

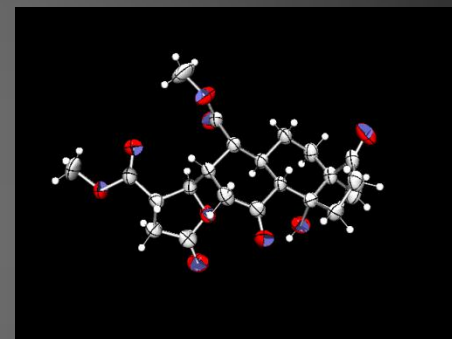
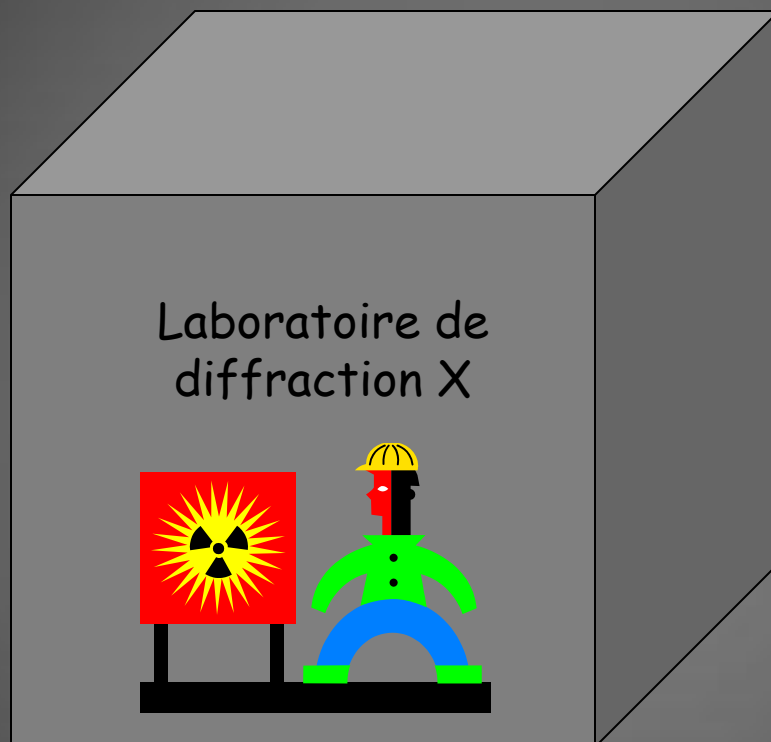


La cristallographie,

une

méthode absolue!

Une boîte noire ?



Sommaire

Un peu d'histoire

Cristallisation

Définition d'un cristal

Choix d'un cristal

Montage sur un diffractomètre

Collection des données

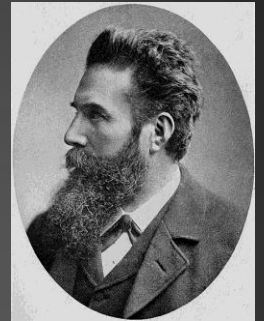
Solution



Une époque fructueuse

- Wilhelm Röntgen 1895, découverte des rayons-X.

Röntgen observe qu'à la décharge d'un tube, complètement enrobé de carton noir, scellé pour en exclure toute lumière et ceci dans une chambre noire, un carton couvert d'un côté de baryum platino-cyanide devient fluorescent lorsqu'il est frappé par les rayons émis du tube, et ce jusqu'à une distance de deux mètres. Lors d'expériences subséquentes, il place divers objets entre une plaque photographique et la source de rayonnement et il se rend compte qu'ils ont une transparence variable. Il expérimente ensuite avec la main de son épouse placée sur le parcours des rayons. Au développement, il s'aperçoit que l'image est l'ombre des os de la main de son épouse, son alliance y étant visible.

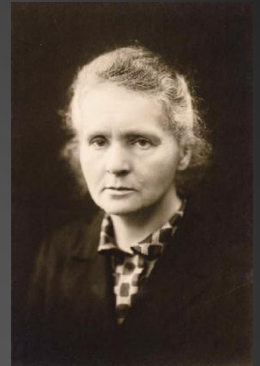


Prix Nobel de physique (1901)



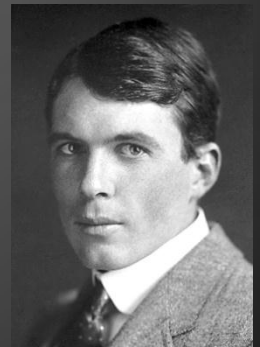
Une époque fructueuse

• Marie Curie 1898, découverte et étude d'éléments radioactifs comme source de rayons-X. Son père et son frère inventent l'électromètre piézoélectrique qui lui permet de mesurer avec précision l'effet du rayonnement. Elle peut ainsi démontrer que le rayonnement n'est pas de source chimique, mais plutôt intrinsèque à l'atome lui-même. Elle purifie et isole de nouveaux éléments radioactif, dont l'uranium, le polonium "en hommage à son pays d'origine", et le radium. Marie est à l'origine de la chimiothérapie et la radiothérapie via l'institut Curie. Lors de la première guerre mondiale, Marie met en place 18 ambulances équipées d'appareils de Röntgen pour faire des radiographies des malades. Ces ambulances sont nommées les Petites Curies.



Prix Nobel de physique (1903)
Prix Nobel de chimie (1911)

• William Lawrence Bragg 1912, loi de Bragg qui permet de localiser les atomes dans les cristaux. À 5 ans, William Lawrence fait une chute de tricycle et se casse le bras. Son père, qui avait pris connaissance des expériences de Röntgen en Europe, a alors utilisé les rayons-X récemment découverts pour examiner le bras cassé. Les rayons-X étant d'intérêt dans la famille ce n'est que quelques années plus tard que William démontre la loi de Bragg. Son père construit ensuite le premier appareil à diffraction des rayons-X, appareil avec lequel il étudie plusieurs sels cristallins simples.



Prix Nobel de physique (1915)

Cristallisation

- Diffusion par tension de vapeur (petit vial dans grand vial)
- Diffusion liquide-liquide (la vitesse dépend surtout du diamètre)
- Diffusion des réactifs (produit moins soluble)
- Évaporation lente
- Évaporation lente de 2 solvants (mélange)
- Ionisation (nécessite une molécule acide ou basique)
- Contre-ions (métathèse)
- Composés modèles (polymères)
- Convection (gradient de température dans l'enceinte)
- Refroidissement lent (grand volumes ou bains thermostatés)
- Sublimation (basse pression, haute température???)

Le premier solvant est bon pour le produit, le deuxième est mauvais. Selon la méthode utilisée il faut tenir compte de la densité et de la volatilité.

Choix des solvants

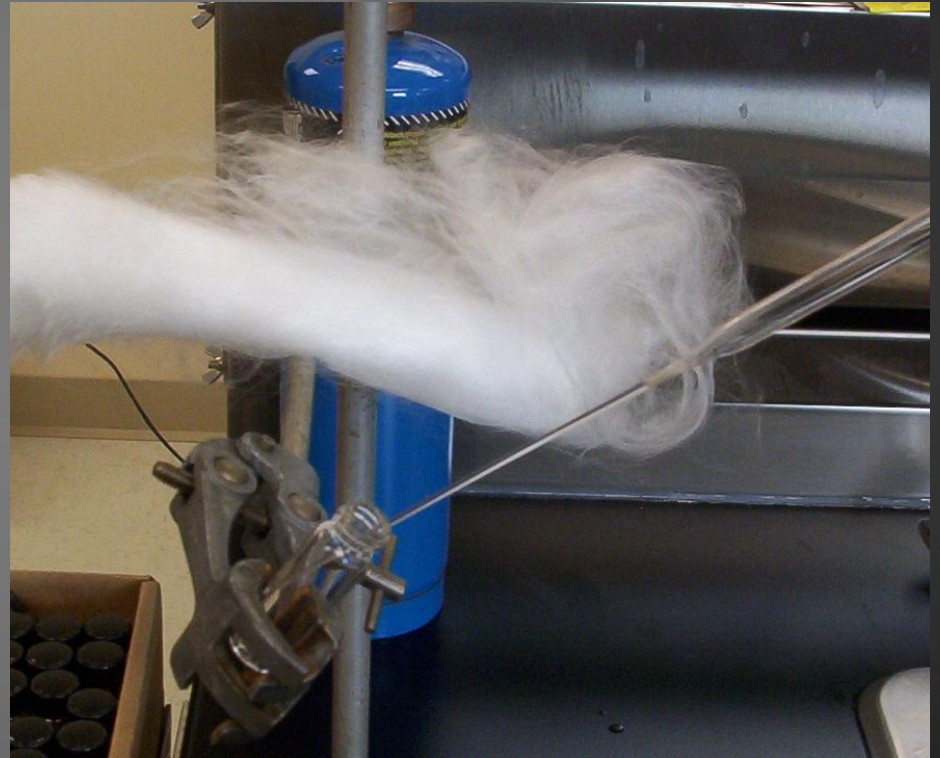
Solvant	BP (°C)	Toxicité	Bon pour	2 ^{ème} solvant
Eau	100	0	Sels d'amides Acides carboxyliques	MeOH, EtOH, Acétone, dioxane, ACN
Acide acétique	118	2	Sels d'amides Acides carboxyliques Sulfoxides	Eau
ACN	81.6	3	Acides carboxyliques Hydroquinones	Eau, Éther diéthylique, Toluène
MeOH	64.5	1	Nitros, Esters, Bromos, Sulfoxydes, Sulfones, Anilines	Eau, Éther diéthylique, Toluène
EtOH	78.3	0	Mêmes que MeOH	Eau, Acétate d'éthyle, Hydrocarbures , CHCl ₃
Acétone	56	1	Nitros, Osazones	Eau, Éther diéthylique, Hydrocarbures
Pyridine	116	3	Quinone, Thiazoles, Oxazoles	Eau, MeOH
Acétate d'éthyle	77.1	1	Esters, Carbonyles, Sulfides, Carbinols	Eau, Éther diéthylique, CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂
CH ₂ Cl ₂	40	2	Points de fusion bas "huiles" petites molécules en général	EtOH, Hydrocarbures

