



HAL
open science

Approche expérimentale par ESI/ITMS et théorique des affinités cationiques (Na^+) d'acides aminés, de bases nucléiques et de nucléosides

Sophie Rochut

► **To cite this version:**

Sophie Rochut. Approche expérimentale par ESI/ITMS et théorique des affinités cationiques (Na^+) d'acides aminés, de bases nucléiques et de nucléosides. Autre. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2004. Français. NNT: . tel-00082007

HAL Id: tel-00082007

<https://theses.hal.science/tel-00082007>

Submitted on 26 Jun 2006

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE
PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité : Systèmes Bio-Organiques/Spectrochimie.

présentée par

Sophie ROCHUT

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie

**Approche expérimentale par ESI/ITMS et théorique
des affinités cationiques (Na^+) d'acides aminés, de
bases nucléiques et de nucléosides.**

Thèse dirigée par le Professeur Claude Pepe

soutenue le 10 septembre 2004 devant le jury composé de :

M. Mohammad Esmail ALIKHANI Examineur-invité
M. Claude PEPE..... Examineur
M. Christian ROLANDO Rapporteur
M. David RONDEAU Examineur
M. Detlef SCHRÖDER..... Rapporteur
M. Jean-Claude TABET..... Examineur
M. Jean-Marc VALERY Président du jury

Remerciements

Avant de commencer la lecture de ce manuscrit, voici les personnes auxquelles je voudrais adresser mes sincères remerciements...

J'ai eu le grand honneur d'avoir eu pour directeur de recherche Claude Pepe depuis mon stage de maîtrise. Sa rigueur intellectuelle et ses connaissances aussi bien scientifiques que culinaires m'ont fait découvrir la chimie telle que je l'avais toujours imaginée durant mes études, ludique, exigeante et passionnante. Son écoute et ses conseils ont façonné cette thèse, je vous dois beaucoup, Claude. Merci !!!

Je remercie Mr Le Professeur Jean-Claude Tabet qui, depuis toutes ces années d'enseignements, m'a tant appris sur la spectrométrie de masse. Je vous adresse mes sincères remerciements pour votre soutien, et surtout pour le temps que vous avez passé à suivre mes recherches tout au long de ces trois années.

Je remercie Madame Le Professeur Nelly Lacome, Directrice du LADIR, de m'avoir permis d'obtenir ma thèse de doctorat dans son U.M.R.

J'adresse également mes remerciements à Messieurs Christian Rolando, Directeur de Recherches au C.N.R.S., et Detlef Schröder, Docteur à la Technische Universität Berlin, d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse.

Je remercie Messieurs Mohammad Esmail Alikhani, David Rondeau, Jean-Claude Tabet et Jean-Marc Valéry d'avoir accepté d'être membres de mon jury de thèse.

Je tiens à remercier également Mr Jean-Paul Paumard pour l'aide qu'il m'a apportée tout au long de ces trois années.

Je tiens à remercier également

- « les dames de salle » du 3^{ème} étage : Marie-Claude, Céleste, Isabelle, Jacqueline, Maria, Martine et Christine pour toutes leurs petites attentions, leur gentillesse, sans oublier les dépannages de produits !!!!
- Gilles pour ses passages-coup-de-vent,
- Gérard et son éternelle bonne humeur et ses encouragements sportifs!!!
- Marie-Christine pour ses explications et ses dépannages rapides sur Windows...
- les « dames » de l'UFR de chimie, Annick, Carole et Valérie

Je voudrais également remercier chacune des personnes de l'équipe du LADIR, pour leur gentillesse et leurs encouragements, Pascale, pour les échanges de livres... et la découverte d'Alice Ferney, Danièle, Jean-Pierre et ses conseils en natation, Pierre et Benoît pour leur cinéphilie, Esmail, Laurent pour ses conseils culinaires et ses délicieux gâteaux (surtout celui aux marrons... !!!), Lahouari et Daniel sans oublier les anciens thésards, Karim et Manu...et les futurs docteurs Delphine (et « ses » pains aux raisins), Bruno (et ses « J'ai pas la réf... »), Nadia et bien sûr Fayçal qui m'a permis de voir la vie autrement !!!

Enfin, merci à Julie et à mes parents qui, même s'ils ne liront sans doute jamais cette thèse et s'ils ne comprennent pas grand chose aux ions et autres spectromètres de masse, ont grandement contribué à ces recherches par leur soutien sans failles et leurs encouragements tout au long de mes (longues !!!) études...

Grâce à vous tous, je n'ai pas vu passé ces trois années de recherches (et de cinéma...) encore merci !!!!

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	---

Méthodologie

I. Electrospray	7
1. Historique	7
2. Mécanisme de désolvatation/ionisation	7
<i>2.1 Electronébulisation du liquide sous l'application d'un champ électrique.</i>	8
<i>2.2 Eclatement des gouttelettes chargées</i>	9
<i>2.3. Emissions des ions en phase gazeuse.</i>	10
<i>a. Modèle de Dole</i>	10
<i>b. Modèle d'Iribarne et Thomson</i>	10
<i>c. Modèle de Siu</i>	11
II. Piège ionique.	12
1. Description du piège ionique.	12
2. Principe de fonctionnement des pièges ioniques.	13
<i>2.1. Principe de piégeage des ions.</i>	14
<i>a. Expression du potentiel électrique de piégeage.</i>	14
<i>b. Equations de mouvements des ions.</i>	15
<i>c. Diagramme de stabilité.</i>	16
<i>d. Caractéristiques du mouvement des ions.</i>	17
<i>e. Modèle du puits de pseudo-potentiel de Dehmelt.</i>	17
<i>2.2. Fragmentations induites par collision</i>	19
III. Protocole expérimental	20
1. Préparation des échantillons.	20
2. Conditions expérimentales ESI/ITMS.	20
3. Solvants utilisés.	21
IV. La méthode de Cooks.	22
1. La méthode cinétique de Cooks.	22
2. La méthode étendue ou isoentropique de Fenselau.	27
3. Mesures du terme entropique.	29
<i>3.1. La méthode de Fenselau.</i>	29
<i>3.2. La méthode d'Armentrout.</i>	30
V. Les calculs ab initio.	32
1. Expression de la fonction d'onde d'un système polyélectronique.	33
<i>1.1. Approximation de Born-Oppenheimer.</i>	33
<i>1.2. Approximation orbitale. Déterminant de Slater.</i>	33
<i>1.3. Expression des orbitales moléculaires : théorie LCAO.</i>	34

2. Les fonctions gaussiennes de base	35
2.1. Les bases STO-NG.....	35
2.2. Les bases étendues.....	35
a. Les bases polarisées.....	36
b. Les bases diffuses.....	36
3. Méthodologie ab initio	37
3.1. La méthode Hartree-Fock.....	38
a. Opérateur de Fock.....	38
b. Equations de Hartree-Fock dans l'approximation LCAO.....	39
c. Calculs SCF et énergie totale Hartree-Fock.....	39
3.2. Les calculs post-SCF : la méthode des perturbations de Møller-Plesset.....	40
4. Les calculs DFT (Density Functional Theory)	43
4.1. Expression de l'énergie totale du système.....	44
a. Equations de Kohn-Sham.....	44
b. Calculs KS-SCF et énergie totale du système.....	44
c. Descriptions de l'énergie d'échange-corrélation.....	45
α. Approche de la densité locale (LDA).....	45
β. Approche du gradient généralisé.....	46
γ. Les fonctionnelles hybrides.....	46
4.2. Calcul de l'énergie du point zéro (ZPE) et des fréquences de vibration.....	47
4.3. Calcul de l'erreur de superposition de bases (BSSE).....	47

Détermination des affinités cationiques des acides aminés.

I. Détermination expérimentale des affinités cationiques	49
1. Etude des acides aminés aliphatiques	51
1.1. Acides aminés à chaîne latérale aliphatique et linéaire.....	51
1.2. Acides aminés aliphatiques cycliques.....	54
2. Etude des acides aminés non aliphatiques	56
2.1. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un hétéroatome.....	56
2.2. Acides aminés dont la chaîne latérale contient plusieurs hétéroatomes.....	58
2.3. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle aromatique.....	60
a. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau benzénique.....	60
b. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau indol.....	61
c. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau imidazole.....	62
II. Détermination du protocole de calcul	64
1. Importance du choix du système de calculs	64
2. Détermination du choix de la méthode de calcul	66
2.1. Etude de la glycine.....	67
2.2. Etude de la cystéine.....	69
2.3. Etude de la phénylalanine.....	71
2.4. Etude de la proline.....	73
2.5. Méthode retenue.....	75

3. Choix de la base.	75
3.1. <i>Etude de la glycine</i>	76
3.2. <i>Etude de la cystéine</i>	77
3.3. <i>Etude de la phénylalanine</i>	79
3.4. <i>Etude de la proline</i>	80
3.5. <i>Système de calcul retenu.</i>	81
III. Détermination des affinités cationiques par calculs ab initio.	82
1. Principe de détermination des structures neutres les plus stables.	82
2. Détermination des structures des acides aminés cationisés les plus stables.	85
2.1. <i>Acides aminés à chaîne latérale aliphatique.</i>	85
a. <i>La glycine</i>	85
b. <i>La valine</i>	86
2.2. <i>Acides aminés dont la chaîne latérale contient un ou plusieurs hétéroatomes</i>	87
a. <i>La cystéine.</i>	87
b. <i>La citrulline</i>	88
2.3. <i>Acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle aromatique.</i>	89
a. <i>L'histidine et ses dérivés.</i>	89
b. <i>La phénylalanine.</i>	90
2.4. <i>Récapitulation des résultats d'affinités cationiques obtenus théoriquement.</i>	82
2.5. <i>Comparaison des résultats expérimentaux et calculés.</i>	93
2.6. <i>Etude des formes zwitterioniques et non zwitterioniques en fonction des affinités cationiques et protoniques.</i>	94

Détermination des affinités cationiques des bases nucléiques

I. Détermination expérimentale de l'ordre des affinités cationiques.	96
1. Présentation des bases nucléiques de l'ADN et de l'ARN.	96
2. Détermination de l'échelle relative d'affinités cationiques des bases nucléiques.	97
2.1. <i>Description des expériences.</i>	97
2.2. <i>Exploitation des résultats.</i>	102
a. <i>Les bases nucléiques puriques.</i>	103
b. <i>Les bases nucléiques pyrimidiques.</i>	105
c. <i>Récapitulatif</i>	106
II. Détermination des affinités cationiques par calculs ab initio.	107
1. Etude des bases nucléiques neutres.	107
1.1 <i>Les bases nucléiques pyrimidiques.</i>	107
a. <i>L'uracile et ses dérivés.</i>	107
b. <i>La cytosine et ses dérivés.</i>	108
1.2. <i>Les bases nucléiques puriques neutres.</i>	109
a. <i>L'adénine et ses dérivés.</i>	109
b. <i>La guanine et ses dérivés.</i>	110

2. Etudes des bases nucléiques cationisées	111
<i>2.1. Les bases pyrimidiques nucléiques cationisées</i>	111
<i>a. L'uracile et ses dérivés</i>	111
α . L'uracile et ses dérivés méthylés	111
β . La 6-aza thymine	112
<i>b. La cytosine et ses dérivés</i>	113
α . La 5-aza cytosine	114
β . La 5-fluoro cytosine et la 5-bromo cytosine	114
γ . La 1-méthyl cytosine	116
δ . Récapitulatif des structures cationisées de la cytosine et de ses dérivés	116
<i>2.2. Les bases nucléiques puriques cationisées</i>	117
<i>a. L'adénine et ses dérivés</i>	117
<i>b. La guanine et ses dérivés</i>	119
α . La 8-aza guanine	119
β . La 7-méthyl guanine	119
γ . La 7-déaza guanine	120
δ . La guanine	120
<i>c. Récapitulatif des résultats calculés</i>	121
<i>2.3. Comparaison des résultats expérimentaux et calculés</i>	122
3. Etude théorique de l'adénine	123
4. Etude théorique de la guanine	125
III. Détermination expérimentale des affinités cationiques	126
1. Rappel des précédents résultats	126
2. Détermination des affinités cationiques expérimentales des bases nucléiques	127
3. Comparaison des résultats expérimentaux et calculés	128
<i>3.1. Influence de la coordination du sodium avec les bases nucléiques sur l'affinité cationique</i>	128
<i>3.2. Influence des groupements méthyl sur l'affinité cationique</i>	129
<i>3.3. Influence de la présence d'un atome d'halogène sur l'affinité cationique de la cytosine</i>	129

Détermination des affinités cationiques des nucléosides

I. Détermination expérimentale des affinités cationiques	130
1. Présentation des nucléosides	130
2. Détermination expérimentale des affinités cationiques	130
<i>2.1. Détermination de l'échelle d'affinités cationiques des nucléosides</i>	131
<i>2.2. Détermination des affinités cationiques expérimentales des nucléosides</i>	132
II. Détermination des affinités cationiques par calculs ab initio	133
1. Description des nucléosides étudiés	133
2. Détermination des structures neutres les plus stables	134
3. Détermination des structures cationisées les plus stables	135
4. Détermination des affinités cationiques calculées des nucléosides	136

Etude théorique des dimères d'acides aminés

1. Définition de la température « effective »	137
2. Principe de l'étude théorique.	141
3. Etude des hétérodimères cationisés.	142
<i>3.1. Structures des dimères cationisés.</i>	143
<i>3.2. Fragmentation des hétérodimères cationisés.</i>	144
<i>3.3. Détermination théorique de la température effective.</i>	145
Conclusion	147
Références bibliographiques	149
Annexes	

INTRODUCTION

L'objet de cette thèse est l'étude expérimentale et théorique de l'interaction entre le cation sodium (Na^+) et des biomolécules telles que les acides aminés, les bases nucléiques et les nucléosides. En effet, les cations sont présents dans les cellules vivantes et sont transportés suivant différentes modalités, notamment par transport actif pour lequel les ions interagissent avec des protéines appelées « protéines porteuses ».

Le transport actif se fait par l'intermédiaire de protéines porteuses qui se lient de façon spécifique à l'ion qui doit être transporté induisant un changement de conformation des protéines. On distingue deux types de transport actif, le transport actif primaire et le transport actif secondaire.

-Un exemple de transport actif primaire : la pompe Na^+/K^+ ATP

La pompe Na^+/K^+ fait passer les ions potassium (K^+) de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur et les ions sodium (Na^+) de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule contre les gradients de concentration. En effet, les ions Na^+ sont majoritairement extracellulaire et les ions K^+ sont au contraire des ions intracellulaires. Ce transport nécessite de l'énergie fournie par l'ATP, l'adénosine triphosphate, molécule de stockage de l'énergie dans les cellules.

La pompe est constituée de deux dimères ou sous-unités protéiniques, la sous-unité α , unité catalytique de masse 55 000 Da., et la sous-unité β de 110 000 Da. En général, les deux dimères fonctionnent en duo, deux sous-unités α sont associées à deux sous-unités β .

La sous-unité α possède trois sites de fixation des ions Na^+ ; en présence d'ATP, la pompe est phosphorylée. La phosphorylation de la sous-unité α provoque un changement de conformation, les trois ions Na^+ sortent du côté extracellulaire et démasquent ainsi deux sites d'acceptation des ions K^+ . Les ions potassium se fixent sur ces sites et induisent un changement de conformation de la pompe en même temps que sa déphosphorylation. Les deux ions K^+ sont ainsi libérés à l'intérieur de la cellule. Le cycle peut ainsi recommencer. La

pompe maintient ainsi le potentiel membranaire, contrôle le volume cellulaire et participe également au transfert de molécules dans la cellule telles que les sucres et les acides aminés.

-Le transport actif secondaire

Il met également des protéines porteuses en jeu mais ces protéines sont appelées « transporteurs ». Ces transporteurs utilisent l'énergie fournie par le gradient de concentration pour le transport de divers ions couplés au mouvement de molécules comme les acides aminés ou les sucres.

Les nombreux ions ainsi concentrés dans la cellule sont nécessaires pour plusieurs processus biologiques. Il existe notamment d'autres systèmes de transport comme les canaux et les pores que nous n'avons pas développés ici.

La présence de métaux au niveau de l'ADN peut influencer parfois de manière importante sa conformation et, par conséquent, ses fonctions¹⁻⁶. En effet, les interactions entre les cations et les bases sont très souvent mises en jeu dans de nombreux processus biophysiques comme la stabilisation des superpositions base / sucre dans les ADN de forme Z^{7,8}. Les cations de la série des alcalins ont une faible propension à former des liaisons covalentes, ils forment donc des liaisons non spécifiques. Les cations métalliques sont souvent en interaction avec les groupements phosphate des ADN, neutralisant ainsi les

¹ G.L.Eichhorn. *Adv.Inorg.Biochem.* **1981**, 3, 1.

² W.Saenger. *Principle of nucleic Acid Structure*. Springer-Verlag:New York, 1984.

³ R.B.Martin. *Acc.Chem.Res.* **1985**, 18, 32.

⁴ H.Sigel. *Chem.Soc.Rev.* **1993**, 22, 255.

⁵ (a) *Interactions of Metal Ions With Nucleotides, Nucleic Acids and their Constituents*. Sigel A., Sigel H. Eds. Metal Ions in Biological Systems 32; Marcel Dekker:New York, 1996. (b) *Probing of Nucleic Acids by Metal Ion Complexes of Small Molecules*; Sigel A., Sigel H. Eds. Metal Ions in Biological Systems 33; Marcel Dekker:New York, 1996.

⁶ S.I.Nakano, M.Fujimoto, H. Hara, N.Sugimoto. *Nucleic Acids Res.* **1999**, 27, 2957.

⁷ V.N.Potaman, V.N.Soyfer. *J.Biomol.Struct.Dyn.* **1994**, 11, 1035.

⁸ W.Guschlbauer, J.F.Chantot, D.Thiele. *J.Biomol.Struct.Dyn.* **1990**, 8, 491.

charges négatives et permettant de stabiliser la double hélice. Mais ces interactions avec les bases, comme avec les groupements phosphates, neutralisent également les charges négatives sur le phosphate par l'intermédiaire d'effet zwitterionique.

Les interactions entre les cations métalliques et les acides nucléiques dépendent de la force de la liaison entre le cation métallique et les éventuels atomes donneurs des bases. Les sites d'interaction déjà déterminés sont les atomes N7, N9 et O6 dans le cas de la guanine et de l'adénine, l'atome O4 pour l'uracile et la thymine et les atomes N3 et O2, si ce dernier n'est pas impliqué dans une liaison hydrogène, pour la cytosine. L'interaction entre des cations métalliques divalents et la guanine en N7 a été confirmée par plusieurs études spectroscopiques⁹⁻¹¹. Une étude théorique récente¹² a montré que les interactions avec un cation métallique sont essentielles à la formation de tétramères de guanine.

Les cations métalliques ont également un effet inhibiteur sur les processus d'initiation des ARN polymérase et conduisent à une altération des brins d'ARN synthétisés^{13,14}. Des études précises sur les interactions entre les cations métalliques et les bases ont donc été nécessaires pour comprendre le rôle des cations dans les processus biophysiques de l'ADN. En effet, si un processus biologique se fait en solution, une bonne connaissance de la géométrie et de

⁹ (a)X.Jia, G.Zon, L.G.Marzili. *Inorg.Chem.* **1991**, *30*, 228. (b)N.A.Froystein, J.T.Davis, B.R.Reid, E.Sletten. *Acta Chem.Scand.* **1993**, *47*, 649. (c)D.Yang, S.S.G.E.Van Boom, J.Reedijk, J.H.Van Boom, A.H.-J.Wang. *Biochemistry.* **1995**, *34*, 12912. (d)L.G.Marzilli, S.O.Ano, F.P.Intini, G.Natile. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 9133.

¹⁰ J.Duguid, V.A.Bloomfield, J.Benevides, G.J.Thomas. *Biophys.J.* **1993**, *65*, 1916.

¹¹ (a)N.G.A.Abrescia, L.Malinina, L.G.Fernandez, T.Huynh-Dinh, S.Neidle, J.A.Subirana. *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 1593. (b)M.Egli, L.D.Williams, C.A.Fredericks, A.Rich. *Biochemistry.* **1991**, *30*, 1364. (c)J.Coste, J.M.Maligne, L.Serre, W.Shepard, M.Roth, M.Leng, C.Zelwer. *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 1837. (d)P.M.Takahara, C.A.Fredericks, S.J.Lippard. *J.Am.Chem.Soc.* **1996**, *118*, 12309. (e)L.McFail-Isom, X.Shui, L.D.Williams, *Biochemistry.* **1998**, *47*, 17105. (f)A.Harper, J.A.Brannigan, M.Buck, L.Hewitt, R.J.Lewis, M.H.Moore, B.Schneider. *Acta Crystallogr.D.* **1998**, *54*, 1273. (g)C.C.Correl, B.Freeborn, P.B.Moore, T.Steitz. *Cell.* **1997**, *91*, 705. (h)A.H.-J.Wang, T.Hakoshima, G.Van Der Marel, J.H.Van Boom, A.Rich. *Cell.* **1984**, *37*, 321.

¹² J.Gu, J.Leszczynski. *J.Phys.Chem A.* **2000**, *104*, 6308.

¹³ (a)S.J.Lippard, J.M.Berg. *Principle of Bioinorganic Chemistry*. University Science Books. Mill Valley, CA, 1994.(b)W.Kaim, B.Schwedersky. *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*. John Wiley & Sons. Chichester, U.K. 1994.

¹⁴ L.A.Loeb, A.R.Zakour. In *Nucleic Acid-Metal Ion Interactions*. T.G.Spiro. Ed John Wiley & Sons: New York, 1980, pp115-144.

l'énergie libre des ions complexés en phase gazeuse, libre de solvant, est nécessaire avant de modéliser les réactions attendues en solution par les techniques de calculs.

Les différentes études dans lesquelles les bases de l'ADN sont en interaction avec un cation métallique dans un environnement simulant la phase aqueuse ont pour la plupart été faites selon des méthodes empiriques^{15,16}. Dans l'une de ces études, les résultats obtenus à partir de la dynamique moléculaire ont été comparés à ceux trouvés par calculs *ab initio*, les problèmes rencontrés pour déterminer de manière fiable les champs de force empiriques de l'énergie correspondant aux interactions entre la guanine et le cation ont été contournés en utilisant une approche par la mécanique quantique. Cornell *et al.*¹⁷, Halgren¹⁸ et Hobza *et al.*¹⁹ avaient déjà mis en évidence dans des publications précédentes que les méthodes *ab initio* à un haut niveau de calcul améliorent et vérifient les champs de force empiriques.

De nombreuses études expérimentales²⁰⁻³¹ et théoriques^{20,32,33} ont été également développées sur les interactions des cations métalliques avec les bases nucléiques en phase gazeuse. La dernière étude, à notre connaissance, de Rodgers *et al.* sur les approches théoriques et expérimentales des affinités cationiques des bases a permis de comparer les affinités

¹⁵ N.Špačková, I.Berger, J.Šponer. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 5519.

¹⁶ N.Špačková, I.Berger, J.Šponer. *J.Am.Chem.Soc.* **2001**, *123*, 3295.

¹⁷ W.D.Cornell, P.Cieplak, C.I.Bayly, I.R.Gould, K.M.Merz, D.M-J.Ferguson, D.C.Spellmeyer, T.Fox, J.W.Caldwell, P.A.Kollman. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, *117*, 5179.

¹⁸ T.A.Halgren. *Curr.Opin.Struct.Biol.* **1995**, *5*, 205.

¹⁹ P.Hobza, M.Kabeláč, J.Šponer, P.Mejzlík, J.Vondrášek. *J.Comput.Chem.* **1997**, *18*, 1136.

²⁰ M.T.Rodgers, P.B.Armentrout. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, *122*, 8548.

²¹ P.B.Armentrout, M.T.Rodgers. *J.Phys.Chem. A.* **2000**, *104*, 2238.

²² D.A.McCrery, M.L.Gross. *Anal.Chem.* **1985**, *178*, 91.

²³ K.B.Tomer, M.L.Gross. *Anal.Chem.* **1986**, *58*, 2527.

²⁴ A.M.Hogg, J.G.Kelland, C.J.Verdeas. *Helv.Chim.Acta.* **1986**, *69*, 908.

²⁵ M.P.Chiarelli, M.L.Gross. *J.Phys.Chem.* **1989**, *93*, 3595.

²⁶ R.D.Voyksner. *Org.Mass Spectrom.* **1987**, *22*, 513.

²⁷ K.P.Madhusudanan, S.B.Katti, S.A.Hashmi. *Org.Mass Spectrom.* **1993**, *28*, 970.

²⁸ G.J.C.Paul, T.Theophanides, J.Anastassopoulou, I.Marcotte, M.Bertrand. *Proceedings of the 43th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*. Atlanta, GA, May 21-26, 1995. p608.

²⁹ M.T.Rodgers, P.B.Armentrout, *Proceedings of the 44th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*. Portland, OR, May 12-16, 1996. p88.

³⁰ B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **1996**, *118*, 11884.

³¹ B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, *117*, 9734.

³² J.V.Burda, J.Šponer, P.Hobza. *J.Phys.Chem.* **1996**, *100*, 7250.

³³ N.Russo, M.Toscano, A.Grand. *J.Am.Chem.Soc.* **2001**, *123*, 10272.

cationiques de l'uracile, de la thymine et de l'adénine vis à vis des cations Li^+ , Na^+ et K^+ . Les valeurs expérimentales ont été comparées à celles obtenues par calculs *ab initio* au niveau MP2 par Cerda et Wesdemiotis pour ainsi permettre de mettre en évidence les limites de la méthode cinétique lors de la détermination des affinités cationiques.

Les cations métalliques peuvent donc aussi bien interagir avec les bases nucléiques, les nucléosides, les nucléotides, l'ADN ou l'ARN qu'avec les protéines et leurs composants, les acides aminés. En effet, le sodium est l'un des cations les plus impliqués dans les systèmes d'intérêt biologique comme l'osmose, la stabilisation de certaines conformations de protéines ou encore le transfert d'information *via* les pompes ou les canaux ioniques^{13,34,35}. Pour une meilleure compréhension de ces interactions, l'étude sur de petits systèmes tels que les acides aminés est indispensable. Plusieurs études sur les affinités cationiques expérimentales des acides aminés ont déjà été menées sur plusieurs acides aminés comme la glycine³⁶, la valine, la sérine³⁷ ou le tryptophane. Ces affinités cationiques ont été déterminées par la méthode cinétique³⁸⁻⁴⁰. Ces études ont été menées avec différents types de source d'ionisation et d'analyseur en spectrométrie de masse, un FAB/B-E/MS dans le cas de l'étude de Bojesen *et al.* et un ESI/ITMS pour l'étude menée par Kish *et al.* Parallèlement à ces études expérimentales, des études théoriques, par calculs *ab initio* ou par la théorie de la fonctionnelle de la densité ont été également menées afin de déterminer les affinités cationiques de plusieurs acides aminés : la glycine⁴¹⁻⁴⁸, l'alanine^{47,49,50}, la proline^{50,51}, la sérine,

³⁴ D.J.Aidley, P.R.Stanfield. *Ion Channels : Molecules in Action*, Cambridge University Press, Cambridge, **1996**.

³⁵ J.A.Cowan. *Inorganic Biochemistry : An Introduction*, 2nd ed. Wiley-VCH, New York, **1997**.

³⁶ G.Bojesen, T.Breindahl, U.N.Andersen. *Org.Mass Spectrom.* **1993**, 28, 1448.

³⁷ M.M.Kish, G.Ohanessian, C.Wesdemiotis. *Int.J.Mass Spectrom.* **2003**, 227, 509.

³⁸ R.G.Cooks, T.L.Kruger. *J.Am.Chem.Soc.* **1977**, 99, 1279.

³⁹ R.G.Cooks, J.S.Patrick, T.Kotiahho, S.A.McLuckey. *Mass Spectrom.Rev.* **1994**, 13, 287.

⁴⁰ R.G.Cooks, P.S.H.Wong. *Acc.Chem.Res.* **1998**, 31, 379.

⁴¹ F.Jensen. *J.Am.Chem.Soc.* **1992**, 114, 9533.

⁴² S.Bouchonnet, Y.Hoppilliard. *Org.Mass Spectrom.* **1992**, 27, 71.

⁴³ D.Yu, A.Rauk, D.A.Armstrong. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, 117, 1789.

la cystéine, la phénylalanine^{52,53}, la tyrosine^{52,53}, le tryptophane^{52,53} et l'arginine^{46,50,54}. Les affinités cationiques déterminées par les calculs permettent également de déterminer la structure cationisée la plus stable en phase gazeuse.

