption UV-visible correspondant à la complexation de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5} M$ ) en solution dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} M$ .

Pour des rapports  $[AlCl_3] / [Iso]$  compris entre 0 et 1, la chélation se traduit par un déplacement de la bande I de 407 nm à 414 nm et par la formation d'un point isobestique à 404 nm. La courbe des rapports molaires tracée à 414 nm indique que la composition de ce premier complexe est  $Al(III) : Iso = 1 : 2$  (Fig. II.18). En présence des entités  $MeO^-$ , seul le groupement 3'4'dihydroxyle peut former des chélates de stœchiométrie élevée pour de si faibles quantités d'aluminium(III). Le groupement 5-hydroxychromone est en compétition défavorable avec le fort pouvoir complexant de ces entités. Le premier chélate formé est donc  $Al(Iso)_2^{(3')}$ .

Pour des rapports  $[AlCl_3] / [Iso]$  plus élevés qui ne permettent plus de considérer le milieu réactionnel comme basique, la bande à 414 nm se déplace vers les grandes longueurs d'onde et le spectre obtenu est celui de ICP2. La courbe de rapport molaire tracée à 432 nm confirme que la stœchiométrie de ce second chélate est  $Al(III) : Iso = 2 : 1$  (Fig. II.19). Le site 5-hydroxychromone se chélate lorsque suffisamment d'entités  $MeO^-$  ont été neutralisées par la première réaction, c'est-à-dire en présence d'un excès d' $Al(III)$ .

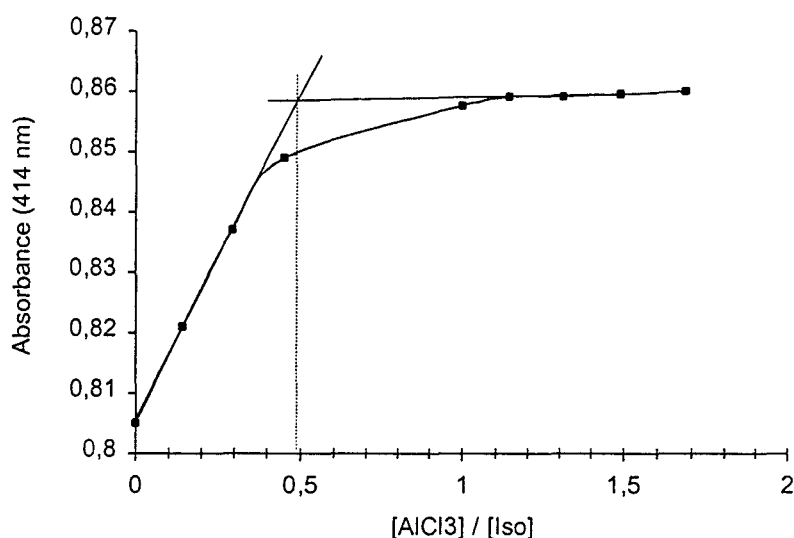


Fig. II.18 : Courbe de variation de l'absorbance à 414 nm en fonction de  $[AlCl_3] / [Iso]$ , tracée pour la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} M$ .

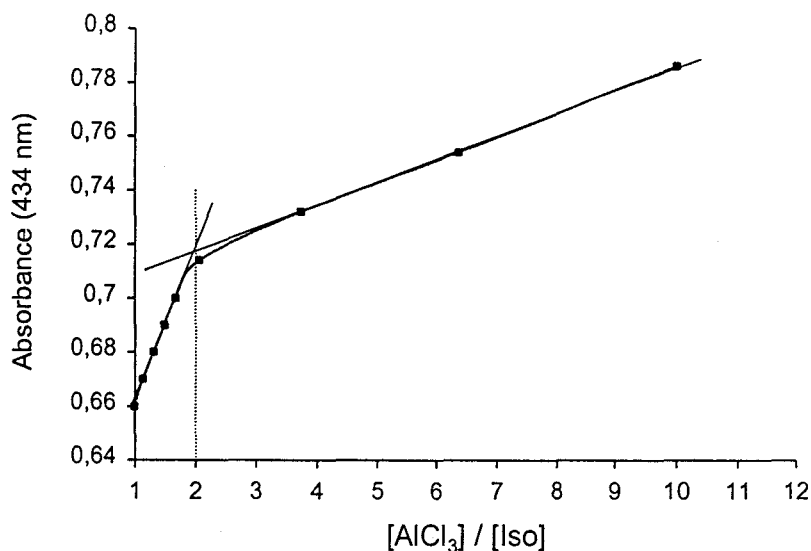


Fig. II.19 : Courbe de variation de l'absorbance à 434 nm en fonction de  $[AlCl_3] / [Iso]$ , tracée pour la complexation de l'isoquercitrine dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} M$ .

## II.5 – Analyse conformationnelle des complexes ICP1 et ICP2.

L'analyse conformationnelle de l'isoquercitrine réalisée au moyen de la méthode semi-empirique AM1 a conduit à l'obtention de trois conformères énergétiquement équivalents notés, Ia, Ib et Ic, qui présentent des valeurs très différentes pour l'angle  $\theta$  (Table II.1). Ces trois structures susceptibles de coexister à température ambiante sont stabilisées par quatre liaisons hydrogène intramoléculaires majeures : O2---H-O5, O2---Ha-Oa, O3'---H-O4' et Ob---H-O3'.

L'étude conformationnelle de ICP1 et de ICP2 a été entreprise à partir des trois conformères en utilisant, pour compléter la valence de Al(III), les différentes entités possibles (OMe, OH, Cl). Le critère de convergence de l'ensemble de ces minimalisations d'énergie est un gradient de 0,005 kcal.mol<sup>-1</sup>. La table II.2 présente les valeurs obtenues pour l'enthalpie de formation et l'angle  $\theta$  à l'issue des différents calculs.

|  | Iso    |         |         |
|--|--------|---------|---------|
|  | Ia     | Ib      | Ic      |
| $\Delta_f H$ (kcal.mol <sup>-1</sup> ) | -448,8 | -448,79 | -448,73 |
| $\theta$ (°)                           | -31,79 | -14,31  | -49,49  |

Table II. 1 : Enthalpie de formation (kcal.mol<sup>-1</sup>) et angle  $\theta$  (°) des trois conformères les plus stables de l'isoquercitrine.

Dans le cas de ICP1, lorsque l'entité complexante est Al(OMe)<sub>2</sub><sup>+</sup> ou Al(OH)<sub>2</sub><sup>+</sup>, les chélates obtenus à partir des trois structures de l'isoquercitrine sont de stabilité équivalente. Lorsque l'entité complexante est AlCl<sub>2</sub><sup>+</sup>, les modèles obtenus à partir des conformères Ia et Ib sont de stabilité équivalente et celui issu de la structure Ic est moins stable. Quelle que soit l'entité choisie pour compléter la valence de l'aluminium(III), la complexation au niveau du groupement 5-hydroxychromone uniquement affecte peu la valeur de l'angle  $\theta$ .

En ce qui concerne ICP2, les modèles obtenus à partir de la structure Ib sont toujours plus stables que ceux issus des minimalisations d'énergie effectuées à partir des conformères Ia ou Ic. La chélation simultanée des groupements 5-hydroxychromone et ortho-dihydroxyle conduit à une nette diminution de la valeur adoptée par l'angle  $\theta$ . Les trois structures de départ conduisent à des modèles présentant des valeurs proches pour cet angle. La structure de ICP2 est quasiment plane.

L'analyse conformationnelle de ICP1 et de ICP2 est effectuée pour les modèles obtenus à partir du conformère Ib de l'isoquercitrine et l'entité complexante choisie est  $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$ . Les charges atomiques portées par les atomes de l'isoquercitrine, de ICP1 et de ICP2 sont rassemblées dans la table II.3. Les paramètres géométriques de ces trois modèles sont présentés dans les tables II.4, II.5 et II.6.

|  |  | ICP1                        |         |         |                            |         |         |                   |         |         |
|--|--|-----------------------------|---------|---------|----------------------------|---------|---------|-------------------|---------|---------|
|  |  | $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$ |         |         | $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ |         |         | $\text{AlCl}_2^+$ |         |         |
|  |  | la                          | lb      | lc      | la                         | lb      | lc      | la                | lb      | lc      |
| $\Delta_f H$ (kcal.mol <sup>-1</sup> ) |  | -598,84                     | -598,71 | -598,55 | -603,22                    | -603,17 | -603,38 | -563,6            | -563,28 | -561,78 |
| $\theta$ (°)                           |  | -36,09                      | -16,24  | -52,75  | -47,45                     | -16,55  | -52,12  | -48,16            | -17,81  | -52,01  |

|  |  | ICP2                        |         |         |                            |         |         |                   |         |         |
|--|--|-----------------------------|---------|---------|----------------------------|---------|---------|-------------------|---------|---------|
|  |  | $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$ |         |         | $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ |         |         | $\text{AlCl}_2^+$ |         |         |
|  |  | la                          | lb      | lc      | la                         | lb      | lc      | la                | lb      | lc      |
| $\Delta_f H$ (kcal.mol <sup>-1</sup> ) |  | -812,47                     | -815,79 | -812,28 | -823,15                    | -825,53 | -823,15 | -745,86           | -748,53 | -745,86 |
| $\theta$ (°)                           |  | 2,72                        | 1,84    | 8,85    | 3,66                       | -3,87   | 5,48    | 0,747             | -5,53   | 0,82    |

Table II. 2 : Enthalpie de formation (kcal.mol<sup>-1</sup>) et angle  $\theta$  (°) des différents modèles pour ICP1 et ICP2 obtenus à partir des trois conformères les plus stables de l'isoquercitrine et avec les différentes entités complexantes possibles ( $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$  ;  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$  ;  $\text{AlCl}_2^+$ ).

### II.5.1 – Géométrie du complexe ICP1.

La coordination de l'isoquercitrine avec Al(III) au niveau du groupement 5-hydroxychromone s'accompagne de la rupture de la liaison hydrogène O2---H-O5.

Au niveau de la répartition électronique, la complexation se traduit essentiellement par une modification des charges portées par les atomes présents au niveau du site de chélation :

(i) la charge de O5 augmente de -0,126 alors que celle de O2 diminue de 0,036.

(ii) les charges portées par C5 et C2 passent respectivement de 0,226 et 0,326 dans l'isoquercitrine libre à 0,336 et 0,364 dans ICP1.

(iii) le carbone C10 voit sa charge augmenter de 0,044.

La chélation perturbe également les charges portées par les carbones C6, C7 et C8 du cycle A ainsi que celles des carbones C2 et C3 du cycle intermédiaire.

Mis à part une augmentation de 0,017 de la charge de C1', la distribution électronique au niveau du cycle B n'est absolument pas affectée par la formation de ICP1. Les charges portées par les atomes du glucose ne sont pas perturbées, mis à part une légère augmentation de la charge portée par l'oxygène cyclique et une faible diminution des charges de Oa et Ha.

|                   | Iso    | ICP1   | ICP2   |                    | Iso    | ICP1   | ICP2   |
|-------------------|--------|--------|--------|--------------------|--------|--------|--------|
| partie aglycone   |        |        |        | partie glucose     |        |        |        |
| O1                | -0,129 | -0,121 | 0,132  | C1''               | 0,122  | 0,117  | 0,113  |
| C2                | 0,174  | 0,208  | 0,276  | C2''               | -0,020 | -0,020 | -0,022 |
| C3                | -0,139 | -0,124 | -0,191 | C3''               | -0,004 | -0,003 | -0,006 |
| C4                | 0,326  | 0,364  | 0,348  | C4''               | 0,009  | 0,009  | 0,005  |
| C5                | 0,226  | 0,336  | 0,317  | C5''               | 0,004  | 0,004  | -0,001 |
| C6                | -0,298 | -0,337 | -0,340 | C6''               | -0,008 | -0,009 | -0,005 |
| C7                | 0,177  | 0,205  | 0,184  | O                  | -0,309 | -0,313 | -0,284 |
| C8                | -0,233 | -0,252 | -0,261 | H1''               | 0,123  | 0,138  | 0,115  |
| C9                | 0,171  | 0,179  | 0,184  | H2''               | 0,117  | 0,116  | 0,120  |
| C10               | -0,315 | -0,359 | -0,346 | H3''               | 0,104  | 0,109  | 0,097  |
| C1'               | -0,079 | -0,096 | -0,175 | H4''               | 0,110  | 0,108  | 0,125  |
| C2'               | -0,129 | -0,119 | -0,098 | H5''               | 0,101  | 0,108  | 0,093  |
| C3'               | -0,014 | -0,016 | 0,009  | H <sub>1</sub> 6'' | 0,134  | 0,136  | 0,112  |
| C4'               | 0,097  | 0,108  | 0,178  | H <sub>2</sub> 6'' | 0,076  | 0,079  | 0,076  |
| C5'               | -0,154 | -0,157 | -0,234 | Oa                 | -0,336 | -0,327 | -0,342 |
| C6'               | -0,080 | -0,070 | -0,043 | Ha                 | 0,240  | 0,234  | 0,239  |
| O2                | -0,375 | -0,339 | -0,363 | O3''               | -0,333 | -0,333 | -0,339 |
| O3                | -0,192 | -0,192 | -0,175 | H <sub>0</sub> 3'' | 0,229  | 0,230  | 0,223  |
| O5                | -0,246 | -0,372 | -0,380 | O4''               | -0,326 | -0,325 | -0,328 |
| O7                | -0,236 | -0,235 | -0,248 | H <sub>0</sub> 4'' | 0,228  | 0,229  | 0,216  |
| O3'               | -0,275 | -0,274 | -0,391 | Ob                 | -0,336 | -0,338 | -0,330 |
| O4'               | -0,242 | -0,238 | -0,352 | Hb                 | 0,212  | 0,210  | 0,240  |
| H <sub>0</sub> 5  | 0,267  |        |        |                    |        |        |        |
| H <sub>0</sub> 7  | 0,231  | 0,235  | 0,223  |                    |        |        |        |
| H <sub>0</sub> 3' | 0,251  | 0,253  |        |                    |        |        |        |
| H <sub>0</sub> 4' | 0,244  | 0,247  |        |                    |        |        |        |
| H6                | 0,163  | 0,166  | 0,154  |                    |        |        |        |
| H8                | 0,177  | 0,177  | 0,170  |                    |        |        |        |
| H2'               | 0,183  | 0,185  | 0,172  |                    |        |        |        |
| H5'               | 0,159  | 0,162  | 0,140  |                    |        |        |        |
| H6'               | 0,152  | 0,153  | 0,127  |                    |        |        |        |
| Al <sub>(5)</sub> |        | 0,800  | 0,788  |                    |        |        |        |
| Al <sub>(3)</sub> |        |        | 0,721  |                    |        |        |        |

Table II.3 : Charges atomiques calculées pour l'isoquercitrine, ICP1 et ICP2.