Choix des solvants (suite)

Solvant	BP (°C)	Toxicité	Bon pour	2 ^{ème} solvant
CHCl ₃	61.7	4	Molécules polaires	MeOH, EtOH, Hydrocarbures
Éther diéthylique	34.5	2	Points de fusion bas "huiles" petites molécules en général	Acétone, ACN, MeOH, EtOH
Dioxane	102	2	Amides	Eau, Hydrocarbures, Toluène
Toluène	110.6	2	Aromatiques	Acétate d'éthyle, Éther diéthylique, Hydrocarbures
Éther de Pétrole	35-60	1	Hydrocarbures linéaires et cycliques	Hydrocarbures, Acétate d'éthyle, Éther diéthylique, Toluène, CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂
<i>n</i> -pentane	36.1	1	Hydrocarbures	Hydrocarbures, Acétate d'éthyle, Éther diéthylique, Toluène, CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂
<i>n</i> -hexane	69	1		
<i>n</i> -heptane	98.4	1		
Cyclohexane	80.7	1	Hydrocarbures	Hydrocarbures, Acétate d'éthyle, Éther diéthylique, Toluène, CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂

Préparation

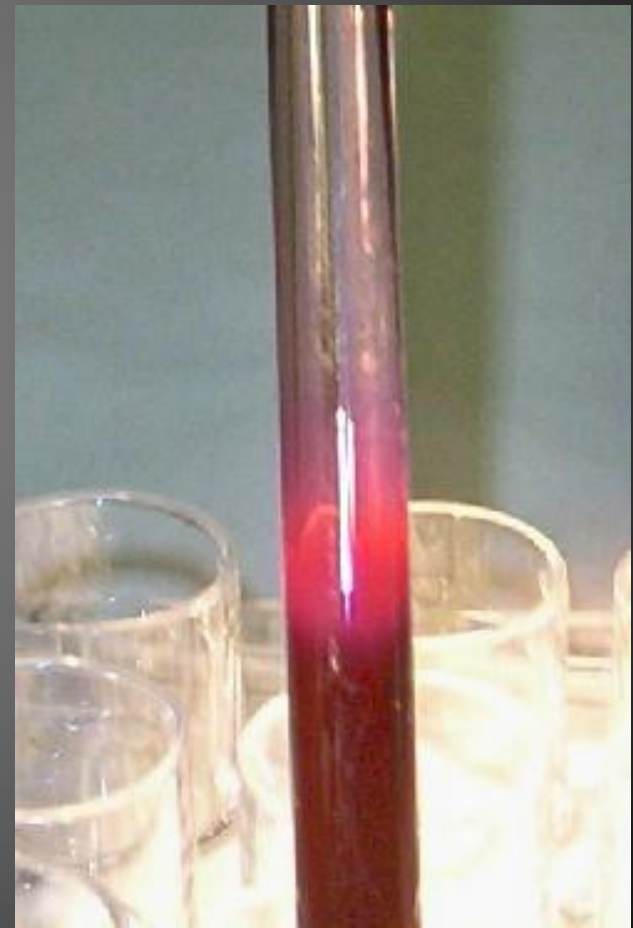
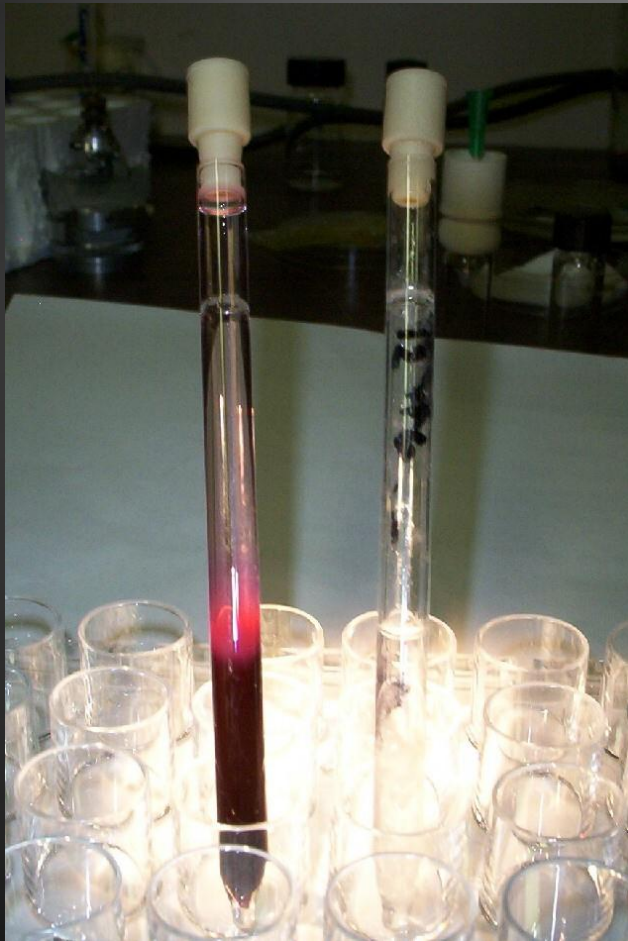
- La solution doit être limpide, sinon le produit précipitera car il y a trop de centres de nucléation.
- On prépare une solution concentrée du produit dans le bon solvant, puis on filtre sur laine de verre lors du transfert dans un vial propre.
- Cette méthode procure un écoulement lent qui permet même de déposer une phase liquide moins dense sur une autre sans qu'elles se mélangent.



Diffusion lente par tension de vapeur

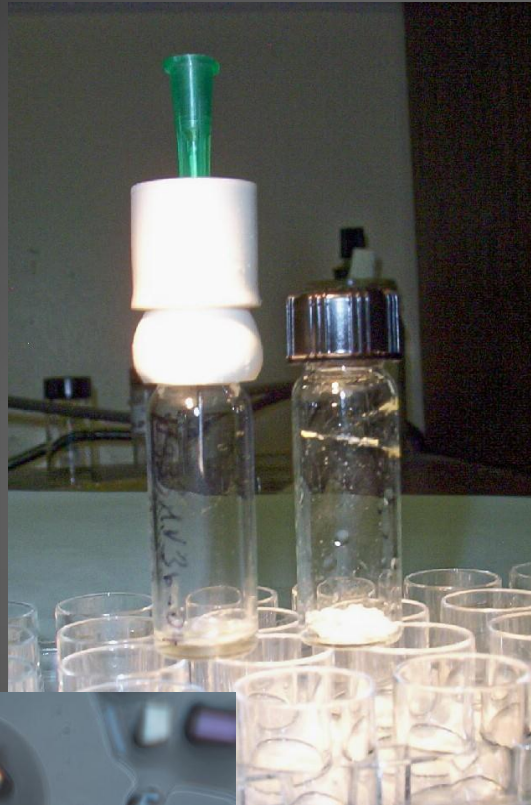


Diffusion liquide-liquide



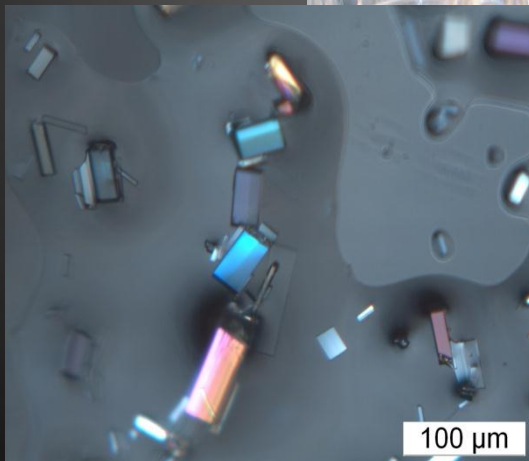
Copyright 2007 : Daniel Fortin-
Université de Sherbrooke

Évaporation lente



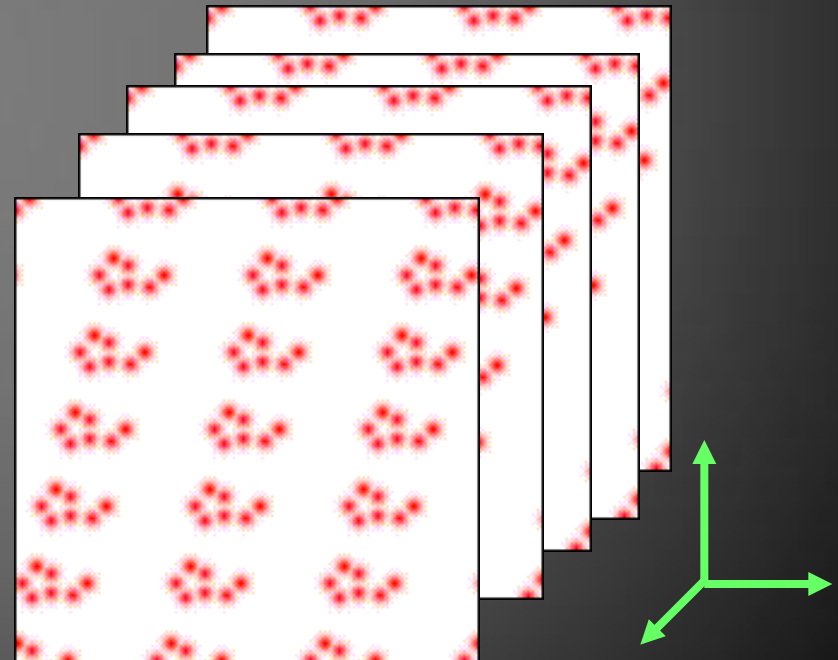
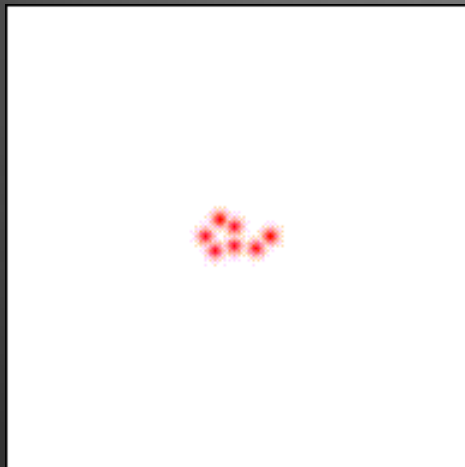
Quand l'évaporation est trop rapide, on ajoute une aiguille pour ralentir le processus.