Les résultats expérimentaux et calculés sont relativement hétérogènes, c'est pourquoi une étude systématique des affinités cationiques de l'ensemble des acides aminés a été menée, tant au niveau expérimentale par spectrométrie de masse par ESI/ITMS, qu'au niveau théorique, par calculs *ab initio*.

Les affinités cationiques des bases pour le sodium sont aussi très différentes en fonction des études faites et seules les cinq bases non modifiées, l'adénine, la cytosine, la guanine, la thymine et l'uracile, ont été étudiées^{30,33,55}. Par contre, les affinités cationiques de bases modifiées n'ont jamais été étudiées tant au niveau expérimental que théorique. Comme pour les bases modifiées, les nucléosides cationisés avec le sodium n'ont jamais été étudiés ni expérimentalement ni théoriquement.

L'étude menée au cours de cette thèse permet d'aborder les affinités cationiques de l'ensemble des acides aminés et des bases nucléiques modifiées et non modifiées ainsi que de certains nucléosides de manière expérimentale par spectrométrie de masse (ESI/ITMS) et par calculs *ab initio*.

⁴⁴ S.Hoyau, G.Ohanessian. *Chem.Eur.J.* **1998**, *4*, 1561.

⁴⁵ T.Wytenbach, J.E.Bushnell, M.T.Bowers. *J.Am.Chem.Soc.* **1998**, *120*, 5098.

⁴⁶ T.Wytenbach, M.Witt, M.T.Bowers. *Int.J.Mass Spectrom.* **1999**, *182/183*, 243.

⁴⁷ T.Wytenbach, M.Witt, M.T.Bowers. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, *122*, 3458.

⁴⁸ T.Marino, N.Russo, M.Toscano. *J.Inorg.Biochem.* **2000**, *79*, 179.

⁴⁹ T.Marino, N.Russo, M.Toscano. *Inorg.Chem.* **2000**, *40*, 6439.

⁵⁰ J.M.Talley, B.A.Cerda, G.Ohanessian, C.Wesdemiotis. *Chem.Eur.J.* **2002**, *8*, 1377.

⁵¹ S.Hoyau, K.Norrman, T.B.McMahon, G.Ohanessian. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 8864.

⁵² R.C.Dunbar. *J.Phys.Chem. A.* **2000**, *104*, 8067.

⁵³ V.Ryzhov, R.C.Dunbar, B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, *11*, 1037.

⁵⁴ R.A.Jockusch, W.D.Price, E.R.Williams. *J.Phys.Chem. A.* **1999**, *103*, 9266.

⁵⁵ P.B.Armentrout, C.Wesdemiotis. *J.Phys.Chem.A.* **2000**, *104*, 2238.

METHODOLOGIE

CHAPITRE I

ELECTROSPRAY

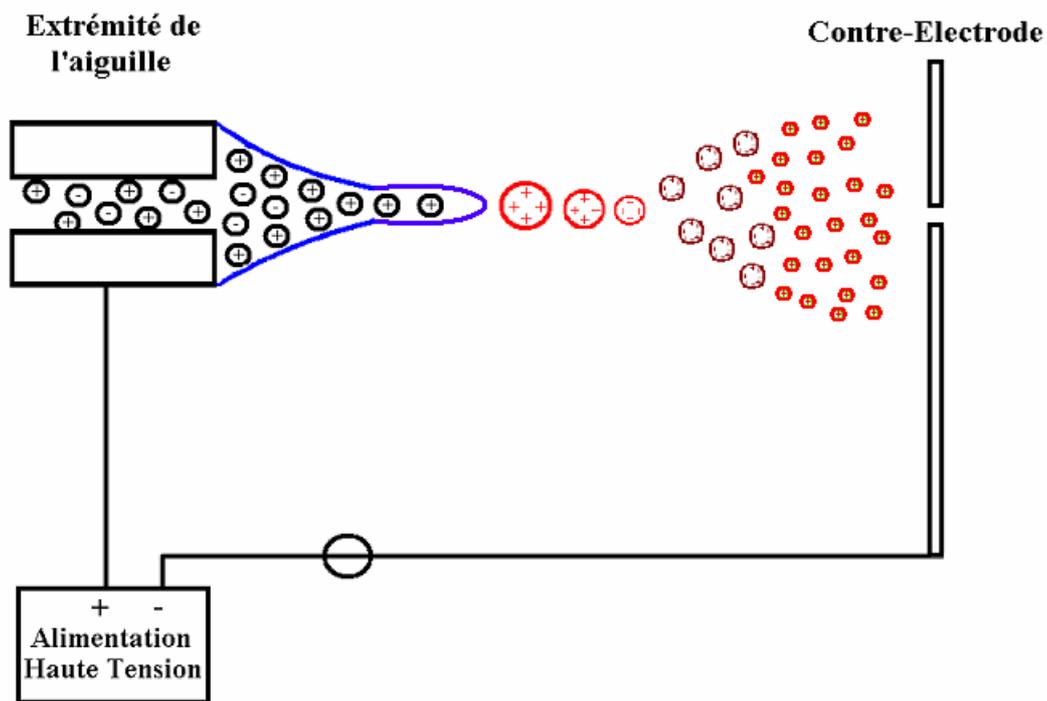


Figure 1 : Processus de formation du spray par la méthode d'ionisation ESI.

1. Le **cône dit de « Taylor »** se forme sous l'effet conjugué des forces électrostatiques et de la tension superficielle du liquide.
2. Des **gouttelettes chargées** sont émises du **cône de Taylor**. Sous l'effet d'une forte évaporation, elles subissent une explosion coulombienne donnant naissance à de plus petites **gouttelettes hautement chargées**.
3. Les fissions successives de ces **gouttelettes hautement chargées** forment des **microgouttelettes hautement chargées** d'où sont émis des ions multichargés en phase gazeuse.

1. Historique

Dole⁵⁶ présente en 1968 le principe de l'électrospray par l'intermédiaire d'une série de travaux sur l'électronébulisation de polymères de masses élevées. En 1984, Fenn et son équipe⁵⁷, Prix Nobel de Chimie en 2002, et celle d'Aleksandrov⁵⁸, introduisent l'électrospray pour la première fois comme une source d'ionisation pour la spectrométrie de masse. C'est seulement en 1988 qu'apparaissent dans la littérature les premiers résultats probants obtenus sur l'électrospray par Fenn à partir de molécules multichargées, les polyéthylènes glycols⁵⁹. Depuis, la méthode d'ionisation/désorption, qui a l'avantage de partir de solution, s'est beaucoup développée et est devenue un outil courant en spectrométrie de masse dans les laboratoires industriels, de biologie, médicaux ou pharmaceutiques mais aussi en recherche universitaire.

2. Mécanisme de désolvatation/ionisation

Le principe de l'ESI se décompose en trois étapes permettant d'obtenir à la fin des ions monochargés ou multichargés en phase gazeuse (**Figure 1**) :

- (i) électronébulisation du liquide sous application d'un champ électrique créant des gouttelettes chargées,
- (ii) explosion coulombienne des gouttelettes chargées activée par une forte désolvatation du liquide,
- (iii) désintégrations (fissions) par cascades consécutives des gouttelettes chargées conduisant à des microgouttelettes hautement chargées émettant des ions solvatés en phase gazeuse qui seront libérés du solvant résiduel dans la zone de désolvatation.

⁵⁶ M.Dole, L.L.Mack, R.L.Hines, R.C.Mobley, L.D.Ferguson, M.B.Alice. *J.Chem.Phys.* **1968**, 49, 2240.

⁵⁷ J.B.Fenn, M.Yamashita. *J.Phys.Chem.* **1984**, 88, 4451.

⁵⁸ M.L.Aleksandrov, L.N.Gall, V.N.Krasnov, V.I.Nikolaev, V.A.Pavlenko, V.A.Shkurov. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **1984**, 277, 379.

2.1. Electronébulisation du liquide sous application d'un champ électrique

La solution est injectée à faible débit (1-10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$) par l'intermédiaire d'un capillaire d'introduction très fin (en général 300 μm de diamètre externe et 0,75 μm de diamètre interne). Ce capillaire est séparé d'une faible distance (3 cm) d'une contre-électrode dont l'orifice permet le passage des ions vers l'analyseur. Un potentiel de 2 à 6 kV est alors appliqué soit sur le capillaire soit sur la contre-électrode créant ainsi un champ électrique d'intensité élevée au niveau du capillaire. La valeur de ce champ électrique peut être évaluée, en l'absence de solution, par l'**Équation 1**

$$E_c = \frac{2V_c}{r_c \ln \frac{4d}{r_c}} \quad \text{Équation 1}$$

où

V_c représente la tension appliquée sur le capillaire

d , la distance séparant la contre-électrode du capillaire

r_c , le rayon intérieur du capillaire

Cette relation nous indique que le champ E_c est proportionnel à V_c et inversement proportionnel à r_c . Sous l'effet du champ électrique (positif pour l'étude des ions positifs et négatif pour celui des ions négatifs), les ions de même polarité migrent à la surface du liquide. La polarité de ces ions est fixée par celle du potentiel appliqué (positif ou négatif, respectivement) sur le capillaire d'introduction ou sur la contre-électrode. Par exemple, en ce qui nous concerne, les charges en mode positif sont redistribuées dans le liquide en créant à sa surface un excédent d'ions positifs⁶⁰ et les charges négatives sont éliminées. La surface du liquide est ainsi déformée par l'accumulation des charges positives à sa surface. Ce

⁵⁹ S.F.Wong, C.K.Meng, J.B.Fenn. *J.Phys.Chem.* **1998**, 92, 546.

phénomène est la conséquence de l'opposition de deux forces contraires : l'une d'origine électrique attirant les ions positifs à la surface du liquide, la seconde d'origine mécanique empêchant les ions de s'échapper du liquide. La forme de la surface du liquide devient ainsi conique, c'est le cône de Taylor⁶¹. Lorsque le champ électrique est suffisamment élevé, le cône devient alors instable et un excès de charges positives s'accumule à la pointe du cône par répulsion électrostatique. Cette zone, instable, émet des gouttelettes appelées gouttelettes parentes qui ont un excès de charges positives. Le brouillard est alors formé, la valeur du champ électrique requise (E_0) pour initialiser la formation du brouillard est donnée par l'*Equation 2* :

$$E_0 = \left(\frac{2\gamma \cos \theta_0}{\varepsilon_0 r_c} \right)^{1/2} \quad \text{Équation 2}$$

où

γ est la tension superficielle du solvant,

θ_0 , le demi-angle du cône de liquide à la pointe du capillaire d'introduction ($\theta_0 = 49,3^\circ$)

ε_0 , la permittivité du vide

r_c , le rayon interne du capillaire d'introduction.

2.2. Eclatement des gouttelettes chargées

Après l'application d'un fort courant d'azote chauffé, le diamètre des gouttelettes chargées diminue par évaporation du solvant. Cette évaporation rapide conduit les gouttelettes aux limites de Rayleigh⁶² correspondant au moment où les répulsions électrostatiques entre les charges positives présentes à la surface de la gouttelette deviennent égales à la tension

⁶⁰ R.J.Pfeiffer, C.D.Hendricks. *A.I.A.A.J.* **1968**, 6, 496.

⁶¹ G.I.Taylor. *Proc.R.Soc.London A.* **1964**, A280, 383.

⁶² Lord Rayleigh. *Philas.Mag.* **1882**, 14, 184.

superficielle du solvant avec son soluté⁶³. Pour une gouttelette de rayon R et de charge q , cette limite de stabilité est définie par l'*Equation 3* :

$$q_{Ry} = \sqrt{8\pi(\epsilon_0\gamma R^3)} \quad \text{Equation 3}$$

avec ϵ_0 la permittivité du vide et γ la tension de surface du solvant.

Une fois cette limite atteinte, les gouttelettes deviennent instables et « explosent » en gouttelettes de tailles de plus en plus petites : c'est l'explosion coulombienne. Cette division se répète jusqu'à ce que des ions (en général solvatés) en phase gazeuse soient émis. Le mécanisme de formation d'ions en phase gazeuse à partir de ces microgouttelettes chargées a donné lieu à plusieurs théories dont celle de Dole, celle d'Iribarne et Thomson et celle de Siu.

2.3. Emission des ions en phase gazeuse

a. Modèle de Dole

Pour Dole, le processus de désolvatation et d'éclatement se poursuit jusqu'à obtenir de très petites gouttelettes ne contenant qu'un seul ion, qui se trouve libéré en phase gazeuse par simple évaporation du solvant. Ce mécanisme fut repris en détail par Röllgen *et al.* en 1989 qui nomma ce mécanisme Single Ion in Droplet Theory (SIDT)⁶⁴.

b. Modèle d'Iribarne et Thomson

Pour Iribarne et Thomson^{65,66}, les ions peuvent directement être émis en phase gazeuse par « évaporation ionique » dès que le rayon de la gouttelette est suffisamment petit (< 8 nm).

⁶³ D.P.H.Smith. *I.E.E.E.Trans.Ind.Appl.* **1986**, IA-22, 527

⁶⁴ G.Schmelzeisen-Redeker, L.Buttering, F.W.Röllgen. *Int.J.Mass Spectrom.Ion Process.* **1989**, 90, 139

⁶⁵ J.V.Iribarne, B.A.Thomson. *J.Chem.Phys.* **1976**, 64, 2287.

⁶⁶ B.A.Thomson, J.V.Iribarne. *J.Chem.Phys.* **1979**, 71, 4451.

c. Modèle de Siu

Pour Dole et Iribarne et Thomson, les ions émis en phase gazeuse sont émis à partir des microgouttelettes obtenues après désolvatation des gouttelettes chargées provenant directement du cône de Taylor. Pour Siu *et al.*⁶⁷, les ions seraient formés dès l'émission des gouttelettes par le cône de Taylor donc au début de l'évaporation.

Ces diverses théories nous montrent que le mécanisme de l'électrospray n'est pas encore entièrement compris, notamment le passage des ions de la solution à la phase gazeuse. De La Mora⁶⁸ pense que le modèle de Dole est principalement rencontré lors de la désorption de protéines dans leur forme native (MW de 3,3 ku à 1,4 Mu). Kebarle^{69,70} a récemment discuté des avantages et des limites de l'ensemble de ces modèles et il semblerait qu'un mélange de différents mécanismes serait sans doute impliqué.

⁶⁷ K.W.M.Siu, R.Guevremont, J.C.Y.LeBlanc, R.T.O'Brien, S.S.Bernam. *Org. Mass Spectrom.* **1993**, 28, 579.

⁶⁸ J.F.De La Mora. *Anal.Chim.Acta.* **2000**, 406, 93.

⁶⁹ P.Kebarle. *J.Mass Spectrom.* **2000**, 35, 804.

⁷⁰ P.Kebarle, M.Peschle. *Anal.Chim.Acta.* **2000**, 406, 11.

CHAPITRE II

PIEGE IONIQUE

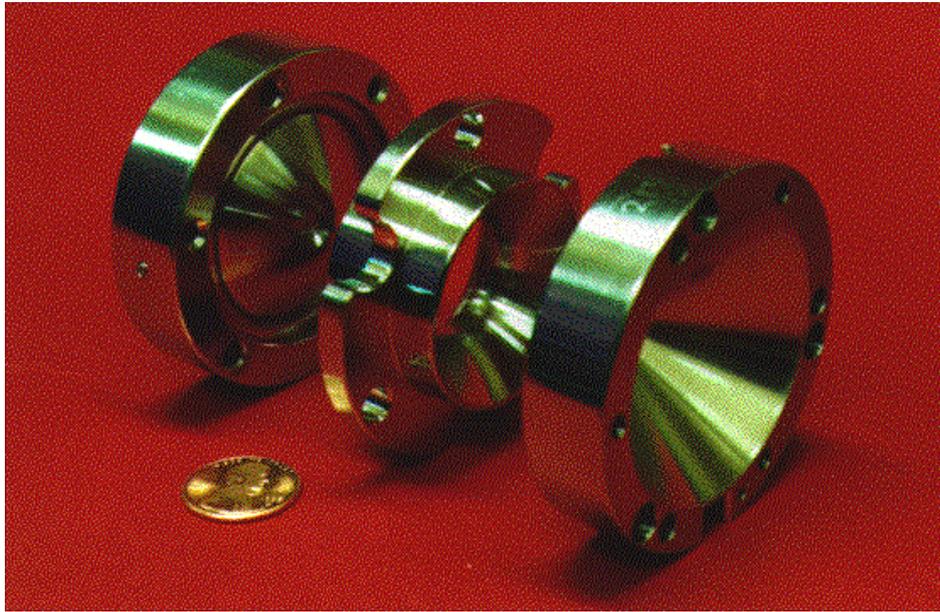


Figure 2 : Photographie d'un piège ionique ouvert.
(source : <http://www.chem.purdue.edu/faculty/cooks/trap/text/trapinfo.html>)

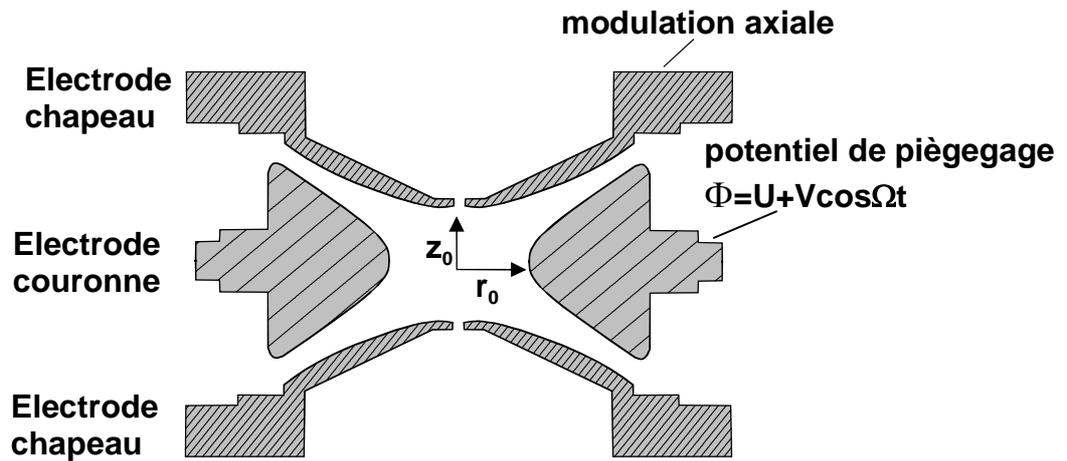


Figure 3 : Représentation schématique d'un piège ionique.

1. Description du piège ionique.

L'analyseur de masse trie les molécules ionisées en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z donné en Thomson, Th). Parmi les différents analyseurs, on trouve les instruments à secteur magnétique et électrique, les analyseurs à temps de vol (TOF), le FT/ICR et les analyseurs quadripolaires. Dans cette dernière catégorie, on trouve les pièges à ions (ou *ion trap*, **Figure 2**) dans lesquels des champs quadripolaires sont créés à partir de l'application de tensions continues et alternatives de haute fréquence (**Figure 3**).

Créé par Paul et Steinwedel⁷¹, le piège à ions est constitué de trois électrodes : une électrode couronne encadrée de deux électrodes chapeaux. Les trois électrodes ont une géométrie en hyperbole qui est définie pour créer un champ quadripolaire qui produira le puits de pseudo potentiel défini par Dehmelt pour le piégeage des ions.

Les dimensions de la trappe sont fixées par r_0 , rayon interne de l'électrode couronne, et $2z_0$, distance qui sépare les deux électrodes chapeaux. La géométrie en hyperbole des trois électrodes détermine des asymptotes d'angle de $53^\circ 34'$ avec l'axe z dans le cas idéal. Pour la production d'un champ quadripolaire idéal, on donne dans l'**Equation 4** :

$$r_0 = z_0 \sqrt{2} \quad \text{Equation 4}$$

Dans la pratique, le piège à ion est de géométrie étirée et, pour un rayon r_0 de 1 cm, on a un z_0 de 0,707 à 0,783 cm. Cette géométrie permet ainsi de réduire la contribution des champs non linéaires d'ordres plus élevés. A noter que ces valeurs varient d'un constructeur à l'autre et sont tenues secrètes pour des raisons de brevet.

⁷¹ Paul, Steinwedel. U.S.Patent 2 939 952

2. Principe de fonctionnement des pièges ioniques.

Le piège à ions est constitué de trois électrodes : une électrode couronne et deux électrodes chapeaux. Sur ces électrodes est appliquée une tension alternative de fréquence fixe de l'ordre du MHz, d'amplitude variable V_{0-p} (notée RF) comprise entre 0 et 7520 V ainsi que, dans certains cas, une tension continue U (comprise entre -650 et +650 V). Le potentiel ainsi obtenu est de la forme présentée en *Equation 5* :

$$\Phi(r,z) = \Phi_0 = U + V \cos \Omega t. \quad \text{Equation 5}$$

Pour l'isolement, l'éjection sélective et l'excitation résonnante des ions, la RF de piégeage ne sera appliquée que sur la couronne et les électrodes chapeaux pour ainsi permettre l'application sur ces électrodes d'une tension alternative (20-500 kHz) et d'amplitude V_{0-p} (0 à 12 V). Cette tension, appliquée selon un déphasage de 180° , conduit à la création d'un champ dipolaire permettant l'élongation de la trajectoire des ions.

Afin d'éviter la dispersion des ions stockés par répulsion électrostatique (charge d'espace) dans le piège, un gaz tampon est introduit, l'hélium. Ce gaz permet de relaxer l'énergie cinétique des ions par collisions multiples sans pour autant activer leur dissociation par processus collisionnels dans ces conditions. Les dissociations induites par collisions pourront avoir lieu lors de l'augmentation de l'amplitude du mouvement des ions.

2.1. Principe de piégeage des ions

a. Expression du potentiel électrique de piégeage.

Le champ électrique quadripolaire $\Phi(r,z)$ est créé par l'application d'un potentiel Φ_0 sur l'électrode couronne, les électrodes chapeaux étant fixées au potentiel zéro. Le potentiel Φ_0 résulte de la combinaison d'une tension continue (DC, notée U) et d'une tension alternative (RF, notée V), présenté *Equation 6* :

$$\Phi_0 U + V \cos \Omega t \quad \text{Equation 6}$$

L'expression du champ électrique quadripolaire $F(r,z)$ est donné par l'*Equation 7* :

$$\Phi(r,z) = ar^2 + bz^2 + c \quad \text{Equation 7}$$

où a , b et c sont des constantes dont les expressions sont obtenues en écrivant les équations du potentiel aux conditions limites :

$$a = \frac{\Phi_0}{2z_0^2 + r_0^2}$$

$$b = -\frac{2\Phi_0}{2z_0^2 + r_0^2}$$

$$c = \frac{2z_0^2 \Phi_0}{2z_0^2 + r_0^2}$$

Le champ électrique quadripolaire $\Phi(r,z)$ s'écrit alors selon l'*Equation 8* :

$$\Phi(r,z) = \frac{\Phi_0}{2z_0^2 + r_0^2} (r^2 - 2z^2) + \frac{2z_0^2 \Phi_0}{2z_0^2 + r_0^2}$$

$$\text{soit } \Phi(r,z) = \frac{\Phi_0}{2z_0^2 + r_0^2} [r^2 - 2z^2 + 2z_0^2] \quad \text{Equation 8}$$

b. Equations de mouvements des ions

Le champ électrique est dépendant des directions radiale et axiale, les forces s'exerçant dans chacune des directions sur un ion de masse m et de charge e s'écrivent :

$$F_r = m\gamma_r = m\left(\frac{\partial^2 r}{\partial t^2} - r\frac{\partial^2 \theta}{\partial t^2}\right) = -ze\frac{\partial \Phi}{\partial z}$$

$$F_z = m\gamma_z = m\frac{\partial^2 z}{\partial t^2} = -ze\frac{\partial \Phi}{\partial z}$$

où γ_r et γ_z représentent les accélérations de l'ion dans les directions radiale et axiale. Si l'on néglige le terme centrifuge $-r\frac{\partial^2 \theta}{\partial t^2}$, le calcul des dérivées premières du potentiel $F(r,z)$ conduit à deux équations différentielles du second ordre caractéristiques du mouvement des ions dans un champ quadripolaire :

$$\frac{\partial^2 r}{\partial t^2} + \frac{ze\Phi_0}{m(r_0^2 + 2z_0^2)} r = 0$$

$$\frac{\partial^2 z}{\partial t^2} - \frac{2ze\Phi_0}{m(r_0^2 + 2z_0^2)} z = 0$$

puis, si l'on replace Φ_0 par son expression :

$$\frac{\partial^2 r}{\partial t^2} + \frac{ze}{m(r_0^2 + 2z_0^2)} (U + V \cos \Omega t) r = 0$$

$$\frac{\partial^2 z}{\partial t^2} - \frac{2ze}{m(r_0^2 + 2z_0^2)} (U + V \cos \Omega t) z = 0$$

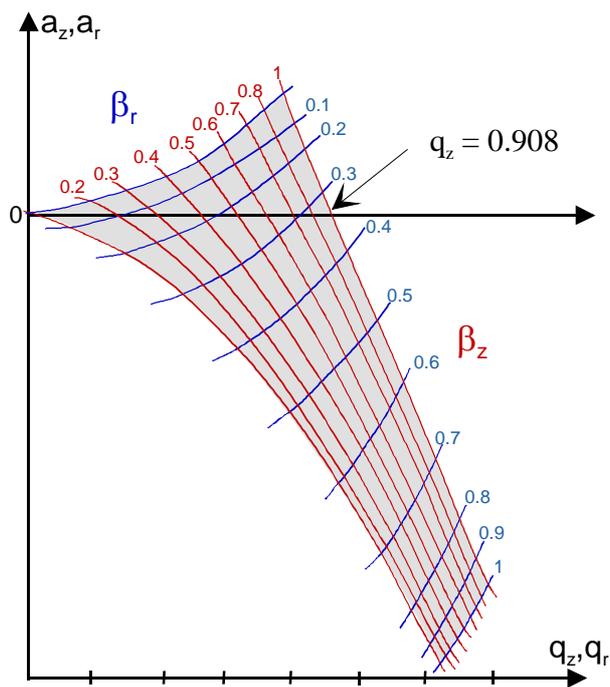


Figure 4 : Représentation schématique du diagramme de stabilité définie par les lignes iso β_r égale à 0 et 1 et iso β_z égale à 0 et 1.

Méthodologie.

Le changement de variable $\Omega=2\xi$, où ξ est un paramètre sans dimension appelé angle de phase RF, conduit aux équations différentielles de Mathieu de forme générale, présentée

Equation 9 :

$$\frac{\partial^2 u}{\partial \xi^2} + (a_u - 2q_u \cos 2\xi)u = 0 \quad \text{Equation 9}$$

où u représente l'une des deux coordonnées (z ou r) et a_u et q_u , appelés paramètres de stabilité, sont définis par les relations suivantes :

$$a_z = -2a_r = -\frac{8zeU}{m(r_0^2 + 2z_0^2)\Omega^2}$$

$$q_z = -2q_r = \frac{4zeU}{m(r_0^2 + 2z_0^2)\Omega^2}$$

c. Diagramme de stabilité

Les solutions de l'équation de Mathieu⁷² peuvent être représentées schématiquement dans un plan dans les directions axiales et radiales, les conditions adéquates de piégeage dans la cellule correspondent aux zones de recouvrement vers les deux directions. Dans la pratique, seule une région de stabilité décrite **Figure 4** est utilisée. Cette zone de stabilité⁷³ correspond à des amplitudes de tensions DC et RF accessibles d'un point de vue technologique. Cette zone est délimitée par des lignes *iso- β_z* et *iso- β_r* égales à 0 et 1. La pointe supérieure est caractérisée par le couple ($a_z=0,150$; $q_z=0,781$) et l'intersections de l'axe q_z avec la frontière $\beta_z=1$ est à $q_z=0,908$. Le paramètre q_z étant inversement proportionnel au rapport m/z , plus l'ion est de haut rapport m/z , plus il sera situé sur la gauche du diagramme.

⁷² E.Mathieu. *J.Math.Pure Appl. (J.Liouville)* **1868**, 13, 137.

⁷³ R.E.March. *J.Mass Spectrom.* **1997**, 32, 351.