|         | Iso                     | ICP1                    | ICP2                  |
|---------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
|         | $\theta = -14,31^\circ$ | $\theta = -16,64^\circ$ | $\theta = 1,84^\circ$ |
| O1-C2   | 1,389                   | 1,383                   | 1,388                 |
| C2-C3   | 1,367                   | 1,377                   | 1,398                 |
| C3-C4   | 1,469                   | 1,454                   | 1,431                 |
| C4-C10  | 1,455                   | 1,424                   | 1,435                 |
| C10-C5  | 1,418                   | 1,434                   | 1,430                 |
| C5-C6   | 1,404                   | 1,417                   | 1,416                 |
| C6-C7   | 1,400                   | 1,391                   | 1,393                 |
| C7-C8   | 1,404                   | 1,415                   | 1,408                 |
| C8-C9   | 1,398                   | 1,386                   | 1,394                 |
| C9-C10  | 1,410                   | 1,420                   | 1,413                 |
| C9-O1   | 1,382                   | 1,384                   | 1,379                 |
| C2-C1'  | 1,462                   | 1,461                   | 1,433                 |
| C1'-C2' | 1,402                   | 1,403                   | 1,422                 |
| C2'-C3' | 1,395                   | 1,394                   | 1,379                 |
| C3'-C4' | 1,413                   | 1,414                   | 1,449                 |
| C4'-C5' | 1,402                   | 1,403                   | 1,407                 |
| C5'-C6' | 1,390                   | 1,389                   | 1,383                 |
| C6'-C1' | 1,407                   | 1,408                   | 1,417                 |
| C4-O2   | 1,248                   | 1,293                   | 1,304                 |
| C3-O3   | 1,388                   | 1,385                   | 1,387                 |
| C5-O5   | 1,361                   | 1,315                   | 1,320                 |
| C7-O7   | 1,369                   | 1,367                   | 1,373                 |
| C4'-O4' | 1,369                   | 1,368                   | 1,321                 |
| C3'-O3' | 1,379                   | 1,379                   | 1,351                 |
| O3-C1'' | 1,430                   | 1,432                   | 1,428                 |
| O5-H5   | 0,974                   |                         |                       |
| O7-H7   | 0,970                   | 0,971                   | 0,969                 |
| O4'-H4' | 0,971                   | 0,972                   |                       |
| O3'-H3' | 0,971                   | 0,972                   |                       |
| Al-O5   |                         | 1,773                   | 1,774                 |
| Al-O2   |                         | 1,800                   | 1,910                 |
| O3'-Al  |                         |                         | 1,806                 |
| O4'-Al  |                         |                         | 1,792                 |

Table II.4 : Longueurs de liaisons (Å).

|             | Iso                     | ICP1                    | ICP2                  |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
|             | $\theta = -14,31^\circ$ | $\theta = -16,64^\circ$ | $\theta = 1,84^\circ$ |
| C9-O1-C2    | 119,39                  | 119,77                  | 120,62                |
| O1-C2-C3    | 120,57                  | 120,84                  | 119,03                |
| C2-C3-C4    | 122,81                  | 121,25                  | 122,00                |
| C3-C4-C10   | 115,10                  | 117,24                  | 117,85                |
| C4-C10-C9   | 118,99                  | 118,87                  | 118,08                |
| C4-C10-C5   | 123,56                  | 123,15                  | 123,79                |
| C10-C5-C6   | 120,94                  | 119,30                  | 119,37                |
| C5-C6-C7    | 119,27                  | 119,99                  | 119,90                |
| C6-C7-C8    | 121,73                  | 122,19                  | 122,22                |
| C7-C8-C9    | 117,67                  | 117,35                  | 117,30                |
| C8-C9-C10   | 122,94                  | 123,20                  | 123,08                |
| C8-C9-O1    | 114,03                  | 114,83                  | 114,52                |
| C10-C9-O1   | 123,04                  | 121,97                  | 122,40                |
| O1-C2-C1'   | 109,79                  | 109,97                  | 110,54                |
| C3-C2-C1'   | 129,60                  | 129,15                  | 130,43                |
| C2-C1'-C6'  | 119,69                  | 119,59                  | 119,58                |
| C1'-C6'-C5' | 121,13                  | 121,09                  | 122,21                |
| C6'-C5'-C4' | 119,73                  | 119,72                  | 119,24                |
| C5'-C4'-C3' | 119,39                  | 119,40                  | 119,11                |
| C4'-C3'-C2' | 120,46                  | 120,58                  | 120,90                |
| C3'-C2'-C1' | 119,85                  | 119,85                  | 119,57                |
| C2'-C1'-C6' | 119,30                  | 119,33                  | 118,97                |
| C3-C4-O2    | 121,34                  | 118,02                  | 118,94                |
| C10-C4-O2   | 123,55                  | 124,72                  | 123,82                |
| C2-C3-O3    | 120,51                  | 120,46                  | 120,68                |
| C4-C3-O3    | 116,20                  | 117,86                  | 116,99                |
| C10-C5-O5   | 124,33                  | 123,33                  | 123,60                |
| C6-C5-O5    | 114,74                  | 117,34                  | 116,98                |
| C6-C7-O7    | 122,19                  | 122,46                  | 122,00                |
| C8-C7-O7    | 116,07                  | 115,35                  | 115,78                |
| C5'-C4'-O4' | 117,74                  | 117,75                  | 124,09                |
| C4'-C3'-O3' | 116,00                  | 116,09                  | 115,92                |
| C3-O3-C1''  | 115,40                  | 115,86                  | 115,17                |
| C5-O5-H     | 110,54                  |                         |                       |
| C7-O7-H     | 108,35                  | 108,49                  | 108,01                |
| C4'-O4'-H   | 108,13                  | 108,22                  |                       |
| C3'-O3'-H   | 108,01                  | 108,24                  |                       |
| O5-Al-O2    |                         | 101,51                  | 102,75                |
| O3'-Al-O4'  |                         |                         | 93,98                 |
| C5-O5-Al    |                         | 121,19                  | 119,67                |
| C4-O2-Al    |                         | 120,41                  | 120,33                |
| C3'-O3'-Al  |                         |                         | 106,44                |
| C4'-O4'-Al  |                         |                         | 106,68                |

Table II.5 : Angles de liaison (°).



|                                 | Iso                     | ICP1                    | ICP2                  |
|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
|                                 | $\theta = -14,31^\circ$ | $\theta = -16,64^\circ$ | $\theta = 1,84^\circ$ |
| O1-C2-C1'-C6' = $\theta$        | -14,31                  | -16,64                  | 1,84                  |
| C3-C2-C1'-C6'                   | 163,47                  | 161,35                  | -178,57               |
| C2-C3-C4-O2                     | 175,90                  | 175,82                  | -179,94               |
| O1-C2-C3-O3                     | 174,56                  | 174,62                  | 173,33                |
| C9-O1-C2-C1'                    | 177,97                  | 177,89                  | 178,84                |
| C10-C4-C3-O3                    | -175,80                 | -175,16                 | -172,62               |
| C4-C3-C2-C1'                    | -174,68                 | -175,48                 | -179,34               |
| C8-C7-O7-H                      | 179,83                  | -179,58                 | -179,57               |
| C6-C5-O5-H                      | 178,53                  |                         |                       |
| C5'-C4'-O4'-H                   | 178,68                  | 178,27                  |                       |
| C2'-C3'-O3'-H                   | -14,47                  | -19,98                  |                       |
| C2-C3-O3-C1'' = $\alpha$        | 124,19                  | 123,50                  | 113,55                |
| C3-O3-C1''-O = $\omega$         | -94,23                  | -87,35                  | -92,92                |
| O-C5''-C6''-Ob = $\gamma$       | -30,25                  | -33,74                  | -65,25                |
| C5''-C6''-Ob-Hb = $\varepsilon$ | 64,94                   | 66,78                   | 69,42                 |
| O3-C1''-C2''-Oa                 | -85,27                  | -83,59                  | -75,18                |
| C1''-C2''-Oa-Ha                 | 42,76                   | 42,64                   | 34,48                 |
| C7-C6-C5-O5                     | 179,99                  | -177,95                 | -177,58               |
| C9-C10-C5-O5                    | 179,74                  | 177,38                  | 176,87                |
| C3-C4-O2-Al                     |                         | 165,39                  | 168,07                |
| C6-C5-O5-Al                     |                         | -165,66                 | -163,53               |
| C2'-C3'-O3'-Al                  |                         |                         | 176,57                |
| C5'-C4'-O4'-Al                  |                         |                         | -178,45               |

Table II.6 : Angles dièdres ( $^\circ$ ).

D'un point de vue structural, la comparaison des valeurs des angles et longueurs de liaison du cycle B indique que la géométrie de ce cycle n'est aucunement perturbée par la formation du premier chélate. La position de ce cycle par rapport à la partie chromone varie très légèrement. Par rapport à l'isoquercitrine libre, l'angle  $\theta$  passe de  $-14,31^\circ$  à  $-16,64^\circ$ , l'angle C3-C2-C1' diminue faiblement et la liaison C2-C1' a une longueur identique. La complexation au niveau du groupement 5-hydroxychromone n'entraîne pas une extension de la délocalisation électronique jusqu'au groupement hydroxyle O4'H, en position conjuguée avec la fonction carbonyle.

La géométrie du cycle A est davantage modifiée :

(i) les liaisons C5-C6, C7-C8 et C9-C10 s'allongent et les liaisons C6-C7 et C8-C9 se raccourcissent.

(ii) Les valeurs des angles changent légèrement ( $\leq 0,5^\circ$ ).

Au niveau du cycle C, les longueurs des liaisons O1-C2 et C3-C4 diminuent légèrement alors que celle de la liaison C2-C3 augmente. Certains angles de liaison voient leurs valeurs changer faiblement. Les modifications structurales de ce cycle sont cependant

nettement plus faibles que celles observées lors du passage de Q à QCP1, c'est-à-dire dans le cas d'un complexe formé au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle. La contribution de la forme pyronium à la géométrie de ICP1 est très faible.

Les variations géométriques les plus importantes concernent le site de complexation :

(i) La liaison C5-C10 s'allonge et la liaison C4-C10 se raccourcit, les longueurs de ces deux liaisons devenant très proches.

(ii) La longueur de la liaison C4=O2 augmente de 0,05 Å et celle de C5-O5 diminue de 0,05 Å, ces deux liaisons adoptant des longueurs voisines.

(iii) L'angle C3-C4-O2 diminue de 3,3° et l'angle C10-C4-O2 augmente de 1,2°. Les angles C10-C5-O5 et C6-C5-O5 passent respectivement de 124,33° et 114,74° à 123,33° et 117,34°. La distance séparant les atomes O2 et O5 est quasiment la même (2,79 Å dans l'isoquercitrine libre et 2,77 Å dans ICP1).

La rupture de la liaison hydrogène O2---H-O5, la conservation de la liaison hydrogène O2---Ha-Oa ainsi que l'encombrement stérique généré par la présence de l'aluminium(III) à proximité de la fonction carbonyle conduisent à une modification de la position des liaisons C4-O2 et C5-O5 par rapport à la partie chromone et à une variation de la position du glucose. Le basculement de la liaison carbonyle vers le sucre augmente l'encombrement stérique et bien que le glucose conserve la même position vis-à-vis du plan de la partie chromone ( $\alpha$  varie de 0,7° uniquement), celui-ci pivote autour de la liaison O3-C1'' (l'angle  $\omega$  passe de -94,23° à -87,35°). Ce changement d'orientation du glucose provoque une diminution de la force de la liaison hydrogène O2---Ha-Oa dont la longueur passe de 2,25 Å dans l'isoquercitrine à 2,51 Å dans ICP1. Afin de conserver une interaction suffisamment forte entre le sucre et le cycle B (Ob---H-O3' passe de 2,24 Å à 2,49 Å), les angles  $\gamma$  et  $\epsilon$  augmentent de 3,50° et 1,84° respectivement et l'hydroxyle en position 3' sort davantage du plan du cycle B (C2'-C3'-O3'-H vaut -19,98° dans ICP1). Le léger basculement ainsi que la faible rotation observés pour le cycle B permettent de diminuer les répulsions stériques provoquées par la rotation du sucre et de maintenir une interaction entre le sucre et le cycle B. La liaison hydrogène O4'-H---O3' est conservée et sa longueur est inchangée (2,25 Å).

Le groupement 5-hydroxy-4-carbonyle et l'Al(III) forment un cycle à six atomes parfaitement plan qui n'est cependant pas coplanaire à la partie chromone. Comme dans le

chélate formé avec la 5HF, l'angle O5-Al-O2 vaut  $101,51^\circ$ . Les liaisons Al-O2 et Al-O5 valent respectivement 1,800 et 1,773 Å.

L'étude structurale de ICP1 permet de proposer un modèle géométrique pour ce chélate (Fig. II.20). L'interaction présente entre le sucre et le cycle B de la molécule qui confère une plus grande stabilité à la molécule libre semble également importante à la stabilité de ICP1. En effet, malgré la présence de l'aluminium(III) à proximité de la fonction carbonyle, c'est-à-dire d'un encombrement stérique plus important, la position du sucre par rapport à l'aglycone est peu modifiée. Celui-ci ne s'écarte pas du plan de la partie chromone mais il tourne autour de la liaison qui le relie à l'aglycone.

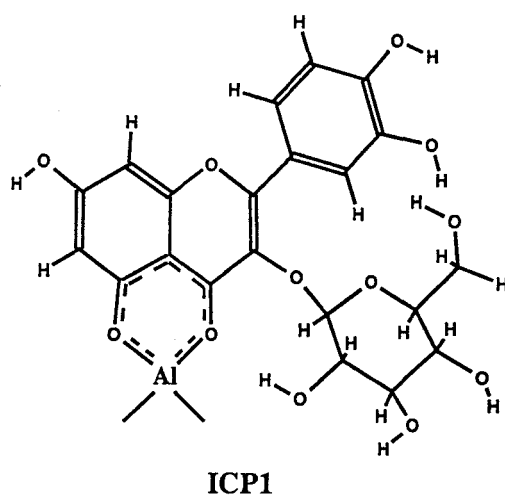


Fig. II.20 : Modèle structural proposé pour ICP1.

### II.5.2 – Géométrie du complexe ICP2.

La coordination de ICP1 avec Al(III) au niveau du groupement 3'4'-dihydroxyle s'effectue par déplacement des protons en position 3' et 4'. Cela occasionne la rupture de la liaison hydrogène O4'---H-O3' mais également de la liaison hydrogène O3'-H---Ob qui stabilise la structure de l'isoquercitrine et de ICP1. Par rapport au premier complexe, une importante redistribution des charges électroniques est observée.

Les charges portées par les atomes du cycle A sont peu modifiées par rapport à ICP1, seul C7 voit sa charge diminuer de 0,021. Les atomes les plus perturbés sont ceux du cycle B :

(i) Les charges portées par C1', C4' et C5' augmentent respectivement de -0,079, 0,070 et 0,077.

(ii) Les charges portées par C2' et C6' passent respectivement de -0,119 et -0,070 dans ICP1 à -0,098 et -0,043 dans ICP2.

(iii) Une augmentation sensible de la charge des oxygènes O3' et O4' est observée.

(iv) Les atomes H2', H5' et H6' voient leurs charges diminuer.

Au niveau du cycle intermédiaire la charge des atomes C2 et C3 augmente alors que celle portée par l'oxygène O3 diminue. Les charges des atomes du premier site de chélation (C5, O5, C4, O2, C10) sont très légèrement affectées, la charge la plus perturbée étant celle portée par l'oxygène de la fonction carbonyle qui augmente de 0,024.

5.

Les modifications de la distribution électronique au niveau du cycle B et du lien inter-cycle conduisent à une variation des charges portées par les atomes du glucose :

(i) La charge de Hb passe de 0,210 à 0,240.