Lorsque 2 solvants sont utilisés, les cristaux restent dans le mauvais solvant moins volatil et ne sèchent pas.

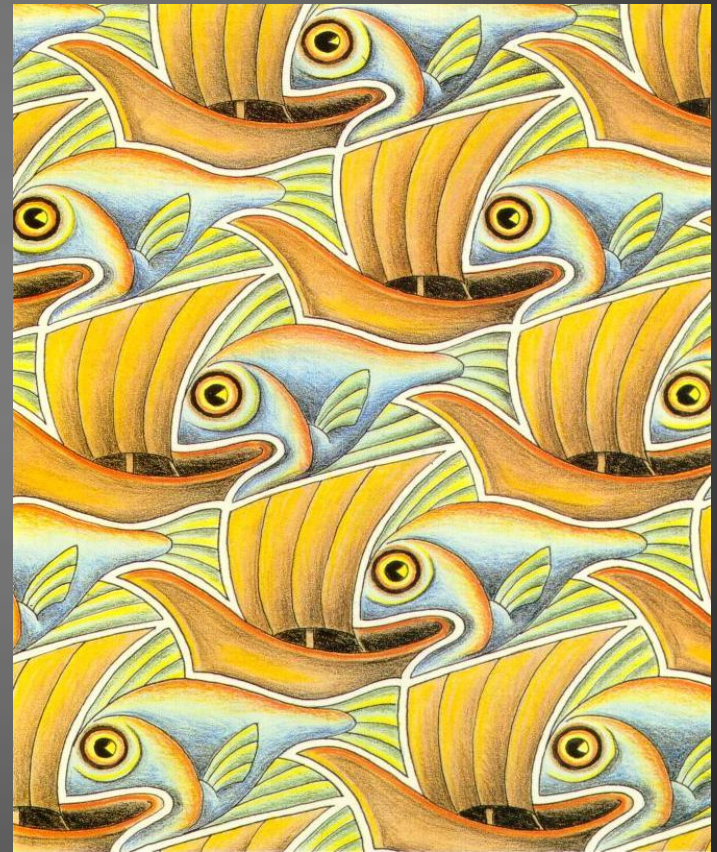


Un cristal...

- Un cristal c'est le résultat d'un arrangement régulier d'atomes ou molécules suivant un schéma tri périodique.
- L'unité de répétition est appelé 'unité asymétrique'



Les molécules s'empilent pour optimiser l'espace occupé et favoriser les contacts hydrophobes, hydrophiles et interactions strériques.

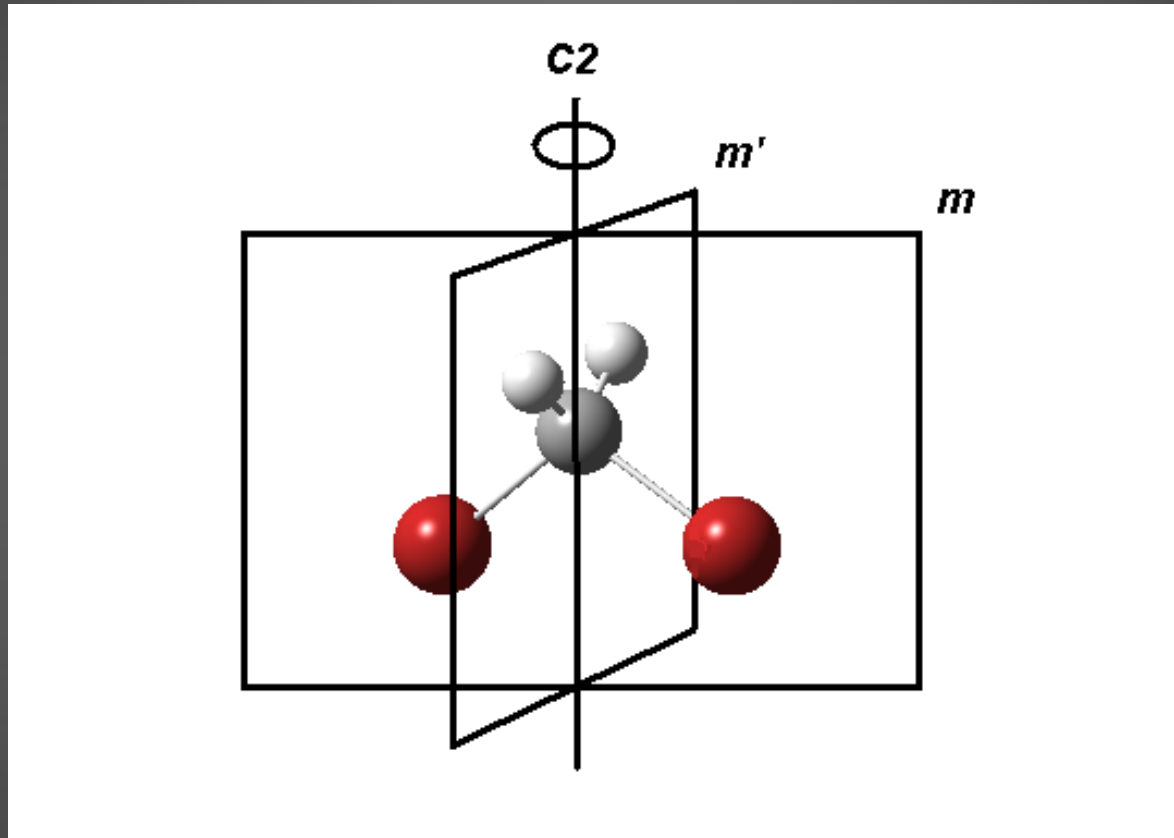


Symétries qui décrivent l'empilement

- Il y a en fait 4 opérations de symétrie "ou une combinaison des quatre" qui définissent tous les systèmes cristallins;
 1. La rotation ($2\pi/X$) X est entier. Symboles 2 à 6 molécules non-chirales seulement
 2. La translation molécules non-chirales seulement
 3. La réflexion (miroir). Symbole m molécules chirales
 4. L'inversion. Symbole c (centrosymétrique) molécules chirales

Symbole International Hermann-Mauguin ($2mm$)

Symbole Schoenflies (C_{2v})

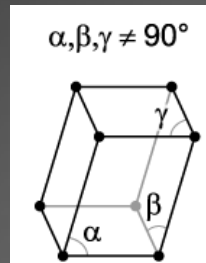


La symétrie de la molécule (seulement 32 possibles) aura un lien avec le réseau cristallin que l'on choisit.

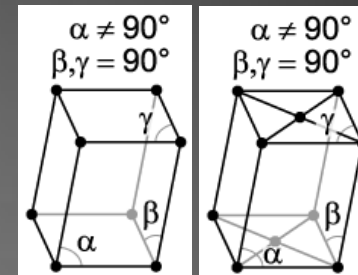
Dans ce cas, $2mm$ fait partie du système cristallin orthorhombique.

Réseaux de Bravais ou Système Cristallins (14)

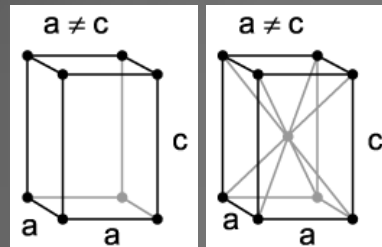
Triclinic



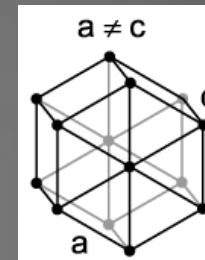
Monoclinic



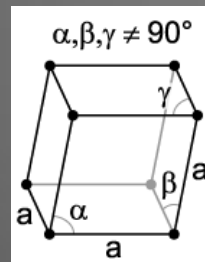
Tetragonal



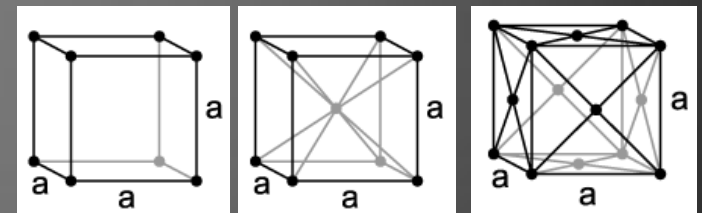
Hexagonal



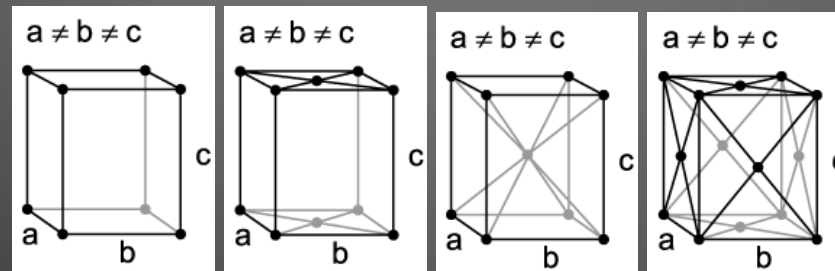
Rhombohédrique



Cubique



Orthorhombic



Choix d'un cristal



On prélève un seul cristal qui semble unique

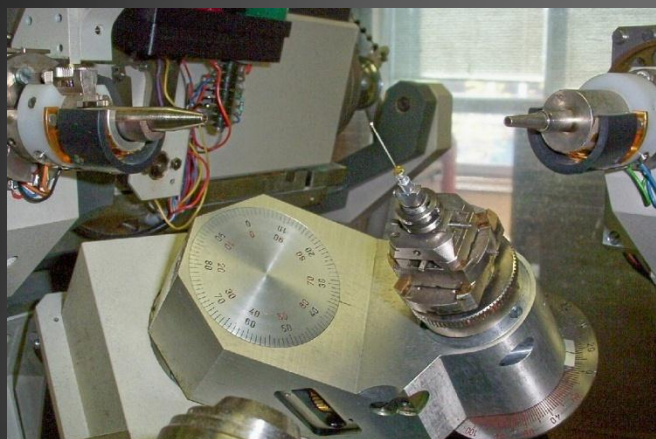
On doit couper au bistouri s'il ne l'est pas

Le cristal est collé avec de l'époxy, du silicone ou enrobé d'huile haute viscosité à base de téflon (pour la basse température).