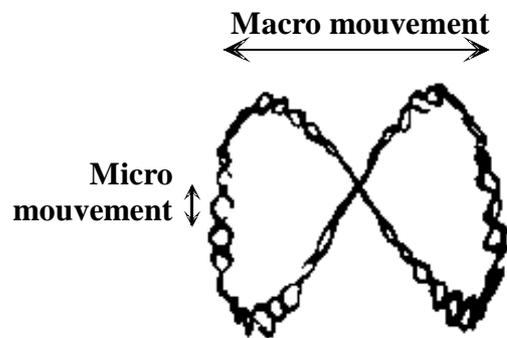


Figure 5 : Trajectoire de Lissajous obtenue avec une microparticule d'aluminium chargée introduite dans un piège quadripolaire.

d. Caractéristiques du mouvement des ions

Les ions sont animés d'un mouvement oscillatoire périodique de fréquence $f_{u,n}$ et de pulsation

$\omega_{u,n}$:

$$f_{u,n} = \frac{\omega_{u,n}}{2}$$
$$\omega_{u,n} = (2n + \beta_u) \frac{\Omega}{2}$$

avec $-\infty \leq n \leq +\infty$

Quand $n=0$, l'amplitude de mouvement des ions est la plus grande et la fréquence, définie par l'*Equation 10*, est appelée fréquence séculaire fondamentale.

$$\omega_{u,0} = \beta_u \frac{\Omega}{2} \quad \text{Equation 10}$$

Le mouvement des ions, illustré par les courbes de Lissajous, se compose d'un macromouvement de forte amplitude à la fréquence séculaire fondamentale à laquelle se superposent des micromouvements de très faible amplitude (*Figure 5*).

e. Modèle du puits de pseudo-potentiel de Dehmelt.

Pour rationaliser le problème de l'efficacité de piégeage des ions dans le piège, Major et Dehmelt⁷⁴ ont proposé un modèle simplifié fondé sur le mouvement des ions. Ce modèle est valable pour une valeur de $q_z < 0,4$ et avec $a_z = 0$ et où seul le macromouvement d'oscillation $\omega_{u,0}$ est pris en compte, les micromouvements étant considérés comme négligeables.

⁷⁴ F.G.Major, H.G.Dehmelt. *Phys.Rev.* **1968**, 179, 91.

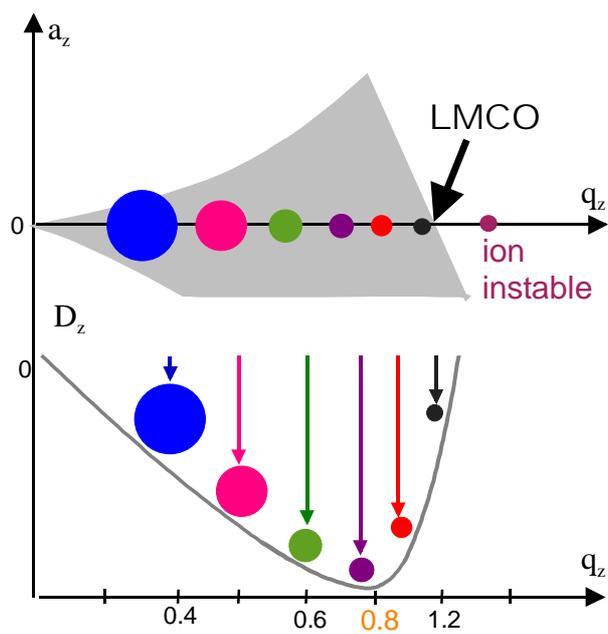


Figure 6 : Représentation⁷⁴ schématique du diagramme de stabilité décrivant l'évolution de la profondeur du puits de potentiel D_z en fonction de q_z . Le puits de potentiel le plus profond est obtenu pour une valeur de $q_z \approx 0,8$.

Méthodologie.

La trajectoire oscillante de l'ion peut être décrite en fonction d'un puits de potentiel harmonique où D_z est la profondeur du puits de pseudo-potential défini par la position de l'ion sur l'axe q_z du diagramme de stabilité et de l'amplitude de la radio-fréquence RF, V , selon l'*Equation 11* :

$$\bar{D}_z \cong -\frac{q_z V}{8} \cong \frac{1}{2} \bar{D}_r \quad \text{Equation 11}$$

La relation entre q_z et D_z pour les valeurs de $q_z < 0,4$ a pu être déterminée par simulation⁷⁵ et expérimentalement. La *Figure 6* montre qualitativement l'évolution de la profondeur du puits de potentiel en fonction du paramètre de piégeage q_z . Ce modèle simple complète la résolution mathématique de l'équation de Mathieu. Il apparaît ainsi que les ions ne sont pas piégés de la même façon en fonction de leur position sur l'axe q_z . Plus le puits de pseudo-potential est profond, meilleures sont les conditions de piégeage.

⁷⁵ R.E.Pedder, J.V.Johnson, R.A.Yost. *Proceeding of the 41th ASMS, San Francisco CA. 1993*, p.711

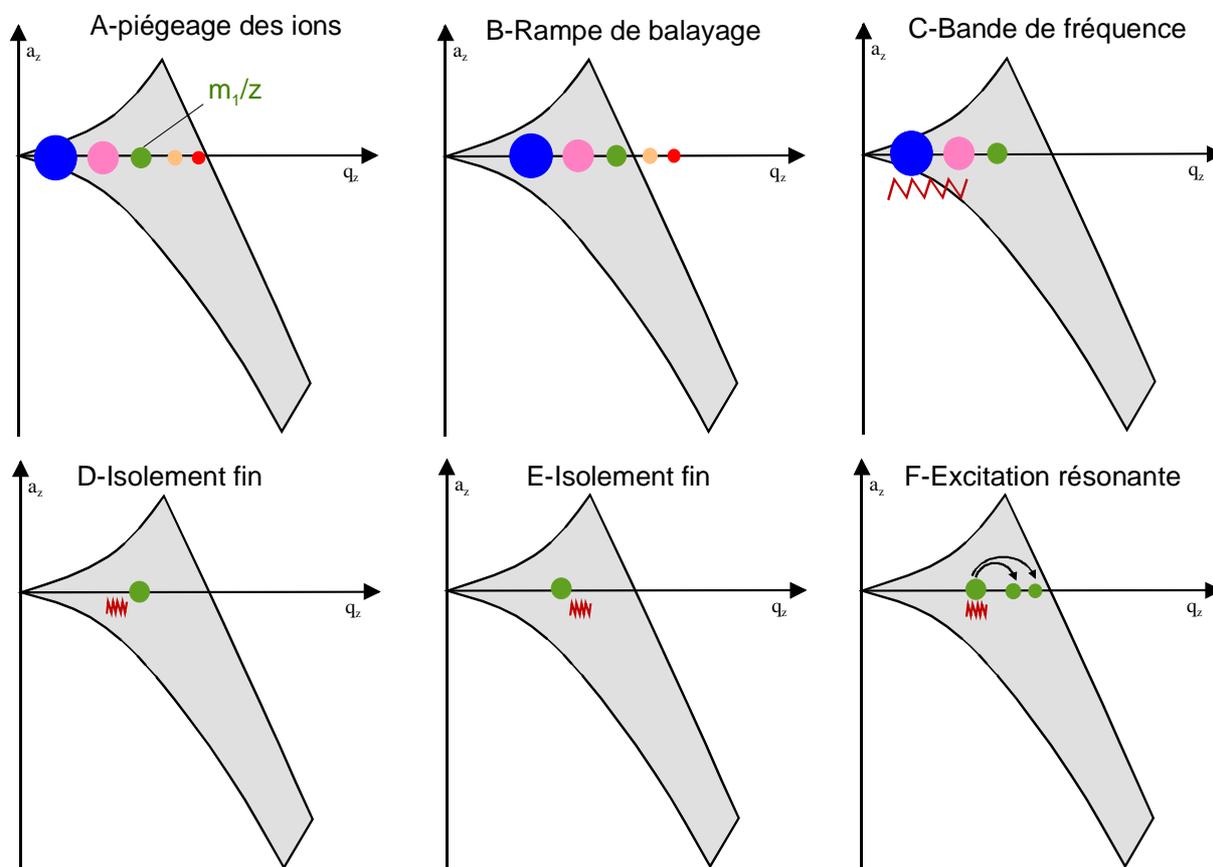


Figure 7 : Principe des expériences MS/MS sur le piège quadripolaire Bruker ESQUIRE.

A. Piégeage des ions. Les ions de différents rapports m/z sont piégés.

B. Rampe de balayage. Augmentation de l'amplitude de la radiofréquence V_{RF} pour éjecter les ions de bas rapport m/z ($< m_1/z$).

C. Bande de fréquence. Application d'une large bande de fréquence pour éjecter les ions de haut rapport m/z ($> m_1/z$).

D. et E. Isolement fin. Isolement fin par application de fréquences légèrement supérieures ou inférieures à celle de l'ion parent.

F. Excitation résonnante. Excitation résonnante de l'ion sélectionné par application d'une tension dipolaire de fréquence égale à la fréquence séculaire de l'ion sélectionné.

2.2. Fragmentations induites par collision

Les ions ainsi isolés sont soumis à des dissociations induites par collision avec l'hélium. Ces fragmentations se font par application, sur les électrodes chapeaux, d'une tension alternative de faible amplitude (0,1 à 2 $V_{p,p}$) et de fréquence égale à la fréquence séculaire fondamentale ω_z de l'ion à exciter pendant une période déterminée. En conséquence, l'ion isolé acquiert de l'énergie cinétique par résonance et il en résulte un transfert d'une fraction de cette énergie en énergie interne par collisions multiples avec l'hélium. Dans une seconde étape, les ions se dissocient pour former des ions fragments (*Figure 7*).

CHAPITRE III

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les acides aminés, les bases nucléiques et les nucléosides proviennent des différents laboratoires commerciaux (Sigma, Aldrich, et Acros Organics). Le chlorure de sodium et l'acétonitrile proviennent de chez Prolabo.

1-Préparation des échantillons

1 mg de produit (acide aminé, base nucléique, nucléoside) est pesé dans un tube eppendorf et ensuite dissout dans 1 mL d'eau distillée. Les échantillons étudiés par spectrométrie de masse sont à une concentration de 10^{-4} mol.L⁻¹ en acide aminé, base nucléique ou nucléoside. Puis, chaque échantillon est complété à 1 mL avec un mélange 50/50, v/v de CH₃CN/H₂O-NaCl 10^{-4} mol.L⁻¹.

2-Conditions expérimentales ESI/ITMS

L'ensemble de cette étude a été réalisé sur un spectromètre de masse à piège ionique (ITMS pour *Ion Trap Mass Spectrometer*) équipé d'une source externe electrospray (ESI pour *Electro Spray Ionisation*). Les principaux paramètres présentés dans le **Tableau 1** ont été utilisés pour les ions positifs.

Les spectres de masse sont ensuite enregistrés pendant 5 minutes et les spectres CID pendant 10 minutes. Les spectres de masse sont moyennés de la première à la quatrième minute d'acquisition. Les spectres CID sont moyennés toutes les deux minutes à partir de la deuxième minute d'acquisition et jusqu'à la huitième.

Source	<i>Capillaire</i> <i>Contre-électrode</i> <i>Grille</i> <i>Débit</i>	-3500 V -2800 V -2800 V 2,5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$
Gaz	<i>Débit</i> <i>Température</i> <i>Nébulisation</i>	400 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ 180°C 3 Pa
Transfert	<i>Sortie du capillaire</i> <i>Skimmer</i> <i>Hexapôle :</i> <i>-offset</i> <i>-RF</i> <i>Lentille de sortie</i>	40 V 15 V 2 V 700 $\text{V}_{0,p}$ -100 V
Piège ionique	<i>Mode Standard</i> <i>LMCO</i> <i>Temps d'accélération maximum</i>	gamme de masse de 50 à 1000 Th 50 à 160 Th. 500 ms

Tableau 1 : Principaux paramètres utilisés lors de l'étude par spectrométrie de masse (ESI/ITMS).

3-Solvants utilisés

La qualité des spectres de masse (présence des ions, quantité de dimères produits) dépend beaucoup du solvant utilisé et de sa proportion dans l'eau. Plusieurs types de mélanges ont été étudiés. Tous les mélanges ont été réalisés avec de l'eau distillée à 10^{-4} mol.L⁻¹ en NaCl. Nous avons fait des mélanges 25/75, 50/50 puis 75/25 v/v en acétonitrile et méthanol dans de l'eau distillée à 10^{-4} mol.L⁻¹ en NaCl (**Tableau 2**). Il s'est avéré que les spectres de masse obtenus avec le mélange acétonitrile dans de l'eau distillée à 10^{-4} mol.L⁻¹ de NaCl nous permettaient d'avoir une quantité d'ions formés plus importante et notamment une quantité de dimères cationisés formés plus élevée.

Solvants		ICC MS	ICC CID
<i>Acétonitrile / H₂O-NaCl</i>	25/75	62 000	7 500
	50/50	355 000	35 000
	75/25	265 000	25 000
<i>Méthanol / H₂O-NaCl</i>	25/75	55 000	6 000
	50/50	95 000	4 500
	75/25	222 000	14 000

Tableau 2 : Courant ionique total obtenu en fonction des solvants utilisés.

CHAPITRE IV

METHODE DE COOKS

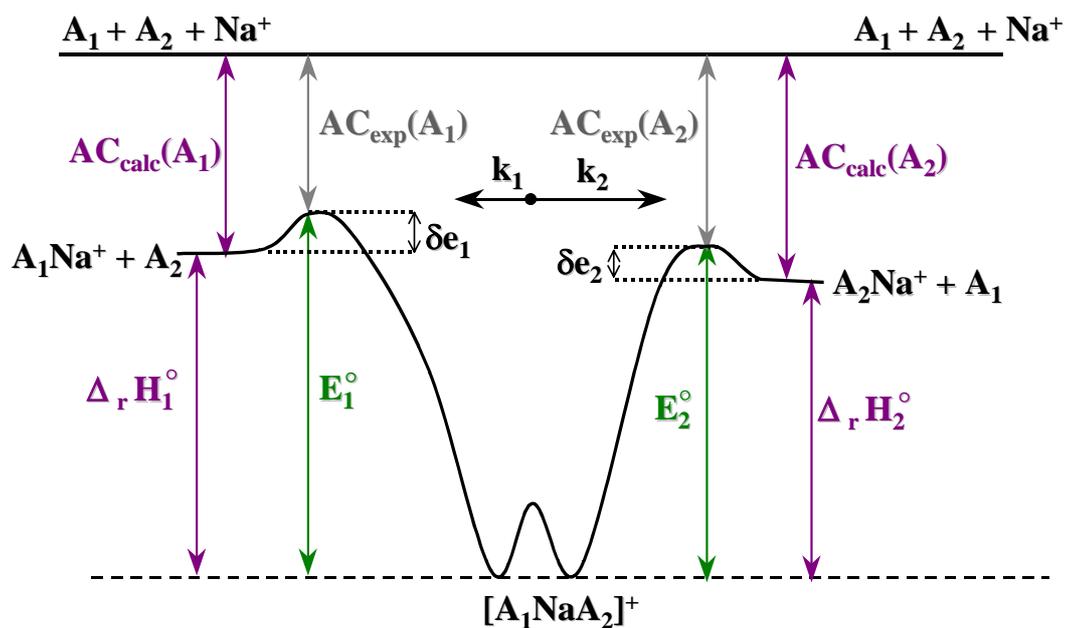


Schéma 1 : Diagramme énergétique de dissociation du dimère $[A_1NaA_2]^+$.

AC_{calc} est l'affinité cationique calculée,

AC_{exp} , l'affinité cationique expérimentale,

$\Delta_r H_1^\circ$, la variation d'enthalpie de la réaction $[A_1NaA_2]^+ \rightarrow A_1Na^+ + A_2$,

$\Delta_r H_2^\circ$, la variation d'enthalpie de la réaction $[A_1NaA_2]^+ \rightarrow A_2Na^+ + A_1$,

E_1 , l'énergie d'activation pour la réaction $[A_1NaA_2]^+ \rightarrow A_1Na^+ + A_2$

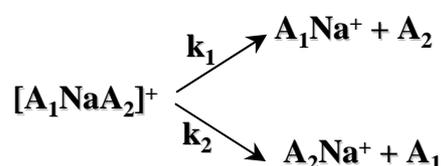
E_2 , l'énergie d'activation pour la réaction $[A_1NaA_2]^+ \rightarrow A_2Na^+ + A_1$,

δe_1 et δe_2 sont les énergies retour pour les deux réactions de dissociation.

1. La méthode cinétique de Cooks.

La méthode cinétique de Cooks³⁸ est une méthode permettant de déterminer certaines grandeurs telles que les affinités protoniques, électroniques ou cationiques ainsi que les basicités et les acidités en phase gazeuse à partir d'expériences faites sur des spectromètres de masse.

Cette méthode nous a permis de déterminer les affinités cationiques pour le sodium d'acides aminés, de bases nucléiques et de nucléosides. L'affinité cationique est déterminée à partir de l'étude de la dissociation d'un dimère $[A_1NaA_2]^+$ selon deux constantes de vitesse k_1 et k_2 :



Le diagramme énergétique (*Schéma 1*) montre les grandeurs accessibles expérimentalement et théoriquement lors de cette dissociation.

La méthode cinétique de Cooks a été établie à partir de la théorie RRKM^{76,77} qui relie la constante de vitesse de dissociation k et l'énergie d'activation ϵ_0 .

D'une manière générale, la constante de vitesse est exprimée par :

$$k = \frac{k_B T}{h} \frac{\prod_i Q_i^\ddagger}{\prod_i Q_i} \exp\left(-\frac{\epsilon_0}{k_B T_i}\right) \quad \text{Equation 12}$$

Dans cette équation, k_B est la constante de Boltzman, h la constante de Planck, T_i est la température dite « effective », en Kelvin, des dimères cationisés qui se dissocient, Q_i et Q_i^\ddagger les fonctions de partition correspondant respectivement à l'état initial du dimère $[A_1NaA_2]^+$ et à celui du complexe activé.

⁷⁶ R.A.Marcus, O.K.Rice. *J.Phys. and Colloid Chem.* **1951**, 55, 894.

⁷⁷ R.A.Marcus. *J.Chem.Phys.* **1952**, 87, 2657.

Pour l'étude de la décomposition du dimère $[A_1NaA_2]^+$, le rapport des deux constantes de vitesse pour les deux voies de dissociation de $[A_1NaA_2]^+$ est déterminé par :

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{\prod_i Q_{2i}^\ddagger \exp\left(-\frac{E_2^\circ}{RT_{2i}}\right)}{\prod_i Q_{1i}^\ddagger \exp\left(-\frac{E_1^\circ}{RT_{1i}}\right)} \quad \text{Equation 13}$$

Ce rapport peut se simplifier après plusieurs approximations :

On considère que l'état initial est identique pour chacune des deux voies de dissociation, et que les deux formes du dimère $[A_1NaA_2]^+$ sont très proches l'une de l'autre. Les températures effectives sont considérées comme identiques ainsi que les fonctions de partition vibrationnelles de la liaison $A_i\text{-Na}^+$ (ν_i) sont considérées comme identiques, c'est à dire

$$\prod_i Q_{1i} \cong \prod_i Q_{2i} \quad \text{avec } Q_i = [1 - \exp(-h\nu_i/kT_i)]^{-1}.$$

De plus, selon la méthode initialement définie par Cooks³⁸, les composés étudiés (A_1 et A_2 dans l'exemple considéré) sont homologues, ils doivent posséder les mêmes fonctions chimiques. Les complexes activés pour chacun des monomères sont alors considérés comme similaires.

Ces approximations permettent d'obtenir le logarithme du rapport des constantes de vitesse :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \ln \frac{Q_2^\ddagger}{Q_1^\ddagger} + \frac{E_1^\circ - E_2^\circ}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 14}$$

D'après Cooks³⁸, les composés monofonctionnels étudiés sont de nature chimique très proche, les fonctions de partition sont alors considérées comme identiques pour les deux états de transition associés aux deux voies de dissociation du dimère $[A_1NaA_2]^+$, donc $Q_1^\ddagger = Q_2^\ddagger$.

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{E_1^\circ - E_2^\circ}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 15}$$

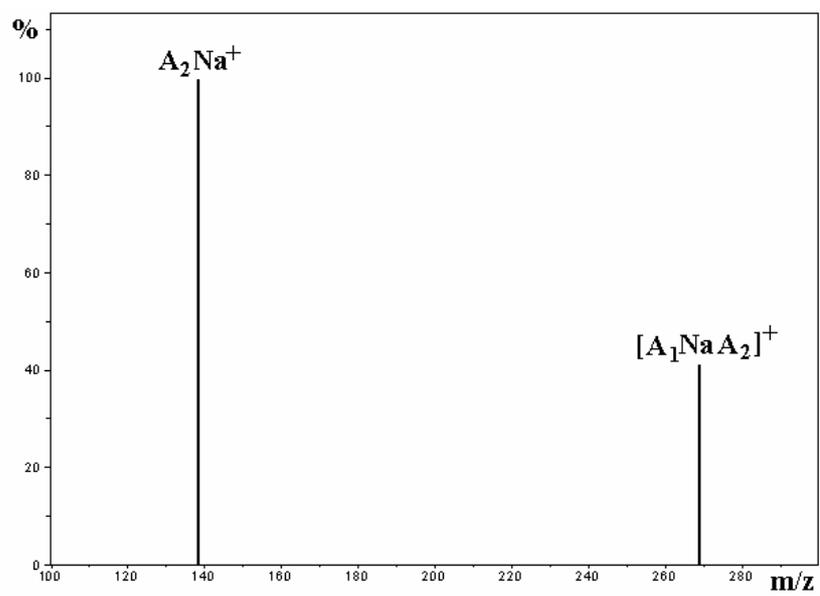


Figure 8 : Spectre de masse obtenue après sélection et fragmentation du dimère $[A_1NaA_2]^+$, si $AC_2 \gg AC_1$.

La décomposition du dimère $[A_1NaA_2]^+$ est considérée comme une rupture simple, les états de transition sont très proches de l'état final, l'énergie retour est considérée comme négligeable.

On a donc $|E_2^\circ - E_1^\circ| \approx |\Delta_r H_1^\circ - \Delta_r H_2^\circ|$. Cette hypothèse revient à considérer que la variation d'entropie standard est la même pour les deux voies de décomposition du dimère $[A_1NaA_2]^+$.

On obtient alors la relation suivante :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{\Delta_r H_1^\circ - \Delta_r H_2^\circ}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 16}$$

Puisque la variation d'enthalpie standard de la réaction de cationisation correspond à l'affinité cationique si la barrière d'énergie entre l'état de transition et l'état final est faible ($\delta e = \varepsilon$), on peut écrire :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{AC_2 - AC_1}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 17}$$

Dans cette expression, AC_1 et AC_2 sont les affinités cationiques des composés A_1 et A_2 étudiés. Pour déterminer l'affinité cationique d'un composé (ici, A_1), on étudie la décomposition du dimère constitué du composé inconnu A_1 et d'un composé de référence (ici A_2).

Après la fragmentation du dimère $[A_1NaA_2]^+$, deux possibilités sont observables :

(i) les affinités cationiques des deux composés étudiés sont très éloignés (différence supérieure à 15 à 25 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ environ), on obtient alors un ion fils après la fragmentation du dimère $[A_1NaA_2]^+$, l'ion correspondant au monomère A_2Na^+ . L'affinité cationique de A_1 ne peut donc pas être déterminée (**Figure 8**).

(ii) les affinités cationiques des deux composés étudiés sont proches (différence inférieure à 15 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), on obtient alors deux ions fils après la fragmentation du dimère $[A_1NaA_2]^+$:

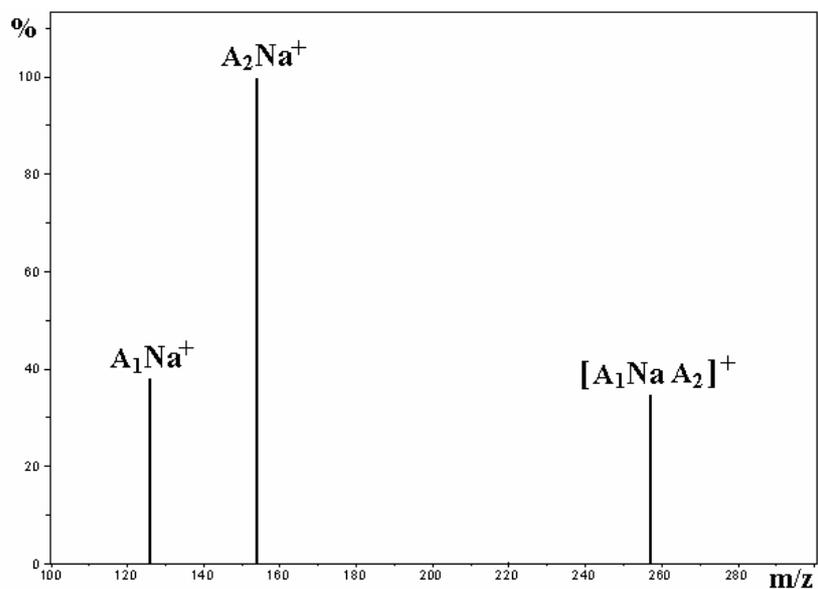


Figure 9 : Spectre de masse obtenue après sélection et fragmentation du dimère $[A_1NaA_2]^+$, si $AC_2 > AC_1$.

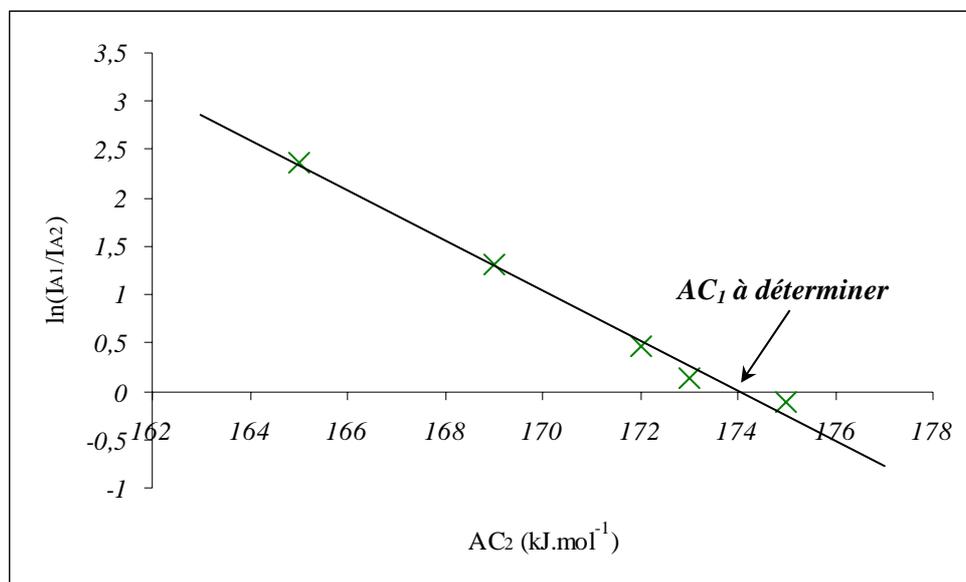


Figure 10 : Droite de détermination de l'affinité cationique du composé A_1 .

Méthodologie.

un ion correspondant au monomère cationisé A_1 et un ion correspondant au monomère cationisé A_2 . Les abondances des ions correspondant aux monomères sont proportionnelles à l'affinité cationique, comme $AC_2 > AC_1$, l'intensité du pic correspondant au monomère cationisé A_2 est supérieure à celui du monomère cationisée A_1 (**Figure 9**).

Les rapports d'intensités des pics des monomères cationisés issus du dimère cationisé sélectionné $[A_1NaA_2]^+$ sont assimilables aux rapports des constantes de vitesse de dissociation du dimère k_1 et k_2 en chacun de ces monomères cationisés^{38,39} A_1Na^+ et A_2Na^+ car les intensités sont proportionnelles aux constantes de vitesse. Le logarithme du rapport des abondances des monomères issus de la fragmentation du dimère est donc proportionnel aux affinités cationiques.

L'**Equation 17** devient la suivante :

$$\ln \frac{I_2}{I_1} = \frac{AC_2 - AC_1}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 18}$$

Le composé A_2 est considéré dans notre cas comme la référence. Le composé A_1 est étudié avec différents composés A_2 de référence et la courbe $\ln (I_1/I_2)$ en fonction de AC_2 nous permet de déterminer l'affinité cationique AC_1 du composé A_1 (**Figure 10**)

Pour pouvoir déterminer l'affinité cationique inconnue d'un composé, il faut l'étudier avec des composés dont les affinités cationiques ont déjà été déterminées, ce sont les références. Ces références doivent avoir des fonctions chimiques proches de celle du composé étudié. L'une des limitations de cette méthode est le manque de références pour les composés cationisés. L'utilisation de composés dont les fonctions chimiques ne sont pas les mêmes que celles du composé étudié peut être une source d'erreur sur la détermination de l'affinité cationique puisque les complexes activés pour chacun des monomères ne pourront plus être considérés comme identiques.

Méthodologie.