(ii) La charge de l'oxygène cyclique du glucose diminue de 0,029 et celle de Oa varie de 0,015.

(iii) Les charges des hydrogènes portées par les carbones 1'', 3'', 5'' ainsi qu'un des hydrogènes portés par C6'' diminuent alors que la charge de H4'' augmente.

La géométrie du cycle A est peu perturbée par la chélation au niveau du catéchol, ce cycle adopte une structure similaire à celle observée dans ICP1. Au niveau du premier site de complexation, le passage de ICP1 à ICP2 se traduit par des changements minimes.

Les modifications géométriques les plus importantes concernent le cycle B et le lien inter-cycle. Il apparaît que similairement à QCP2, ICP2 adopte une forme quinonique quasiment plane avec un angle  $\theta$  égal à  $1,84^\circ$  (Fig. II.21) :

(i) La liaison C2-C3 s'allonge, C3-C4 se raccourcit de 0,023 Å et les angles de liaison du cycle C voient leurs valeurs plus ou moins modifiées.

(ii) La longueur de la liaison inter-cycle C2-C1' diminue. Cette liaison se rapproche du plan de la partie chromone (la valeur de C9-O1-C2-C1' passe de  $177,89^\circ$  dans ICP1 à  $178,84^\circ$  dans ICP2) et bascule légèrement (C3-C2-C1' augmente de  $1,28^\circ$ ).

(iii) La longueur de la liaison C4-O2 augmente de 0,011 Å et par rapport à ICP1 cette liaison est davantage incluse dans le plan du cycle  $\gamma$ -pyrone (C2-C3-C4-O2 égal à 175,90° dans l'isoquercitrine libre et à -175,82° dans ICP1, vaut -179,94° dans ICP2).

(iv) Les longueurs des liaisons C1'-C2', C3'-C4' et C6'-C1' augmentent alors que celles des liaisons C2'-C3' et C5'-C6' diminuent. Les angles de liaison du cycle B voient leurs valeurs varier plus ou moins.

(v) Les liaisons C3'-O3' et C4'-O4' se raccourcissent de 0,050 Å et 0,028 Å respectivement mais ces deux liaisons ne sont pas de longueurs égales. La liaison C4'-O4 (1,321 Å) est plus courte que C3'-O3' (1,351 Å).

La rupture de la liaison Ob---H-O3' ainsi que la rotation du cycle B conduisent le sucre à adopter une position différente vis-à-vis de l'aglycone. La valeur de l'angle  $\alpha$  diminue de 10° et celle de l'angle  $\omega$  est proche de celle observée dans l'isoquercitrine libre. Néanmoins, le glucose et le cycle B sont toujours en interaction par le biais d'une nouvelle liaison hydrogène Ob-Hb---O3' (2,29Å). Il s'ensuit une modification de la position du groupement CH<sub>2</sub>ObHb vis-à-vis du cycle du glucose (les valeurs des angles  $\gamma$  et  $\epsilon$  passent de -30,25° et 64,94 dans l'isoquercitrine à -65,25° et 69,42 ° dans ICP2). De la même façon, afin de maintenir l'interaction O2---Ha-Oa (2,25 Å dans l'isoquercitrine et 2,28 Å dans ICP2), le groupement hydroxyle OaHa adopte une position différente. Les angles O3-C1''-C2''-Oa et C1''-C2''-Oa-Ha dont les valeurs respectives sont -85,27° et 42,76° dans l'isoquercitrine valent -75,18° et 34, 48° dans ICP2.

Au niveau du second site de chélation, la distance séparant O3' et O4' (2,64 Å) est inférieure à celle séparant O5 et O2 (2,79 Å). Les liaisons O3'-Al et O4'-Al ont des longueurs similaires et les valeurs des angles C3'-O3'-Al et C4'-O4'-Al sont identiques (environ 94 °). Ce second site de chélation forme avec Al(III) un cycle à cinq chaînons plan et coplanaire au cycle B. Le cycle à six atomes formé au niveau du groupement 5-hydroxychromone n'est pas coplanaire à la partie chromone, seule la liaison C4=O2 est incluse dans ce plan (C3-C4-O2-Al et C6-C5-O5-Al valent respectivement 168,07° et -163,53°).

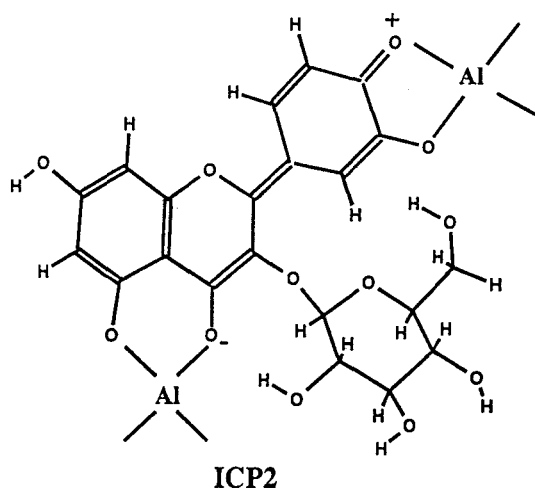


Fig. II.21 : Modèle structural proposé pour ICP2.

5:

## II.6 – Etude spectroscopique des complexes de l'isoquercitrine dans le méthanol.

### II.6.1 -- La spectroscopie d'absorption UV-visible.

A partir des modèles structuraux obtenus pour ICP1 et ICP2, un calcul des spectres électroniques théoriques a été effectué par CI : 9\*9. Dans les deux cas, l'entité complexante est sous la forme  $\text{Al}(\text{OMe})_2^+$ .

La figure II.22 présente les spectres d'absorption UV-visible de l'isoquercitrine (a) de ICP1 (b) et de ICP2 (c) ainsi que les transitions électroniques calculées pour chacun des trois modèles. Les spectres de la molécule libre et de ICP2 ont été obtenus à partir de la molécule en solution dans le méthanol pur à une concentration de  $4 \cdot 10^{-5}$  M et avec  $[\text{AlCl}_3] / [\text{Iso}]$  égal à 10 dans le cas de ICP2. Etant donné que, dans le méthanol, les deux chélates ne se forment pas successivement mais qu'il y a recouvrement des équilibres, le spectre correspondant à ICP1 est celui obtenu par complexation de l'isoquercitrine ( $4 \cdot 10^{-5}$  M) en présence d'HCl pour un rapport  $[\text{AlCl}_3] / [\text{Iso}]$  égal à 100.

La correspondance entre la position des bandes d'absorption calculées et celle des bandes expérimentales est relativement bonne et le calcul reproduit correctement le déplacement bathochrome de la bande I observée lors du passage de l'isoquercitrine à ICP1 puis à ICP2. Ce bon accord permet de conforter les modèles structuraux des complexes.

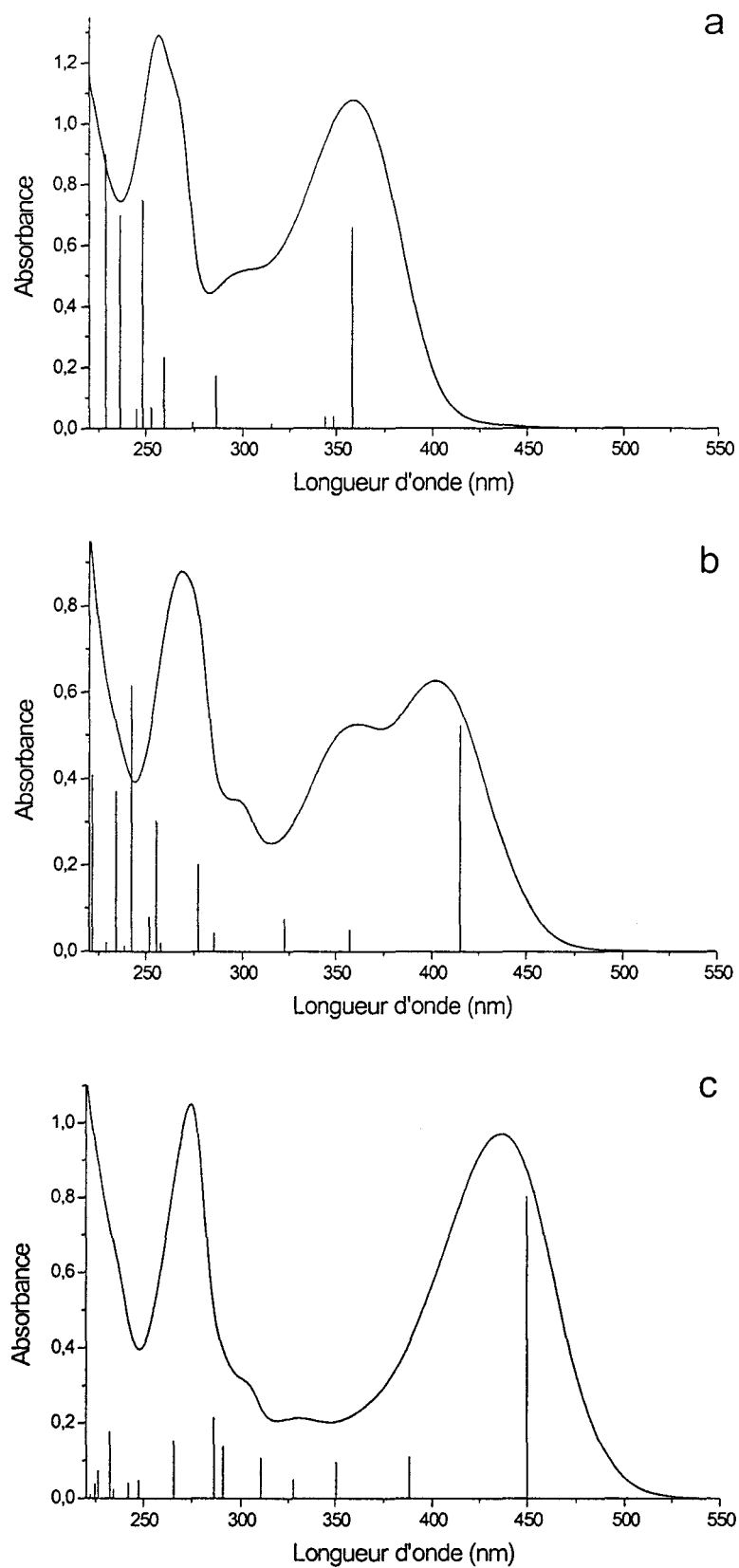


Fig. II.22 : Spectres d'absorption UV-visible expérimentaux de l'isoquercitrine (a), de ICPI (b) et de ICP2 (c) et spectres électroniques théoriques calculés par CI : 9\*9.

### II.6.2 – La spectroscopie de vibration.

Les spectres Raman à transformée de Fourier de l'isoquercitrine, ICP1 et ICP2 en solution dans le méthanol sont présentés sur la gamme spectrale  $1675 - 750 \text{ cm}^{-1}$  sur la figure II.23. Ils ont été enregistrés à partir d'une solution d'isoquercitrine de concentration  $10^{-2} \text{ M}$  et avec un rapport  $[\text{Iso}] / [\text{AlCl}_3]$  respectivement égal à 1 et 0,1 pour ICP1 et ICP2. Afin que le spectre du premier chélate soit effectivement obtenu, quelques gouttes de  $\text{HCl } 10^{-2} \text{ M}$  ont été ajoutées à la solution de ICP1. Un calcul de dérivée seconde a permis de mettre en évidence les différentes composantes spectrales des spectres des deux chélates.

D'après les résultats de l'étude structurale des deux complexes :

(i) La chélation au niveau du groupement 5-hydroxychromone doit modifier les modes de vibration relatifs au cycle A de la molécule sans affecter ceux du cycle B.

(ii) Le passage de ICP1 à ICP2 doit se traduire sur les spectres Raman par une faible variation des fréquences de vibration du cycle A et un déplacement important des bandes correspondant aux modes de vibration du cycle B.

Cependant, du fait de la présence de nombreux couplages mécaniques entre les vibrations et des modifications de ces couplages lors de la chélation, les variations de fréquences observées ne sont pas aussi nettes.

En utilisant les résultats de l'étude des spectres de vibration de la quercétine et de l'isoquercitrine libres (Partie II, chapitre II), ainsi que les conclusions de l'analyse conformationnelle des deux complexes, l'attribution de certaines fréquences est proposée dans la table II.7. Cette attribution se réfère essentiellement aux modes de vibration spécifiques aux cycles A et B de la molécule et est relativement sommaire.

Par comparaison avec les spectres Raman des chélates de la quercétine, il est remarquable les spectres correspondants à ICP2 et QCP2 présentent de nombreuses similitudes au niveau de la position des bandes de vibration. Seules les intensités relatives de ces bandes diffèrent lorsque l'on passe de ICP2 à QCP2. Cette observation rejoint les résultats de l'étude structurale qui indiquent que ces deux chélates adoptent une structure quinonique quasiment plane. Les quatre spectres de vibration présentent une bande intense vers  $1425 \text{ cm}^{-1}$  attribuée au mode de vibration  $\nu(\text{C4-O2})$  ;  $\nu(\text{C3-O3})$  symétrique dans le cas de la quercétine et  $\nu(\text{C4-O2})$  ;  $\nu(\text{C5-O5})$  symétrique dans le cas de l'isoquercitrine. La bande correspondant au mode d'élongation anti-symétrique de ces liaisons subit des déplacements de fréquence plus



importants selon la nature du chélate considéré. La bande de vibration attribuée à la vibration  $\nu(\text{C2-C3})$  se situe à 1639 et 1635  $\text{cm}^{-1}$  sur les spectres de QCP1 et ICP1 et à 1633  $\text{cm}^{-1}$  sur les spectres de QCP2 et ICP2. Cette liaison a quasiment la même longueur dans QCP1 et ICP1 et, dans ICP2 et QCP2.

| Fréquences<br>expérimentales ( $\text{cm}^{-1}$ ) | attribution proposée  | Fréquences<br>expérimentales ( $\text{cm}^{-1}$ ) |      | attribution proposée  |
|---|---|---|------|---|
|   |   | ICP1  | ICP2 |   |
| ISO   |   |   |      |   |
| 1657  | $\nu(\text{C=O}); \nu(\text{C2=C3})$  | 1635  | 1633 | $\nu(\text{C2=C3})$   |
| 1617  | $\nu(\text{C=O}); \nu(\text{C2=C3})$  | 1548  | 1542 | $\nu(\text{C4-O2}); \nu(\text{C5-O5})$ (anti-sym)                               |
|   |   | 1426  | 1421 | $\nu(\text{C4-O2}); \nu(\text{C5-O5})$ (sym)                                    |
| 1609  | 8b(A); 8b(B)  | 1313  | 1613 | 8b et 8a (A)  |
| 1579  | 8b(A); 8b(B)  | 1570  | 1572 |   |
| 1567  | 8a(A); 8a(B); $\nu(\text{C2-C3})$   | 1596  | 1592 | 8b et 8a (B)  |
|   |   | 1531  | 1556 |   |
| 1526  | 19a et 19b (A et B) +   | 1514  | 1510 | 19a et 19b (A et B) +   |
| 1501  |   | 1491  | 1498 |   |
| 1492  |   | 1485  | 1482 |   |
| 1475  | $\nu(\text{C-OH}) + \nu(\text{C-C})$  | 1465  |      | $\nu(\text{C-OH}) + \nu(\text{C-C})$  |
| 1446  |   | 1445  | 1443 |   |
| 1391  | $\nu(\text{C4'-OH}); \delta(\text{C3'-OH})$                                     | 1389  |      | $\nu(\text{C4'-OH}); \delta(\text{C3'-OH})$                                     |
| 1353  | 14 (A et B) +<br>$\nu(\text{C-O}) + \nu(\text{C-C}) +$<br>$\delta(\text{C-OH})$ | 1351  | 1350 | 14 (A et B) +<br>$\nu(\text{C-O}) + \nu(\text{C-C}) +$<br>$\delta(\text{C-OH})$ |
| 1310  |   | 1319  | 1319 |   |
| 1293  |   | 1303  | 1303 |   |
| 1275  | 3(B)  | 1280  | 1289 | 3(B)  |
| 1188  | 18b(A)  | 1188  | 1189 | 18b(A)  |
| 1116  | 18a(A)  | 1124  | 1125 | 18a(A)  |
| 1025  | 7b(B)   | 1025  |      | 7b(B)   |
| 999   | 5(B)  | 1003  |      | 5(B)  |
| 850   | 17a(A)  | 861   | 863  | 17a(A)  |
| 790   | $\gamma(\text{C5'-H}); \gamma(\text{C6'-H})$                                    | 791   | 819  | $\gamma(\text{C5'-H}); \gamma(\text{C6'-H})$                                    |

Table I.7 : Fréquences expérimentales et attribution proposée pour quelques modes de vibration de ICP1 et ICP2.