Le cristal mesure idéalement $0.3 \times 0.3 \times 0.3 \text{ mm}^3$

L'intensité de diffraction dépend aussi d'autres facteurs...

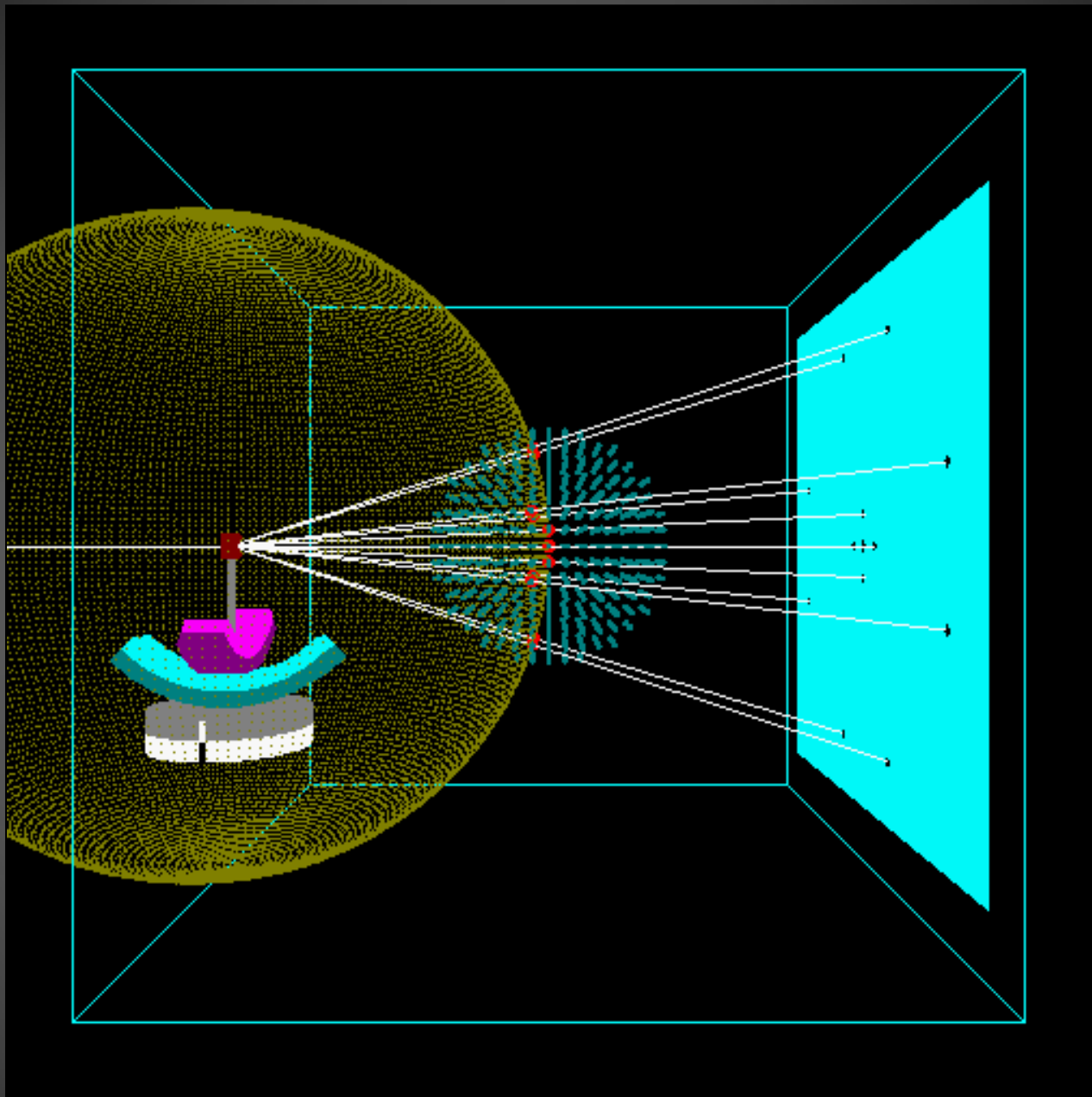
Le diffractomètre à rayons X



Cuivre $1,54176 \text{ \AA}$
(macromolécules, molécules
organiques et chirales)

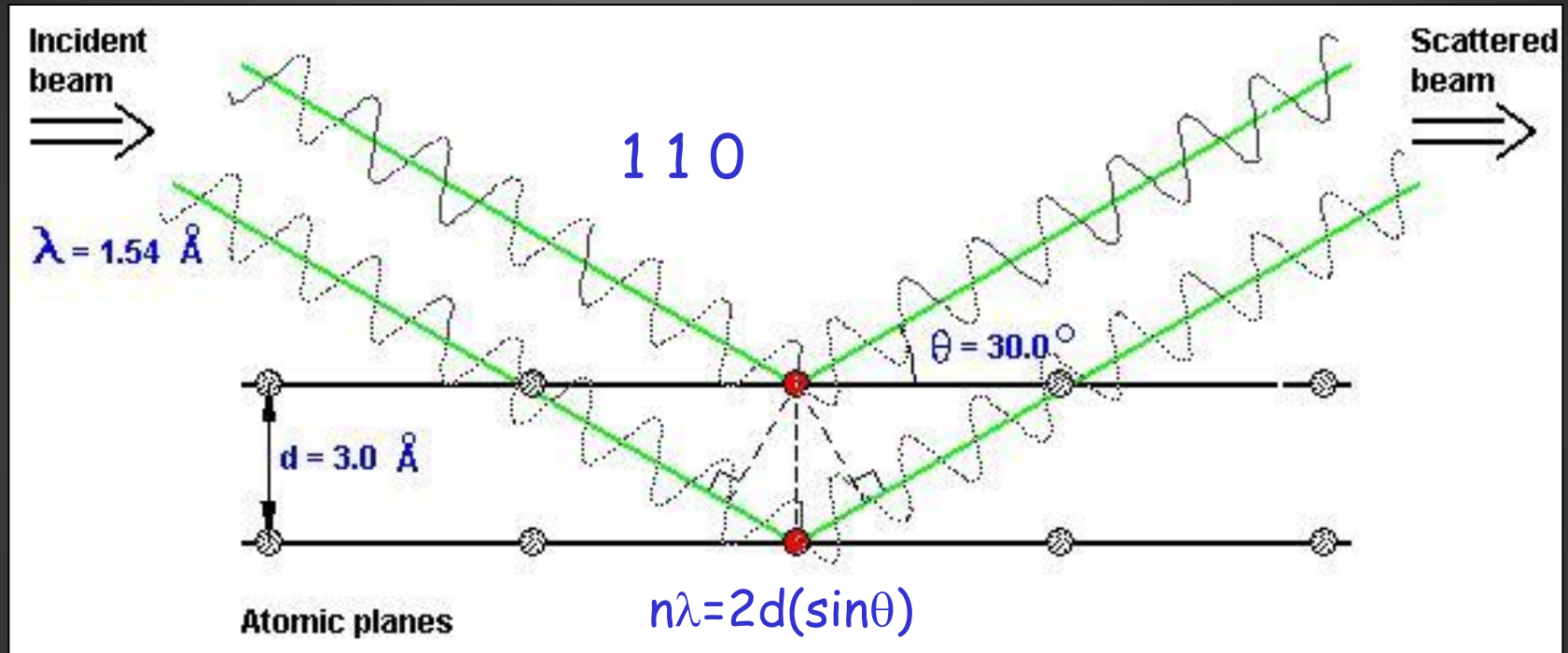
Molybdène $0,71073 \text{ \AA}$
(molécules inorganique et
organométallique)





Copyright 2007 : Daniel Fortin-
Université de Sherbrooke

Loi de Bragg: conditions de diffractions



$$n\lambda/2d = \sin\theta$$

Le sinus de l'angle de diffraction est proportionnel à la longueur d'onde.
On exige donc de collecter les données entre $2-26 \theta$ pour le tube de Mo et $2-70 \theta$ avec le tube de Cu

Loi de Bragg: conditions de diffractions

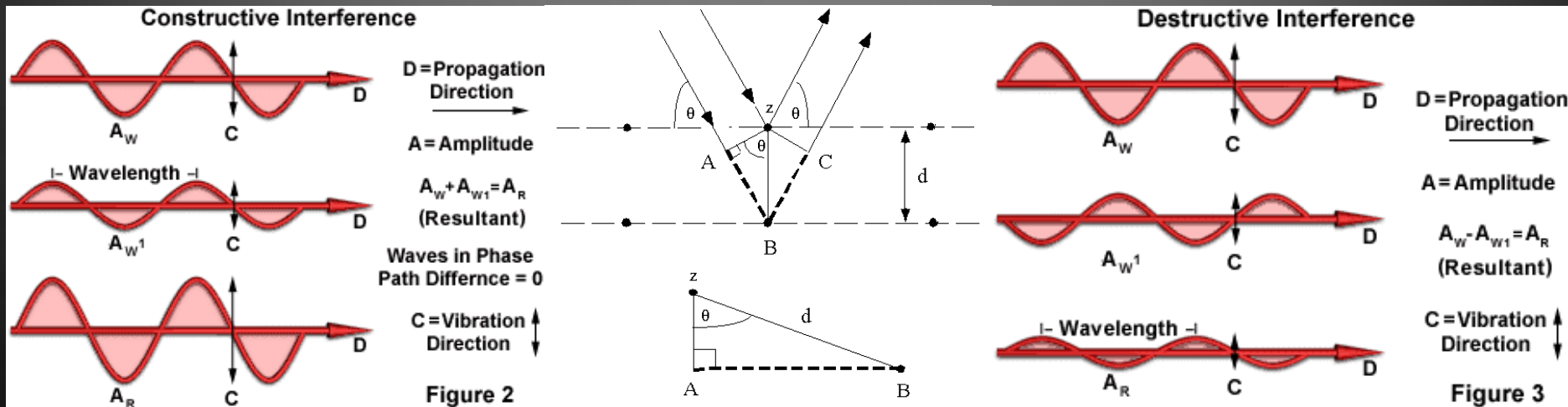
$$n \lambda = AB + BC \longrightarrow AB=BC \longrightarrow n \lambda = 2AB$$