En résumé, les approximations réalisées lors de l'utilisation de la méthode de Cooks sont les suivantes :

- les énergies retour sont négligeables, on peut ainsi assimiler la variation d'enthalpie standard à l'affinité cationique.
- l'état initial, considéré identique en terme de $\Delta_r H^\circ$, est le même pour chacune des deux voies de fragmentation du dimère cationisé.
- le rapport des abondances relatives des ions fils est assimilable au rapport des constantes de vitesse de dissociation du dimère.
- les températures T_{1i} et T_{2i} sont proches.
- les références doivent être de nature chimique proche des composés étudiés.
- la différence d'affinité cationique entre le composé d'affinité cationique inconnue et celui d'affinité cationique déterminée doit être faible.
- La barrière intrinsèque lors du passage vers les deux formes du dimère cationisé doit être faible.

D'après Kish *et al.*³⁷, l'erreur sur la méthode est de 8 kJ.mol⁻¹ et la précision expérimentale est de 0,1 à 0,5 kJ.mol⁻¹ d'après Afonso⁷⁸.

⁷⁸ C.Afonso. Thèse Paris VI. 2001.

Les limitations de la méthode cinétique prévues par Cooks⁷⁹ et rappelées par Armentrout⁷⁹ peuvent entraîner des erreurs lors de la détermination de mesure dues aux approximations effectuées si les deux voies de décomposition du dimère ne sont pas identiques, les composés peuvent être de même nature (acides aminés), mais avoir des fonctions chimiques différentes (e.g. l'arginine et le tryptophane). A partir de la méthode étendue ou isoentropique de Fenselau⁸⁰, la différence de variation d'entropie entre les deux voies de décomposition peut être évaluée.

2. La méthode étendue ou isoentropique de Fenselau

La méthode isoentropique permet d'étudier des composés de nature chimique différente : une série de composés de même nature chimique est utilisée comme références pour déterminer l'affinité cationique (ou protonique) d'un composé de nature chimique différente. Greco *et al.*⁸¹ ont déterminé selon cette méthode la basicité d'un nucléoside en la comparant à une série d'amines. Dans ce cas, la variation d'entropie standard du système ne peut plus être négligée ; cependant, comme les composés de références sont de même nature chimique, les fonctions de partitions vibrationnelles ne sont plus les mêmes ($Q_1^* \neq Q_2^*$) mais leur rapport est considéré comme constant pour l'ensemble des dimères étudiés :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \ln \frac{Q_2^*}{Q_1^*} + \frac{AC_2}{RT_{eff}} - \frac{AC_1}{RT_{eff}} = \frac{\Delta(\Delta_r G^\circ)}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 19}$$

⁷⁹ P.B.Armentrout. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 34, 74.

⁸⁰ X.H.Cheng, Z.C.Wu, C.Fenselau. *J.Am.Chem.Soc.* **1993**, 115, 4844.

⁸¹ F.Greco, A.Liguori, G.Sindona, N.Ucella. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, 112, 9092.

Méthodologie.

Or, par analogie avec la relation thermodynamique $\Delta_r G^\circ = \Delta_r H^\circ - T\Delta_r S^\circ$ de la réaction de dissociation fictive du monomère $A_1Na^+ \rightarrow A_1 + Na^+$, $\ln \frac{Q_{1r}^\ddagger}{Q_{2r}^\ddagger} = \frac{\Delta(\Delta_r S_T^\circ)}{R}$ et on obtient ainsi :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{AC_2}{RT_{eff}} - \frac{AC_1 - T\Delta(\Delta_r S_T^\circ)}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 20}$$

avec $\Delta(\Delta_r S^\circ)$ correspondant à la différence de variation d'entropie entre les deux voies possibles de fragmentation⁸².

Nold⁸³ *et al.* ont introduit la notion d'enthalpie apparente d'attachement d'ion, ou basicité en phase gazeuse apparente par abus de langage, GB_{app} , avec :

$$GB_{app}(A_1) = AC_1 - T_{eff} \Delta(\Delta_r S^\circ) \quad \text{Equation 21}$$

En combinant l'**Equation 20** et l'**Equation 21**, l'équation suivante est obtenue :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{AC_2}{RT_{eff}} - \frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 22}$$

Dans les mêmes conditions de fragmentation pour chaque dimère, le terme $\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}}$ est

constant. Par conséquent, l'évolution de la courbe $\ln \frac{k_2}{k_1} = f(AC_2)$ nous permet d'obtenir

une droite de pente $-\frac{1}{RT_{eff}}$ et d'ordonnée à l'origine $-\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}}$. La méthode

isoentropique a un domaine d'application plus large que la méthode de Cooks³⁸ et permet également de déterminer $\Delta(\Delta_r S^\circ)$.

⁸² R.G.Cooks, J.T.Koshinen, P.D.Thomas. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 34, 85.

⁸³ M.J.Nold, B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Soc.Mass Spectrom.* **1999**, 1, 10.

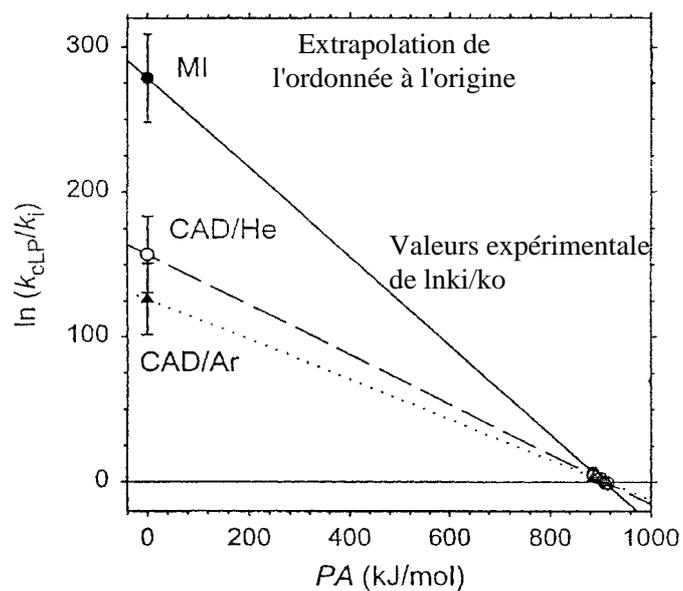


Figure 11 : Evolution $\ln(k_c/k_i)$ en fonction de l'affinité protonique réalisée dans des conditions de décomposition spontanée (métastable MI) et d'activation (CAD/He, CAD/Ar). Les droites ont été extrapolées de façon à visualiser l'ordonnée à l'origine.

3. Mesures du terme entropique.

Avec le développement des méthodes étendues, le terme entropique a été étudié de manière plus précise pour caractériser les effets structuraux et électroniques et de corrélérer ces paramètres avec les structures des systèmes non covalents. Cela permet également de confirmer ou non les approximations faites pour la méthode cinétique.

3.1. La méthode de Fenselau.

Selon l'*Equation 21* précédemment établie,

$$\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}} = \frac{AC_1}{RT_{eff}} - \frac{\Delta(\Delta_r S^\circ)}{R} \quad \text{Equation 23}$$

Le terme $\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}}$ est déterminé par la courbe précédente $\ln \frac{k_2}{k_1} = f(AC_1)$ à différentes

conditions d'excitation. La courbe $\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}} = f\left(\frac{1}{RT_{eff}}\right)$ conduit à une droite de pente AC_1

et d'ordonnée à l'origine $-\frac{\Delta(\Delta_r S^\circ)}{R}$. Cette méthode permet de séparer les termes entropiques

des termes énergétiques. Les études effectuées avec la méthode étendue de Fenselau montrent

de surprenantes corrélations. Armentrout⁸⁴ a montré que la courbe $\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}} = f\left(\frac{1}{RT_{eff}}\right)$

donne des coefficients de corrélation dans tous les cas toujours très proche de 1 malgré les

approximations effectuées. Comme l'avaient supposé Cooks *et al.*^{40,82}, T_{eff} et GB_{app} sont

fortement corrélés⁸⁵ (*Figure 11*). D'importantes erreurs sont faites lors de l'extrapolation de

l'ordonnée à l'origine par rapport au domaine d'énergie d'excitation considéré puisque de

faibles variations de pente auront une influence sur la valeur de l'ordonnée à l'origine.

⁸⁴ P.B.Armentrout. *J.Am.Soc.Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 371.

⁸⁵ R.R.Krug, W.G.Hunter, R.A.Grieger. *J.Phys.Chem.* **1976**, *80*, 2341.

3.2. La méthode d'Armentrout.

Armentrout a proposé une méthode analogue à celle de Fenselau mais en utilisant des procédures statistiques plus rigoureuses qui permettent de mesurer des valeurs d'affinités protoniques ou cationiques ainsi que la variation d'entropie entre les deux voies de décomposition. Cette méthode permet de supprimer la corrélation existant entre l'ordonnée à l'origine $\frac{GB_{app}(A_1)}{RT_{eff}}$ et la pente $-\frac{1}{RT_{eff}}$. Armentrout a introduit un changement de variable en posant $x = AC_2 - (AC_2)_{moy}$ avec $(AC_2)_{moy}$ la moyenne des valeurs des AC des composés de référence. La droite $\ln \frac{k_2}{k_1} = f[AC_2 - (AC_2)_{moy}]$, déterminée à partir de l'**Equation 24**, est tracé.

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{AC_2 - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}} - \frac{GB_{app}(A_1) - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 24}$$

Le terme $\frac{GB_{app}(A_1) - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}}$ est constant pour des conditions d'activation identiques et si

l'on trace la courbe $\ln \frac{k_2}{k_1} = f\left[\frac{AC_2 - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}}\right]$, on obtient une droite d'ordonnée à

l'origine $-\frac{GB_{app}(A_1) - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}}$ et de pente $-\frac{1}{RT_{eff}}$. Or, selon l'**Equation 21**, on obtient :

$$A' = -\frac{GB_{app}(A_1) - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}} = -\frac{AC_1 - (AC_2)_{moy}}{RT_{eff}} + \frac{\Delta(\Delta_r S^\circ)}{R} \quad \text{Equation 25}$$

Si l'on trace $-A' = f\left(\frac{1}{RT_{eff}}\right)$, on obtient une droite d'ordonnée à l'origine $-\frac{\Delta(\Delta_r S^\circ)}{R}$ et de

pente $AC_1 - (AC_2)_{moy}$. La méthode d'Armentrout, comme celle de Fenselau, consiste à

tracer plusieurs courbes $\ln \frac{k_2}{k_1} = f(AC_2)$ correspondant aux expériences réalisées dans

Méthodologie.

différentes conditions d'activation. La valeur de la température effective est déterminée à chaque valeur d'excitation ainsi que celle de $GB_{app}(A_2)$ obtenue pour $\ln \frac{k_2}{k_1} = 0$ selon l'*Equation 22*. Selon l'*Equation 21*, la courbe $GB_{app}=f(T_{eff})$ est une droite de pente $-\Delta(\Delta_r S^\circ)$ et d'ordonnée à l'origine AC_2 et de plus, l'extrapolation sur l'axe des abscisses induit moins d'erreurs lors des déterminations expérimentales.

CHAPITRE V

CALCULS AB INITIO

La mécanique quantique permet de décrire des molécules à partir du calcul de la fonction d'onde totale du système $\Psi(\mathbf{R},\mathbf{r})$ qui dépend des coordonnées des noyaux (notés \mathbf{R}) ainsi que de celles des électrons (notés \mathbf{r}). La fonction d'onde totale $\Psi(\mathbf{R},\mathbf{r})$ est définie par l'équation de Schrödinger⁸⁶ :

$$H\Psi = E\Psi$$

où H est l'opérateur hamiltonien

Ψ est la fonction d'onde totale du système

et E l'énergie totale associée.

L'hamiltonien général du système a pour expression, en unité atomique :

$$H = -\sum_i \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_N \frac{\nabla_N^2}{2M_n} + \sum_N \sum_{N'} \frac{Z_N Z_{N'}}{r_{NN'}} + \sum_N \sum_{N'} \frac{Z_N}{r_{iN}} + \sum_i \sum_{j \neq i} \frac{1}{r_{ij}}$$

où $\sum_i \frac{\nabla_i^2}{2}$ correspond à l'énergie cinétique des électrons,

$\sum_N \frac{\nabla_N^2}{2M_n}$, à l'énergie cinétique des noyaux,

$\sum_N \sum_{N'} \frac{Z_N Z_{N'}}{r_{NN'}}$, à l'énergie potentielle de répulsion noyaux-noyaux

$\sum_N \sum_{N'} \frac{Z_N}{r_{iN}}$, à l'énergie potentielle de répulsion électrons-noyaux

$\sum_i \sum_{j \neq i} \frac{1}{r_{ij}}$, à l'énergie potentielle de répulsion électrons-électrons

La résolution exacte de l'équation de Schrödinger ne peut se faire que dans le cas de systèmes monoélectroniques comme H_2^+ . Dès qu'interviennent les termes biélectroniques présents dans l'énergie de répulsion électron-électron, des approximations doivent être faites. Des méthodes de calculs ont été développées dans le but d'obtenir une expression de la fonction d'onde du système se rapprochant le plus possible de la solution exacte.

⁸⁶ W.J.Hehre,L.Radom, P.V.R.Schleyer, J.A.Pople. *Ab initio molecular orbital theory*, John Wiley and Sons, New York, 1986.

1. Expression de la fonction d'onde d'un système polyélectronique.

Afin d'exprimer la fonction d'onde totale d'une molécule, différentes approximations ont été faites, l'approximation de Born-Oppenheimer, l'approximation orbitalaire et celle sur l'expression des orbitales moléculaires (LCAO).

1.1. Approximation de Born-Oppenheimer

La masse des noyaux est plus importante que celle des électrons, l'énergie cinétique des noyaux est alors négligeable devant celle des électrons. L'approximation de Born-Oppenheimer⁸⁷ considère que le mouvement des électrons se fait dans le champ des noyaux qui eux sont immobiles. Dans ce cas, la fonction d'onde $\Psi(\mathbf{R},\mathbf{r})$ s'écrit sous la forme d'un produit de deux fonctions, l'une $\Psi_{\text{noyaux}}(\mathbf{R})$ où \mathbf{R} est l'ensemble des coordonnées de tous les noyaux et une seconde $\Psi_{\text{elec}}(\mathbf{r})$ où \mathbf{r} est celles de tous les électrons :

$$\Psi(\mathbf{R},\mathbf{r}) \approx \Psi_{\text{noyaux}}(\mathbf{R})\Psi_{\text{elec}}(\mathbf{r})$$

Avec cette approximation, le calcul de la fonction d'onde relative à toutes les particules, noyaux et électrons, consiste à calculer la fonction d'onde polyélectronique $\Psi_{\text{elec}}(\mathbf{r})$, la fonction $\Psi_{\text{noyaux}}(\mathbf{R})$ étant considérée constante.

1.2. Approximation orbitalaire. Déterminant de Slater.

Si l'on considère que les mouvements des électrons sont indépendants les uns des autres, l'approximation orbitalaire consiste à définir la fonction d'onde polyélectronique $\Psi_{\text{elec}}(\mathbf{r})$ sous la forme d'un produit de fonctions monoélectroniques, ou spin-orbitales, qui dépendent uniquement des coordonnées d'un seul électron :

$$\Psi_{\text{elec}}(\mathbf{r}) = \Psi_{\text{elec}}(x_1, x_2, \dots, x_n) = \chi_a(x_1)\chi_b(x_2)\dots\chi_p(x_n)$$

⁸⁷ M.Born, J.R.Oppenheimer. *Ann. Physik.* **1927**, *84*, 457.

Méthodologie.

Pour décrire complètement un électron, le spin est inclus comme une coordonnée supplémentaire. On parle alors de spin-orbitales $\chi(x_i)$:

$$\begin{aligned}\chi(x_i) &= \psi(r_i)\alpha(\omega_i) \\ &\text{ou} \\ \chi(x_i) &= \psi(r_i)\beta(\omega_i)\end{aligned}$$

Comme l'Hamiltonien ne fait pas référence au spin, il est nécessaire d'imposer une contrainte à la fonction d'onde polyélectronique : l'antisymétrie par rapport à l'échange des coordonnées d'espace et de spin de deux électrons. On obtient alors :

$$\Psi_{elec}(x_1, \dots, x_i, \dots, x_j, \dots, x_n) = -\Psi_{elec}(x_1, \dots, x_j, \dots, x_i, \dots, x_n)$$

Cette contrainte, également appelé « Principe d'antisymétrie », est la forme la plus générale du Principe d'exclusion de Pauli. Ce principe est respecté si l'on écrit la fonction d'onde polyélectronique comme un déterminant, **le déterminant de Slater** :

$$\Psi_{elec} = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \chi_a(x_1) & \cdots & \chi_b(x_1) & \cdots & \chi_p(x_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_a(x_i) & \cdots & \chi_b(x_i) & \cdots & \chi_p(x_i) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_a(x_n) & \cdots & \chi_b(x_n) & \cdots & \chi_p(x_n) \end{vmatrix}$$

1.3. Expression des orbitales moléculaires (OM) : théorie LCAO (Linear Combination of Atomic Orbital)

Les expressions précédemment déterminées doivent être exprimées en fonction des orbitales atomiques (OA) pour ainsi décrire les molécules étudiées. Les orbitales moléculaires notées $\psi(i)$ sont décrites à partir d'une combinaison linéaire d'orbitales atomiques, $\varphi(p)$:

$$\psi(i) = \sum_p c_{ip} \varphi(p)$$

La base est dite minimale si chaque OA est représentée par une seule fonction mathématique (fonction de Slater), si chacune d'elles est représentée par plusieurs fonctions, la base est dite alors étendue.

2. Les fonctions gaussiennes de base.

L'orbitale $\phi(r, \theta, \varphi)$ est une orbitale de type Slater. Pour reproduire l'orbitale de Slater, il faut utiliser plusieurs gaussiennes qui conduiront à définir des bases de calcul STO-NG.

Ainsi, chaque fonction de base ϕ_i prend la forme :

$$\phi_i = \sum_n d_{in} g_n$$

avec :

d_{in} : coefficients fixes

g_n : des fonctions gaussiennes.

2.1. Les bases STO-NG (orbitales de Slater)

N indique le nombre de fonctions gaussiennes primitives utilisées pour définir une orbitale atomique. En général, N varie de 3 à 6.

2.2. Les bases étendues (ou bases de Split-Valence)

Dans ces bases, seules les orbitales des couches de valence sont dédoublées (double ξ) ou détripées (triple ξ), celles de cœur étant traitées au niveau simple ξ . Le premier chiffre désigne le nombre de gaussiennes pour chaque orbitale atomique de cœur, le suivant concerne l'orbitale de valence la plus contractée, le dernier concerne l'orbitale de valence la plus diffuse. Ainsi la base 3-21G est l'une des plus petites rencontrées. Dans ce cas, pour l'atome de carbone par exemple, les orbitales 1s sont représentées par une combinaison de 3 gaussiennes, et chaque orbitale de valence 2s ou 2p est divisée en 2 orbitales, l'une représentée par 2 gaussiennes, l'autre par une seule gaussienne.

a. Les bases polarisées

Une optimisation de la base consiste à inclure des fonctions de polarisation pour décrire correctement la déformation du nuage électronique. Il s'agit généralement de fonctions de nombre quantique « l+1 » par rapport à la fonction que l'on cherche à polariser. Une étoile « * » est alors ajoutée après le nom de la base utilisée (par exemple 6-31G*). Si on inclut en plus une fonction p sur les atomes d'hydrogène on ajoute une étoile supplémentaire (par exemple 6-31G**).

b. Les bases diffuses

Il existe enfin des bases pour lesquelles des fonctions diffuses de même nombre quantique « l » ont été introduites. C'est le cas de la base 6-31+G* pour laquelle une fonction diffuse supplémentaire notée « + » a été ajoutée sur les atomes lourds à la base 6-31G*. La base 6-31++G* ajoute une fonction diffuse sur les atomes légers.

L'utilisation de ces bases est indispensable pour décrire les systèmes dans lesquels existent des interactions de Van der Waals, des ponts hydrogène ou des interactions à longue distance. Pour mener à bien une étude théorique (description d'une surface d'énergie potentielle), le choix de la base est important puisque la validité et l'efficacité des calculs en dépendent. Une base importante avec polarisation donnera de meilleurs résultats qu'une base minimale mais les petites bases sont tout à fait adaptées pour une première approximation. Les calculs sont alors rapides et fiables et permettent d'avoir un bon compromis entre la précision et le temps de calcul par rapport à la taille du système.

3. Méthodologie *ab initio*

Pour un système polyélectronique, l'hamiltonien peut se mettre sous la forme :

$$H = \sum_i H(i) + \sum_i \sum_{i \neq j} \frac{1}{r_{ij}}$$

où $H(i)$ est l'opérateur hamiltonien de cœur relatif à un électron, en unité atomique :

$$H(i) = -\sum_i \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_i \sum_N \frac{Z_N}{r_{iN}}$$

et r_{ijN} représente les termes de répulsion noyau-électron.

La simplification qui consiste à éliminer les interactions biélectroniques est beaucoup trop grossière et mène à des erreurs. En effet, cela revient à associer à chaque électron un opérateur monoélectronique $H(i)$ tel que :

$$H(i) \Psi_i(i) = E(i) \Psi_i(i)$$

pour lequel les sommes des énergies monoélectroniques $E(i)$ est égale à l'énergie totale du système :

$$E = \sum E(i)$$

L'erreur est telle qu'il serait impossible de tendre vers le système réel et par conséquent, vers l'énergie globale du système E , même par des corrections successives.

Les différentes méthodes de calculs diffèrent selon leur approche du terme biélectronique.

3.1. La méthode Hartree-Fock.

a. Opérateur de Fock

Dans le cadre de la théorie Hartree-Fock, les termes de répulsions biélectroniques en $1/r_{ij}$ de l'opérateur hamiltonien sont remplacés par des expressions analytiques. L'opérateur de Fock, noté F est ainsi défini, il se compose d'une somme d'hamiltoniens monoélectroniques $f(i)$ qui ne s'appliquent qu'à l'électron (i) considéré. L'hamiltonien monoélectronique $f(i)$ résulte de la somme de deux termes, un hamiltonien $h(i)$ de cœur et un terme de répulsion moyenne entre l'électron (i) et les autres électrons des spins-orbitales occupées.

$$f(i) = h(i) + \sum_b [J_b(i) - \mathcal{K}_b(i)]$$

où $h(i) = -\frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_N \frac{Z_N}{r_{iN}}$ est l'opérateur hamiltonien de cœur en unité atomique

et $\sum_b [J_b(i) - \mathcal{K}_b(i)]$, le potentiel Hartree-Fock,

$J_b(i)$, l'opérateur coulombien.

$\mathcal{K}_b(i)$, l'opérateur d'échange.

La minimisation de l'énergie associée à la configuration choisie conduit à une série d'équations monoélectroniques dites de Hartree-Fock qui définissent un ensemble de fonctions spin-orbitales Ψ_i , permettant de construire un déterminant de Slater qui approche le mieux la fonction d'onde totale du système correspondant et ainsi l'énergie du système :

$$F(i) \Psi_i(i) = \varepsilon_i \Psi_i(i)$$

où ε_i est l'énergie associée à la spin-orbitale Ψ_i .

b. Equations de Hartree-Fock dans l'approximation LCAO : cas des systèmes à couches saturées

Le cas des systèmes à couches saturées concerne la plupart des molécules organiques à l'état fondamental. Dans le cadre de l'approximation LCAO, les équations de Hartree-Fock se transforment en un système d'équations non linéaires couplées, les équations de Roothaan-Hall :

$$\sum_p c_{ip} (F_{qp} - \varepsilon_i S_{qp}) = 0$$

où ε_i est l'énergie de chaque orbitale moléculaire φ_i

et F est la matrice de Fock : $F_{qp} = \langle \varphi_q | F | \varphi_p \rangle$

et S la matrice de recouvrement : $S_{qp} = \langle \varphi_q | \varphi_p \rangle$

c. Calculs SCF et énergie totale Hartree-Fock

Afin de résoudre le système d'équations, les expressions des spin-orbitales Ψ_i sont indispensables pour calculer les éléments de la matrice F_{qp} mais elles sont également les solutions du problème, il faut donc procéder de manière itérative à partir d'un système d'orbitales Ψ_i d'essai. Chaque étape permet de définir un nouveau jeu de spin-orbitales et par conséquent un nouveau jeu d'opérateur $J_b(i)$ et $K_b(i)$. L'arrêt du calcul est conditionné par la convergence de l'énergie électronique totale.

Pour déterminer l'énergie totale du système, il faut ajouter à cette énergie un terme de répulsion noyaux-noyaux :

$$E_{total}^{HF} = \sum_i \varepsilon_i - \frac{1}{2} \sum_i \sum_k (2J_{ik} - K_{ik}) + \sum_N \sum_{N'} \frac{Z_N Z_{N'}}{r_{NN'}}$$

avec J_{ik} l'intégrale coulombienne définie en fonction de l'opérateur $J_b(i)$

et K_{ik} l'intégrale d'échange définie en fonction de l'opérateur $K_b(i)$

3.2. Les calculs post-SCF : la méthode des perturbations de Møller-Plesset.

La théorie Hartree-Fock utilise un hamiltonien inexact dans lequel la répulsion entre les électrons est moyennée. Le déplacement d'un électron n'influence pas le champ des autres électrons. En réalité, lorsqu'un électron se déplace, il repousse les électrons autour de lui et influe ainsi sur le champ électrique qu'il traverse, la position de cet électron et de ceux qui l'entourent sont donc corrélées. Deux types de méthodes permettent de tenir compte de cette corrélation : les méthodes variationnelles et les méthodes perturbatives.

Les méthodes variationnelles, appelées interactions de configuration, reposent sur une combinaison linéaire de déterminants de Slater fondamentale et excitée.

Les méthodes perturbatives postulent qu'entre l'Hamiltonien exact et celui qui est facilement calculable la différence est très faible. De ce fait, on peut utiliser la théorie des perturbations, c'est le principe de la méthode Møller-Plesset^{88,89}.

La méthode des perturbations consiste à utiliser l'hamiltonien de Hartree-Fock (noté $H^{(0)}$), dont on connaît les fonctions propres ($\psi_i^{(0)}$) et les énergies ($E_i^{(0)}$) et à traiter la différence entre $H^{(0)}$ et l'hamiltonien exact H comme une perturbation λh , avec λ petit devant 1 et h l'opérateur hamiltonien défini par :

$$H = H^{(0)} + \lambda h$$

⁸⁸ C.Møller, M.S. Plesset. *Phys.Rev.***1934**, 46, 618.

⁸⁹ J.S.Binkley, J.A.Pople. *Int.J.Quantum Chem.* **1975**, 9, 229.

Méthodologie.

Les fonctions propres Ψ_i de H et les énergies E_i correspondantes sont développées en série de Taylor :

$$\psi_i = \psi_i^{(0)} + \lambda \psi_i^{(1)} + \lambda^2 \psi_i^{(2)} + \lambda^3 \psi_i^{(3)} + \lambda^4 \psi_i^{(4)} + \dots$$

$$E_i = E_i^{(0)} + \lambda E_i^{(1)} + \lambda^2 E_i^{(2)} + \lambda^3 E_i^{(3)} + \lambda^4 E_i^{(4)} + \dots$$

Ψ_i et E_i sont remplacés par leur développement dans l'équation de Schrödinger $H\Psi_i = E_i\Psi_i$ et, par identification des différents ordres de λ puis en se limitant au second ordre (λ^2), les équations suivantes sont obtenues :

$$\text{termes d'ordre 0 : } H^{(0)}\psi_i^{(0)} = E_i^{(0)}\psi_i^{(0)}$$

$$\text{termes d'ordre 1 : } H^{(0)}\psi_i^{(1)} + h\psi_i^{(0)} = E_i^{(0)}\psi_i^{(1)} + E_i^{(1)}\psi_i^{(0)}$$

$$\text{termes d'ordre 2 : } H^{(0)}\psi_i^{(2)} + h\psi_i^{(1)} = E_i^{(0)}\psi_i^{(2)} + E_i^{(1)}\psi_i^{(1)} + E_i^{(2)}\psi_i^{(0)}$$

Le principe de superposition des états permet de décrire toute fonction qui n'est pas fonction propre de l'opérateur $H^{(0)}$ comme une combinaison linéaire des fonctions propres Ψ_i de cet opérateur. La correction $\psi_i^{(1)}$ est de la forme :

$$\psi_i^{(1)} = \sum_k c_{ik} \psi_k^{(0)}$$

En remplaçant $\psi_i^{(1)}$ par l'expression précédente dans l'équation pour les termes d'ordre 1 puis en multipliant l'équation à gauche par $\psi_i^{(0)}$ et en intégrant à tout l'espace, l'équation suivante est obtenue :

$$\sum_{k \neq i} c_{ik} \langle \psi_i^{(0)} | H^{(0)} | \psi_k^{(0)} \rangle + \langle \psi_i^{(0)} | h | \psi_i^{(0)} \rangle = \sum_{k \neq i} c_{ik} E_i^{(0)} \langle \psi_i^{(0)} | \psi_k^{(0)} \rangle + E_i^{(1)} \langle \psi_i^{(0)} | \psi_i^{(0)} \rangle$$

Comme $H^{(0)}|\psi_k^{(0)}\rangle = E_k^{(0)}\psi_k^{(0)}$ et que les fonctions propres $\psi_i^{(0)}$ sont normées et orthogonales, l'équation devient alors, avec une correction d'ordre 1 sur l'énergie :

$$E_i^{(1)} = \langle \psi_i^{(0)} | h | \psi_i^{(0)} \rangle$$

Méthodologie.