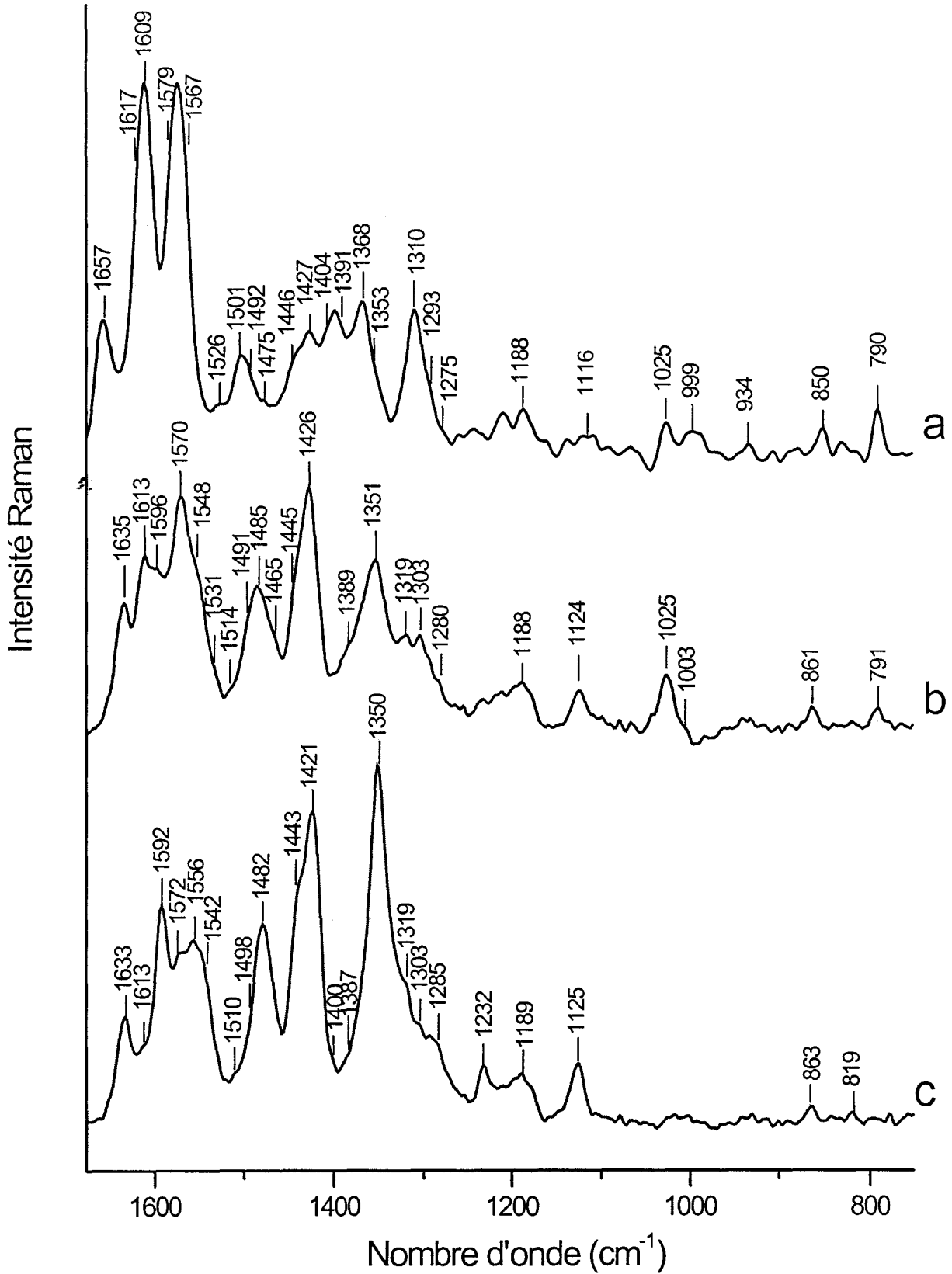


Fig. II.23 : Spectres Raman de l'isoquercitrine ( $10^{-2}$  M)(a), de ICPI ( $[Iso] / [AlCl_3] = 1$ ) (b) et ICP2 ( $[Iso] / [AlCl_3] = 0,1$ ) (c) en solution dans le méthanol.

Bien que l'attribution des fréquences de vibration des spectres Raman de ICP1 et ICP2 soit relativement sommaire, cette étude nous permet de confirmer que QCP2 et ICP2 adoptent une géométrie similaire, c'est-à-dire que ces deux chélates ont une structure quinonique plane. La complexation au niveau du groupement 3-hydroxychromone aussi bien que celle au niveau du groupement 5-hydroxychromone carbonyle permet une extension de la conjugaison entre la partie chromone et le cycle B des composés.

## II.7 – Conclusion.

L'étude de l'isoquercitrine est particulièrement intéressante pour envisager une comparaison du pouvoir chélateur des groupements 5-hydroxy-4-carbonyle et 3'4'-ortho-dihydroxyle. La table II.8 rassemble les résultats obtenus pour la chélation de l'isoquercitrine dans les différents milieux réactionnels étudiés.  $([AlCl_3] / [Iso])_i$  correspond au rapport approximatif pour lequel la complexation devient spectralement observable et  $([AlCl_3] / [Iso])_f$  correspond soit au rapport pour lequel l'équilibre est totalement déplacé, soit au rapport où un second équilibre démarre.  $\lambda_{max}(Iso)$  et  $\lambda_{max}(ICP)$  sont respectivement les longueurs d'onde au maximum d'absorption de la bande I de l'isoquercitrine libre et complexée.

Dans le méthanol pur, l'isoquercitrine forme successivement deux chélates avec l'aluminium(III). Pour de faibles rapports  $[AlCl_3] / [Iso]$ , le groupement 5-hydroxychromone est le premier site engagé et le chélate  $Al(Iso)^{(5)}$  est obtenu. Ce chélate possède une stœchiométrie identique à celui formé avec la 5HF. L'ajout d' $AlCl_3$  à la solution conduit à la chélation du second site présent sur la molécule et à la formation de  $Al_2(Iso)^{(5,3')}$ . Cependant, alors que dans la quercétine, la chélation au niveau du groupement 3'4'-dihydroxyle a lieu une fois que toutes les molécules sont complexées au niveau du groupement 3-hydroxy-4-carbonyle, dans l'isoquercitrine il y a recouvrement des équilibres et pour une certaine quantité d'aluminium(III) les deux sites se chélatent simultanément. Contrairement à la quercétine, la chélation du second site de l'isoquercitrine ne modifie pas la stœchiométrie du chélate formé au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle. Dans le méthanol pur, le pouvoir chélateur du groupement 5-hydroxychromone est donc supérieur à celui du groupement catéchol. Cependant, la présence simultanée des deux équilibres de complexation indique que le pouvoir chélateur du groupement 5-hydroxychromone est inférieur à celui du groupement 3-hydroxychromone.

| $([AlCl_3] / [Iso])_i$  | $([AlCl_3] / [Iso])_f$ | stoechiométrie<br>et site chélateur                             | $\lambda_{max}$ (Iso) | $\lambda_{max}$ (ICP) |
|---|------------------------|---|-----------------------|-----------------------|
| MeOH pur  |                        |   |                       |                       |
| 0,02  | 0,5                    | Al(Iso) <sup>(5)</sup>  | 359 nm                | 406 nm                |
| 0,5   | 1                      | Al(Iso) <sup>(5)</sup> + Al <sub>2</sub> (Iso) <sup>(5,3)</sup> |                       |                       |
| 1   | 10                     | Al <sub>2</sub> (Iso) <sup>(5,3)</sup>                          |                       | 436 nm                |
| Milieu acide MeOH (90%) - H <sub>2</sub> O (10%)                                    |                        |   |                       |                       |
| HCl (3,2 10 <sup>-2</sup> M)  |                        |   |                       |                       |
| 0,2   | 100                    | Al(Iso) <sup>(5)</sup>  | 359 nm                | 402 nm                |
| AcOOH (10 <sup>-1</sup> M) - AcOO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> (10 <sup>-1</sup> M) |                        |   |                       |                       |
| 0,3   | 50                     | Al(Iso) <sup>(3')</sup>   | 359 nm                | 424 nm                |
| Milieu basique  |                        |   |                       |                       |
| MeOH + AcOO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> (10 <sup>-1</sup> M)                       |                        |   |                       |                       |
| 0   | 1                      | Al(Iso) <sup>(3')</sup>   | 378 nm                | 422 nm                |
| 1   | 50                     | Al <sub>2</sub> (Iso) <sup>(5,3)</sup>                          |                       | 432 nm                |
| MeOH + MeO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> (5.10 <sup>-3</sup> M)                      |                        |   |                       |                       |
| 0   | 1                      | Al(Iso) <sub>2</sub> <sup>(3')</sup>                            | 407 nm                | 414 nm                |
| 1   | 100                    | Al <sub>2</sub> (Iso) <sup>(5,3)</sup>                          |                       | 432 nm                |

Table II.8 : Résultats obtenus pour la complexation de l'isoquercitrine dans les différents milieux réactionnels étudiés.

En présence d'HCl, le seul site susceptible de se chélater avec Al(III) est le groupement 5-hydroxychromone et le chélate Al(Iso)<sup>(5)</sup> est obtenu. La réaction de complexation de la 5HF est inhibée par la présence d'eau et incomplète lorsque  $[AlCl_3] / [5HF]$  est égal à 1000. Dans ce même milieu, la complexation de l'isoquercitrine est totale pour un rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  égal à 100. Cette différence de réactivité peut être attribuée à la présence des groupements hydroxyles et du glucose sur le noyau flavonique qui peuvent modifier les propriétés électroniques de la molécule et le pKa de l'hydrogène en position 5.

En présence du mélange équimolaire (10<sup>-1</sup> M) acide acétique - acétate de sodium, la présence d'entités AcO<sup>-</sup> inhibe totalement la réactivité du groupement 5-hydroxychromone et seul le complexe Al(Iso)<sup>(3')</sup> est obtenu. La réaction est complète pour un rapport  $[AlCl_3] / [Iso]$  égal à 50. Le groupement 3'4'dihydroxyle de l'isoquercitrine semble plus réactif que celui de la 3'4'diHF puisque la réaction de formation du chélate Al(3'4'diHF) est

incomplète lorsque  $[AlCl_3] / [3'4'diHF]$  est égal à 200. Il est difficile d'entreprendre une comparaison entre la réactivité du groupement catéchol de la quercétine et celui de l'isoquercitrine dans ce milieu réactionnel. Dans la quercétine, la formation de  $Al(Q)^{(3')}$  est incomplète ou du moins masquée par la formation quasiment simultanée de  $Al(Q)^{(3',3')}$ .

En milieu basique, comme cela a déjà été observé, le groupement ortho-dihydroxyle est particulièrement réactif alors que le groupement 5-hydroxychromone est en compétition défavorable avec les entités  $AcO^-$  et  $MeO^-$  présentes en solution. Ce dernier se chélate uniquement lorsque d'importantes quantités d' $AlCl_3$  ont été ajoutées à la solution.

En présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M, l'isoquercitrine forme avec l'aluminium(III) le chélate  $Al(Iso)^{(3')}$  observé également dans le mélange acide acétique – acétate de sodium. Néanmoins, la quantité d' $AlCl_3$  requise pour former ce complexe est nettement moins importante en présence de base. Après neutralisation des ions  $AcO^-$  par cette réaction, la molécule se chélate également au niveau du groupement 5-hydroxychromone. Cette seconde réaction ne démarre que lorsque toutes les molécules sont complexées au niveau du catéchol, c'est-à-dire lorsque la première réaction est complète.

Contrairement à la quercétine, l'isoquercitrine est stable en présence de méthanoate de sodium  $5 \cdot 10^{-3}$  M et forme un chélate  $Al(Iso)_2^{(3')}$ . Cette première réaction étant totale, l'ajout d'une quantité plus importante d' $AlCl_3$  conduit à l'obtention du chélate  $Al_2(Iso)^{(3',5')}$ . La seconde réaction de complexation provoque une modification de la stœchiométrie du chélate formé au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle.

L'analyse conformationnelle du premier chélate formé dans le méthanol, indique que  $Al(Iso)^{(5')}$  adopte une géométrie similaire à celle de  $Al(5HF)$ . La structure de la partie chromone et notamment du site de complexation est modifiée par la chélation alors que la géométrie du cycle B n'est pas perturbée. Malgré l'encombrement stérique généré par la coordination de l'isoquercitrine avec  $Al(III)$ , l'orientation du sucre vis-à-vis de la partie chromone est peu différente. Les liaisons hydrogène intramoléculaires présentes dans l'isoquercitrine libre entre le sucre et l'aglycone sont conservées dans ce premier chélate.

Comme dans le cas du chélate  $Al_2(Q)^{(3',3')}$ , la géométrie du second complexe de l'isoquercitrine est une forme quinonique plane ( $\theta = 1,84^\circ$ ). La similitude observée entre le spectre Raman de  $Al_2(Q)^{(3',3')}$  et celui de  $Al_2(Iso)^{(5',3')}$  confirme que les deux complexes adoptent une structure identique. La chélation au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle

permet une extension de la délocalisation électronique le long de la chaîne carbonée qui relie la position 4' et la fonction carbonyle. L'interaction sucre-cycle B présente dans l'isoquercitrine libre par le biais de la liaison hydrogène intramoléculaire Ob---H-O3' est remplacée dans le second chélate par la liaison hydrogène Ob-Hb---O3'. Par rapport à l'isoquercitrine libre, le sucre ainsi que le groupement CH<sub>2</sub>ObHb adopte des orientations différentes vis-à-vis de la partie aglycone dans Al<sub>2</sub>(Iso)<sup>(5,3')</sup>.

5.