$$\sin\theta = AB/d \longrightarrow AB = d \sin\theta$$

$$n \lambda = 2d \sin\theta$$

$$\lambda = 2d_{hkl} \sin\theta_{hkl}$$

$AB+BC = \text{multiples de } n\lambda$



Acquisition des données

- Le nombre de réflexions à accumuler dépend de la maille cristalline:

$$a = 9.881(2)$$

$$b = 26.511(4)$$

$$c = 31.576(2)$$

$$\alpha = 114.016(2)$$

$$\beta = 91.520(2)$$

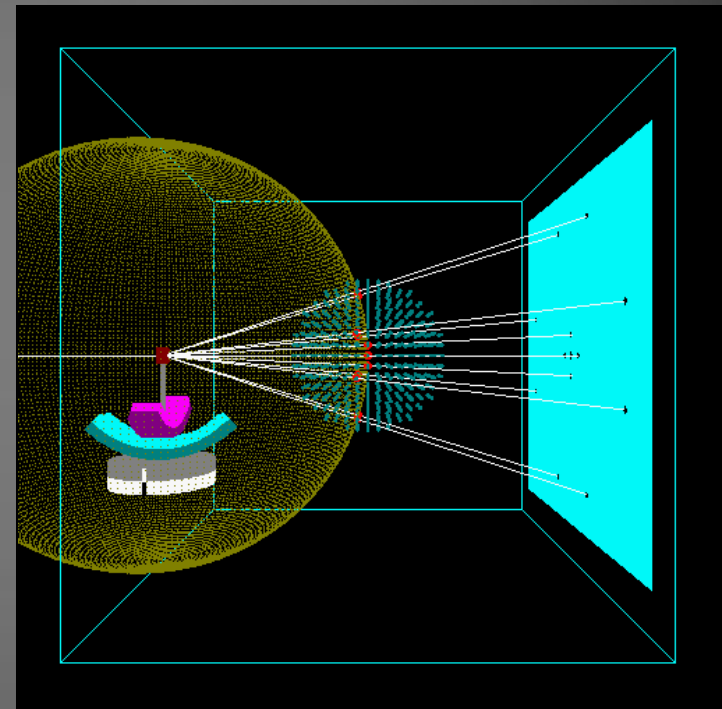
$$\gamma = 100.436(2)$$

groupe d'espace P -1

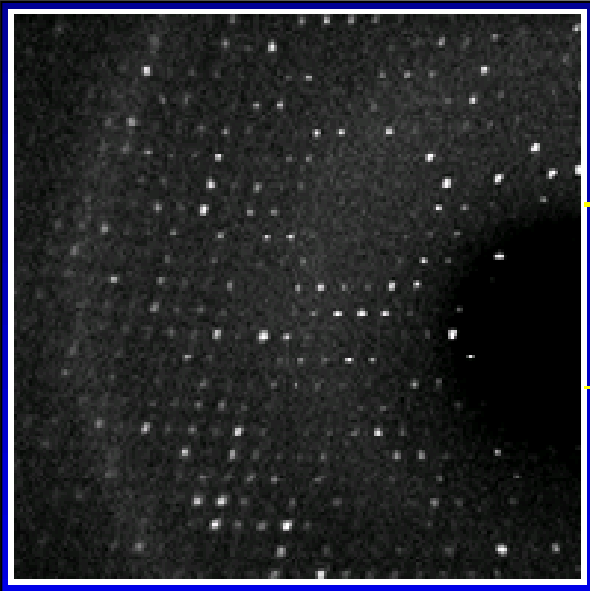
(x, y, z; -x, -y, -z)

Volume de maille = 7384 Å³

Réflexions nécessaire 18600

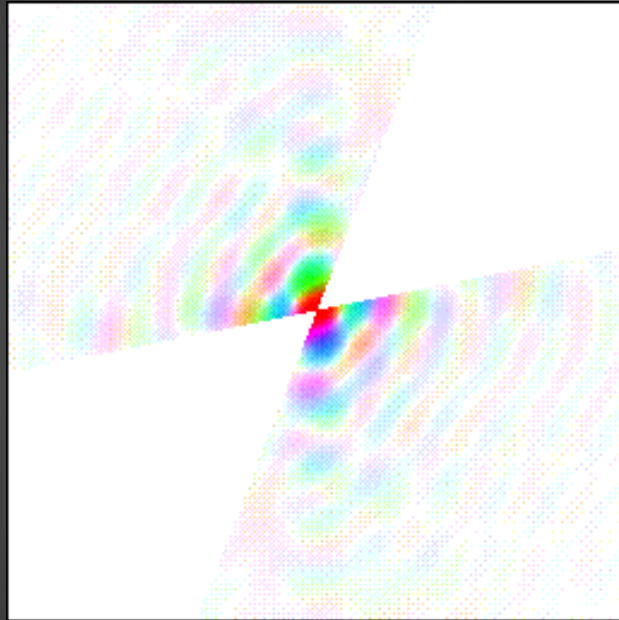


La solution...

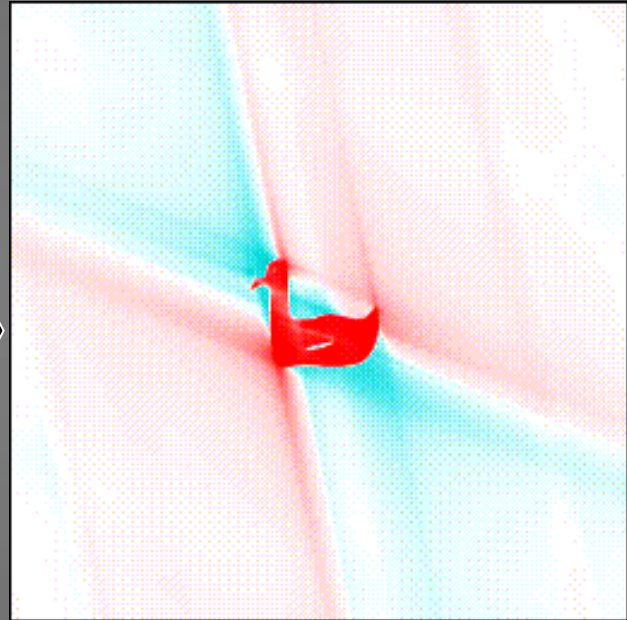


méthodes
directes = phases

F.T.

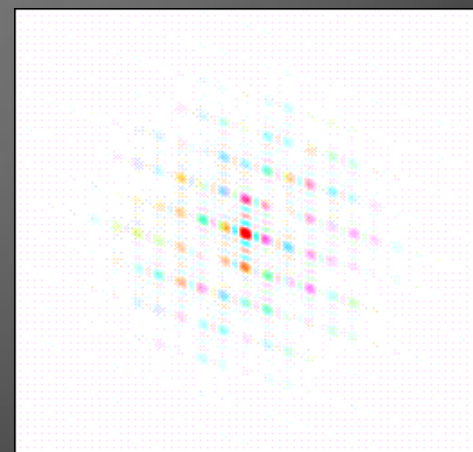
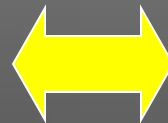
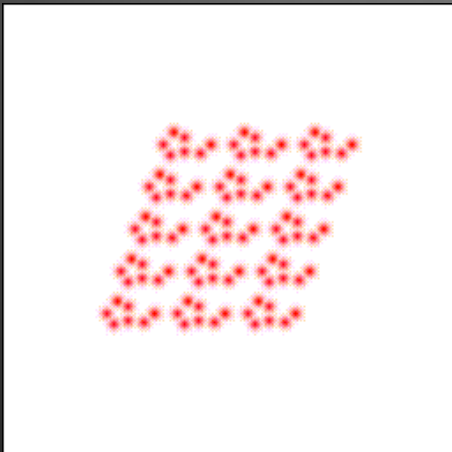
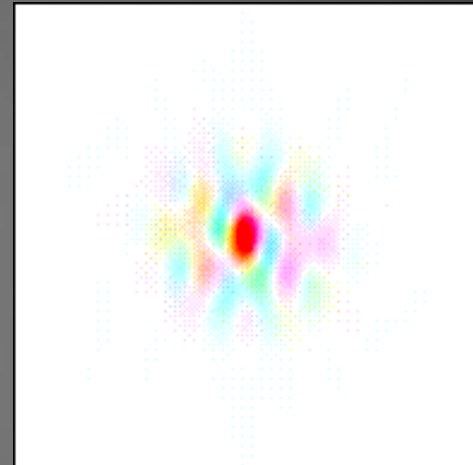
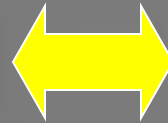
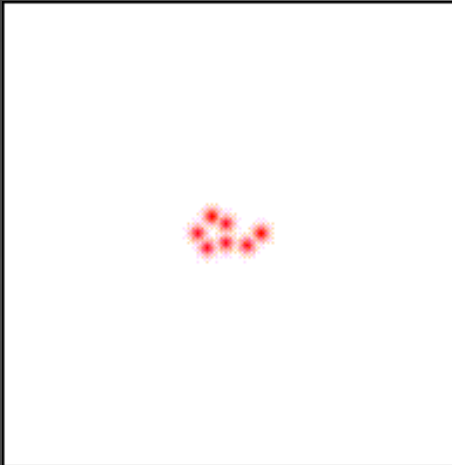


Phases
F.T.