En faisant de même pour les termes d'ordre 2, on obtient :

$$E_i^{(2)} = \langle \psi_i^{(0)} | h | \psi_i^{(1)} \rangle$$

Si on multiplie l'équation à gauche par $\psi_k^{(0)}$, pour tout k différent de i, avant d'intégrer à tout l'espace, on obtient :

$$c_{ik} = - \frac{\langle \psi_i^{(0)} | h | \psi_k^{(0)} \rangle}{E_i^{(0)} - E_k^{(0)}}$$

Cette relation n'est valable uniquement dans le cas où les niveaux d'énergie ne sont pas dégénérés, $E_i^{(0)} \neq E_k^{(0)}$.

L'énergie de perturbation au second ordre peut donc s'exprimer selon l'équation suivante :

$$E_i^{(2)} = - \sum_{k \neq i} \frac{\langle \psi_i^{(0)} | h | \psi_k^{(0)} \rangle \langle \psi_k^{(0)} | h | \psi_i^{(0)} \rangle}{E_i^{(0)} - E_k^{(0)}}$$

Dans la théorie de Möller-Plesset^{90,91}, l'hamiltonien $H^{(0)}$ est l'hamiltonien de Hartree-Fock, h est l'opérateur de corrélation, les $\psi_i^{(0)}$ sont les déterminants de Slater composés de spin-orbitales et les énergies $E_i^{(0)}$ sont les sommes des énergies des spin-orbitales correspondant aux déterminants $\psi_i^{(0)}$. La correction d'énergie à l'ordre 2 a pour expression :

$$E_0^{(2)} = - \sum_{k \neq 0} \frac{\langle \psi_0^{(0)} | h | \psi_k^{(0)} \rangle \langle \psi_k^{(0)} | h | \psi_0^{(0)} \rangle}{E_0^{(0)} - E_k^{(0)}}$$

soit :

$$E_0^{(2)} = - \sum_{k \neq 0} \frac{\left(\langle \Psi_0^{(0)} | h | \Psi_k^{(0)} \rangle \right)^2}{E_0^{(0)} - E_k^{(0)}}$$

Cette méthode peut être étendue à l'ordre trois et à l'ordre quatre et conduit à évaluer les énergies de corrélation respectivement au niveau MP3 et MP4.

⁹⁰ J.A.Pople, J.S.Binkley, R.Seeger. *Int.J.Quantum Chem.Symp.* **1976**, 10, 1.

⁹¹ K.Ragavachari, M.J. Frisch, J.A.Pople. *Int.J.Quantum Chem.Symp.* **1978**, 14, 91.

4. Les calculs DFT (Density Functional Theory)

Ces méthodes de calcul reposent sur une approche différente de celles des méthodes *ab initio*. En DFT, l'énergie totale du système s'exprime comme une fonction de la densité électronique totale du système $\rho(\mathbf{r})$ pour une position donnée des noyaux (\mathbf{R}) :

$$E_{\text{système}} = E(\rho; \mathbf{R})$$

La densité électronique $\rho(\mathbf{r})$ d'un système est définie par le nombre d'électrons par unité de volume. C'est une fonction des trois variables d'espace (x, y et z) dont l'intégration sur le volume total correspond au nombre total d'électrons N du système suivant :

$$N = \int \rho(\mathbf{r}) d\tau$$

Le principe de la DFT est de considérer un système de référence composé d'électrons sans interaction en mouvement dans un potentiel externe commun, dit potentiel de Kohn-Sham (V_{KS}). Ce potentiel est défini de telle manière que la densité électronique du système est la plus proche possible de celle du système « réel ». Le système de référence est décrit par une fonction d'onde Ψ , produit antisymétrique de N orbitales Ψ_i monoélectroniques, correspondant au développement d'un déterminant de Slater. La densité électronique totale du système est la somme des densités monoélectroniques définies à partir des fonctions d'ondes Ψ_i qui sont de la forme :

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{occ} |\psi_i(\mathbf{r})|^2$$

4.1. Expression de l'énergie totale du système

a. Equations de Kohn-Sham

La minimisation de l'énergie par rapport à la densité telle que $\frac{\partial E}{\partial \rho} = 0$ conduit, par un

processus variationnel, aux équations monoélectroniques dites de Kohn-Sham⁹² de la forme :

$$-\frac{1}{2}\nabla^2\psi_i + V_{KS}\psi_i = e_i\psi_i$$

où $-\frac{1}{2}\nabla^2$ est l'opérateur d'énergie cinétique

et V_{KS} le potentiel Kohn-Sham qui est la somme de deux composantes :

$$V_{KS} = V_{\text{coul}} + V_{\text{ec}}$$

où V_{coul} est l'opérateur coulombien classique

et V_{ec} l'opérateur d'échange-corrélation. Cet opérateur d'échange-corrélation comprend l'opérateur d'échange et l'opérateur de corrélation qui correspond à l'interdépendance des mouvements des électrons.

b. Calculs KS-SCF et énergie totale du système

Après une procédure (KS-SCF) analogue à celle utilisée en ab initio (HF-SCF), l'énergie électronique totale du système est donnée par l'expression suivante :

$$E(\rho) = 2\sum \int \psi_i \left(-\frac{\nabla^2}{2} \right) \psi_i d\tau + \int V_{\text{noyaux}} \rho(r) d\tau + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\tau d\tau' + E_{\text{ec}}(\rho)$$

⁹² W.Kohn,L.J.Sham. *Phys.Rev.* **1965**, A140, 1133.

Méthodologie.

Cette équation peut s'écrire également :

$$E(\rho) = E_c(\rho) + E_{\text{coul}}(\rho) + E_{\text{ec}}(\rho)$$

où $E_c(\rho) = 2 \sum \int \psi_i \left(-\frac{\nabla^2}{2} \right) \psi_i d\tau$ est l'énergie cinétique du système

$E_{\text{coul}}(\rho) = \int V_{\text{noyaux}} \rho(\mathbf{r}) d\tau + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r} d\mathbf{r}'$ représente l'énergie coulombienne classique

et $E_{\text{ec}}(\rho)$ est l'énergie d'échange-corrélation. Elle décrit les contributions liées aux effets d'échange et de corrélation ainsi qu'une composante d'énergie cinétique (différence entre l'énergie cinétique calculée à partir des orbitales du système sans interaction et l'énergie cinétique réelle du système d'électrons en interaction).

c. Descriptions de l'énergie d'échange-corrélation

La difficulté des calculs DFT vient du fait que l'énergie d'échange-corrélation est inconnue. L'obtention d'une bonne fonctionnelle approchée d'échange-corrélation fait l'objet de nombreuses recherches. Il existe selon les approximations utilisées trois approches différentes.

α . Approche de la densité locale (LDA)

L'approximation la plus simple de la fonctionnelle d'échange-corrélation est l'approche LDA (Local Density Approximation). Pour tout système, on considère qu'en un point la contribution à l'énergie ne dépend que de la densité en ce point. Le terme d'échange-corrélation des fonctionnelles LDA s'exprime alors :

$$E_{\text{ec}}^{\text{LDA}} = E_e^{\text{Slater}} + E_c^{\text{VWN}}$$

où le terme E_e^{Slater} correspond à l'énergie d'échange de type Slater qui provient du traitement statistique du gaz homogène d'électrons,

Méthodologie.

et le terme E_c^{VWN} correspond à l'énergie de corrélation qui est donnée par la fonctionnelle de Vosko, Wilk et Nussair⁹³ (VWN) qui dépend uniquement de la densité locale.

β. Approche du gradient généralisé GGA (Generalized Gradient Approach)

Des fonctionnelles plus élaborées ont été développées pour prendre en compte l'inhomogénéité de la densité électronique dans les molécules. Ces fonctionnelles incluent des termes de correction fondés sur des gradients de densité électronique. Les fonctionnelles de Perdew et Wang^{94,95} (PW) ou de Becke⁹⁶ (B) sont utilisées pour décrire l'énergie d'échange et la fonctionnelle de Lee, Yang et Parr⁹⁷ (LYP) sert à décrire l'énergie de corrélation.

γ. Les fonctionnelles hybrides

Le terme d'échange-corrélation des fonctionnelles hybrides est défini par la formule suivante :

$$E_{ec}^{hyb} = aE_e^{Slater} + (1-a)E_e^{HF} + bE_e^{Becke} + cE_c^{LYP} + (1-c)E_c^{VWN}$$

Becke a montré que l'on peut introduire dans la fonctionnelle de l'énergie un terme d'échange vrai (E_e^{HF}), de type Hartree-Fock, calculé au moyen des orbitales de Kohn-Sham. Le terme d'échange local (E_e^{Slater}) est néanmoins pris en compte. La somme des coefficients de ces deux contributions doit être égale à un. Un terme de correction de gradient à l'échange (E_e^{Becke}) est également introduit. La corrélation est décrite par deux termes : un terme qui représente la correction de gradient et un second terme pour la corrélation locale. La somme des coefficients des deux termes vaut également un.

⁹³ S.H.Vosko,L.Wilk,M.Nussair. *Can.J.Phys.* **1980**, 58, 1200.

⁹⁴ J.P.Perdew,W.Wang.*Phys.Rev.***1986**, B33, 8800.

⁹⁵ J.P.Perdew. *Phys.Rev.* **1986**, B33, 8822.

⁹⁶ A.D.Becke. *Phys.Rev.* **1988**, A38, 3098.

⁹⁷ C.Lee,W.Yang,R.G.Parr. *Phys. Rev.* **1988**, B37, 785.

Méthodologie.

Plusieurs corrections peuvent être apportées pour améliorer l'énergie obtenue par l'une de ces trois méthodes, HF, DFT, MP, notamment la correction du point zéro (ZPE) et celle de superposition de base (BSSE).

4.2. Calcul de l'énergie du point zéro (ZPE) et des fréquences de vibration

Le calcul *ab initio* permet uniquement de calculer l'énergie électronique du puits de potentiel mais ne prend pas en compte d'autres contributions notamment l'énergie vibrationnelle. La correction ZPE (*Zero Point Energy*) permet de corriger l'énergie globale qui est ainsi toujours sous-estimée. Cette correction ZPE permet d'obtenir ainsi l'énergie du niveau vibrationnel fondamental $v=0$. Ce même calcul de fréquences permet également de distinguer un minimum local dans la surface de potentiel (point où toutes les fréquences sont réelles), d'un point d'inflexion correspondant à un état de transition (présence d'une fréquence imaginaire).

4.3. Calcul de l'erreur de superposition de bases (BSSE)

Pour estimer, par le calcul, l'énergie de complexation ou l'interaction entre deux systèmes A et B, on calcule la différence :

$$\Delta E_{\text{complexe}} = E_{AB} - (E_A + E_B)$$

Le fragment correspondant à A dans le complexe diffère du système A isolé par l'existence de la base atomique du fragment B. L'erreur de superposition de base (ou *Basis Set Superposition Effects*, BSSE en anglais) dans le calcul de $\Delta E_{\text{complexe}}$ vient du fait que l'on compare les énergies calculées de chaque fragment avec des bases différentes. Ainsi, dans le complexe AB, A utilise la base de B pour se stabiliser artificiellement et le fragment B en fait de même avec la base de A.

Méthodologie.

Pour estimer et corriger la BSSE, Boys *et al.*⁹⁸ et plus tard Van Duijneveldt *et al.*⁹⁹, ont développé la technique dite de contre-poids, en anglais *counterpoise*, dans laquelle la BSSE est définie comme la somme des énergies de stabilisation de chaque fragment lorsqu'on lui ajoute la base de l'autre.

⁹⁸ S.F.Boys, F.Bernardi. *Mol.Phys.* **1970**, *19*, 553.

⁹⁹ J.H.Van Lenth, J.G.C.M.Van Duijneveldt-Van de Rijdt, F.B.Van Duijneveldt. *Adv.Chem.Phys.* **1987**, *69*, 521.

**DETERMINATION DES
AFFINITES CATIONIQUES
DES ACIDES AMINES**

CHAPITRE I

DETERMINATION EXPERIMENTALE DES AFFINITES CATIONIQUES

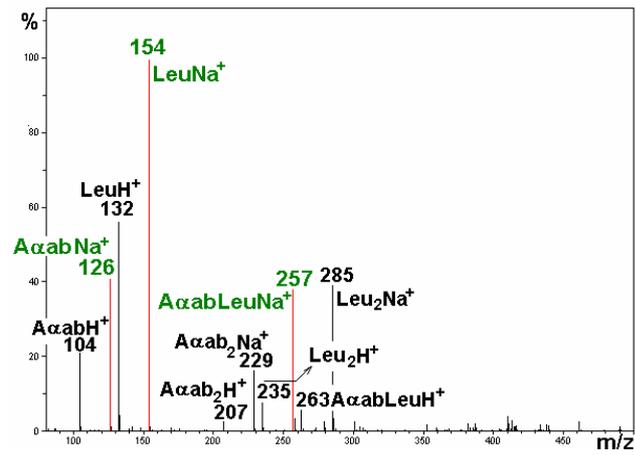


Figure 12 : Spectre de masse de la solution leucine / acide α aminobutyrique dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}-\text{NaCl}$.

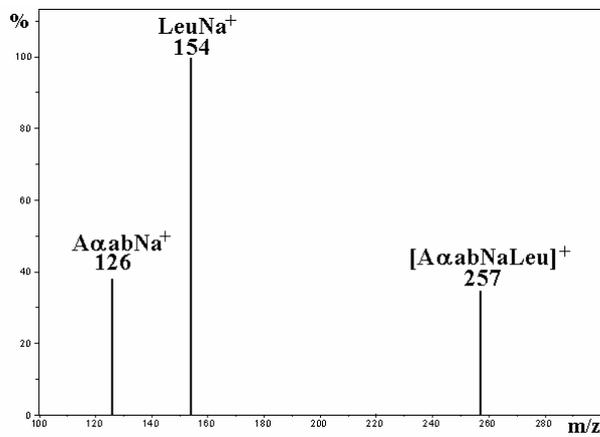


Figure 13 : Spectre CID obtenu après sélection et fragmentation du dimère $[\text{A}\alpha\text{abNaLeu}]^+$.

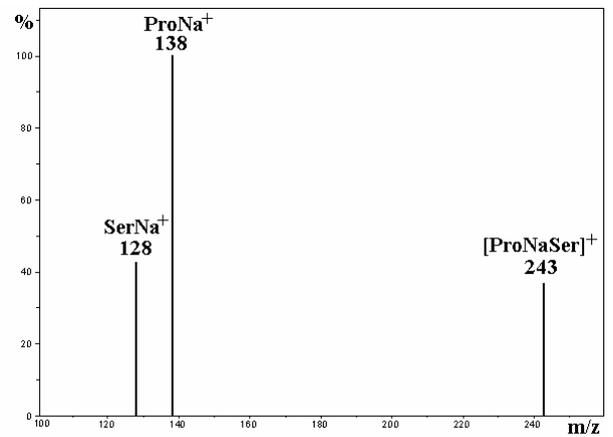


Figure 14 : Spectre CID obtenu après sélection puis fragmentation du dimère $[\text{ProNaSer}]^+$.

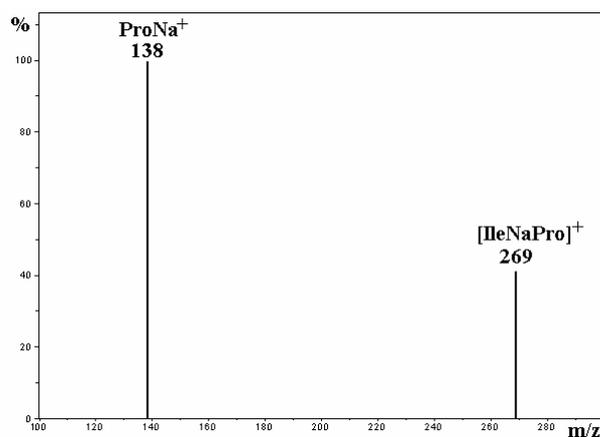


Figure 15 : Spectre CID obtenu après sélection puis fragmentation du dimère $[\text{IleNaPro}]^+$.

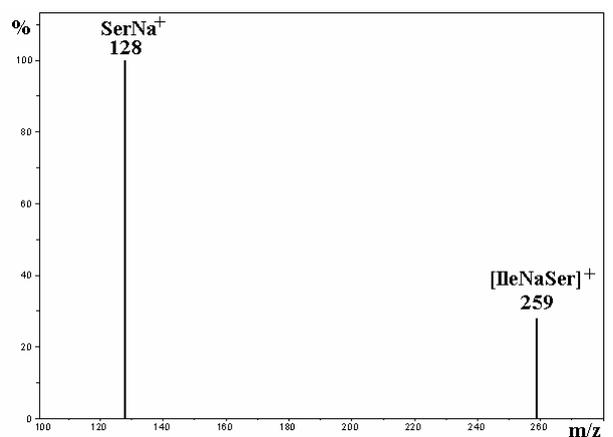


Figure 16 : Spectre CID obtenu après sélection puis fragmentation du dimère $[\text{IleNaSer}]^+$.

L'ordre des affinités cationiques (AC) pour le sodium a été déterminé pour les vingt acides aminés naturels ainsi que pour des acides aminés modifiés. Ces acides aminés sont étudiés deux par deux. Le spectre de masse sous ESI de la solution obtenue met en évidence des formes protonées et cationisées de monomères et de dimères (*Figure 12*). Après sélection puis fragmentation de l'hétérodimère étudié, deux cas sont observés.

Dans un premier cas, si les affinités cationiques des deux acides aminés sont proches l'une de l'autre (différence inférieure à $15 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), on observe sur le spectre de dissociation (CID) trois pics : deux pics correspondant aux monomères cationisés issus de la fragmentation et un pic correspondant à l'hétérodimère cationisé (*Figure 13* et *Figure 14*). Pour l'hétérodimère $[\text{A}\alpha\text{abNaIle}]^+$ (*Figure 13*), on peut clairement mettre en évidence que l'affinité cationique de l'isoleucine est supérieure à celle de l'acide α aminobutyrique et que pour l'hétérodimère $[\text{ProNaSer}]^+$ (*Figure 14*), l'affinité cationique de la sérine est inférieure à celle de la proline.

Dans un second cas, si les affinités cationiques des deux acides aminés sont très différentes l'une de l'autre (différence supérieure à 15 à $25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ selon les cas), le spectre CID (*Figure 15* et *Figure 16*) ne présente que deux pics : un pour le monomère dont l'AC est la plus élevée et un pour le dimère. Dans le cas de l'hétérodimère $[\text{IleNaPro}]^+$ (*Figure 15*), l'affinité cationique de la proline cationisée est très supérieure à celle de l'isoleucine cationisée, on peut donc en déduire que l'affinité cationique augmente de manière significative lorsque la chaîne latérale est cyclique. Pour le dimère $[\text{IleNaSer}]^+$ (*Figure 16*), l'affinité cationique de la sérine est très supérieure à celle de l'isoleucine, cette expérience met en évidence que la présence d'un atome d'oxygène dans la chaîne latérale augmente considérablement l'affinité cationique.

Ordre des acides aminés étudiés.
<i>Glycine</i>
<i>Alanine</i>
<i>Acide α aminobutyrique</i>
<i>Valine</i>
<i>Leucine</i>
<i>Cystéine</i>
<i>Isoleucine</i>
<i>Homocystéine</i>
<i>Sérine</i>
<i>Méthionine</i>
<i>Homoproline</i>
<i>Proline</i>
<i>4-hydroxy proline</i>
<i>Thréonine</i>
<i>Phénylalanine</i>
<i>Tyrosine</i>
<i>5-méthyl proline</i>
<i>3,4-dihydroxy phénylalanine</i>
<i>5-éthyl proline</i>
<i>1-méthyl histidine</i>
<i>Acide aspartique</i>
<i>5-isopropyl proline</i>
<i>5-(3-méthyl butyl) proline</i>
<i>Acide glutamique</i>
<i>Acide homoglutamique</i>
<i>Tryptophane</i>
<i>Ornithine</i>
<i>5-hydroxy tryptophane</i>
<i>5-carboxyméthyl proline</i>
<i>5-méthyl tryptophane</i>
<i>Lysine</i>
<i>Asparagine</i>
<i>Glutamine</i>
<i>δhydroxy lysine</i>
<i>Histidine</i>
<i>3-méthyl histidine</i>
<i>Citrulline</i>
<i>Arginine</i>

Tableau 3 : Ordre des affinités cationiques pour le sodium de l'ensemble des acides aminés étudiés.

Les acides aminés modifiés ou ceux ne faisant pas partie des acides aminés naturels (comme l'acide α aminobutyrique) nous ont permis d'avoir une échelle d'affinités cationiques (AC) complète (*Tableau 3*). D'après l'ordre ainsi constitué, plusieurs tendances ont été mises en évidence. Les affinités cationiques des acides aminés aliphatiques à chaîne latérale linéaire sont très inférieures à celles des dérivées de la proline, acides aminés à chaîne latérale cyclique. Entre ces deux catégories s'intercalent les acides aminés dont la chaîne latérale contient un hétéroatome (sérine, méthionine). Les acides aminés dont la chaîne latérale contient plusieurs hétéroatomes (acide aspartique, glutamine) ou un cycle aromatique (le benzène pour la phénylalanine, l'indol pour le tryptophane) ont une affinité cationique très élevée. Les affinités cationiques les plus élevées sont obtenues pour l'histidine, la citrulline et l'arginine. Les affinités cationiques des acides aminés seront présentées d'après la classification suivante :

1. Les acides aminés à chaîne latérale aliphatique

-chaîne latérale linéaire

-chaîne latérale cyclique et non aromatique

2. Les acides aminés à chaîne latérale fonctionnalisée

-chaîne latérale avec un ou plusieurs hétéroatomes

-chaîne latérale cyclique et aromatique

Acides aminés	Structure
<i>Glycine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
<i>Alanine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
<i>Acide α aminobutyrique</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
<i>Valine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
<i>Leucine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
<i>Isoleucine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Tableau 4 : Structures des acides aminés à chaîne latérale aliphatique et linéaire.

1. Etude des acides aminés aliphatiques.

1.1. Les acides aminés à chaîne latérale aliphatique et linéaire.

Pour déterminer les valeurs relatives des affinités cationiques par la méthode de Cooks³⁸⁻⁴⁰, il est nécessaire d'avoir des références expérimentales d'affinités cationiques pour quelques acides aminés. Bojesen et *al.*³⁶ ont déterminé l'affinité cationique de quatre acides aminés : la glycine, l'alanine, l'acide α aminobutyrique et la valine (**Tableau 4**). Dans un premier temps, la glycine a été étudiée avec les trois acides aminés de référence afin de déterminer son affinité cationique pour le sodium (**Figure 17**). La droite obtenue en traçant $\ln(Iaa_{(gly)}/Iaa_{(j)})$ vs. $AC_{aa(j)}$ indique que l'on a une dépendance linéaire avec un très bon coefficient de corrélation ($r^2 = 0,999 \pm 0,001$).

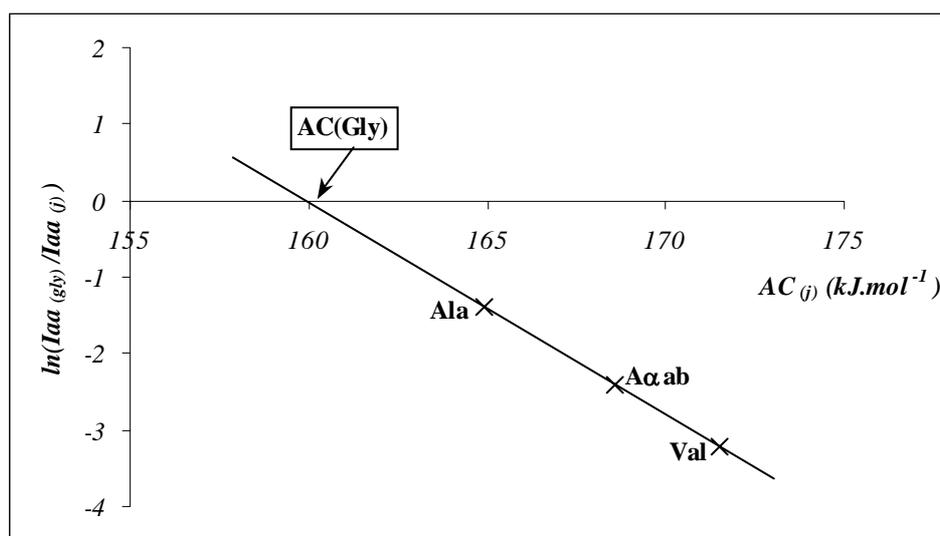


Figure 17 : Détermination de l'affinité cationique de la glycine à partir de la droite $\ln(Iaa_{(gly)}/Iaa_{(j)})$ en fonction des affinités cationiques des références ($AC_{(j)}$ en kJ mol^{-1}).

A partir de cette droite, l'AC de la glycine déterminée expérimentalement est de 160 kJ.mol^{-1} , valeur très proche de celle déterminée par Bojesen et *al.*³⁶ (159 kJ.mol^{-1}). Les expériences de Bojesen et *al.*³⁶ ont été effectuées à partir d'ionisation/désorption FAB et non d'un ESI, et ce avec un instrument à secteur et, dans notre cas, avec un piège ionique.

Apparemment, cette différence d'instrumentation ne semble pas influencer la détermination de l'affinité cationique de la glycine.

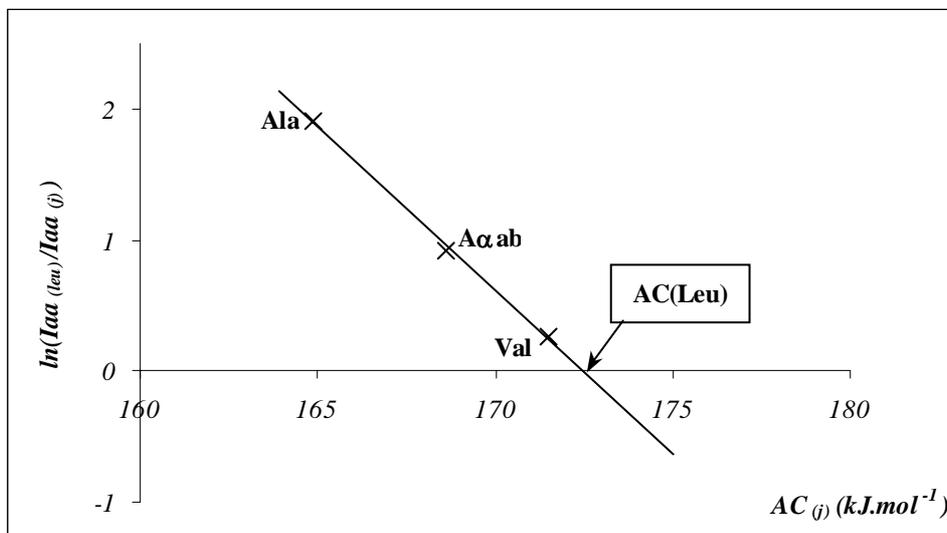


Figure 18 : Détermination de l'affinité cationique de la leucine à partir de la droite $\ln(Iaa_{(Leu)}/Iaa_{(j)})$ en fonction des affinités cationiques des références ($AC_{(j)}$ en kJ mol^{-1}).