## Conclusion

L'étude de la complexation de la quercétine et de l'isoquercitrine indique que la substitution d'un hydroxyle en position 3 par un glucose, modifie fortement les propriétés complexantes de la molécule. Sur la figure IV.1, un mécanisme de complexation est proposé pour les deux molécules en solution dans le méthanol pur.

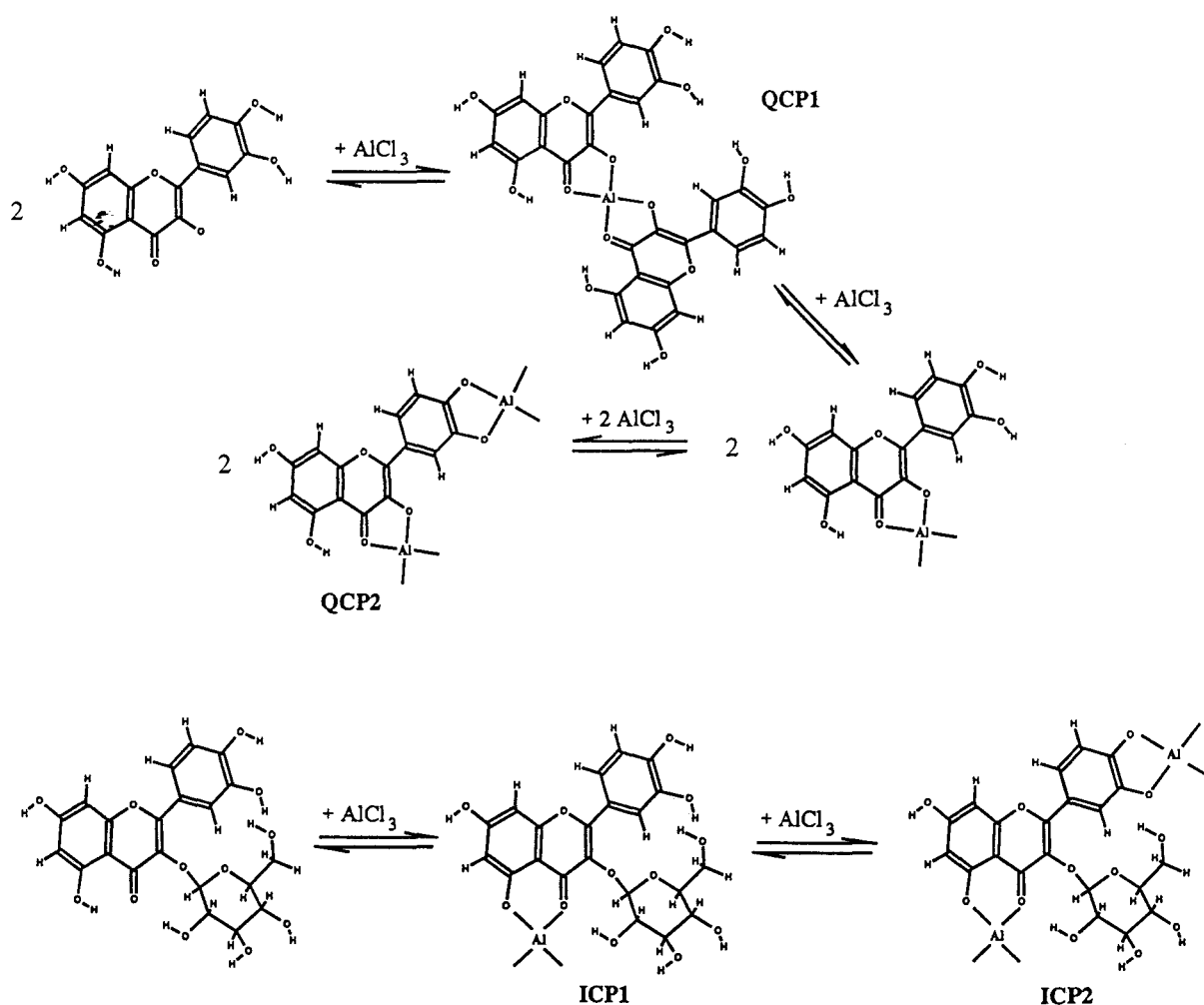


Fig. IV.1 : Mécanismes proposés pour la complexation de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) en solution dans le méthanol pur.

Pour de faibles rapports  $[AlCl_3] / [Q]$ , la quercétine forme avec l'aluminium(III) un chélate du type  $Al(Q)_2^{(3)}$ . L'ajout d' $AlCl_3$  à la solution conduit à la formation de  $Al_2(Q)^{(3,3')}$ . Ces deux réactions sont successives et la formation de QCP2 démarre uniquement lorsque toutes les molécules sont sous la forme de QCP1. Le mécanisme proposé fait apparaître une

étape non observée sur les spectres UV-visible : le passage de  $\text{Al(Q)}_2^{(3)}$  à  $\text{Al(Q)}^{(3)}$ . Cette étape est proposée pour traduire la succession des deux réactions de chélation mais également la variation de stœchiométrie observée au niveau du groupement 3-hydroxychromone entre QCP1 et QCP2. Cette étape n'est pas observée probablement à cause de la simultanéité de cette réaction avec la dernière étape de chélation (passage de  $\text{Al(Q)}^{(3)}$  à  $\text{Al}_2(\text{Q})^{(3,3')}$ ).

La complexation de l'Iso commence par la chélation au niveau du groupement 5-hydroxychromone et avant que cette première réaction soit complète, la seconde réaction démarre. Les deux équilibres sont simultanés.

L'ensemble de ces considérations permet de classer les différents sites présents sur un même ligand selon leur pouvoir de chélation vis-à-vis de l'aluminium(III) dans l'ordre suivant :

∴

*3-hydroxy-4-carbonyle > 5-hydroxy-4-carbonyle > 3'4'ortho-dihydroxyle.*

Les conclusions issues de l'étude des molécules présentant un unique site de chélation sont donc applicables aux ligands possédant plusieurs sites. Porter et Markham [1970(b)] ont conclu d'une manière similaire leur étude dans le méthanol concernant la complexation avec l'aluminium(III) de ligands possédant plus d'un site de chélation. L'étude de la complexation de la quercétine et de la rutine avec le cuivre dans le méthanol a conduit Takamura [1978] à classer les sites de chélation selon leur réactivité vis-à-vis de Cu(II) dans le même ordre.

Monties [1969(c)] attribue la différence de réactivité et donc de stœchiométrie observée entre les groupements 5-hydroxychromone et 3-hydroxychromone au fait que les chélates hexagonaux formés au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle sont moins tendus et donc moins réactif. Plus précisément, la stœchiométrie observée pour ICP1 est du type 1 : 1 car le chélate formé est trop stable pour réagir avec une seconde molécule d'isoquercitrine. D'après ce même auteur, la complexation au niveau des groupements 3-hydroxychromone et 5-hydroxychromone conduit à la formation de chélate adoptant une forme quinonique, structure qui permet d'activer la réactivité du groupement 3'4'ortho-dihydroxyle. Ainsi, la complexation au niveau du groupement 3'4'dihydroxyle ne pourrait avoir lieu sans la formation préalable de ICP1 et ICP2. Ces résultats sont remis en cause dans notre étude.

D'après l'analyse conformationnelle de ICP1 et de QCP1, il apparaît que le chélate formé au niveau du groupement 3-hydroxychromone, même s'il est constitué uniquement de



cinq chaînons, est plus stable que celui formé au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle. En effet, celui-ci adopte une structure de pyronium très fortement stabilisée par la contribution des formes mésomères limites à la résonance totale de la molécule. La chélation au niveau du groupement 5-hydroxy-4-carbonyle conduit à un chélate à six chaînons qui n'est pas coplanaire à la partie chromone de la molécule et dont la formation diminue la conjugaison présente entre la partie chromone et le cycle B. La différence de réactivité entre les groupements 3-hydroxy-4-carbonyle et 5-hydroxy-4-carbonyle peut provenir :

- (i) de la liaison hydrogène O3-H---O2 qui est moins forte et donc plus facile à casser que la liaison O5-H---O2.
- (ii) de l'acidité plus importante de l'hydrogène porté par l'hydroxyle en position 3 qui le rend plus labile que celui porté par l'hydroxyle en position 5.

Les figures IV.2 et IV.3 présentent les mécanismes proposés pour la complexation de la quercétine et l'isoquercitrine en milieu acide dans le mélange méthanol (90%) – eau (10%).

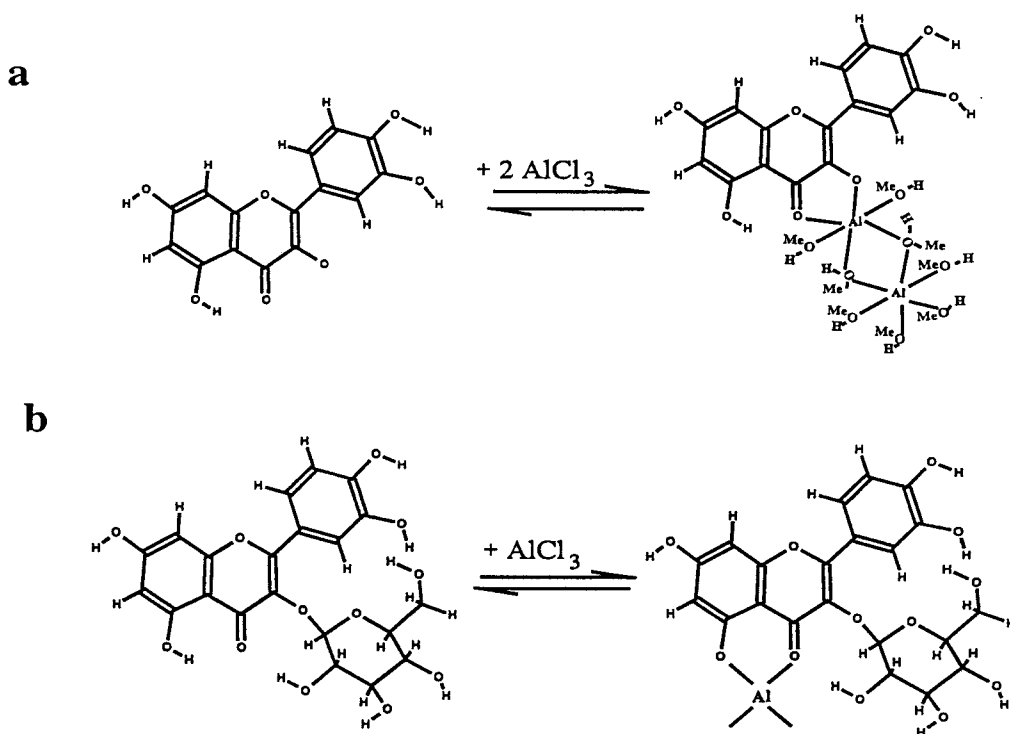


Fig. IV.2 : Mécanismes proposés pour la complexation de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) en solution dans le mélange méthanol – eau en présence d'HCl  $3,2 \cdot 10^{-2}$  M.

En présence d'HCl, le groupement dihydroxyle ne se complexe pas et les chélates  $Al_2(Q)$  et  $Al(Iso)$  sont respectivement obtenus. Alors que la stœchiométrie du chélate formé au niveau du groupement 3-hydroxychromone reflète le caractère polynucléaire de  $Al(III)$  en solution alcoolique, le groupement 5-hydroxychromone forme un chélate de type 1 : 1. Ce qui confirme la différence de réactivité qu'il existe entre les deux sites.

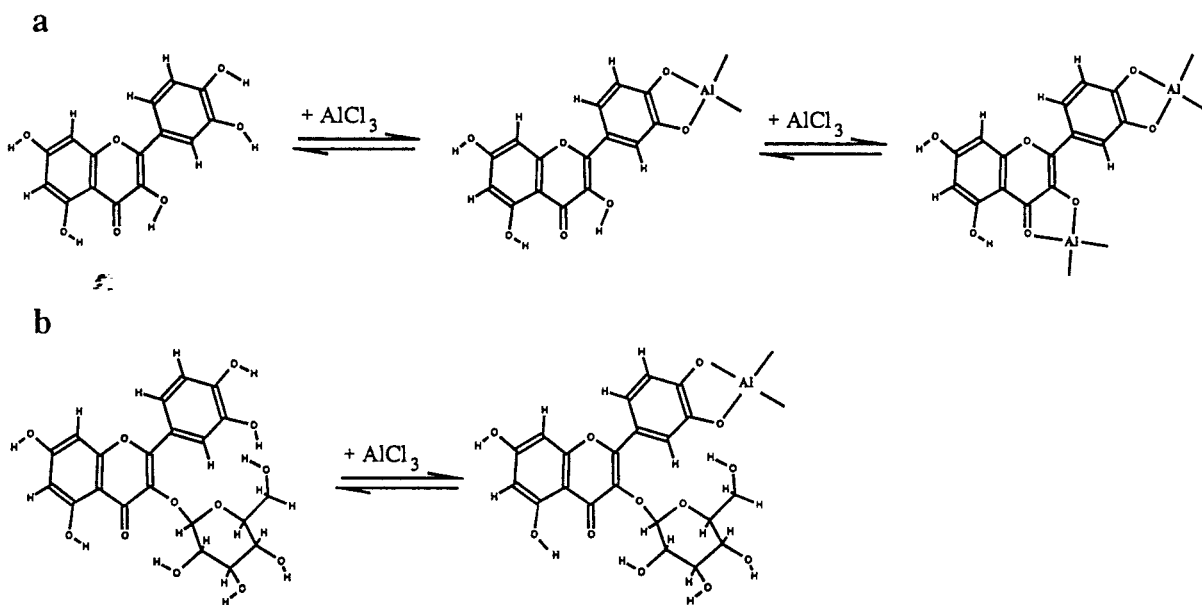
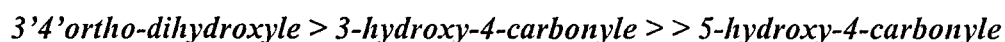


Fig. IV.3 : Mécanismes proposés pour la complexation de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) en solution dans le mélange méthanol – eau en présence d'acide acétique ( $10^{-1}$  M) et d'acétate de sodium ( $10^{-1}$  M).

En présence du mélange équimolaire ( $10^{-1}$  M) acide acétique – acétate de sodium, le groupement 5-hydroxychromone de l'isoquercitrine ne réagit pas et le groupement dihydroxyle est le seul à se chélater. La réaction est totale et conduit à la formation du chélate  $Al(Iso)^{(3)}$ . La réaction de complexation de la quercétine démarre par la formation du chélate  $Al(Q)^{(3)}$ . Pour des quantités d' $AlCl_3$  très légèrement supérieures, le site 3-hydroxychromone se complexe également. La coordination des deux sites avec  $Al(III)$  se fait simultanément et conduit à l'obtention de  $Al_2(Q)^{(3,3)}$ .

Dans ce milieu réactionnel, les différents sites peuvent être classés selon leur réactivité vis-à-vis de l'aluminium(III) dans l'ordre suivant :



L'ordre établi à l'issue de l'étude des composés possédant un seul site de chélation, concernant la réactivité des divers sites est différent. Le groupement ortho-dihydroxyle de la quercétine et de l'isoquercitrine, c'est-à-dire des ligands polyhydroxylés, semble plus réactif que celui de la 3'4'diHF.