F.T.

un exemple concret



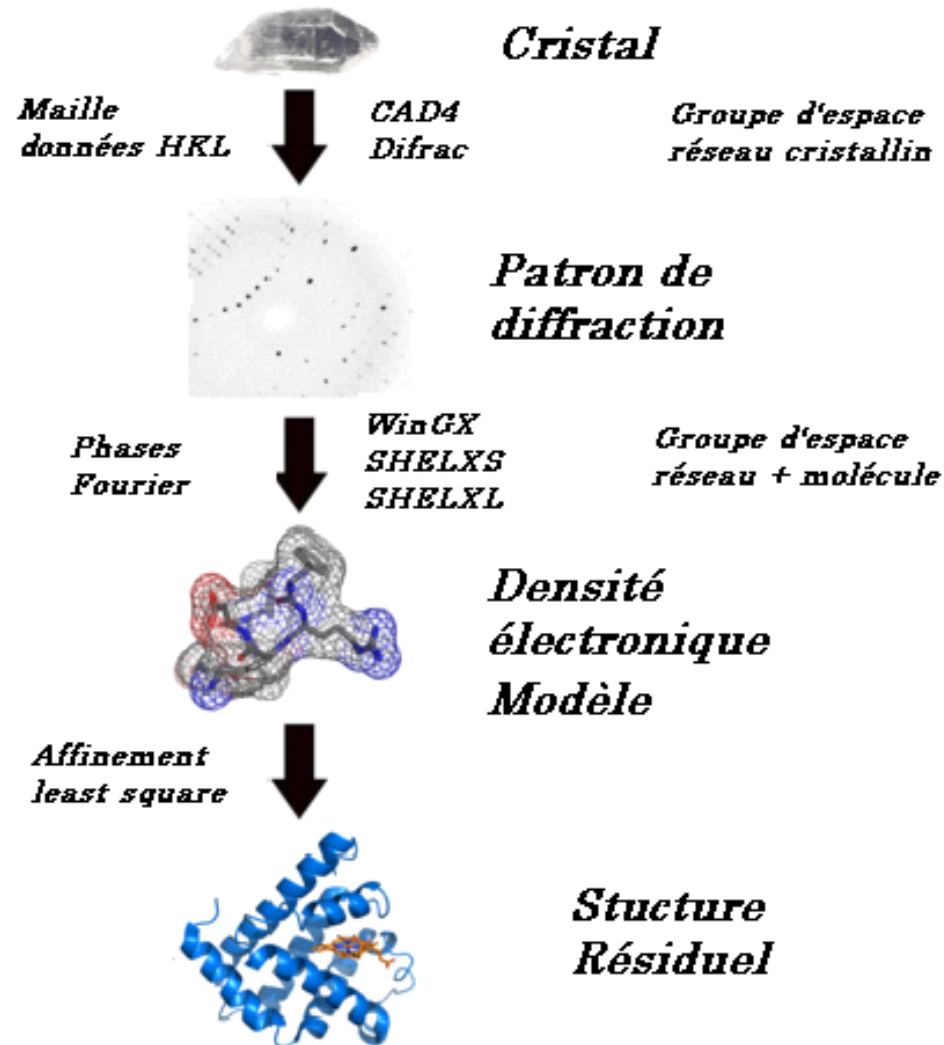
Comment déterminer les phases ?

Méthodes de Paterson : atome lourd

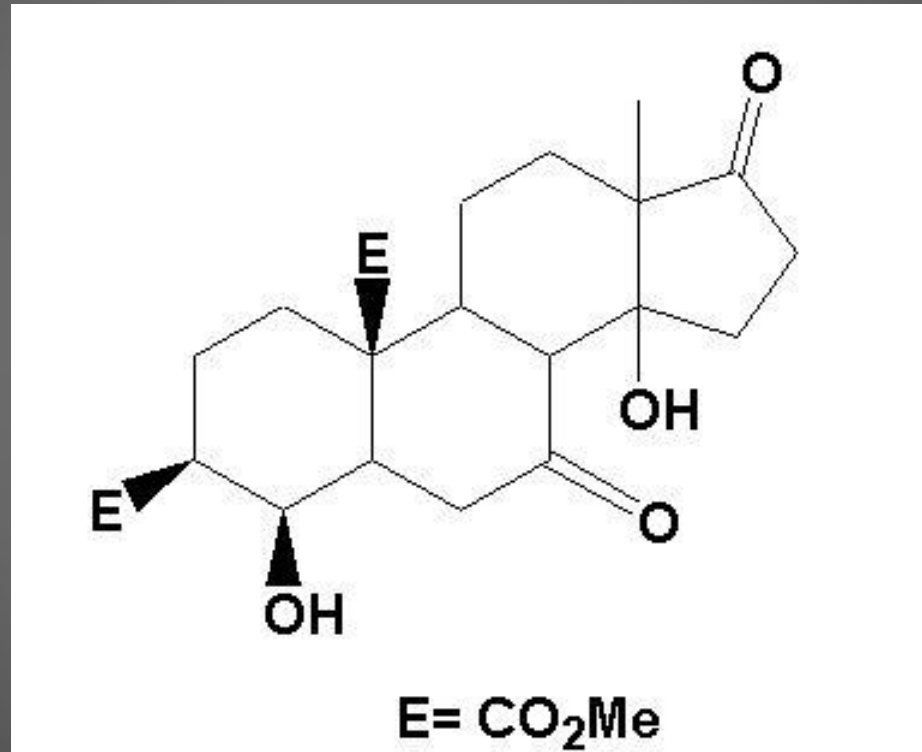
Méthodes directes : sans atomes lourds

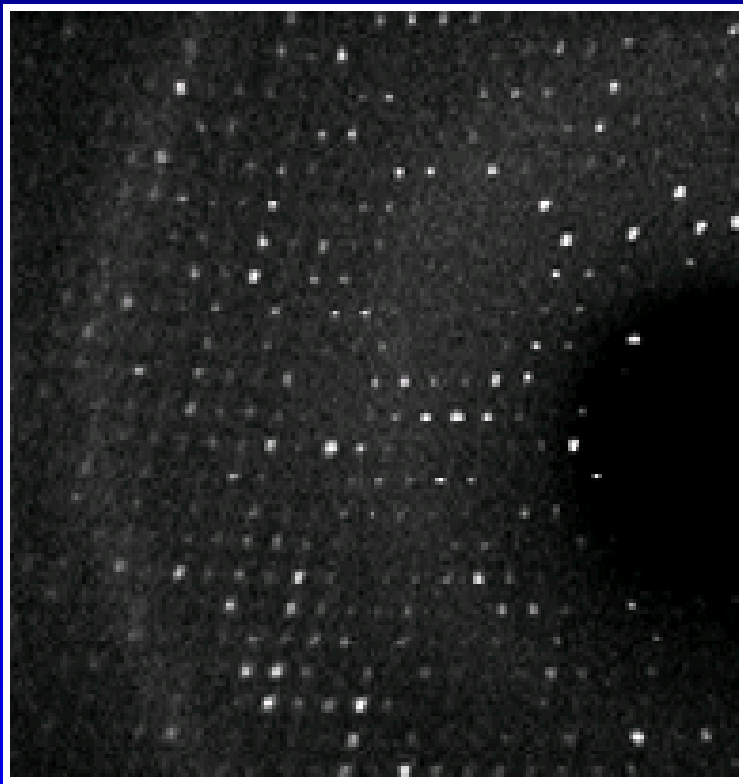
Abinitio (en développement jusqu'au protéines)