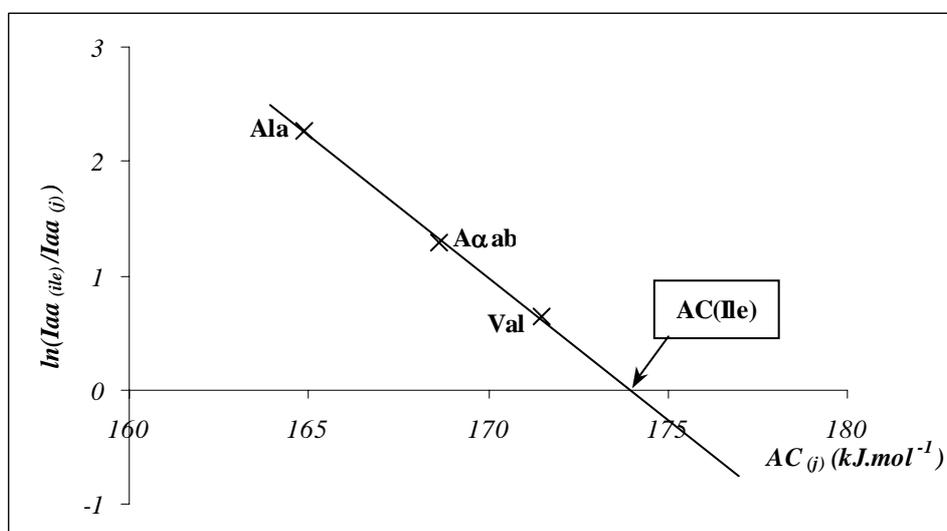


Figure 19 : Détermination de l'affinité cationique de l'isoleucine à partir de la droite $\ln(Iaa_{(Ile)}/Iaa_{(j)})$ en fonction des affinités cationiques des références ($AC_{(j)}$ en kJ mol^{-1}).

La leucine a été également étudiée avec l'alanine, l'acide α aminobutyrique et la valine (**Figure 18**). La droite a un très bon coefficient de corrélation, $r^2 = 0,998 \pm 0,001$. L'AC expérimentale de la leucine est de $173 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

L'isomère de la leucine, l'isoleucine, a été étudié avec l'alanine, l'acide α aminobutyrique et la valine (**Figure 19**). La droite obtenue a également un bon coefficient de corrélation, $r^2 = 0,997 \pm 0,001$. L'AC expérimentale déterminée de l'isoleucine est de $174,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Ces deux acides aminés étant des isomères, l'étude du dimère $[\text{LeuNaIle}]^+$ n'est pas possible. Par contre, l'étude de la leucine marquée (leucine 5,5,5 D_3 ou LeuD_3) permet de connaître le rapport d'intensité des ions après fragmentation du dimère cationisé $[\text{IleNaLeuD}_3]^+$ entre l'isoleucine et la leucine marquée. Avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,998 \pm 0,001$, la droite obtenue (**Figure 20**) nous a permis de déterminer l'AC de la leucine qui est dans ce cas de $173,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Ce résultat confirme la première détermination de l'AC de la leucine non marquée ($173 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). De plus, la présence de CD_3 à la place du groupement CH_3 en bout de chaîne ne modifie pas l'affinité cationique donc les effets isotopiques restent négligeables.

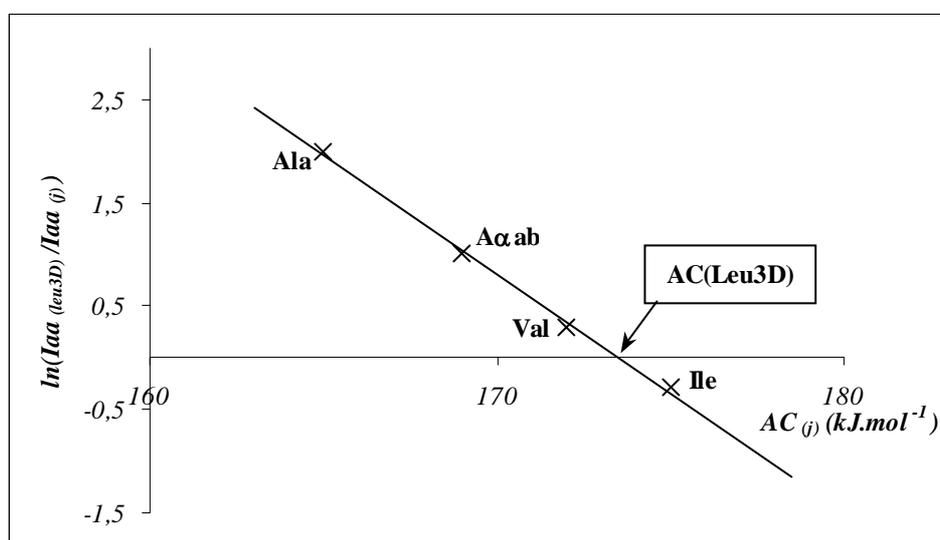


Figure 20 : Détermination de l'affinité cationique de la leucine deutériée à partir de la droite $\ln(Iaa_{leu3D}/Iaa_{(i)})$ en fonction des affinités cationiques des références ($AC_{(i)}$ en $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Acides aminés	AC_{exp} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Glycine</i>	160
<i>Alanine</i>	165³⁶
<i>Acide α aminobutyrique</i>	169³⁶
<i>Valine</i>	172³⁶
<i>Leucine</i>	173
<i>Isoleucine</i>	175

Tableau 5 : Affinités cationiques expérimentales des acides aminés à chaîne latérale aliphatique et linéaire.

Les affinités cationiques obtenues expérimentalement pour les six acides aminés aliphatiques sont indiquées dans le **Tableau 5**. L'affinité cationique augmente en fonction de la longueur de la chaîne latérale ce qui est conforme à ce que l'on pouvait attendre⁵¹.

L'affinité cationique expérimentale de la glycine est en bon accord avec celle déterminée par Bojesen *et al.*³⁶, et par Kish *et al.*³⁷, respectivement 160 et 161 kJ.mol⁻¹.

Les affinités cationiques de la leucine et l'isoleucine ont été déterminées à partir des affinités cationiques de l'alanine, de l'acide α aminobutyrique et de la valine prises comme références. Les affinités cationiques sont de 173 kJ.mol⁻¹ pour la leucine et de 175 kJ.mol⁻¹ pour l'isoleucine, ce qui est en excellent accord avec celles déterminées par Kish *et al.*³⁷, qui sont respectivement de 175 et de 176 kJ.mol⁻¹.

Les affinités cationiques déterminées par Bojesen *et al.*³⁶ ont été effectuées à partir d'un spectromètre de masse d'ionisation/désorption FAB, alors que nos valeurs ainsi que celles déterminées par Kish *et al.*³⁷ l'ont été par ITMS. La différence d'instrumentation ne semble pas influencer les affinités cationiques des acides aminés aliphatiques.

La très bonne corrélation entre notre étude et celle de Kish *et al.*³⁷ nous a permis d'utiliser d'autres valeurs d'affinités cationiques comme référence. Pour la suite de cette étude, la sérine³⁷ (192 kJ.mol⁻¹), la proline³⁷ (196 kJ.mol⁻¹), la thréonine³⁷ (197 kJ.mol⁻¹) et le tryptophane³⁷ (210 kJ.mol⁻¹) ont été pris comme acides aminés de référence pour déterminer l'ensemble des valeurs des affinités cationiques des acides aminés.

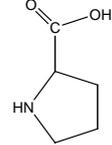
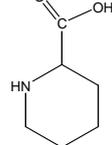
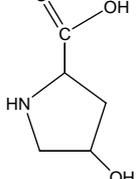
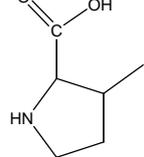
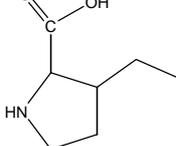
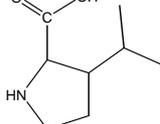
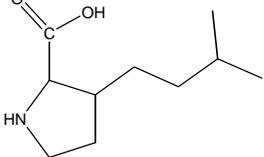
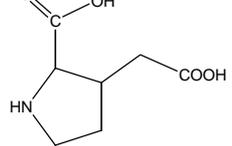
Acides aminés	Structure
<i>Proline</i>	
<i>Homoproline</i>	
<i>4-OH proline</i>	
<i>5-CH₃ proline</i>	
<i>5-C₂H₅ proline</i>	
<i>5-iC₃H₇ proline</i>	
<i>5-C₅H₁₁ proline</i>	
<i>5-CH₂COOH proline</i>	

Tableau 6 : Structures de la proline et de ses formes modifiées.

1.2. Etude des acides aminés à chaîne latérale aliphatique cyclique non aromatique (proline et ses dérivées : homoproline, 4-hydroxy proline, 5-méthyl proline, 5-éthyl proline, 5-isopropyl proline, 5-(3-méthyl butyl) proline, 5-(carboxyméthyl) proline)

La proline ainsi que sept de ses formes modifiées ont été étudiés (**Tableau 6**) de la même manière que précédemment. Les déterminations des AC expérimentales sont présentées en **Annexe A.1** et les résultats sont présentés dans le **Tableau 7**.

Acides aminés	AC _{exp} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Homoproline</i>	195
<i>Proline</i>	196³⁷
<i>4-OH proline</i>	196
<i>5-CH₃ proline</i>	199
<i>5-C₂H₅ proline</i>	201
<i>5-iC₃H₇ proline</i>	203
<i>5-C₅H₁₁ proline</i>	203
<i>5-CH₂COOH proline</i>	214

Tableau 7 : Affinités cationiques expérimentales de la proline et de ses dérivés.

L'homoproline (195 kJ.mol⁻¹), la proline³⁷ (196 kJ.mol⁻¹) ainsi que la 4-hydroxy proline (196 kJ.mol⁻¹) ont sensiblement la même affinité cationique, ces trois acides aminés ont pu être étudiés les uns par rapport aux autres, leurs masses étant suffisamment différentes (respectivement m/z 152, 138 et 154 pour les formes cationisées) donc l'ordre a pu être clairement défini. Pour les cinq autres dérivés de la proline en position 5, les affinités cationiques augmentent en fonction de la longueur de la chaîne ou de la polarité de cette chaîne. En effet, lorsque la chaîne est de type aliphatique (5-méthyl proline, 5-éthyl proline, 5-isopropyl proline et 5-(3-méthyl butyl) proline), l'affinité cationique croît, de 199 kJ.mol⁻¹ pour la 5-méthyl proline à 203 kJ.mol⁻¹ pour la 5-(3-méthyl butyl) proline. Par contre, dès que le groupement greffé contient un hétéroatome (comme pour la 5-(carboxyméthyl) proline), l'affinité cationique augmente de plus de 20 kJ.mol⁻¹ pour atteindre 214 kJ.mol⁻¹. On peut donc déduire que très probablement la fonction carboxyméthyl en position 5 de la proline

intervient dans l'interaction avec le sodium puisque l'affinité cationique augmente significativement entre la proline et la 5-(carboxyméthyl) proline. Par contre, la fonction hydroxyle en position 4 de la proline ne doit probablement pas participer à l'interaction avec le sodium, son affinité cationique déterminée expérimentalement est la même que celle de la proline.

D'après l'étude menée sur l'ensemble des acides aminés à chaîne latérale aliphatique, on peut mettre en évidence différentes observations. Tout d'abord, les affinités cationiques des acides aminés dont la chaîne latérale est linéaire sont très inférieures à celles dont la chaîne latérale est cyclique non aromatique, la différence peut atteindre près de 40 kJ.mol^{-1} , entre la glycine et la proline, par exemple. Une chaîne latérale cyclique non aromatique augmente de manière considérable l'affinité cationique des acides aminés aliphatiques.

Acides aminés	Structure
<i>Cystéine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$
<i>Homocystéine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$
<i>Méthionine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
<i>Sérine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$
<i>Thréonine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
<i>Ornithine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
<i>Lysine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
<i>δ-hydroxylysine</i>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{HO}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$

Tableau 8 : Structures des acides aminés à chaîne latérale fonctionnalisée contenant un seul hétéroatome.

2. Etude des acides aminés à chaîne latérale fonctionnalisée.

2.1. Acides aminés dont la chaîne latérale est fonctionnalisée avec un hétéroatome (S, O, N)(cystéine, homocystéine, méthionine, sérine, thréonine, ornithine, lysine et δ -hydroxylysine)

Chaque détermination expérimentale de l'affinité cationique pour les acides aminés étudiés est présentée en *Annexe A.2*.

A l'aide de ces huit acides aminés (*Tableau 8*), nous pouvons étudier l'influence des atomes de soufre, d'oxygène et d'azote sur l'affinité cationique (*Tableau 9*) ainsi que l'influence de la position de cet atome dans la chaîne latérale.

Acides aminés	AC _{exp} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Cystéine</i>	174
<i>Homocystéine</i>	179
<i>Sérine</i>	192³⁷
<i>Méthionine</i>	194,5
<i>Thréonine</i>	197³⁷
<i>Ornithine</i>	212,5
<i>Lysine</i>	220
<i>δ-hydroxylysine</i>	232

Tableau 9 : Affinités cationiques expérimentales des acides aminés dont la chaîne latérale contient un hétéroatome.

L'affinité cationique de la cystéine est faible par rapport à celle de la sérine³⁷ (l'hétéroatome est situé au même endroit dans la chaîne latérale). L'affinité cationique de la cystéine est plus proche de celles de la leucine ou de la valine (respectivement 174 kJ.mol⁻¹, 173 kJ.mol⁻¹ et 172 kJ.mol⁻¹) mais très différente de celle de la sérine³⁷ (191 kJ.mol⁻¹). Il semble donc que plus l'électronégativité de l'hétéroatome est élevée, plus son influence sur l'affinité cationique est importante. Par contre, l'augmentation de la longueur de la chaîne lorsque l'hétéroatome est situé en bout de chaîne n'influence que très peu l'affinité cationique des molécules : entre

la cystéine et l'homocystéine, la différence n'est que de 5 kJ.mol⁻¹ (respectivement 174 et 179 kJ.mol⁻¹). La sérine³⁷, la méthionine et la thréonine³⁷ ont des affinités cationiques très proches, respectivement 192, 194,5 et 197 kJ.mol⁻¹. L'affinité cationique pour la sérine³⁷, la plus petite chaîne des acides aminés contenant un atome d'oxygène, est élevée (192 kJ.mol⁻¹) par rapport à celles de la cystéine et de l'homocystéine (respectivement 174 et 179 kJ.mol⁻¹) qui elles, ont des valeurs plus proches des AC des acides aminés aliphatiques^{36,37} (**Tableau 5**). L'affinité cationique entre un acide aminé dont la chaîne latérale contient un alcool primaire ou secondaire n'est pas très différente, respectivement 192 et 197 kJ.mol⁻¹ pour la sérine³⁷ et la thréonine³⁷. Enfin, l'influence du soufre lorsqu'il est situé dans la chaîne latérale est identique à celle de l'oxygène, en effet, la méthionine a une affinité cationique plus proche de celle de la sérine³⁷ ou de la thréonine³⁷ (respectivement 194,5 contre 192 et 197 kJ.mol⁻¹) que de celle de la cystéine (174 kJ.mol⁻¹). Comme l'affinité cationique augmente entre les acides aminés aliphatiques et ceux dont la chaîne latérale contient un hétéroatome, on peut émettre l'hypothèse qu'il existe une interaction entre le sodium et l'atome d'oxygène ou de soufre, selon l'acide aminé étudié.

L'ornithine, la lysine et la δ -hydroxylysine ont des affinités cationiques très supérieures à celles des acides aminés dont la chaîne latérale contient un atome de soufre ou d'oxygène. La chaîne latérale de la lysine et de l'ornithine se termine par une fonction amine. La lysine possède quatre groupements méthylène dans sa chaîne latérale tandis que l'ornithine n'en possède que trois (**Tableau 8**). Leurs affinités cationiques respectives sont très proches l'une de l'autre, 212,5 kJ.mol⁻¹ pour l'ornithine et 220 kJ.mol⁻¹ pour la lysine. L'ajout d'une fonction méthylène modifie très peu l'affinité cationique (**Tableau 9**). Comme l'affinité cationique est élevée, il existe probablement une interaction entre l'azote de la fonction amine de la chaîne latérale et le sodium.

Acides aminés	Structure
<i>Acide aspartique</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array} $
<i>Acide glutamique</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array} $
<i>Acide homoglutamique</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array} $
<i>Asparagine</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
<i>Glutamine</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
<i>Citrulline</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
<i>Arginine</i>	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $

Tableau 10 : Structures des acides aminés à chaîne latérale fonctionnalisée contenant plusieurs hétéroatomes.

L'ajout en position δ de la chaîne latérale de la lysine d'une fonction hydroxyle induit une augmentation de l'affinité cationique de $12 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ entre la lysine ($220 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) et la δ -hydroxylysine ($232 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). Par contre, cette augmentation n'est pas significative pour émettre l'hypothèse d'une interaction entre le sodium et la fonction hydroxyle.

2.2. Acides aminés dont la chaîne latérale est fonctionnalisée avec plusieurs hétéroatomes (acide aspartique, acide glutamique, acide homoglutamique, asparagine, glutamine, citrulline et arginine)

Les déterminations des affinités cationiques expérimentales des acides aminés dont la chaîne latérale contient plusieurs hétéroatomes (**Tableau 10**) sont indiquées en **Annexe A.3**.

Les chaînes latérales de l'aspartate, du glutamate et de l'homoglutamate sont peu différentes les unes des autres (**Tableau 11**).

Acides aminés	AC_{exp} ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
Acide aspartique	201,5
Acide glutamique	204
Acide homoglutamique	209
Asparagine	226
Glutamine	231
Citrulline	255
Arginine	258

Tableau 11 : Affinités cationiques expérimentales des acides aminés dont la chaîne latérale contient plusieurs hétéroatomes.

Ces trois acides aminés possèdent tous une fonction acide carboxylique et ne diffèrent que d'un groupement méthyl de l'acide aspartique à l'acide glutamique et de l'acide glutamique à l'acide homoglutamique. L'affinité cationique augmente légèrement en fonction de la longueur de la chaîne latérale, de $201,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ pour l'acide aspartique à $204 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ pour l'acide glutamique puis à $209 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ pour l'acide homoglutamique (**Tableau 11**). Ces valeurs élevées d'affinités cationiques laissent penser qu'il existe une interaction entre le sodium et la fonction acide carboxylique de ces trois acides aminés.

L'asparagine et la glutamine ont une affinité cationique plus élevée respectivement de 226 et de 231 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**Tableau 11**). La glutamine ($231 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) a un groupement méthylène supplémentaire au niveau de la chaîne latérale par rapport à l'asparagine dont l'affinité cationique est légèrement plus faible ($226 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). La chaîne latérale de ces deux acides aminés contient une fonction amide qui est sûrement en interaction avec le sodium.

La citrulline et l'arginine ont les affinités cationiques les plus élevées, respectivement 255 et 258 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. La citrulline possède une fonction acétamide, tandis que la chaîne latérale de l'arginine est une fonction guanido. Ces affinités cationiques très élevées nous indiquent tout d'abord qu'il existe des interactions entre le sodium et la chaîne latérale et que ces interactions sont renforcées au niveau du groupement de la chaîne latérale pour la citrulline et l'arginine.

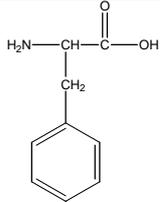
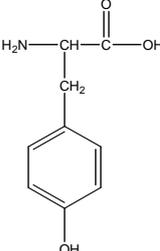
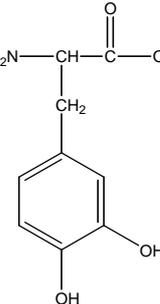
Acides aminés	Structure
<i>Phénylalanine</i>	
<i>Tyrosine</i>	
<i>3,4 diOH phénylalanine</i>	

Tableau 12 : Structures des acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle benzylique.

2.3. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle aromatique

a. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle benzylique substitué ou non. (phénylalanine, tyrosine, 3,4-dihydroxy phénylalanine)

Chaque affinité cationique a été déterminée à partir de la méthode de Cooks et les figures sont présentées en *Annexe A.4*.

Les acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau benzénique (*Tableau 12*) ont une densité électronique plus importante et par conséquent, l'affinité cationique augmente fortement, de 165 kJ.mol⁻¹ pour l'alanine³⁶ à 197 kJ.mol⁻¹ pour la phénylalanine. Dès qu'un hydrogène est remplacé par un groupement benzénique, l'affinité cationique augmente de plus de 30 kJ.mol⁻¹ (*Tableau 13*). Cette observation laisse supposer une interaction entre les électrons Π du noyau benzénique avec le sodium.

Acides aminés	AC _{exp} (kJ.mol ⁻¹)
Phénylalanine	197
Tyrosine	198
3,4 diOH phénylalanine	199

Tableau 13 : Affinités cationiques expérimentales des acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle benzylique.

L'ajout d'une fonction hydroxyle en para pour la tyrosine puis en méta pour la 3,4-dihydroxy phénylalanine n'influence que très peu l'affinité cationique. En effet, l'augmentation n'est que de 1 kJ.mol⁻¹ pour la tyrosine (198 kJ.mol⁻¹) et de 2 kJ.mol⁻¹ pour la 3,4-dihydroxy phénylalanine (199 kJ.mol⁻¹) par rapport à la phénylalanine (197 kJ.mol⁻¹). Il semble donc que seul le cycle benzylique soit impliqué dans une interaction avec le sodium et qu'aucun des hydroxyles n'interviennent. Ce résultat pouvait être attendu puisque les positions para et méta du cycle benzylique sont trop éloignées des groupements COOH et NH₂.

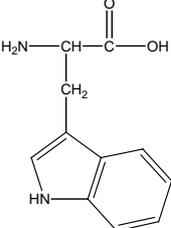
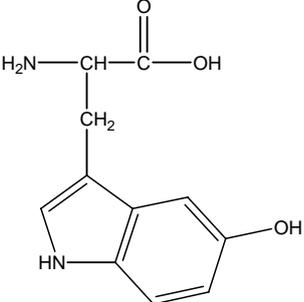
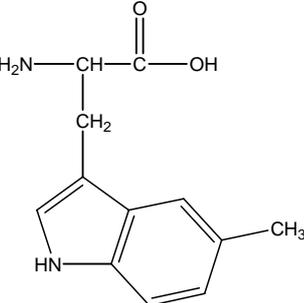
Acides aminés	Structure
<i>Tryptophane</i>	
<i>5-OH tryptophane</i>	
<i>5-CH₃ tryptophane</i>	

Tableau 14 : Structures des acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau indol.

b. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau indol (tryptophane, 5-hydroxy tryptophane, 5-méthyl tryptophane)

L'*Annexe A.4* présente les déterminations des affinités cationiques expérimentales du tryptophane et de ces deux dérivés.

Les acides aminés contenant une fonction indol sont présentés dans le *Tableau 14*. Les affinités cationiques obtenues expérimentalement sont présentées dans le *Tableau 15*.

Acides aminés	AC_{exp} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Tryptophane</i>	210 ³⁷
<i>5-OH tryptophane</i>	213
<i>5-CH₃ tryptophane</i>	214

Tableau 15 : Affinités cationiques expérimentales des acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau indol.

L'ajout d'un système indol à la place d'un benzène dans la chaîne latérale renforce l'affinité cationique, un écart de 13 kJ.mol⁻¹ est observé entre la phénylalanine et le tryptophane³⁷ (respectivement 197 et 210 kJ.mol⁻¹), (*Tableau 15*). Il semble donc exister une interaction entre le sodium et les électrons Π du noyau indol. L'affinité cationique n'augmente que de 3 kJ.mol⁻¹ pour le 5-hydroxy tryptophane (213 kJ.mol⁻¹) et de 4 kJ.mol⁻¹ pour le 5-méthyl tryptophane (214 kJ.mol⁻¹) par rapport au tryptophane³⁷ (210 kJ.mol⁻¹). La fonction hydroxyle en position 5 du tryptophane ne semble donc pas interagir avec le sodium et l'ajout d'un groupement méthyl n'a que peu d'effet sur l'affinité cationique.

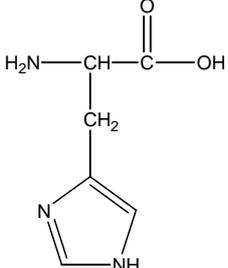
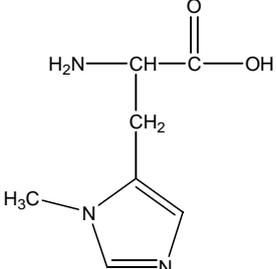
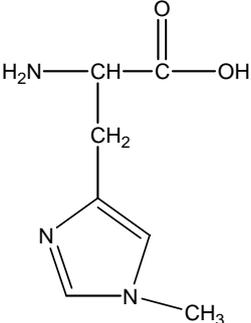
Acides aminés	Structure
<i>Histidine</i>	
<i>1-CH₃ histidine</i>	
<i>3-CH₃ histidine</i>	

Tableau 16 : Structures des acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau imidazole.

c. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau imidazole (histidine, 1-méthyl histidine, 3-méthyl histidine)

Chacune des déterminations expérimentales de l'affinité cationique pour les acides aminés étudiés sont présentées en *Annexe A.5*.

L'histidine, la 1-méthyl et la 3-méthyl histidine sont présentées *Tableau 16*. Les affinités cationiques déterminées expérimentalement sont reportées dans le *Tableau 17*.

Acides aminés	AC _{exp} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Histidine</i>	237
<i>1-CH₃ histidine</i>	202
<i>3-CH₃ histidine</i>	243

Tableau 17 : Affinités cationiques expérimentales des acides aminés dont la chaîne latérale contient un noyau imidazole.

L'ajout d'un groupement imidazole dans la chaîne latérale augmente l'affinité cationique de près de 75 kJ.mol⁻¹ (165 kJ.mol⁻¹ pour l'alanine³⁶ et 237 kJ.mol⁻¹ pour l'histidine.). L'affinité cationique passe de 210 kJ.mol⁻¹ pour le tryptophane³⁷ à 237 kJ.mol⁻¹ pour l'histidine. La différence la plus notable entre ces deux acides aminés est la présence en position 1 d'un atome d'azote dans l'hétérocycle de l'histidine, inexistant dans le tryptophane. Il semble donc que l'azote N1 de l'histidine interagisse avec le sodium. La différence observée entre l'histidine (237 kJ.mol⁻¹) et la 3-méthyl histidine (243 kJ.mol⁻¹) de l'ordre de 5 kJ.mol⁻¹ est due à la légère augmentation de la densité électronique sur le noyau imidazole. L'interaction entre le sodium et l'histidine ou la 3-méthyl histidine est donc identique. Par contre, une différence de près de 40 kJ.mol⁻¹ est observée entre l'histidine et la 1-méthyl histidine. Dans le cas de la 1-méthyl histidine, le doublet de l'azote N1 est engagé dans l'aromaticité du noyau imidazole, l'affinité cationique diminue fortement ce qui semble confirmer la participation du doublet de l'azote N1 dans l'interaction avec le sodium. Par contre, l'azote N3 ne semble pas intervenir dans l'interaction avec le sodium.

Acides aminés étudiés	AC_{exp} (kJ.mol⁻¹)
<i>Glycine</i>	160
<i>Alanine</i>	165 ³⁶
<i>Acide α aminobutyrique</i>	169 ³⁶
<i>Valine</i>	172 ³⁶
<i>Leucine</i>	173
<i>Cystéine</i>	174
<i>Isoleucine</i>	175
<i>Homocystéine</i>	179
<i>Sérine</i>	192 ³⁷
<i>Méthionine</i>	194,5
<i>Homoproline</i>	195
<i>Proline</i>	196 ³⁷
<i>4-hydroxy proline</i>	196
<i>Thréonine</i>	197 ³⁷
<i>Phénylalanine</i>	197
<i>Tyrosine</i>	198
<i>5-méthyl proline</i>	199
<i>3,4-dihydroxy phénylalanine</i>	199
<i>5-éthyl proline</i>	201
<i>1-méthyl histidine</i>	202
<i>Acide aspartique</i>	201,5
<i>5-isopropyl proline</i>	203
<i>5-(3-méthyl butyl) proline</i>	203
<i>Acide glutamique</i>	204
<i>Acide homoglutamique</i>	209
<i>Tryptophane</i>	210 ³⁷
<i>Ornithine</i>	212,5
<i>5-hydroxy tryptophane</i>	213
<i>5-carboxyméthyl proline</i>	214
<i>5-méthyl tryptophane</i>	214
<i>Lysine</i>	220
<i>Asparagine</i>	226
<i>Glutamine</i>	231
<i>δ hydroxy lysine</i>	232
<i>Histidine</i>	237
<i>3-méthyl histidine</i>	243
<i>Citrulline</i>	255
<i>Arginine</i>	258

Tableau 18 : Affinités cationiques expérimentales de l'ensemble des acides aminés étudiés

L'étude expérimentale systématique de ces acides aminés nous a permis de constater tout d'abord l'influence de la longueur de la chaîne latérale aliphatique sur l'affinité cationique. Les affinités cationiques de la proline et des prolines modifiées sont plus élevées de près de 20 kJ.mol^{-1} par rapport aux acides aminés aliphatiques dont la chaîne latérale est linéaire. Dès que la chaîne latérale contient un hétéroatome, l'affinité cationique augmente sauf s'il est en position terminale.

Pour les acides aminés aromatiques, le sodium est en interaction avec les électrons Π du noyau aromatique (cas de la phénylalanine, du tryptophane et de leurs dérivés.)