En présence de base dans le milieu réactionnel, le groupement 3'4'ortho-dihydroxyle est le plus réactif vis-à-vis de l'aluminium(III). Pour les deux molécules, c'est le premier site à se chélater (Fig. IV.4 et IV.5) et la complexation démarre alors que de faibles quantités d' $\text{AlCl}_3$  sont présentes en solution.

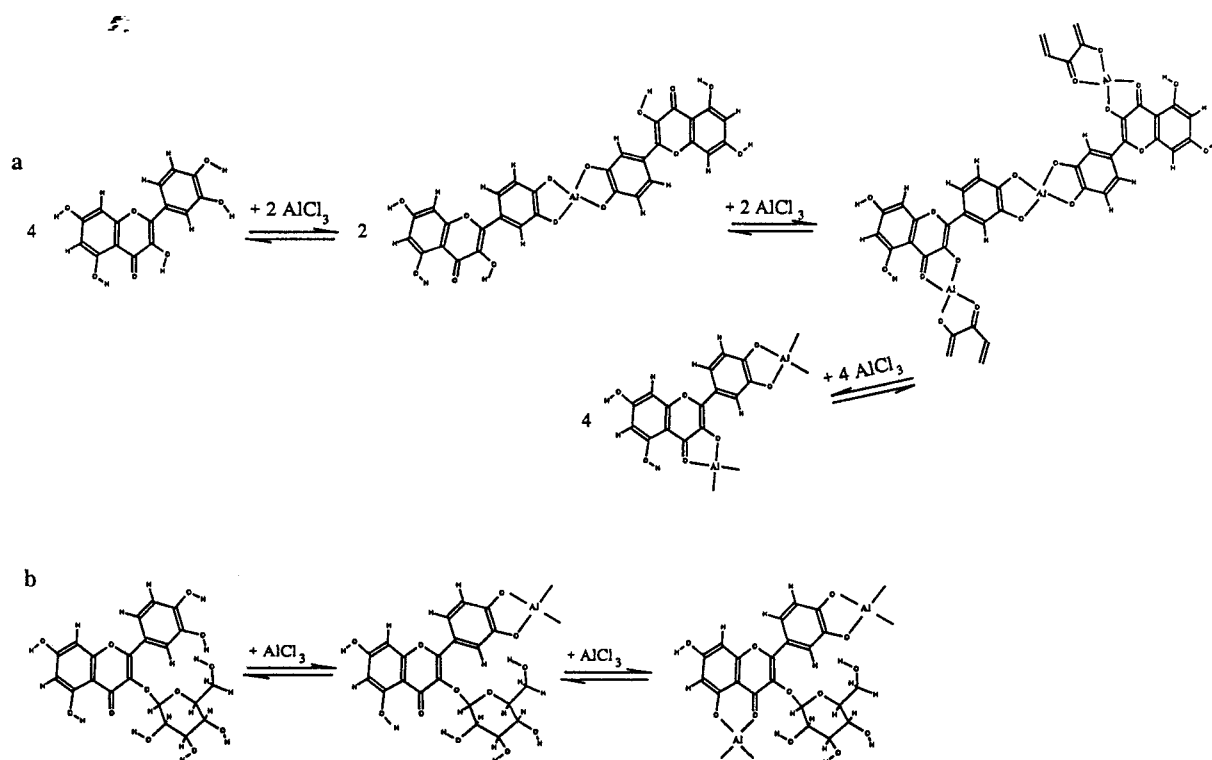


Fig. IV.4 : Mécanismes proposés pour la complexation de la quercétine (a) et de l'isoquercitrine (b) en solution dans le méthanol en présence d'acétate de sodium ( $10^{-1}$  M).

En présence d'acétate de sodium  $10^{-1}$  M, le premier complexe formé avec la quercétine est du type  $\text{Al}(\text{Q})_2^{(3')}$  alors que celui obtenu avec l'isoquercitrine a une stœchiométrie 1 : 1. Un complexe du type  $\text{Al}(\text{Iso})_2^{(3')}$  se forme uniquement en présence de méthanoate de sodium

dans le milieu réactionnel. Le site 3'4'dihydroxyle de la quercétine apparaît être plus réactif que celui de l'isoquercitrine.

Pour la quercétine, la formation de  $\text{Al}(\text{Q})_2^{(3'')}$  n'est pas complète et, après neutralisation de certains ion  $\text{AcO}^-$ , les sites 3'4'dihydroxyle et 3-hydroxychromone se chélatent simultanément pour conduire à la formation d'un chélate du type  $\text{Al}_2(\text{Q})_2^{(3',3')}$ . L'ajout d'une quantité d' $\text{AlCl}_3$  plus importante à la solution restitue le complexe  $\text{Al}_2(\text{Q})^{(3',3')}$ .

Le groupement 5-hydroxychromone de l'isoquercitrine est en compétition défavorable avec les ions  $\text{AcO}^-$  ou  $\text{MeO}^-$  présents en solution. La formation des complexes  $\text{Al}(\text{Iso})^{(3')}$  et  $\text{Al}(\text{Iso})_2^{(3')}$  obtenus respectivement en présence d'acétate et de méthanoate de sodium est complète, seul un important excès d' $\text{AlCl}_3$  à la solution permet d'obtenir  $\text{Al}_2(\text{Iso})^{(3',5')}$ .

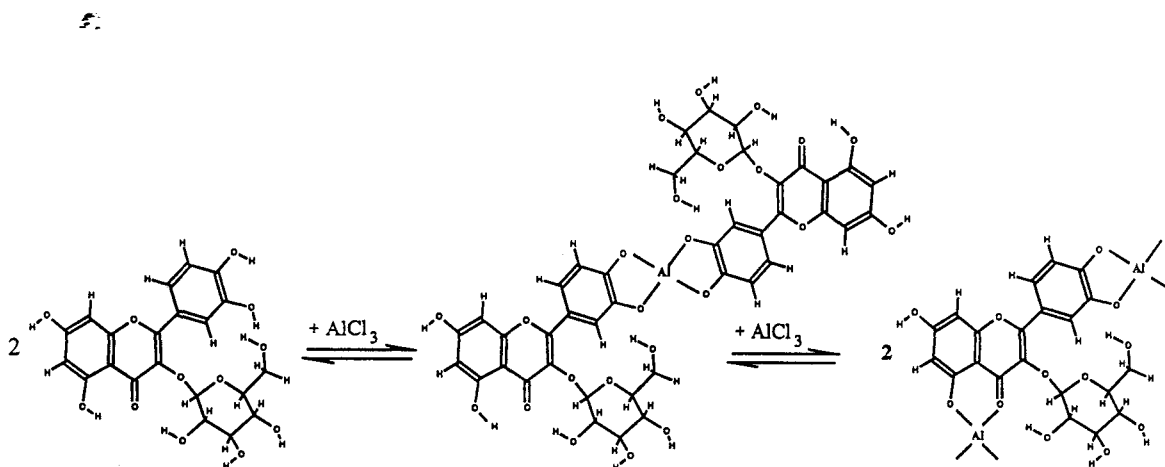
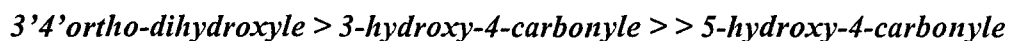


Fig. IV.5 : Mécanisme proposé pour la complexation de l'isoquercitrine en solution dans le méthanol en présence de méthanoate de sodium ( $5 \cdot 10^{-3}$  M).

En présence de base, le pouvoir chélateur vis-à-vis de l'aluminium(III) des différents sites peut être classer dans le même ordre que celui obtenu après l'étude des composés présentant un seul site de chélation, à savoir :



**Partie IV** : *Complexation de la quercétine et de l'isoquercitrine avec l'aluminium(III).*

La nature et la stœchiométrie des complexes de la quercétine et de l'isoquercitrine avec l'aluminium(III) dépendent très fortement des propriétés acido-basiques du milieu réactionnel. Les propriétés complexantes de ces molécules sont également différentes vis-à-vis d'un agent complexant autre que Al(III). Par exemple, dans le méthanol, la quercétine forme avec le cuivre un chélate de stœchiométrie 1 : 1 puis un chélate Cu(II) : Q = 2 : 1 [Takamura, 1978].

5:

5.

## *Conclusion Générale*

L'étude structurale et spectroscopique de la quercétine et de l'isoquercitrine a montré que la glucosylation en position 3 engendrait d'importantes modifications conformationnelles et surtout électroniques. A l'état isolé, la quercétine est stabilisée par trois liaisons hydrogène intramoléculaires. L'analyse conformationnelle de l'isoquercitrine a conduit à l'obtention de trois conformères énergétiquement équivalents qui se caractérisent par la présence d'une liaison hydrogène entre le glucose et le cycle B de la molécule. Bien que la présence du sucre occasionne un important encombrement stérique au niveau de la fonction carbonyle et du lien intercycle, la structure de l'isoquercitrine est stabilisée par 7 à 8 liaisons hydrogène intramoléculaires à l'état isolé. La position adoptée par le cycle B est différente selon le conformère considéré et indique que contrairement à la quercétine, la molécule d'isoquercitrine est très flexible : le sucre et le cycle B se positionnent vis-à-vis de la partie chromone de façon à rendre maximum le nombre de liaisons hydrogène intramoléculaires.

Comme la plupart des composés flavoniques, la quercétine dont la conformation est quasiment plane à l'état solide, adopte une structure gauche à l'état isolé. Les résultats issus de la spectroscopie de vibration indiquent que ces modifications géométriques sont moins importantes dans le cas de l'isoquercitrine.

Les changements conformationnels et électroniques observés ainsi que l'encombrement stérique généré par la présence du glucose peuvent en partie expliquer les différences d'activité et de réactivité qui existent entre les deux composés.

Le groupement 3-hydroxychromone de la quercétine est particulièrement réactif vis-à-vis de l'aluminium(III). Dans l'isoquercitrine, la présence du glucose modifie donc les propriétés complexantes de la molécule. Les deux composés forment des chélates de nature et de stœchiométrie très différentes selon le milieu réactionnel étudié. Le comportement chélateur des différents sites rencontrés varie selon le milieu réactionnel mais également en fonction de la substitution de la molécule considérée.

Pour faciliter la compréhension de la réaction de complexation et déterminer le site impliqué dans chacune des étapes du mécanisme, d'importantes quantités d' $\text{AlCl}_3$  ont souvent été ajoutées au milieu réactionnel, de manière à saturer la totalité des sites. Cependant, dans un environnement naturel, le ligand est toujours en excès par rapport à l'agent complexant et seul le premier chélate formé doit être pris en considération.

Ce travail concernant la complexation des mono- et poly-hydroxyflavones entre dans le cadre d'une étude plus générale qui concerne les interactions entre les métaux et la matière organique des sols. Les flavonoïdes, qui peuvent posséder simultanément plusieurs sites chélateurs, constituent des molécules modèles permettant de mieux appréhender le comportement complexant des différents groupements fonctionnels rencontrés dans la matière organique des sols. Il est évident que les conclusions issues de ce travail sont spécifiques à l'aluminium(III) et que les sites chélateurs rencontrés réagiront d'une manière différente vis-à-vis d'un autre agent complexant. Ainsi, les résultats obtenus devront être complétés par l'étude des interactions avec d'autres ions métalliques tri- et divalents ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,...). De plus, afin de se rapprocher du milieu naturel dans lequel ces interactions se manifestent, une étude en milieu aqueux devra être envisagée. Cette étape, plus délicate du fait de la faible solubilité des flavonoïdes dans l'eau et de leur oxydation en milieu basique, permettra notamment d'appréhender plus précisément l'influence du pH sur la réactivité des différents sites chélateurs.



*Références bibliographiques*

- Agrawal, P.K. ; Thakur, R.S. ; Bansal, M.C. ; 1989 ; “ *Carbon-13 NMR of flavonoids* ”, Agrawal, P.K. (ed.), Elsevier, chap. 3.
- Allinger, N.L. ; 1977 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 99, p. 8127.
- Arthurson, G. ; Jonson, C.E. ; 1975 ; *Prostaglandins*, 10, p. 941.
- Barbier, M. ; 1980 ; “*Encyclopaedia Universalis : Pigments et pigmentation*”, 13, p. 66.
- Baumann, J. ; Wurm, G.V. ; Bruchhausen, F. ; 1980 ; *Arch. Pharm.*, 313, p. 330.
- Bayer, E. ; 1966 ; *Angew. Chem. Internat. Edit.*, 5(9), p. 791.
- Bellamy, L.J. ; 1958 ; “ *The infra-red spectra of complex molecules* ”, Mehuen, london, p. 147.
- Beretz, A. ; Cazenave, J.P. ; Anton, R. ; 1982 ; *Agents Actions*, 12, p. 382.
- Briggs, L.H. ; Colebrook, L.D. ; 1962 ; *Spectrochim. Acta*, 18, p. 939.
- Brown, J.P. ; Dietrich, P.S. ; 1979 ; *Mutat. Res.*, 66, p. 223.
- Cantley, L.C. ; Hammes, G.G. ; 1976 ; *Biochemistry*, 15, p. 1.
- Cavallini, L. ; Bindoli, A. ; Siliprandi, N. ; 1978 ; *Pharmacol. Res. Comm.*, 10, p. 133.
- Charlot, G. ; Gaugin, R. ; 1951 ; *Les méthodes d'analyse des réactions en solution*, Masson (ed.), Paris, pp. 73-80 et pp. 96-98.
- Chenery, E.M. ; 1955 ; *Plant and Soil*, 6, p. 174.
- Chipman, D.M. ; Prebenda, M.F. ; 1986 ; *J. Phys. Chem.*, 90, p. 557.
- Clemetson, C.A.B. ; 1989 ; “ *Vitamin C* ”, Clemetson, C.A.B. (ed.), C.R.C Press, Boca Raton, FL, p. 101.
- Cornard, J.P. ; Vrielynck, L. ; Merlin, J.C. ; Wallet, J.C. ; 1995 ; *Spectrochim. Acta*, 51A, p. 913.
- Costantino, L. ; Rastelli, G. ; Albasini, A. ; 1992 ; *Int. Jour. Pharm.*, 86, p. 17.
- Craezar, P. ; Craezar, A. ; Somogyi, A. ; Dinya, Z. ; Holley, S. ; Gal, M. ; Boggs, J.E. ; 1986 ; *Spectrochim. Acta*, 42A, p. 473.
- Dannenberg, J.J. ; Evleth, E.M. ; 1992 ; *Int. J. Quantum. Chem.*, 44, p. 869.
- Dechene, E.B. ; 1951 ; *J. Am. Pharm. Assoc.*, 40, p. 495.
- Dembinska-Kiec, A. ; Simmet, T. ; Peskar, B.A. ; 1984 ; *Eur. J. Pharmacol.*, 101, p. 259.
- Detty, W.E. ; Heston, B.O. ; Wender, S.H. ; 1955 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 77, p. 162.
- Dewar, M.J.S. ; Zoebisch, E.G. ; Healy, E.F. ; Stewart, J.J.P. ; 1985 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 107, p. 3905.