Globalement

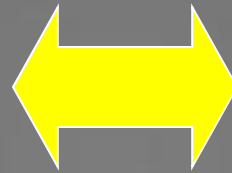


Un cas simple

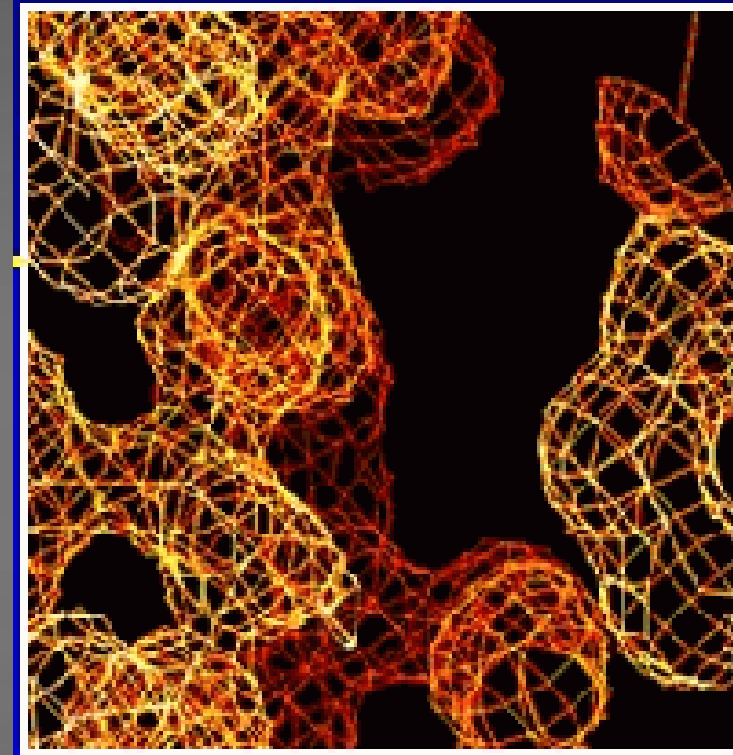




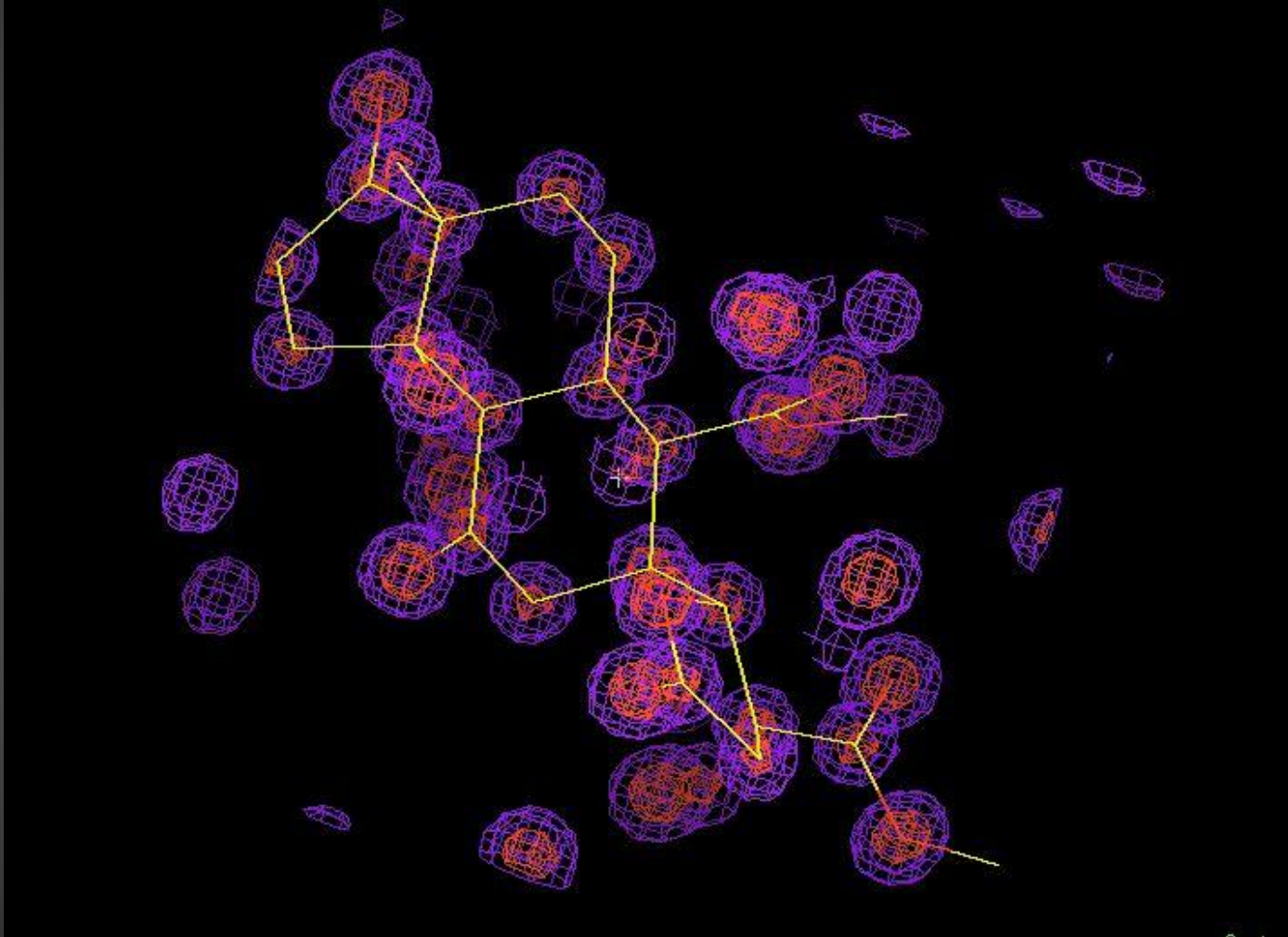
Phases



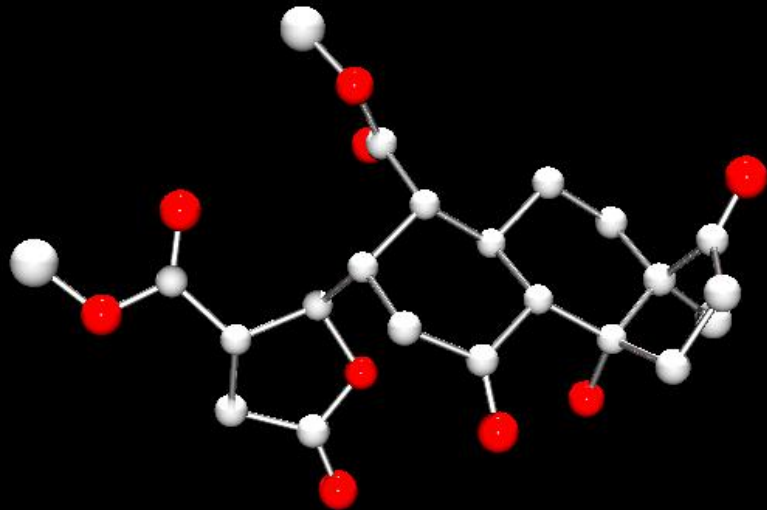
F.T.



