

**Laboratoire "RMN en milieu orienté",  
Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay**

**Analyse conformationnelle en solution de (bio)-molécules  
à l'aide de la RMN dans les solvants cristaux liquides**

La Résonance Magnétique Nucléaire est une spectroscopie extrêmement puissante et efficace pour la détermination structurale rendant son utilisation générale dans tous les laboratoires d'analyse. Parmi les interactions responsables de la signature spectrale RMN des atomes et de leur relaxation de spin, l'interaction de couplage dipolaire, prédominante pour les noyaux de spin  $\frac{1}{2}$ , renseigne les distances interatomiques du soluté étudié. C'est donc l'interaction de choix pour élucider la distribution conformationnelle des molécules flexibles.

Par nature, cette interaction ne peut néanmoins être exploitée qu'indirectement dans les solvants isotropes. En effet, bien que non-nulle instantanément, cette interaction est moyennée à zéro à l'issue du temps d'acquisition RMN, en raison du mouvement brownien du soluté dans les solvants isotropes. De ce fait, aucune structure fine associée n'est visible sur les spectres RMN en milieu isotrope ; seul le mécanisme de relaxation dipolaire associé reste exploitable *via* l'effet Overhauser nucléaire, dont la mesure par les expériences RMN adéquates souffre de plusieurs inconvénients dont: i) une sensibilité réduite si les noyaux dipolairement couplés sont distants de plus de 5Å ou mal orientés géométriquement l'un par rapport à l'autre ou si l'un des noyaux impliqués est un hétéronoyau faiblement abondant, ii) un manque de robustesse induit par la non-unicité du paramétrage des séquences pour une large gamme de solutés. La situation est différente dans les solvants orientés car cette fois la réorientation du soluté n'est plus isotrope, ce qui permet alors de mesurer directement sur les spectres RMN l'ensemble des couplages dipolaires du soluté étudié et donc d'accéder plus sûrement à son organisation moléculaire tridimensionnelle ainsi qu'à sa distribution conformationnelle en s'appuyant sur des modèles théoriques adaptés et robustes.

Dans ce projet de thèse, à la suite d'études préliminaires convaincantes, preuves de concept<sup>1,2,3</sup>, nous nous proposons d'exploiter et de développer le potentiel analytique de la RMN dans les solvants cristaux liquides (chiraux) afin de mettre au point un outil efficace pour élucider la distribution conformationnelle de molécules (chirales) en solution. Les premières cibles seront des molécules d'intérêt pharmaceutique pour lesquelles l'activité biologique est intimement liée à l'arrangement spatial qu'elles adoptent à l'approche du site actif avec lesquels elles interagissent.

- 1-" *Conformational investigation in solution of a fluorinated anti-inflammatory drug by NMR spectroscopy in weakly ordering*", M. E. Di Pietro, C. Aroulanda, D. Merlet, G. Celebre, G. De Luca, *J. Phys. Chem. B* (2014), 118, 9007.
- 2-" *The conformational behaviour of naproxen and flurbiprofen in solution by NMR spectroscopy*", M. E. Di Pietro, C. Aroulanda, G. Celebre, D. Merlet, G. De Luca, *New J. Chem.*, (2015), 39, 9086.
- 3-" *Assessing the stable conformations of Ibuprofen in solution by means of Residual Dipolar Couplings*", M. E. Di Pietro, G. Celebre, C. Aroulanda, D. Merlet, G. De Luca, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, (2017), 116, 113.

## Conformational Analysis in Solution of (Bio)-Molecules using NMR in Liquid Crystalline Solvents

Nuclear Magnetic Resonance is an extremely powerful analytical tool for structural analysis, nowadays used as a routine technique. Among the interactions responsible for the NMR spectral patterns and spin relaxation, dipolar or through-space spin-spin coupling interaction do occupy a privileged place as being the predominant interaction for  $\frac{1}{2}$ -spins, and containing the geometrical information within the interatomic network of the studied solute. However the potential of this interaction is not directly exploitable in isotropic solvents. Indeed this nonzero interaction do average out to zero in isotropic solvents due to the isotropic Brownian reorientational motion of the solute within the sample. Therefore no splittings related to dipolar couplings could be measured on spectra whereas the dipolar relaxation mechanism do remain usable through the so-called and well-known nuclear Overhauser effect, which evaluation through proper NMR experiments do indeed suffer from i) a reduced sensitivity when the coupled nuclei are too far from each other (more than  $5\text{\AA}$ ) or geometrically ill-oriented to each other or when one of them is a low abundant heteronuclei, ii) a reduced robustness induced by the difficulty to optimize experimental parameters for a wide range of solutes.

In oriented liquids the solute reorientational motion is no longer isotropic. This leads to simple and fully informative high resolved NMR spectra where non- zero dipolar couplings are directly observed, allowing us therefore to determine the solute 3D structure and, based on robust suitable theoretical models, its conformational distribution in solution characterized by an equilibrium of different global and local minimum energy structures.

In this PhD project following successful preliminary results<sup>1,2,3</sup> we propose to exploit and develop the analytical potential of NMR in (chiral) weakly ordered solvents in order to deliver an efficient tool for elucidating conformational equilibria and distributions of small (chiral) molecules. Among the first targets drugs of pharmaceutical interest will be investigated as their biological role originate from their specific binding to target proteins and is evidently driven by the spatial arrangement they adopt at the active sites.

1- "Conformational investigation in solution of a fluorinated anti-inflammatory drug by NMR spectroscopy in weakly ordering", M. E. Di Pietro, C. Aroulanda, D. Merlet, G. Celebre, G. De Luca, *J. Phys. Chem. B* (2014), **118**, 9007.

2- "The conformational behaviour of naproxen and flurbiprofen in solution by NMR spectroscopy", M. E. Di Pietro, C. Aroulanda, G. Celebre, D. Merlet, G. De Luca, *New J. Chem.*, (2015), **39**, 9086.

3- "Assessing the stable conformations of Ibuprofen in solution by means of Residual Dipolar Couplings", M. E. Di Pietro, G. Celebre, C. Aroulanda, D. Merlet, G. De Luca, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, (2017), **116**, 113.

- Encadrants: Prof. Denis MERLET & Dr. Christie AROULANDA
- Coordonnées électroniques : [denis.merlet@u-psud.fr](mailto:denis.merlet@u-psud.fr) & [christie.aroulanda@u-psud.fr](mailto:christie.aroulanda@u-psud.fr)
- Coordonnées téléphoniques : (00 33) 1 69 15 74 32
- Unité d'accueil : Institut de Chimie Moléculaire et des matériaux d'Orsay (ICMMO, UMR CNRS 8182)
- Offre : doctorant plein temps.