- Dinya, Z. ; Kiss, S. ; Balint, J. ; Bogнар, R. ; 1985 ; “ *Flavonoids and Bioflavonoids* ”, Farkas, L. ; Gabor, M. ; Kallay, F. (eds.), p. 93.
- Djordjevic, M.A. ; Redmond, J.W. ; Batley, M. ; Rolfe, B.G. ; 1987 ; *EMBO J.*, 6, p. 1173.
- D’Mello, J.P.F. ; 1997 ; “ *Handbook of Plant and Fungal Toxicants* ”, C.R.C Boca Raton, New-York, p. 99.
- Dubey, S.N. ; Mehrotra, R.C. ; 1964 ; *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 26, p. 1543.
- Elhabiri, M. ; Figueiredo, P. ; Toki, P. ; Saito, N. ; Brouillard, R. ; 1997 ; *J. Chem. Soc., Perkin Trans, 2*, p.355.
- Etter, M.C. ; Urbanczyk-Lipkowska, Z. ; Baer, S. ; Barbara, P.F. ; 1989 ; *J. Mol. Struct.*, 196, p. 377.
- Fernandez Band, B.S. ; Goitia, M.T. ; Montero, M. ; Allan, A.L. ; 1988 ; *Boletin de la Sociedad Química del Peru*, p. 171.
- Ferrell, J.E. ; Chang Sing, P.D.G. ; Loew, G. ; King, R. ; Mansour, J.M. ; Mansour, T.E. ; 1979 ; *Mol. Pharmacol.*, 16, p. 556.
- Fewtrell, C.M.S. ; Gomperts, B.D. ; 1977 ; *Nature*, 265, p. 635.
- Fieser, L.F. ; Fieser, M. ; 1956 ; *Organic chemistry*, Reynhold publishing Corporation, New-York.
- Firmin, J.L. ; Wilson, K.E. ; Rossen, L. ; Johnston, A.W.B. ; 1986 ; *Nature*, 324, p. 90.
- Gabor, M. ; 1979 ; “ *Handbook of Experimental Pharmacology 50/III: Anti-inflammatory drugs* ”, Vane, J.R. ; Ferreira, S.H. (eds), Springer-Verlag, Berlin, chap. 39, pp. 698-739.
- Gajewski, J.J ; Gilbert, K.E. ; “ *The MMX Program* ”, CADCOM International Package, Gennevilliers, France.
- Gaydou, E ; 1978 ; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1-2, p. 43.
- Geissman, T.A. ; Jurd, L. ; 1955 ; *Arch. Biochem. Biophys.*, 56, p. 259.
- Grouiller, A. ; 1966 ; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 7, p. 2407.
- Gschwendt, M. ; Horn, F. ; Kittstein,W. ; Marks, F. ; 1983 ; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 276, p. 223.
- Hamamura, Y. ; Hayashiya, K. ; Naito, K.I. ; Matsuura, K. ; Nishida, J. ; 1962 ; *Nature*, 194, p. 754.
- Harada, T. ; Maita, K. ; Odanaka, Y. ; Shirasu, Y. ; 1984 ; *Japan. J. Vet. Sci.*, 46, p. 527.
- Harborne, J.B. ; 1954 ; *Chem. and Ind.*, p. 1142.
- Harborne, J.B. ; 1963 ; “ *Methods in polyphénol chemistry* ”, Pridham, J.B. (ed.), Pergamon Press, Oxford.

- Harborne, J.B. ; 1967 ; “ *Comparative biochemistry of the flavonoids* ”, Academic Press, London and New-York.
- Harborne, J.B. ; 1975 ; “ *The flavonoids* ”, Mabry, T.M. ; Mabry H. (eds), Chapman and Hall, London.
- Harborne, J.B. ; 1988 ; “ *The flavonoids: Advances in research since 1980* ”, Harborne J.B. (ed.), Chapman and Hall, London.
- Harborne, J.B. ; 1993 ; “ *The flavonoids: Advances in research since 1986* ”, Harborne J.B. (ed.), Chapman and Hall, London.
- Harnej, V. ; 1975 ; *Apimondia*, Bucharest.
- Harper, K.A. ; 1969(a) ; *J. Fd. Technol.*, 4, p. 405.
- Harper, K.A. ; Morton, A.D. ; Rolfe, E.J. ; 1969(b) ; *J. Fd. Technol.*, 4, p. 255.
- Hattoff, S. ; 1962 ; “ *The chemistry of flavonoids compounds* ”, Geissman, T.A. (ed.), Pergamon Press, New-York, p. 337.
- Havsteen, B. ; 1980 ; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 32, p. 1141.
- Havsteen, B. ; 1983 ; *Biochem. Pharmacol.*, 32, p. 1141.
- Heller, W. ; Geiger, H. ; 1988 ; “ *The flavonoids, Advances in research since 1980* ”, Harborne J.B. (ed.), Chapman and Hall, London, p. 399.
- Hergert, H.L. ; Kurth, E.F. ; 1953 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 75, p. 1962.
- Hertog, M.G.L. ; 1996 ; *Proceedings of the nutrition society*, 55, p. 385.
- Hope, W.C. ; Welton, A.F. ; Nagy, C.F. ; Coffrey, J.W. ; 1981 ; *Fed. Proc.*, 40, abs, p. 4488.
- Hope, W.C. ; Welton, A.F. ; Nagy, C.F. ; Bernardo, C.F. ; 1983 ; *Biochem. Pharmacol.*, 32, p. 367.
- Hörhammer, L. ; Hansel, R. ; Strasser, R. ; 1952(a) ; *Arch. Pharm.*, 438, p. 286.
- Hörhammer, L. ; Hansel, R. ; Strasser, R. ; 1952(b) ; *Arch. Pharm.*, 285, p. 438.
- Hörhammer, L. ; Hansel, R. ; Strasser, R. ; 1953 ; *Arch. Pharm.*, 286, p. 447.
- Hughes, R.E. ; Wilson, H.K. ; 1977 ; *Prog. Med. Chem.*, 14, p. 285.
- Iinuma, M. ; Matsuura, S. ; Kusuda, K. ; 1980 ; *Chem. Pharm. Bull.*, 28, p. 708.
- Iio, M. ; Moriyama, A. ; Matsumoto, Y. ; Takaki, N. ; Fukumoto, M. ; 1985 ; *Agric. Biol. Chem.*, 49(7), p. 2173.
- Inglett, G.E. ; 1958 ; *J. Org. Chem.*, 23, p. 93.
- Jin, G.Z. ; Yamagata, Y. ; Tomita, K.I. ; 1990 ; *Acta Cryst.*, C46, p. 310.
- Job, P. ; 1925 ; *C. R. Acad. Sci.*, 180, p.928.
- Job, P. ; 1928 ; *Ann. Chim. Phys.*, 9, p.113 et p. 203.

- Jones, E. ; Hughes, R.E. ; 1982 ; *Exp. Gerontol.*, 17, p. 213.
- José, C.I. ; Phadke, P.S. ; Raman Rao, A.V. ; 1974 ; *Spectrochim. Acta*, 30A, p. 1199.
- Jurd, L. ; Geissman, T.A. ; 1956 ; *J. Org. Chem.*, 21, p. 1395.
- Jurd, L. ; Horowitz, R.M. ; 1961 ; *J. Org. Chem.*, 26, p. 2561.
- Jurd, L. ; 1962 ; “ *The chemistry of flavonoids compounds* ”, Geissman, T.A. (ed.), Pergamon Press, New-York, chap. 5, p.107.
- Jurd, L. ; 1969 ; *Phytochemistry*, 8, p. 445.
- Kameda, K. ; Takaku, T. ; Okuda, H. ; Kimura, Y. ; Okuda, T. ; Hatano, T. ; Agata, I. ; Arichi, S. ; 1987 ; *Journal of Natural Products*, 50(4), p. 680.
- Kamei, H. ; Kojima, T. ; Koide, T. ; Hasegawa, M. ; Umeda, T. ; Teraba, K. ; Hashimoto, Y. ; 1996 ; *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 11(4), p. 247.
- Kao, F. ; Allinger, N.L. ; 1977 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 99, p. 975.
- Katzin, L.I. ; Gebert, E. ; 1950 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 72, p. 5659.
- Kaul, T.N. ; Middleton, E. ; Ogra, P.L. ; 1985 ; *J. Med. Virol.*, 15, p. 71.
- Kayoko, S. ; Shuichi, M. ; Michiyo, F. ; Sachiko, E. ; Naohide, K. ; 1994 ; *Carcinogenesis*, 15(11), p. 2669.
- Khalique, A. ; Das, A.C. ; Khuda, M ; Rhaman, A. ; 1966 ; *Sci. Res.*, 3(3), p.177.
- Kimura, Y. ; Okuda, H. ; Arichi, S. ; 1986 ; *Chem. Pharm. Bull.*, 34(5), p. 2279.
- Krewson, C.F. ; Couch, J.F. ; 1952 ; *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 41, p. 83.
- Kubbo, I. ; Kinst-Hori, I. ; Ishiguro, K. ; 1994 ; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 4(12), p.1443.
- Kühnau, J. ; 1976 ; *World Rev. Nutr. Diet.*, 24, p. 117.
- Landolfi, R. ; Mower, R.L. ; Steiner, M. ; 1984 ; *Biochem. Pharmacol.*, 33, p. 1525.
- Lasure, A. ; Van Poel, B. ; Cimanga, K. ; 1994 ; *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 4(1), p. 32.
- Lebreton, P.H. ; Chopin, J. ; 1963 ; *Spectrochim. Acta*, 19, p. 2099.
- Lebreton, P. ; 1964 ; *Bull. Soc. Bot.*, 111, p. 80.
- Lee, S.J. ; Son, K.H. ; Chang, H.W. ; Do, J.C. ; Jung, K.Y. ; Kang, S.S. ; Kim, H.P. ; 1993 ; *Arch. Pharm. Res.*, 16(1), p. 25.
- Leighton, T. ; Ginther, C. ; Fluss, L. ; Harter, W. ; Cansado, J. ; Notario, V. ; 1992 ; “ *Phenolic Compounds in Foods and their Effects on Health II* ”, Huang, M.T. ; Ho, C.T. ;

- Lee, C.Y. (eds.), American Chemical Society Symposium Series 507, Washington D.C., p. 220.
- Lejeune, B. ; Vernat, B. ; Regeat, F. ; Gardelle, D. ; Foucher, D. ; Pourrat, A. ; 1984 ; *Parfums, cosmétiques, arômes*, 56, p. 65.
  - Levy, G.C. ; Lichter, R.L. ; Nelson, G.L. ; 1980 ; “ *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* ”, 2<sup>nd</sup> Ed, Wiley-Interscience, New-York.
  - Looker, J.H. ; Hanneman, W.W. ; 1962 ; *J. Org. Chem.*, 27, p. 381.
  - Mabry, T.J. ; Markham, K.R. ; Thomas, M.B. ; 1970 ; “ *The systematic Identification of flavonoids* ”, Springer-Verlag, Berlin.
  - Malesev, D. ; Radovic, Z. ; Jelkic, S. ; Bogavac, M. ; 1991(a) ; *Anal. Lett.*, 24, p. 1159.
  - Malesev, D. ; Radovic, Z. ; Jelkic-Stankov, M. ; 1991(b) ; *Monatsh. Chem.*, 122, p. 429.
  - Malesev, D. ; Radovic, Z. ; Jelkic, S. ; 1993 ; *Spectrosc. Lett.*, 26(10), p. 1985.
  - Markham, K.R. ; Mabry, T.J. ; 1968 ; *Phytochemistry*, 7, p. 1197.
  - Markham, K.R. ; Mabry, T.J. ; 1975 ; “ *The flavonoids* ”, Harborne, J.B. ; Mabry, T.M. ; Mabry H. (eds), Chapman and Hall, London, p. 56-58.
  - Markham, K.R ; Ternai, B. ; Stanley, R. ; Geiger, H. ; Mabry, T.J. ; 1978 ; *Tetrahedron*, 34, p. 1389.
  - Markham, K.R ; 1982 ; “ *Techniques of Flavonoids Identification* ”, Academic Press, London.
  - Markham, K.R. ; 1989 ; “ *Methods in plant biochemistry* ”, Academic Press Limited, p. 198.
  - Markham, K.R. ; Geiger, H. ; 1993 ; “ *The flavonoids: Advances in research since 1986* ”, Harbone J.B. (ed.), Chapman and Hall, London, chap.10, p. 441.
  - Massicot, J. ; Marthe, J.P. ; 1962 ; *Bull. Soc. Chim.*, 10, p. 1962.
  - Massicot, J. ; Marthe, J.P. ; Heitz, S. ; 1963 ; *Bull. Soc. Chim.*, 12, p. 2712.
  - Megaw, H.D. ; 1934 ; *Z. Krist.*, 87, p. 185.
  - Meyer, A.S. ; Ayres, G.H. ; 1957 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 77, p. 49.
  - Monties, B. ; Douillard, R. ; 1969(a) ; *Ann. Physiol. veg.*, 11(3), p. 187.
  - Monties, B. ; 1969(b) ; *Ann. Physiol. veg.*, 11(2), p. 161.
  - Monties, B. ; Marine-Font, A. ; Douillard, R. ; 1969(c) ; *Ann. Physiol. veg.*, 11(4), p. 313.
  - Morton, A.D. ; 1968 ; *J. Fd. Technol.*, 3, p.269.
  - Mower, R.L. ; Landolfi, R. ; Steiner, M. ; 1984 ; *Biochem. Pharmacol.*, 33, p. 357.
  - Mukohata, Y. ; Nakabayashi, S. ; Higashida, M. ; 1978 ; *FEBS Lett.*, 85, p. 215.

- Naim, M. ; Gestetner, B. ; Bondi, A. ; Birk, Y. ; 1976 ; *J. Agric. Food. Chem.*, 24, p. 1174.
- Nishizuka, Y. ; 1986 ; *Science*, 233, p. 305.
- Ohnesorge, W.E. ; Caposoto, A. ; 1962 ; *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 24, p. 829.
- Ohnesorge, W.E. ; 1967 ; *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 29, p. 485.
- Parantainen, J. ; Vapaatalo, H. ; 1983 ; *Trans. Pharmacol. Sci.*, p. 379.
- Parmar, N.S. ; Hennings, G. ; 1984 ; *Agents Actions*, 15, p. 143.
- Pathak, D. ; Pathak, K. ; Singla, A.K. ; 1991 ; *Fitoterapia*, LXII(5), p. 371.
- Pazun, J.L. ; 1993 ; *J. Chem. Inf. Compt. Sci.*, 33(6), p. 931.
- Peters, N.K. ; Frost, J.W. ; Long, S.R. ; 1986 ; *Science*, 233, p. 978.
- Pople, J.A. ; Schelgel, H.B. ; Krishman, R. ; Defrees, D.J. ; Binkely, J.S. ; Fish, M.J. ; Whiteside, R.A. ; Hout, R.F. ; Hehre, W.J. ; 1981 ; *Int. J. Quantum. Chem.*, S15, p. 269.
- Porter, L.J. ; Markham, K.R. ; 1970(a) ; *Phytochemistry*, 11, 1477.
- Porter, L.J. ; Markham, K.R. ; 1970(b) ; *Phytochemistry*, 9, p. 1363.
- Porter, L.J. ; Markham, K.R. ; 1970(c) ; *J. Chem. Soc.*, 9, p. 1309.
- Porter, L.J. ; Markham, K.R. ; 1969 ; *J. Chem. Soc.*, 2, p. 344.
- Pownall, H. ; 1974 ; *Spectrochim. Acta*, 30A, p. 953.
- Pusz, J. ; Kopacz, M. ; 1992 ; *Pol. J. Chem.*, 66, p. 1935.
- Rasmussen, H.P. ; 1968 ; *Planta*, 81, p. 28.
- Remko, M. ; Polcin, J. ; 1980 ; *Coll. Czechoslov. Chem. Comm.*, 45, p. 201.
- Ribereau-Gayon, P. ; 1968 ; “ *Les composés phénoliques des végétaux* ”, Dunod (ed.).
- Roberts, E.A.H. ; 1960 ; *Nature*, Lond., 185, p. 536.
- Roitman, J.N. ; James, L.F. ; 1985 ; *Phytochemistry*, 24, p. 835.
- Rossi, M. ; Rickles, L.F. ; Halpin, W.A. ; 1986 ; *Bioorg. Chem.*, 14, p. 55.
- Satchell, D.P.N. ; Satchell, R.S. ; 1969 ; *Chem. Rev.*, 69, p. 251.
- Scherer, P.R. ; Fernando, Q. ; 1968 ; *Analyt. Chem.*, 40, p. 1938.
- Sekhon, B.S. ; Kaushal, G.P. ; Bhatia, I.S. ; 1983 ; *Mikrochimica Acta*, 2(5-6), p. 421.
- Selway, J.W.T. ; 1986 ; “ *Plant flavonoïdes in Biology and Medecine : Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity relationships* ”, Cody, V. ; Middleton, E. ; Harborne, J.B. (eds.), Liss A.R., New-York, pp. 343-358.
- Shaw, B.L. ; Simpson, T.H. ; 1955 ; *J. Chem. Soc.*, p. 655.
- Shoja, M. ; 1989 ; *Acta Cryst.*, C46, p. 517.
- Shrikhande, A.J. ; Francis, F.J. ; 1974 ; *J. Fd. Sci.*, 39, p. 904.