Dans le cas de l'histidine, il a été clairement montré à partir de l'étude de deux de ses dérivées (1-méthyl et 3-méthyl histidine) que le doublet électronique de l'azote N1 est en interaction avec le sodium.

Le **Tableau 18** résume l'ensemble des affinités cationiques déterminées expérimentalement pour tous les acides aminés modifiés et non modifiés étudiés.

CHAPITRE II

DETERMINATION DU PROTOCOLE DE CALCULS

1. Importance du choix du système de calcul.

Le choix de la méthode de calcul *ab initio* pour la détermination des affinités protoniques et cationiques des acides aminés est particulièrement important puisqu'il permet la validation des résultats expérimentaux et de déterminer la structure la plus probable des formes cationisées et protonées en phase gazeuse. De plus, il est indispensable d'avoir un bon compromis entre des résultats fiables et un temps de calcul raisonnable par rapport aux outils informatiques dont nous disposons. Pour choisir le système de calcul adéquat, nous avons fait une étude sur des acides aminés représentatifs. Les affinités protoniques et cationiques déterminées par calculs de ces acides aminés ont ensuite été comparées à celles déterminées expérimentalement. De nombreuses études expérimentales ont permis de déterminer une échelle d'affinité protonique des acides aminés¹⁰⁰⁻¹⁰⁵, par contre, il existe très peu de valeurs expérimentales d'affinités cationiques des acides aminés pour le sodium, sauf pour celles de la glycine, de l'alanine, de l'acide α aminobutyrique et de la valine déterminées par Bojesen *et al*³⁶. en 1993. Nous avons donc choisi de déterminer le système de calcul le mieux adapté à notre étude à partir tout d'abord de la détermination des affinités protoniques puis cationiques d'acides aminés représentatifs. Chacun de ces acides aminés neutres, protonés et cationisés a été étudié avec trois niveaux de calculs différents : Hartree-Fock (HF), Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (*Density Functional Theory*, DFT) et Möller-Plesset du 2^{ème} ordre (MP2). Ces trois niveaux théoriques ont été combinés avec différentes bases, double ou triple- ξ , avec des fonctions de polarisation et avec ou sans fonction diffuse pour les atomes lourds.

¹⁰⁰ C.Afonso, F.Modeste, P.Breton, F.Fournier, J-C.Tabet. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2000**, 6, 443.

¹⁰¹ E.P.Hunter, S.G.Lias. *Proton Affinity Evaluation*. In NIST Chemistry WebbBook, NIST ; Standard Reference Database No. 69 ; W.G.Mallard, P.J.Linstrom, Eds. ; National Institute of Standards and Technology : Gaithersburg, MD, **November 1998**.

¹⁰² M.Meot-Ner, L.W.Sieck. *J.Am.Chem.Soc.* **1991**, 113, 4448

¹⁰³ S.G.Lias, L.F.Liebman, R.D.Levin. *J.Chem.Ref.Data.* **1984**, 13, 695

¹⁰⁴ X.Li, A.G.Harrison. *Org.Mass Spectrom.* **1993**, 28, 366

¹⁰⁵ S.Mezzache, C.Afonso, C.Pepe, P.Karoyan, F.Fournier, J-C.Tabet. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **2003**, 17, 1626

Les résultats obtenus pour l'affinité protonique et cationique pour chacun des acides aminés étudiés ont été comparés avec les résultats expérimentaux obtenus par ESI/ITMS.

L'affinité cationique (AC) ou protonique (AP) correspond à la variation d'enthalpie ($\Delta_r H_{298}$) pour la réaction :

- pour l'AC :



$$\Delta_r H_{298} = E_{el}(M) + E_{el}(Na^+) - E_{el}(MNa^+)$$

- pour l'AP :



$$\Delta_r H_{298} = E_{el}(M) - E_{el}(MH^+)$$

Pour H^+ , l'énergie électronique est évidemment nulle et le seul terme d'énergie non nul est la différence d'énergie de translation¹⁰⁶, dont la valeur est égale à $3/2 RT \approx 3,7 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

Dans chaque cas, la correction thermique à 298 K a été effectuée, le point d'énergie vibrationnelle zéro (Zero Point Vibrational Energy, ZPVE) et la correction BSSE, dans le cas du calcul des affinités cationiques, ont été calculés. Les calculs *ab initio* ont été effectués à partir du logiciel Gaussian 98¹⁰⁷ sur un système LINUX (2Ghz, 2 GB de RAM). Toutes les géométries (neutres, protonées et cationisées) ont été optimisées avec la DFT, en utilisant la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G*, ce système étant un standard reconnu pour les optimisations de géométrie¹⁰⁸ dans le cadre de mon étude.

¹⁰⁶ J.B.Foresman, A.Frisch. *In Exploring Chemistry with Electronic Structure Method (2nd edn.)* Gaussian Inc.: Pittsburgh, PA, **1996** ; chap.8.

¹⁰⁷ M.J.Frisch, G.W.Trucks, H.B.Schlegel, G.E.Scuseria, M.A.Robb, J.R.Cheeseman, V.G.Zakrzewski, J.A.Montgomery, R.E.Stratmann Jr, J.C.Burant, S.Dapprich, J.M.Millam, A.D.Daniels, K.N.Kudin, M.C.Strain, O.Farkas, J.Tomasi, V.Barone, M.Cossi, R.Cammi, B.Mennucci, C.Pomelli, C.Adamo, S.Clifford, J.Ochterski, G.A.Petersson, P.Y.Ayala, Q.Cui, K.Morokuma, N.Regal, P.Salvador, J.J.Dannenberg, D.K.Malick, A.D.Rabuck, K.Raghavachari, J.B.Foresman, J.Cioslowski, J.V.Ortiz, A.G.Baboul, B.B.Stefanov, G.Liu, A.Liashenko, P.Piskorz, I.Komaromi, R.Gomperts, R.L.Martin, D.J.Fox, T.Keith, M.A.Al-Laham, C.Y.Peng, A.Nanayakkara, M.Challacombe, P.M.W.Gill, B.Johnson, W.Chen, M.W.Wong, J.L.Andres, C.Gonzalez, M.Head-Gordon, E.S.Replogle, J.A.Pople. *Gaussian 98 (Revision A.7)*. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2002**.

¹⁰⁸ C.Pepe, S.Rochut, J-P.Paumard, J-C.Tabet. *Rapid Commu.Mass Spectrom.* **2004**, *18*, 307.

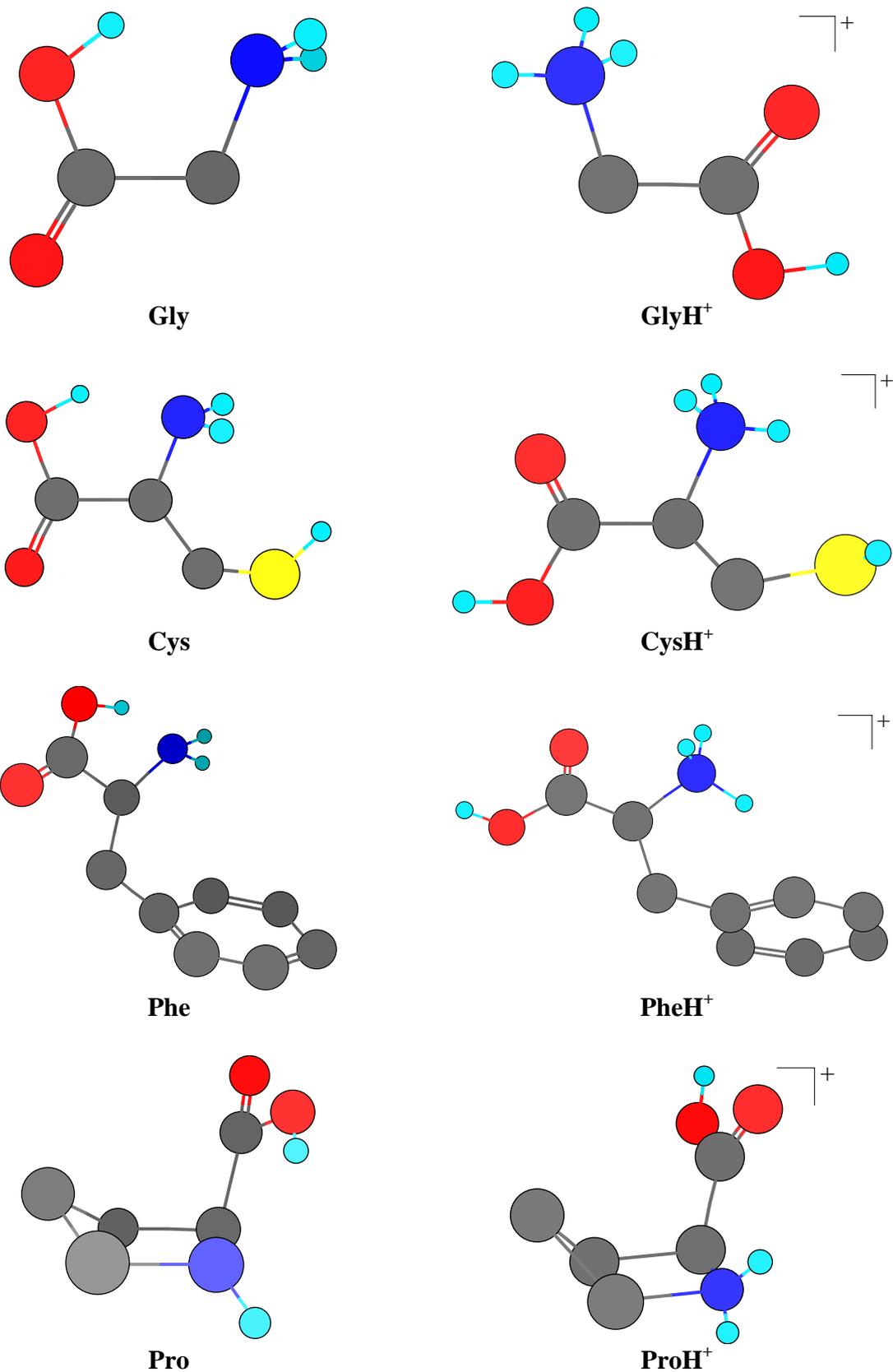


Figure 21 : Structures neutres et protonées les plus stables des quatre acides aminés étudiés.

Les atomes d'hydrogène des atomes de carbone ne sont pas représentés.

2. Détermination du choix de la méthode de calcul.

Plusieurs essais ont été menés sur l'affinité protonique afin de déterminer le niveau théorique permettant de trouver des valeurs calculées les plus proches possibles de celles trouvées expérimentalement et ce, en un temps raisonnable. D'après la littérature concernant les expériences faites sur un ESI/ITMS, les affinités protoniques de la glycine, de la cystéine, de la proline et de la phénylalanine ont pu être déterminées. Ces essais ont donc été effectués sur ces quatre acides aminés dont les affinités protoniques sont de 888 kJ.mol^{-1} pour la glycine¹⁰⁰⁻¹⁰³, 897 kJ.mol^{-1} pour la cystéine^{100,101,103,104}, 920 kJ.mol^{-1} pour la phénylalanine^{100,101,104} et 936 kJ.mol^{-1} pour la proline^{100,105}. Les géométries les plus stables pour les formes neutres et protonées de ces quatre acides aminés obtenues au niveau B3LYP/6-31G* sont présentées **Figure 21**.

Pour chacun des ces acides aminés, la différence d'affinité protonique obtenue expérimentalement et théoriquement a été déterminée pour chaque niveau théorique utilisé (HF, DFT et MP2) avec les bases 6-31G*, 6-31+G* et 6-311+G*.

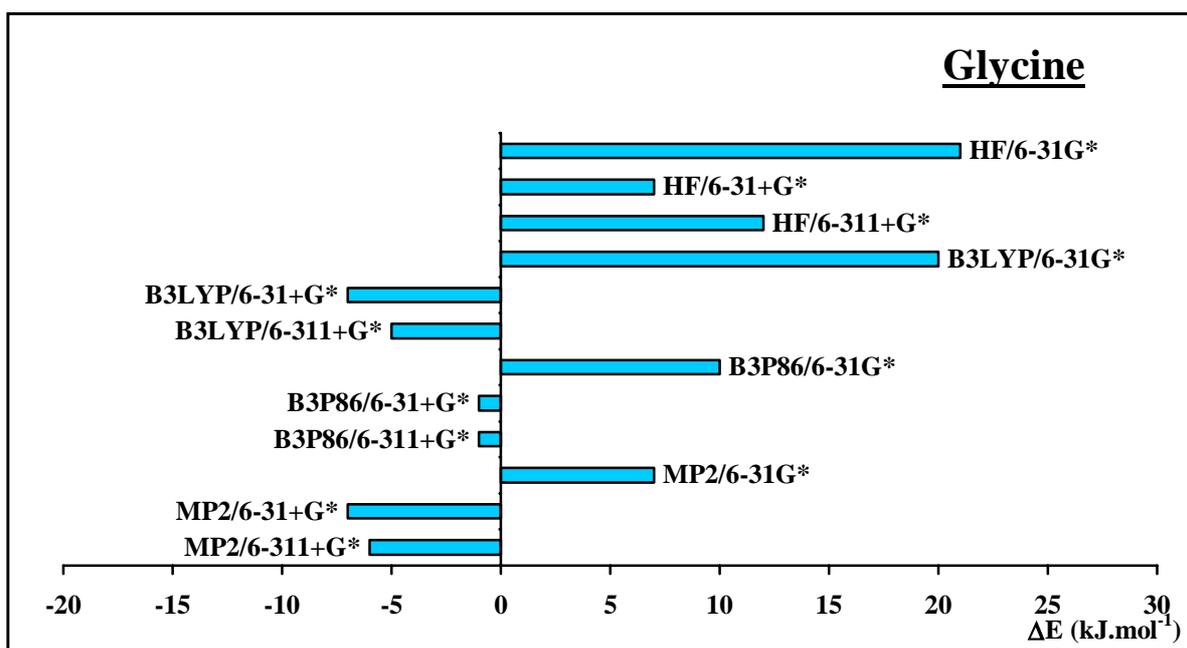


Figure 23 : Différences ΔE en kJ.mol⁻¹ obtenues entre l'affinité protonique calculée à différents niveaux de théorie avec différentes bases et l'affinité protonique expérimentale de la glycine.

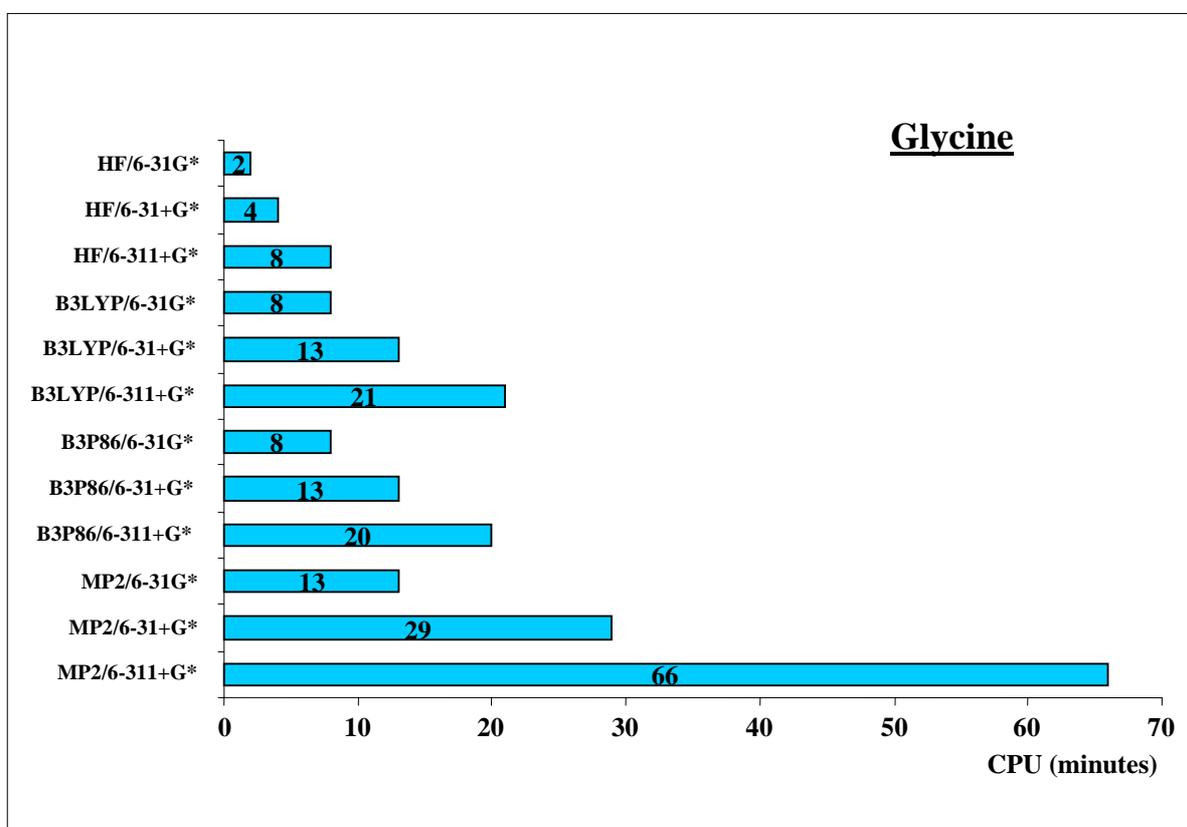


Figure 24 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie avec chaque base étudiée pour la forme protonée de la glycine.

2.1. Etude de la glycine

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et protonées pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.6*.

Les valeurs des affinités protoniques calculées à partir des différentes méthodes sont présentées dans la *Figure 22*.

Les différences obtenues entre les valeurs calculées et expérimentales pour la glycine à différents niveaux de calculs sont présentées dans la *Figure 23*. Les temps de calcul nécessaires pour chaque système étudié sont présentés dans la *Figure 24*.

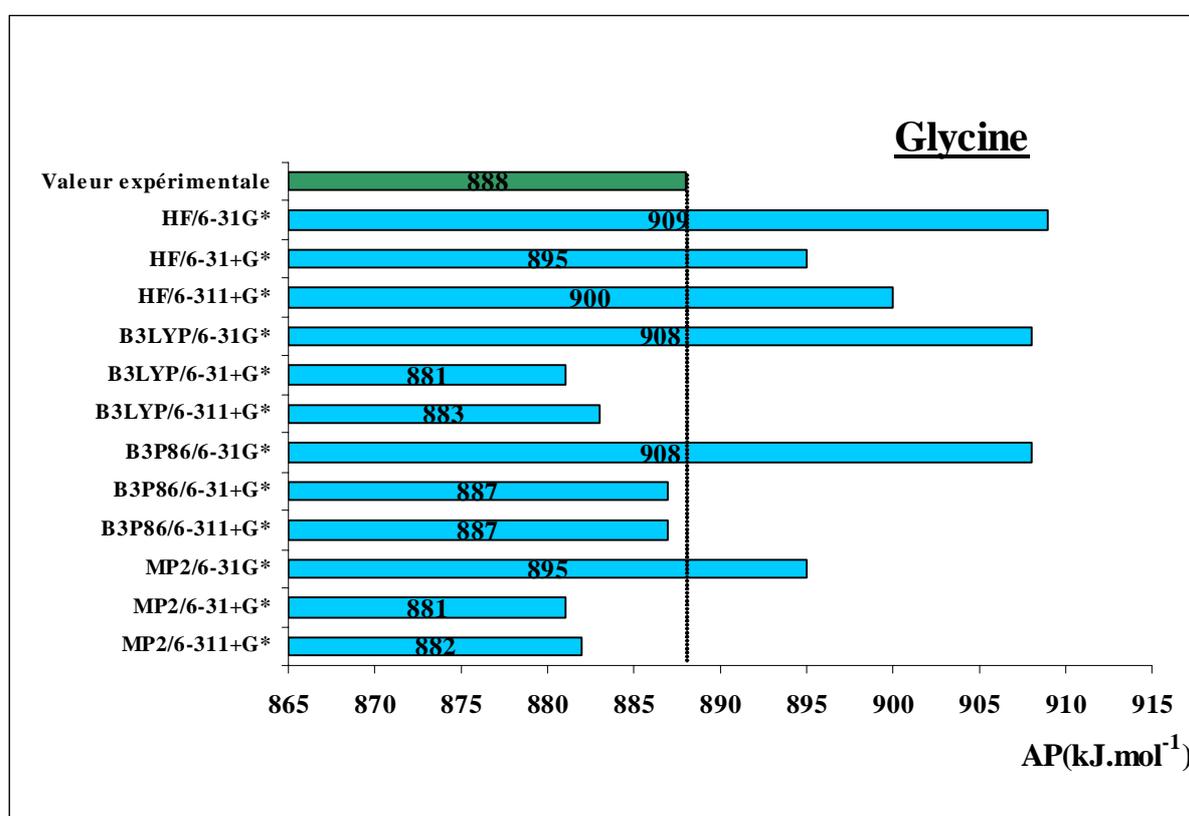


Figure 22 : Affinités protoniques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie combiné à différentes bases pour la glycine.

Avec la méthode Hartree-Fock, l'écart entre les valeurs calculées et expérimentales varie de 7 à 21 kJ.mol⁻¹ en fonction de la base utilisée : respectivement, 909 kJ.mol⁻¹ pour l'affinité protonique (AP) calculée avec le système HF/6-31G*, 895 kJ.mol⁻¹ avec le système HF/6-31+G* et 900 kJ.mol⁻¹ avec le système HF/6-311+G* pour une AP_{exp} = 888 kJ.mol⁻¹.

Les résultats obtenus avec la DFT varient aussi en fonction de la fonctionnelle utilisée. Les différences observées par rapport à la valeur expérimentale sont de 20 kJ.mol^{-1} avec le système B3LYP/6-31G*, 7 kJ.mol^{-1} avec le système B3LYP/6-31+G* et 6 kJ.mol^{-1} avec le système B3LYP/6-311+G*. Pour la fonctionnelle B3P86, les résultats obtenus avec la base 6-31G* ne sont pas en excellent accord avec les résultats expérimentaux ($\Delta E = 10 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Par contre, les résultats calculés à partir des systèmes B3P86/6-31+G* et B3P86/6-311+G* (887 kJ.mol^{-1} pour ces deux méthodes) sont en excellent accord avec les résultats expérimentaux (888 kJ.mol^{-1}).

Les résultats des calculs à partir de la méthode MP2 sont en moins bon accord avec les résultats expérimentaux quelque soit la base utilisée : 895 kJ.mol^{-1} avec le système MP2/6-31G*, 881 kJ.mol^{-1} avec le système MP2/6-31+G* et 882 kJ.mol^{-1} avec le système MP2/6-311+G*.

Les temps de calcul (*Figure 24*) obtenus pour les deux systèmes nous donnant la meilleure corrélation entre les résultats expérimentaux et théoriques (les systèmes B3P86/6-31+G* ou 6-311+G*) montrent que le système B3P86/6-31+G* donne le meilleur compromis entre le temps de calcul et la corrélation avec les résultats expérimentaux. En effet, il faut près d'un tiers de temps en plus pour effectuer le calcul avec le système B3P86/6-311+G* qu'avec le système B3P86/6-31+G* (respectivement 20 et 13 minutes de calcul) pour obtenir une affinité protonique identique (887 kJ.mol^{-1}).

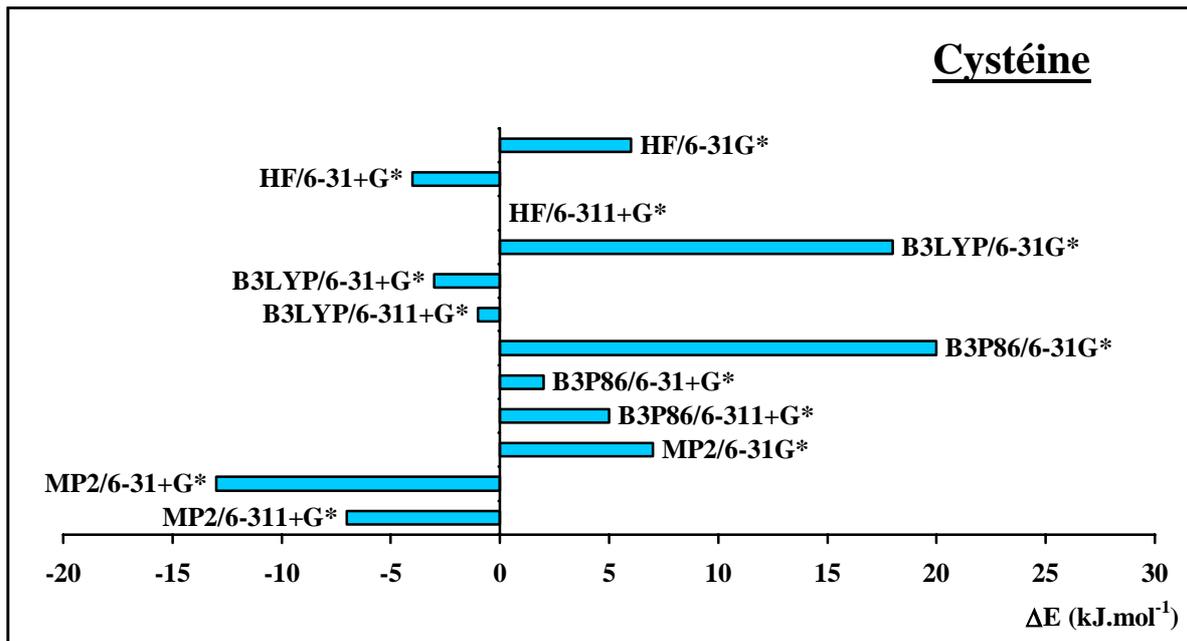


Figure 26 : Différences ΔE en kJ.mol^{-1} obtenues entre l'affinité protonique calculée à différents niveaux de théorie avec différentes bases et l'affinité protonique expérimentale de la cystéine.

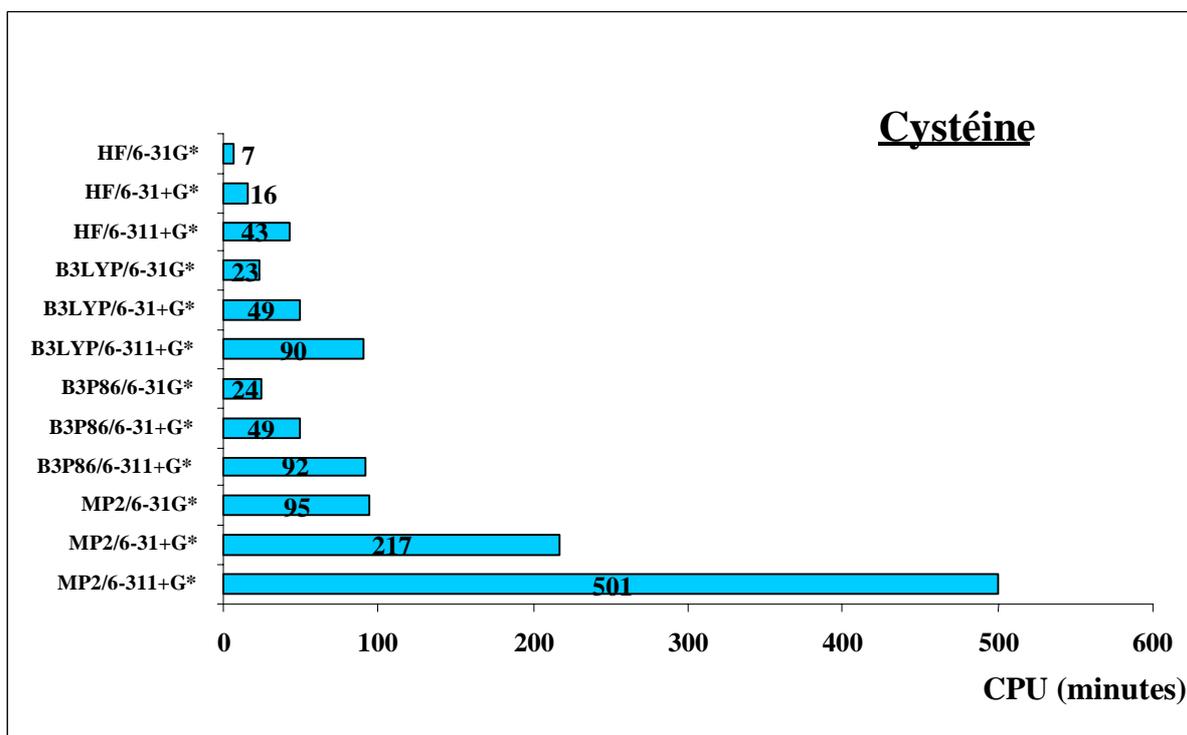


Figure 27 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie avec chaque base étudiée pour la forme protonée de la cystéine.