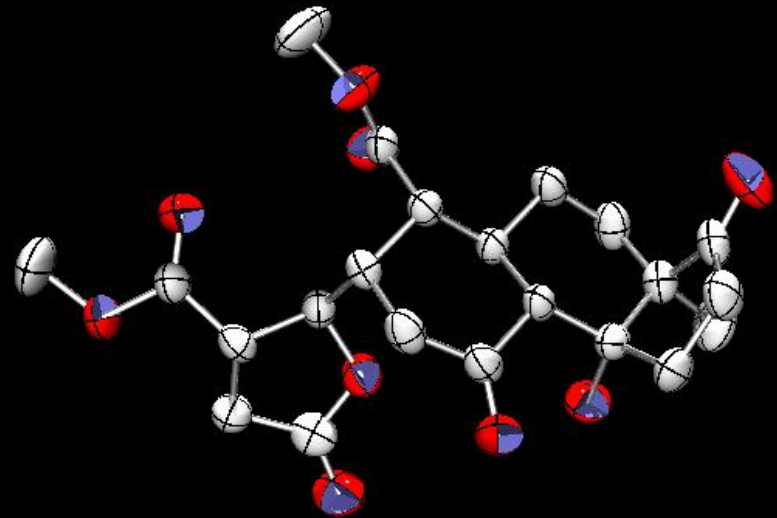
Phases et solution



Affinement isotrope et anisotrope

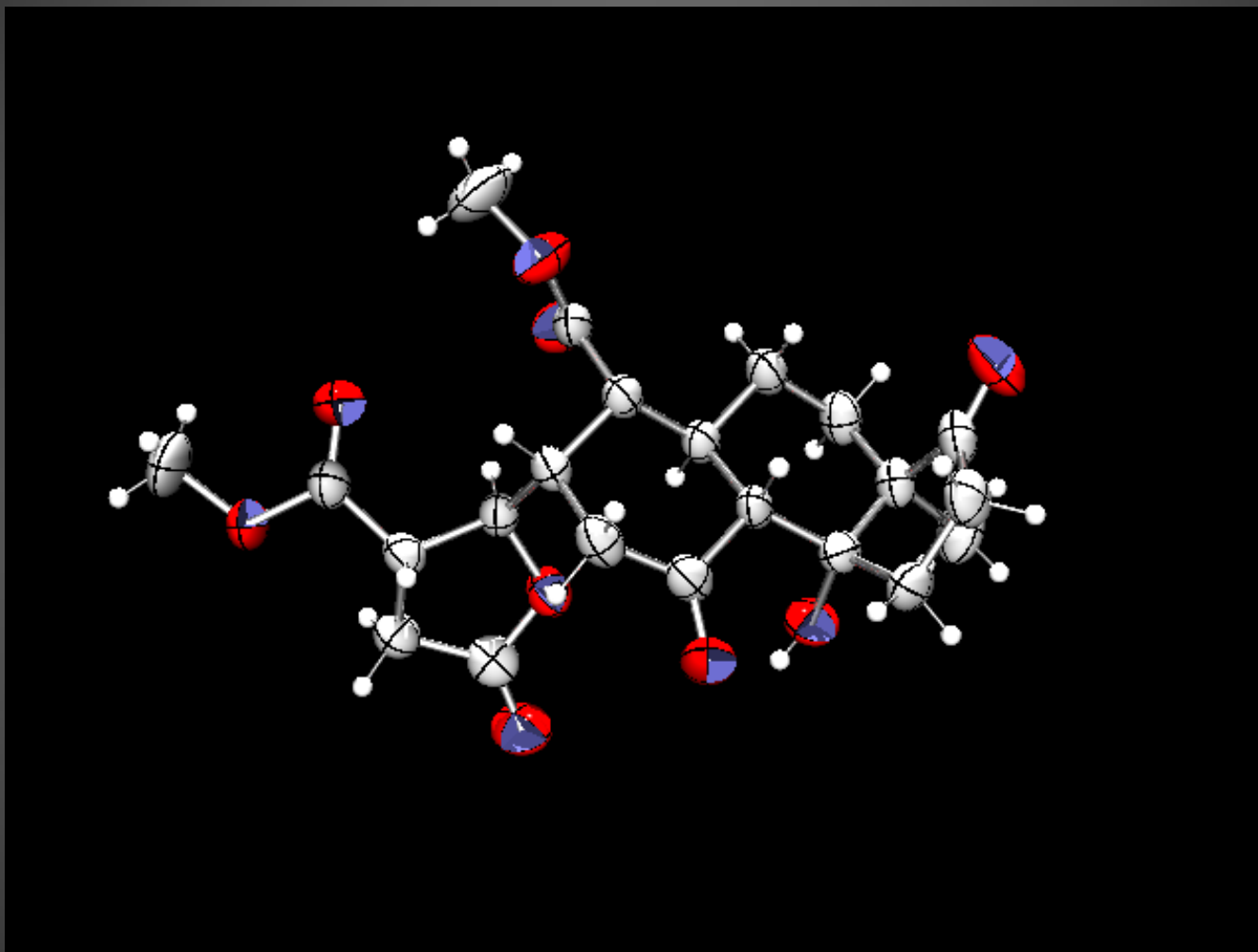


R=0.1062



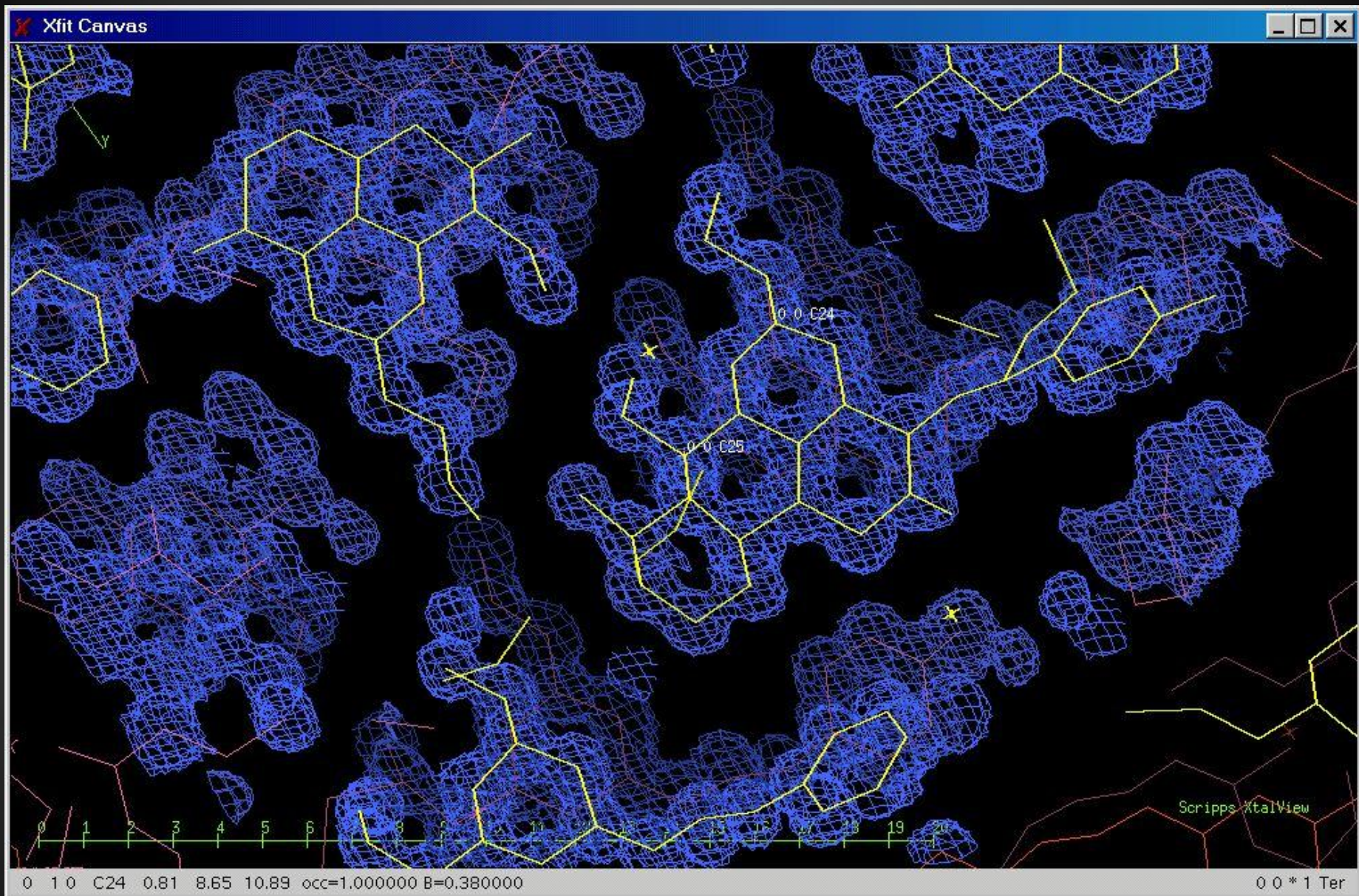
R=0.0706

Ajout des H et affinement final



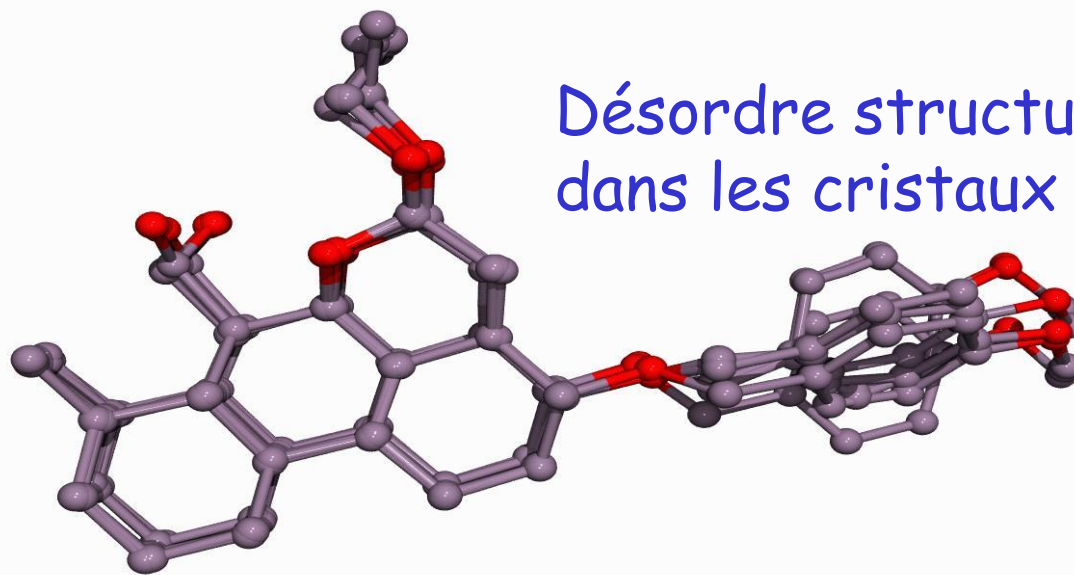
R = 0.045

Copyright 2007 : Daniel Fortin-
Université de Sherbrooke

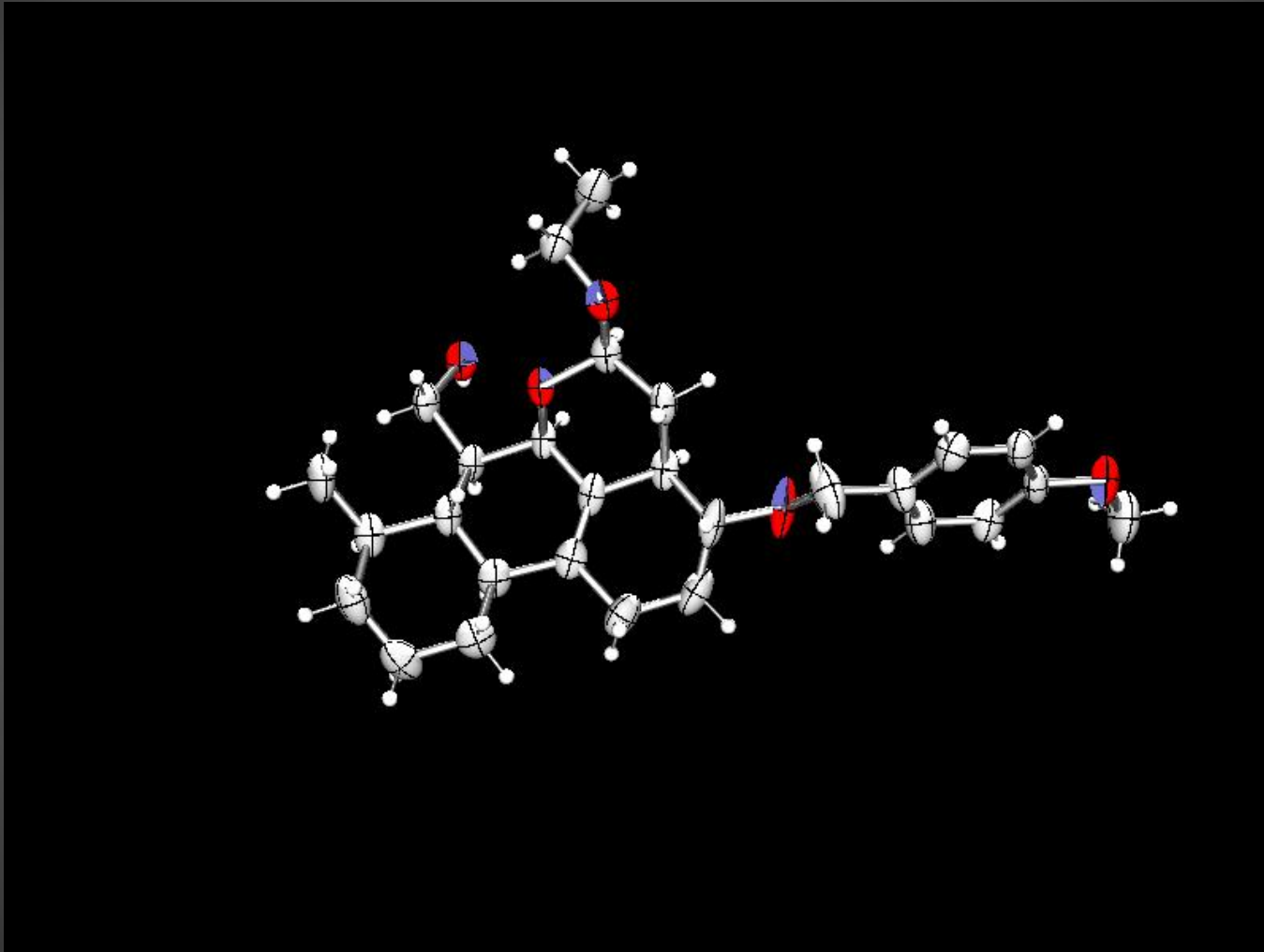


Copyright 2007 : Daniel Fortin-
Université de Sherbrooke

Superposition des 6 molécules indépendantes



Ajout des protons et affinement final



Traitement des données

Fichiers

- .HKL (points de diffraction) **rapport**
- .INS (instructions)
 - Paramètres de maille
 - Nombre d'atomes et types
 - Affinement (nombre de cycles)
 - Fourier (nombre de points)
 - Autres instructions (bond, conf, h-tab ...)
 - Liste des atomes trouvés à affiner.
- .RES (fichier de sortie affiné) **rapport**
- .Cif (fichier(s) pour soumettre à l'ACS) **rapport**
- .TXT (fichier Word des tables et conditions # atomes) **rapport**

Logiciels Utilisés

- Aquisition, Difrac (CAD4), APEX II (BRUKER APEX DUO)
- Réduction de données et préparation du fichier .INS, NRCVAX (CAD4), SAINT (BRUKER APEX DUO)
- Solution et affinement, WinGX Package (SHELX, ORTEP...)
- Visualisation, empilement, spectres de poudres calculés etc. Mercury
- Dessins Ortep, POVRay
- Visualisation de protéines avec rubans, Jmol

Encore une boîte noire ?