- Silva, A.M.S. ; Cavaleiro, J.A.S. ; Tarragot, G. ; Marzin, C. ; 1994 ; *J. Heterocyclic Chem.*, 31, p. 97.
- Simpson, T.H. ; Garden, L. ; 1952 ; *J. Chem. Soc.*, p. 4638.
- Smith, D.A. ; Banks, S.W. ; 1986 ; “ *Plant flavonoïdes in Biology and Medecine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity relationships* ”, Cody, V. ; Middleton, E. ; Harborne, J.B. (eds.), Liss A.R., New-York, pp. 113-124.
- Sommer, L. ; 1962 ; *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, 33, p. 23.
- Spiesecke, J. ; Schneider, W.G. ; 1961 ; *Tetrahedron Lett.*, 14, p. 468.
- Starnes, W.H. ; Frantz, S. ; Chung, H.T. ; 1997 ; *Polymer Degradation and Stability*, 56, p. 103.
- Steele, D. ; Lippencott, E.R. ; 1961 ; *J. Mol. Spectrosc.*, 6, p. 238.
- Strub, H. ; Beeler, A.J. ; Grant, D.M. ; Milch, J. ; Cutts, P.W. ; Zilm, K. ; 1983 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 91, p. 3333.
- Swain, T. ; 1975 ; “ *The flavonoids* ”, Harborne, J.B. ; Mabry, T.M. ; Mabry, H. (eds.), Chapman and Hall, London, pp. 1096-1129.
- Swain, T. ; 1976 ; “ *Chemistry and biochemistry of plant pigments* ”, Goodwin, T.W. (ed.), 2<sup>ème</sup> Edition, vol 1, Academic P.ress, London, p. 425.
- Szent-Gyorgyi, A. ; 1938 ; *Hoppe Seylers-Z-Physiol. Chem.*, 225, p. 126.
- Takamura, K. ; Sakamoto, M. ; 1978 ; *Chem. Pharm. Bull.*, 26(8), p. 2291.
- Ternai, B. ; Markham, K.R. ; 1976 ; *Tetrahedron*, 32, p. 565.
- Thompson, M. ; Williams, C.R. ; 1976 ; *Anal. Chim. Acta*, 85, p. 375.
- Urbach, F.L. ; Timmick, A. ; 1968 ; *Anal. Chem.*, 40(8), p.1269.
- Varma, S.V. ; Kinoshita, J.H. ; 1976 ; *Biochem. Pharmacol.*, 25, p. 2205.
- Varma, S.D. ; 1986 ; “ *Plant flavonoïdes in Biology and Medecine : Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity relationships* ”, Cody, V. ; Middleton, E. ; Harborne, J.B. (eds.), Liss A.R., New-York, pp. 343-358.
- Varsanyi, G. ; 1974 ; “ *Assignments for Vibrational Spectra of 700 Benzene Derivatives* ”, vol. 1, Adam-Hilger (ed.), Budapest.
- Vladutiu, G.D. ; Middleton, E.Jr. ; 1986 ; *Life. Sci.*, 39, p. 717.
- Vosburg, W.C. ; Cooper, G.R. ; 1941 ; *J. Am. Chem. Soc.*, 63, p. 437.
- Vrielynck, L. ; Cornard, J.P. ; Merlin, J.C. ; Bopp, P. ; 1993 ; *J. Mol. Struct.*, 297, p. 227.
- Vrielynck, L. ; Cornard, J.P. ; Merlin, J.C. ; Lautie, M.F. ; 1994 ; *Spectrochim. Acta*, 50A, p. 2177.



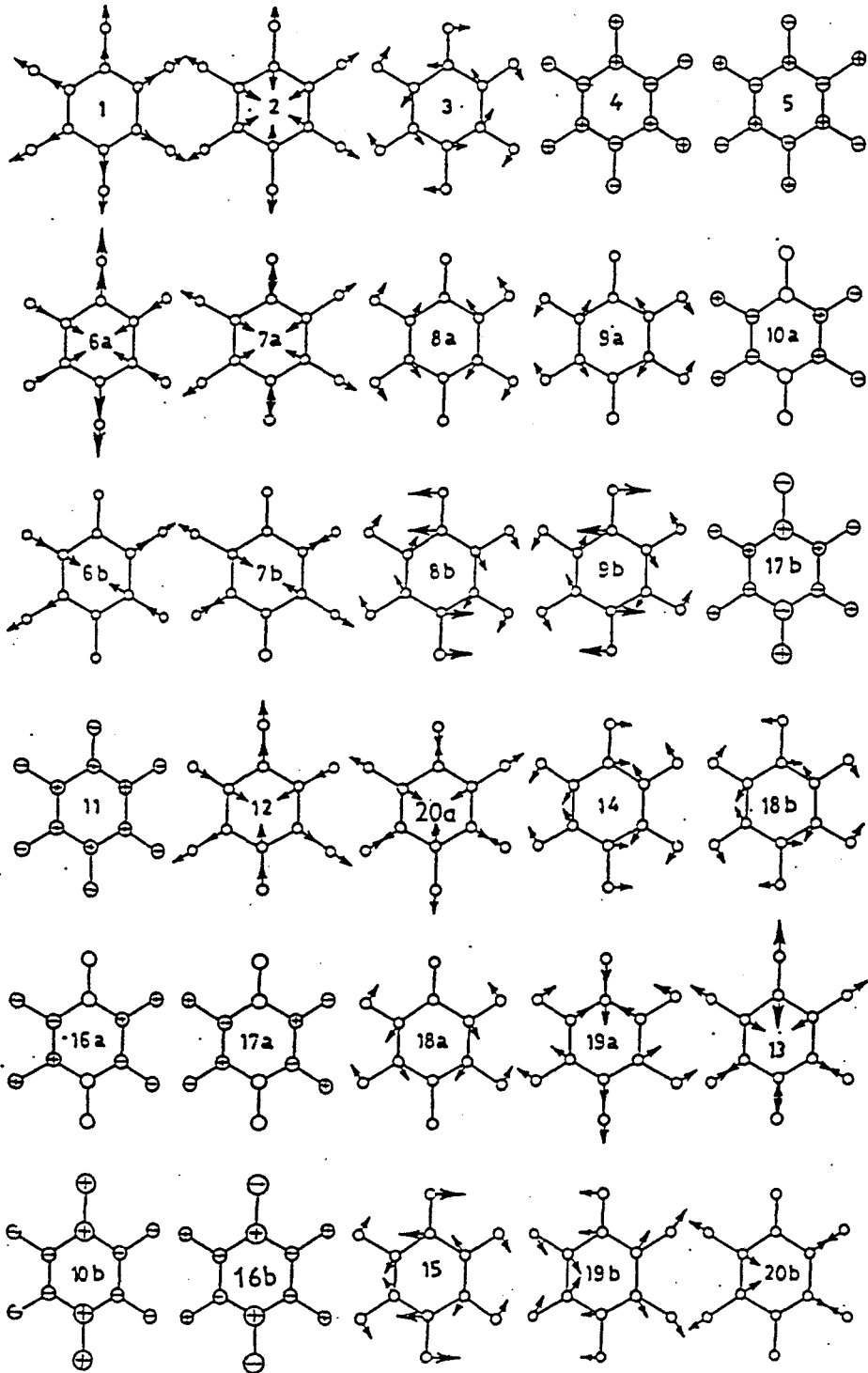
- Vrielynck, L. ; 1996 ; Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille.
- Wagner, H. ; 1963 ; “ *Methods in Polyphenol Chemistry* ”, Pridham, J.B. (ed.), Pergamon Press, Oxford.
- Waizel, Y. ; Hoffen, A. ; Eshel, A. ; 1970 ; *Phys. Plantarum*, 23, p. 75.
- Warcollier, G. ; 1920 ; “ *Pomologie et cidrerie* ”, Bailleur (ed.), Paris, p. 481.
- Williams, C.A. ; Harborne, J.B. ; 1993 ; “ *The flavonoids: Advances in research since 1986* ”, Harborne J.B. (ed.), Chapman and Hall, London, p. 337.
- Williamson, G. ; Plumb, G. ; Uda, Y. ; Price, K. ; Rhodes, M. ; 1996 ; *Carcinogenesis*, 17(11), p. 2385.
- Wilson, E.B. ; 1934 ; *Phys. Rev.*, 45, p. 706.
- Woldbye, F. ; 1955 ; *Acta Chemica Scandinavica.*, 9, p. 299.
- Wolfbeis, O.S. ; Leiner, M. ; Hochmuth, P. ; Geiger, H. ; 1984 ; *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 88, p. 759.
- Yoe, J.H. ; Jones, L. ; 1944 ; *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 16, p. 11.
- Younes, M. ; Siegers, C.P. ; 1981 ; *Planta. Med.*, 43, p. 240.
- Zaat, S.A.J. ; Wijffelman, C.A. ; Spaink, H.P. ; Van Brussel, A.A.N. ; Okker R.J.H. ; Lugtenberg, B.J.J. ; 1987 ; *J. Bacteriol.*, 169, p. 198.



2.

*Annexe*

# Représentation graphique des modes normaux de vibration du benzène



## Représentation graphique, Notation de Wilson et nombres d'onde moyens des modes normaux caractéristiques des benzènes 1,2,3 tri-substitués.

| Benzènes 1, 2, 3 trisubstitués |             |                                   |
|--------------------------------|-------------|-----------------------------------|
| Notation de Wilson             | Description | Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> ) |
| 1                              | v (C-X)     | 570 - 675                         |
| 2                              | v (C-H)     | 3035 - 3110                       |
| 3                              | β (C-H)     | 1265 - 1300                       |
| 4                              | δ (C-C)     | 690 - 740                         |
| 5                              | γ (C-H)     | 950 - 990                         |
| 6a                             | α (C-C-c)   | 325 - 490                         |
| 6b                             | α (C-C-C)   | 400 - 600                         |
| 7a                             | v (C-H)     | 3005 - 3050                       |
| 7b                             | v (C-H)     | 895 - 1080                        |
| 8a                             | v (C-C)     | 1555 - 1625                       |
| 8b                             | v (C-C)     | 1585 - 1635                       |
| 9a                             | β (C-H)     | 230 - 460                         |
| 9b                             | β (C-H)     | 1140 - 1170                       |
| 10a                            | γ (C-H)     | 170 - 240                         |
| 10b                            | γ (C-H)     | 190 - 290                         |
| 11                             | γ (C-H)     | 745 - 825                         |
| 12                             | α (C-C-C)   | 600 - 845                         |
| 13                             | v (C-H)     | 1095 - 1245                       |
| 14                             | v (C-C)     | 1230 - 1330                       |
| 15                             | β (C-H)     | 180 - 300                         |
| 16a                            | δ (C-C)     | 475 - 555                         |
| 16b                            | δ (C-C)     | 525 - 580                         |
| 17a                            | γ (C-H)     | 880 - 910                         |
| 17b                            | γ (C-X)     | 80 - 150                          |
| 18a                            | β (C-H)     | 1050 - 1110                       |
| 18b                            | β (C-X)     | 300 - 370                         |
| 19a                            | v (C-C)     | 1440 - 1535                       |
| 19b                            | v (C-C)     | 1395 - 1490                       |
| 20a                            | v (C-X)     | 1205 - 1325                       |
| 20b                            | v (C-H)     | 3010 - 3075                       |

α : déformation angulaire

β : déformation dans le plan

γ : déformation hors du plan

v : élongation

Représentation graphique, Notation de Wilson et nombres d'onde moyens des modes normaux caractéristiques des benzènes 1,2,4 tri-substitués.

| Benzènes 1, 2, 4 trisubstitués |             |                                   |
|--------------------------------|-------------|-----------------------------------|
| Notation de Wilson             | Description | Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> ) |
| 1                              | v (C-X)     | 630 - 740                         |
| 2                              | v (C-H)     | 3040 - 3100                       |
| 3                              | β (C-H)     | 1270 - 1310                       |
| 4                              | δ (C-C)     | 675 - 705                         |
| 5                              | γ (C-H)     | 940 - 915                         |
| 6a                             | α (C-C-c)   | 440 - 570                         |
| 6b                             | α (C-C-C)   | 395 - 505                         |
| 7a                             | v (C-H)     | 1215 - 1320                       |
| 7b                             | v (C-H)     | 820 - 1005                        |
| 8a                             | v (C-C)     | 1545 - 1605                       |
| 8b                             | v (C-C)     | 1585 - 1645                       |
| 9a                             | β (C-H)     | 200 - 345                         |
| 9b                             | β (C-H)     | 295 - 445                         |
| 10a                            | γ (C-H)     | 150 - 250                         |
| 10b                            | γ (C-H)     | 190 - 290                         |
| 11                             | γ (C-H)     | 780 - 855                         |
| 12                             | α (C-C-C)   | 685 - 800                         |
| 13                             | v (C-H)     | 1090 - 1235                       |
| 14                             | v (C-C)     | 1235 - 1290                       |
| 15                             | β (C-H)     | 200 - 290                         |
| 16a                            | δ (C-C)     | 530 - 620                         |
| 16b                            | δ (C-C)     | 415 - 535                         |
| 17a                            | γ (C-H)     | 100 - 165                         |
| 17b                            | γ (C-X)     | 930 - 990                         |
| 18a                            | β (C-H)     | 1130 - 1175                       |
| 18b                            | β (C-X)     | 1065 - 1135                       |
| 19a                            | v (C-C)     | 1370 - 1455                       |
| 19b                            | v (C-C)     | 1415 - 1520                       |
| 20a                            | v (C-X)     | 3030 - 3125                       |
| 20b                            | v (C-H)     | 2980 - 3050                       |

α : déformation angulaire

β : déformation dans le plan

γ : déformation hors du plan

v : élongation