2.2. Etude de la cystéine

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et protonées de la cystéine pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.6*.

Les résultats d'affinité protonique de la cystéine en fonction de la méthode de calcul utilisée sont présentés dans la *Figure 25*. Les différences d'énergies entre les résultats calculés et l'affinité protonique expérimentale sont présentées *Figure 26* et les temps de calcul des énergies sont présentés *Figure 27*.

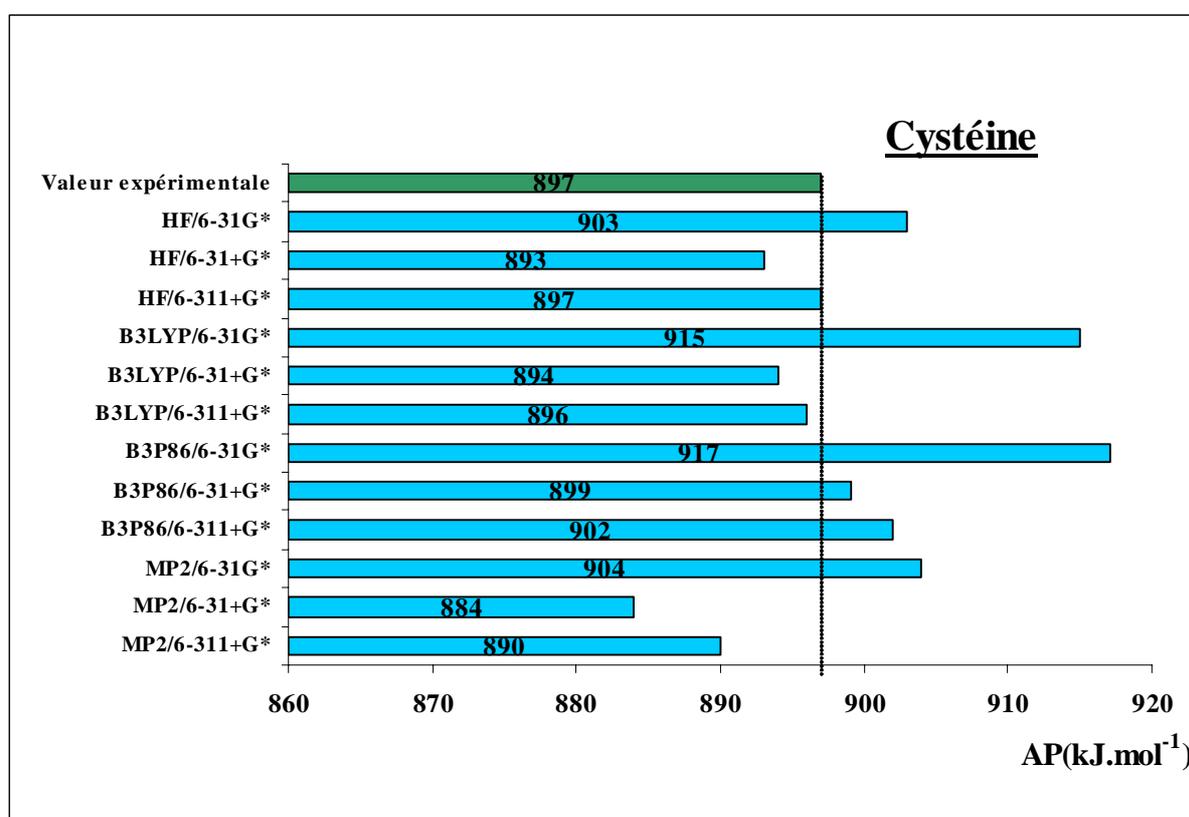


Figure 25 : Affinités protoniques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie combiné à différentes bases pour la cystéine.

Avec la méthode Hartree-Fock, de manière surprenante, une excellente corrélation est obtenue entre l'affinité protonique expérimentale et celle obtenue avec le système HF/6-311+G*.

Avec les systèmes pour lesquels interviennent une base double- ξ , les différences d'AP sont de 6 kJ.mol⁻¹ pour le système HF/6-31G* et 4 kJ.mol⁻¹ pour le système HF/6-31+G*.

Dans le cas de la DFT, avec la fonctionnelle B3LYP, on obtient près de 20 kJ.mol⁻¹ d'écart entre l'affinité protonique expérimentale (897 kJ.mol⁻¹) et l'affinité protonique calculée avec le système B3LYP/6-31G* (915 kJ.mol⁻¹). Par contre, dès que le système de calcul fait intervenir une fonction diffuse, on obtient une bonne corrélation avec l'affinité protonique expérimentale de la cystéine : 894 kJ.mol⁻¹ avec le système B3LYP/6-31+G* et 896 kJ.mol⁻¹ avec le système B3LYP/6-311+G* pour une AP_{exp} de 897 kJ.mol⁻¹. On observe la même tendance avec la fonctionnelle B3P86. L'affinité protonique calculée avec le système B3P86/6-31+G* est de 899 kJ.mol⁻¹ et de 902 kJ.mol⁻¹ avec le système B3P86/6-311+G*. Dans ces deux cas, une bonne corrélation est obtenue entre l'affinité protonique expérimentale et théorique.

Avec la méthode MP2, l'écart entre les valeurs calculées et l'affinité protonique expérimentale varie de 4 à 7 kJ.mol⁻¹ en fonction de la base utilisée ce qui est une très bonne corrélation.

Dans le cas de la cystéine, une très bonne corrélation est obtenue de manière inattendue entre l'affinité protonique expérimentale et les résultats calculés avec la méthode Hartree-Fock. De plus, les temps de calcul nécessaires indiqués dans la **Figure 27** montre que le meilleur compromis est obtenu avec la méthode Hartree-Fock associée à une base double ou triple- ξ avec fonction diffuse pour un temps de calcul respectivement de 16 et 43 minutes. Les résultats obtenus avec la DFT associée à une base double ou triple- ξ avec fonction diffuse sont également en accord avec les résultats expérimentaux mais pour des temps de calcul beaucoup plus long, de l'ordre de 50 minutes pour les systèmes B3LYP/6-31+G* et B3P86/6-31+G* et de 90 minutes pour les systèmes B3LYP/6-311+G* et B3P86/6-311+G*.

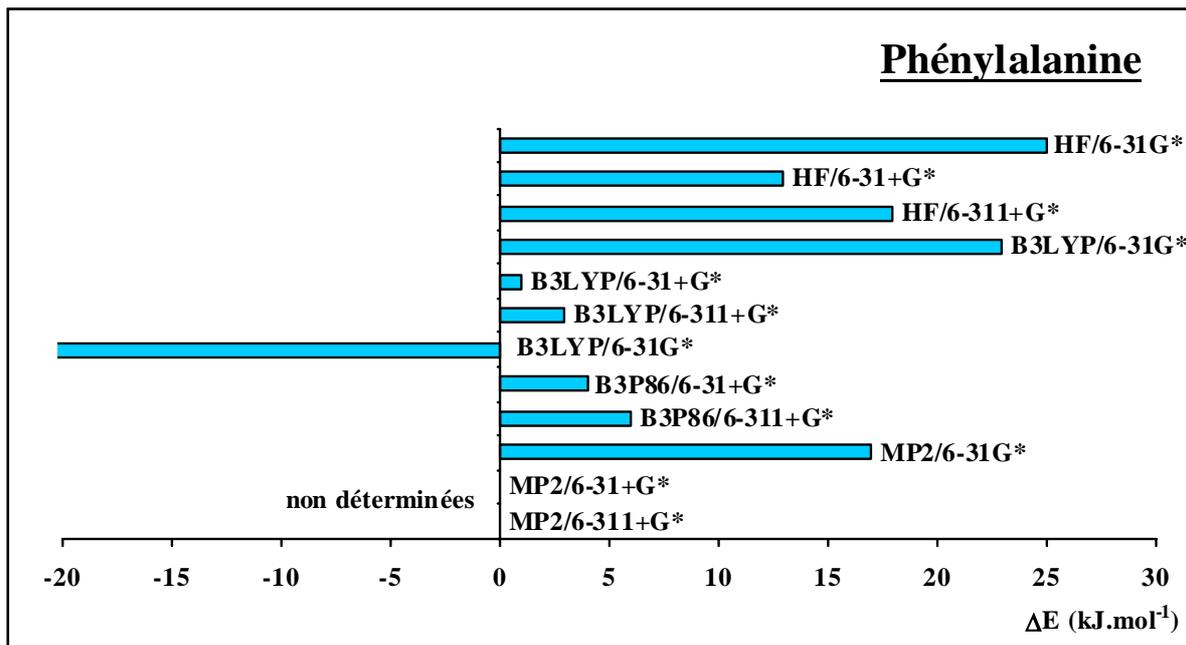


Figure 29 : Différences ΔE en kJ.mol⁻¹ obtenues entre l'affinité protonique calculée à différents niveaux de théorie avec différentes bases et l'affinité protonique expérimentale de la phénylalanine.

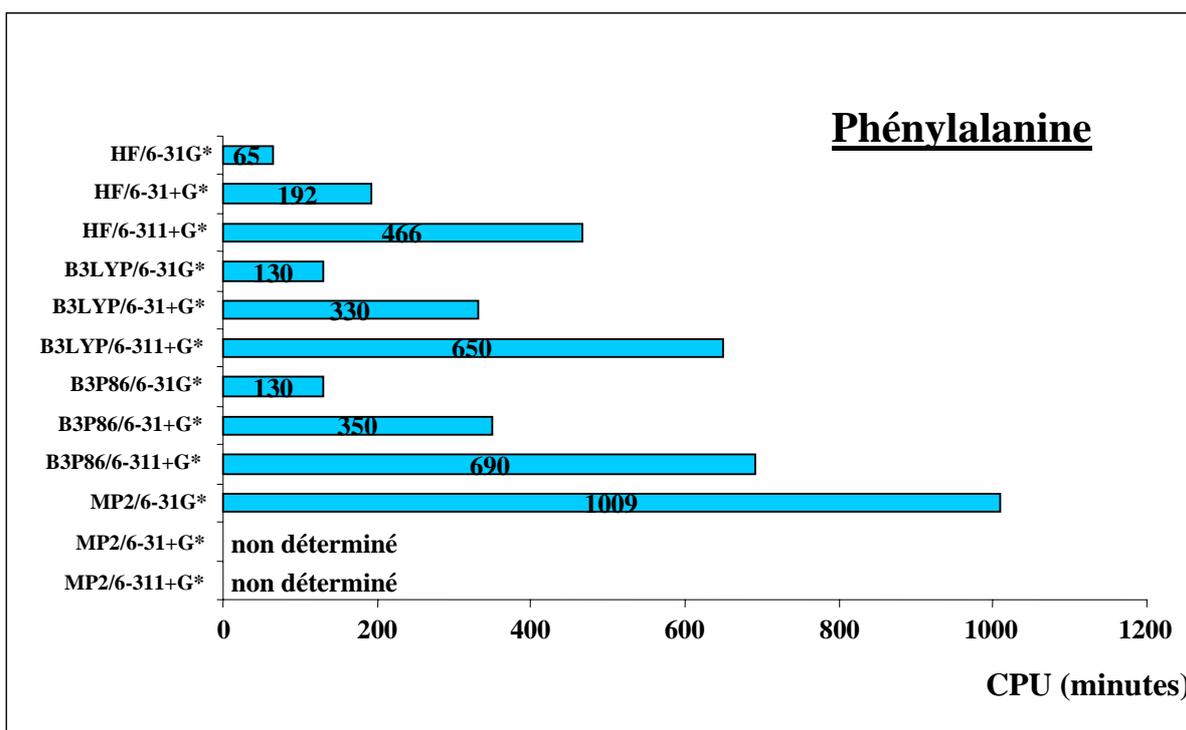


Figure 30 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie avec chaque base étudiée pour la forme protonée de la phénylalanine.

2.3. Etude de la phénylalanine

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et protonées de la phénylalanine pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.7*.

Les affinités protoniques calculées de la phénylalanine sont présentées dans la *Figure 28*. Les différences entre les énergies des affinités protoniques calculées et l'affinité protonique expérimentale sont présentées *Figure 29* et les temps de calculs sont présentés *Figure 30*.

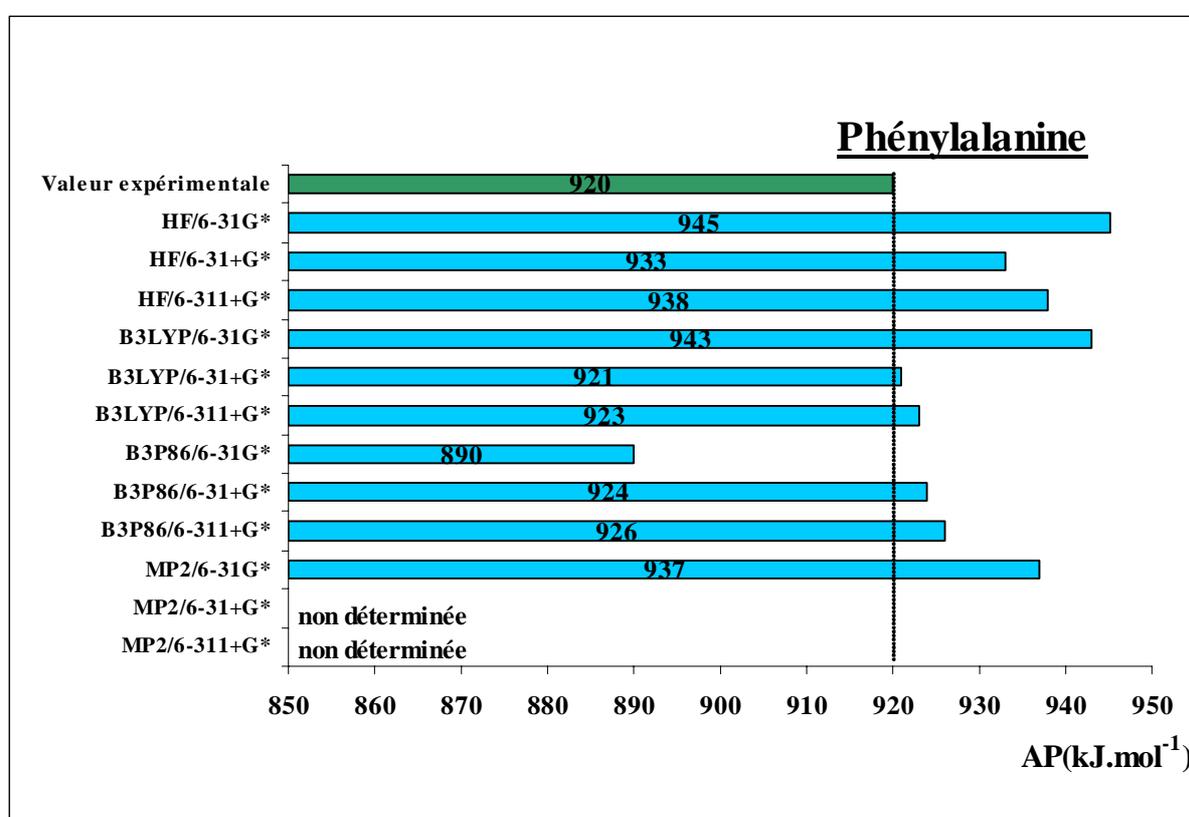


Figure 28 : Affinités protoniques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie combiné à différentes bases pour la phénylalanine.

Avec la méthode HF, l'écart entre les valeurs calculées et l'AP expérimentale est très élevé. Il varie de 13 à 25 kJ.mol⁻¹ en fonction de la base utilisée.

Avec la DFT, si la base utilisée avec chacune des deux fonctionnelles étudiées ne fait pas intervenir de fonction diffuse, les écarts entre les résultats calculés et l'affinité protonique sont très importants. Avec la fonctionnelle B3LYP, dès que les bases utilisées font intervenir une

fonction diffuse sur les atomes lourds, les résultats calculés sont en accord avec les résultats expérimentaux. On obtient 921 et 923 kJ.mol⁻¹ pour les systèmes B3LYP/6-31+G* et B3LYP/6-311+G*. Pour la fonctionnelle B3P86, l'AP calculée avec la base double- ξ est en meilleur accord avec l'AP_{exp} que celle obtenue avec la base triple- ξ (respectivement 924 et 926 kJ.mol⁻¹ pour une AP_{exp} de 920 kJ.mol⁻¹).

Les résultats des calculs avec la méthode MP2 n'ont pas pu être obtenus avec les appareils dont nous disposons. En effet, ce système nous conduit à des calculs contenant un nombre trop important de fonctions de base (252) et de primitives gaussiennes (432). Seul le système MP2/6-31G* a pu être utilisé et le résultat obtenu n'est pas en très bon accord avec l'affinité protonique expérimentale (respectivement 937 et 920 kJ.mol⁻¹).

La meilleure corrélation entre les résultats calculés et expérimentaux est obtenue avec la DFT (B3LYP ou B3P86) associée à la base 6-31+G* ou 6-311+G*.

Le temps de calcul (*Figure 30*) varie du simple au double en fonction de la base utilisée (330 minutes pour les systèmes B3LYP/6-31+G* et B3P86/6-31+G*, 650 et 690 minutes respectivement pour le système B3LYP/6-311+G* et B3P86/6-311+G*). Le meilleur compromis entre le temps de calcul et la corrélation avec les résultats expérimentaux est donc obtenu avec la DFT en utilisant les fonctionnelles B3LYP ou B3P86 associée à la base 6-31+G*.

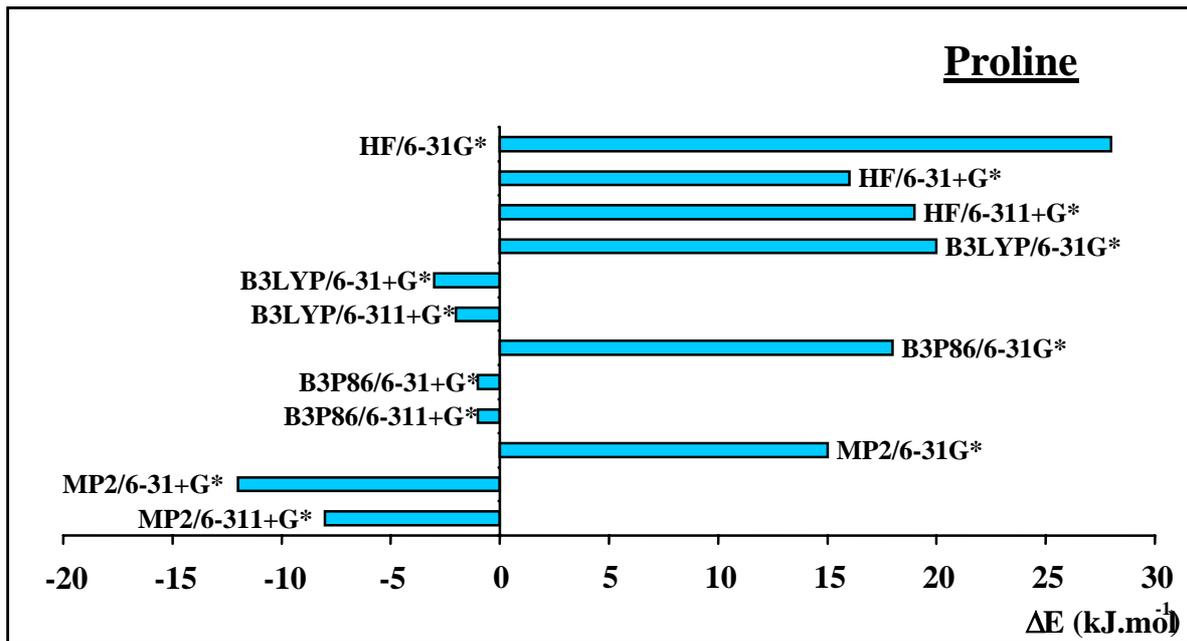


Figure 32 : Différences ΔE en kJ.mol^{-1} obtenues entre l'affinité protonique calculée à différents niveaux de théorie avec différentes bases et l'affinité protonique expérimentale de la proline.

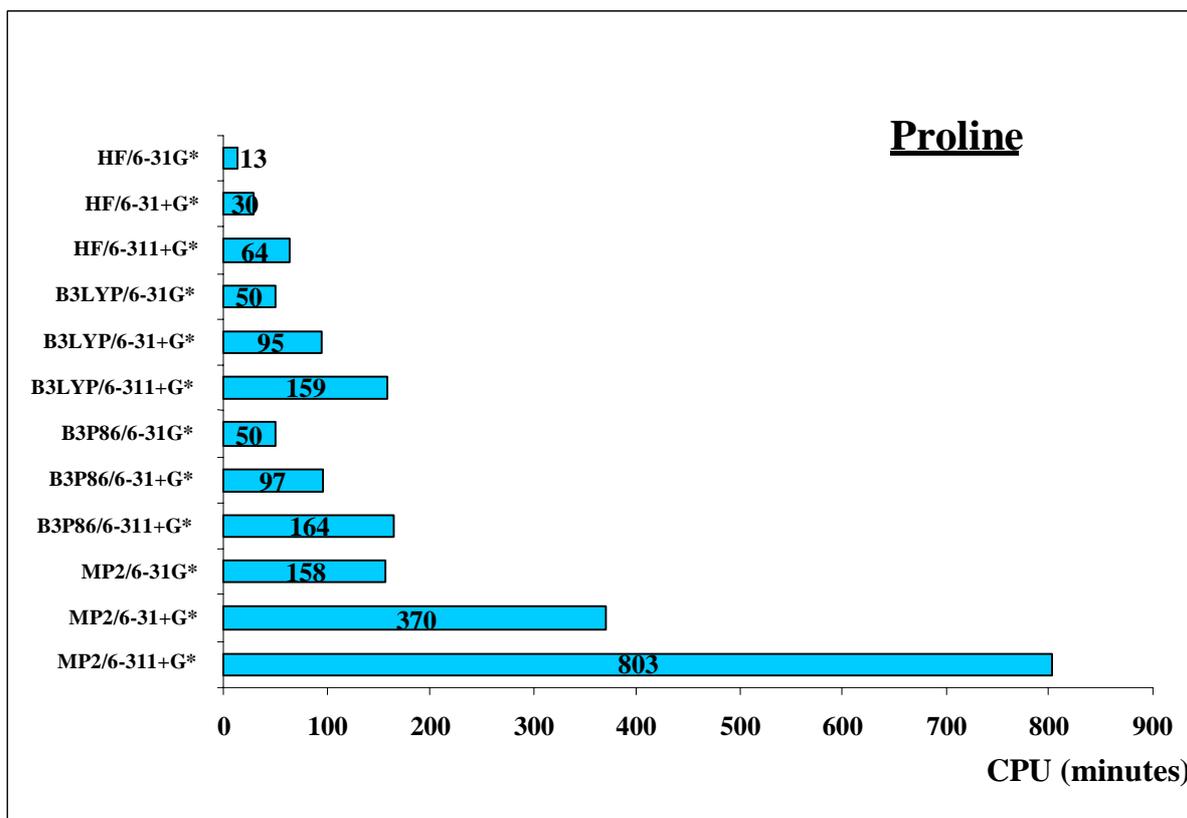


Figure 33 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie avec chaque base étudiée pour la forme protonée de la proline.

2.4. Etude de la proline

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et protonées de la proline pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.7*.

Les affinités protoniques calculées sont présentées dans la *Figure 31*. Les différences entre les énergies des affinités protoniques calculées et les affinités protoniques expérimentales sont présentées *Figure 32*, les temps de calculs sont présentés *Figure 33*.

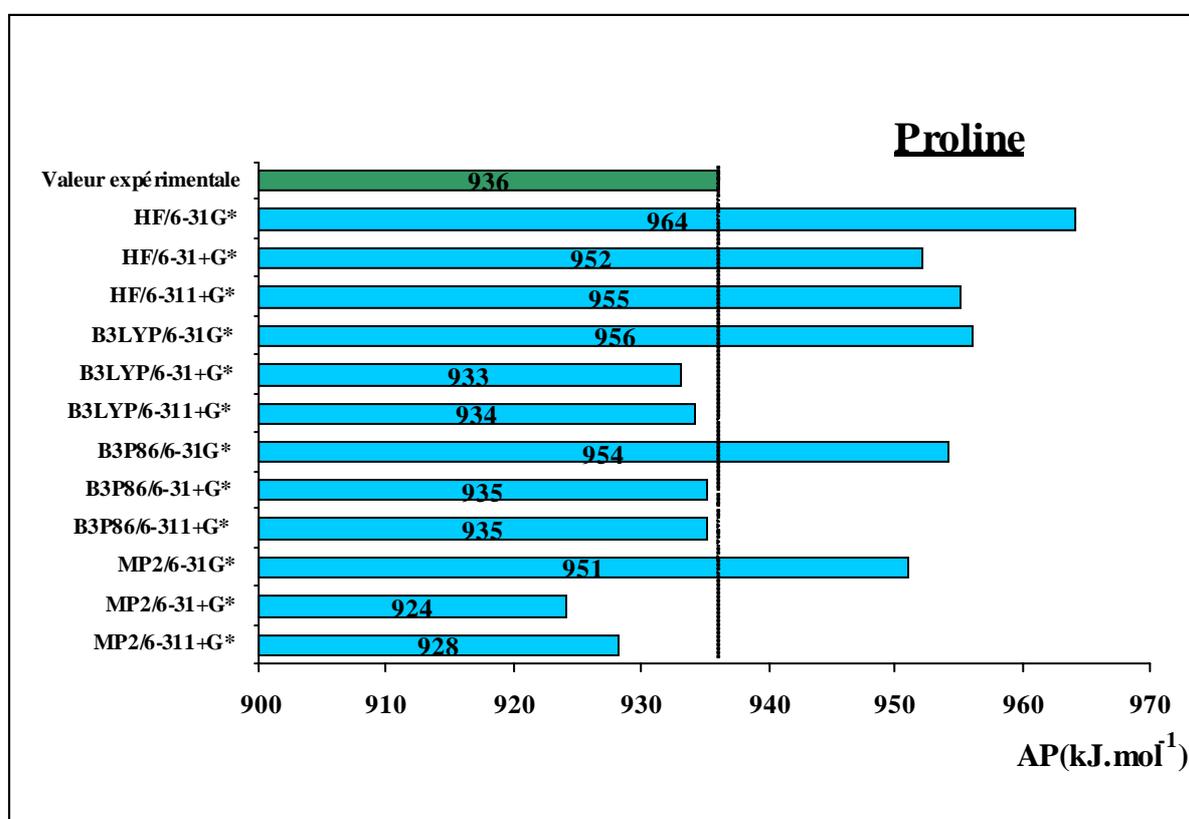


Figure 31 : Affinités protoniques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie combiné à différentes bases pour la proline.

Avec la méthode Hartree-Fock, l'écart entre les valeurs calculées et l'AP expérimentale est très élevé : en effet, il varie de 16 à 28 kJ.mol⁻¹ en fonction de la base utilisée (respectivement, 964 kJ.mol⁻¹ pour l'AP calculée avec le système HF/6-31G*, 952 kJ.mol⁻¹ avec le système HF/6-31+G* et 955 kJ.mol⁻¹ avec le système HF/6-311+G*, pour une affinité protonique expérimentale de 936 kJ.mol⁻¹ pour la proline.).

Les résultats obtenus avec la DFT (B3LYP et B3P86) associée à la base 6-31G* ne sont pas en accord avec les résultats expérimentaux : on obtient respectivement 956 et 954 kJ.mol⁻¹ pour une AP_{exp}(Proline) = 936 kJ.mol⁻¹. L'introduction d'une fonction diffuse permet, pour chaque fonctionnelle, d'obtenir une AP proche de l'AP expérimentale (de 933 à 935 kJ.mol⁻¹). La méthode MP2 associée à chacune des trois bases étudiées, double ou triple- ξ , avec des fonctions de polarisation avec ou sans fonction diffuse pour les atomes lourds, ne donne dans aucun de ces trois cas une très bonne corrélation avec les résultats expérimentaux ; on obtient 951 kJ.mol⁻¹ pour l'AP calculée avec le système MP2/6-31G*, 924 kJ.mol⁻¹ avec le système MP2/6-31+G* et 928 kJ.mol⁻¹ avec le système MP2/6-311+G*.

La meilleure corrélation est donc obtenue une nouvelle fois avec la DFT associée à une base double ou triple- ξ avec des fonctions de polarisations et une fonction diffuse. Le temps de calcul nécessaire (*Figure 33*) est presque deux fois plus important pour une base triple- ξ que pour une base double- ξ : il faut près de 100 minutes pour les systèmes B3LYP/6-31+G* et B3P86/6-31+G* et plus de 160 minutes pour les fonctionnelles associées aux bases triple- ξ .

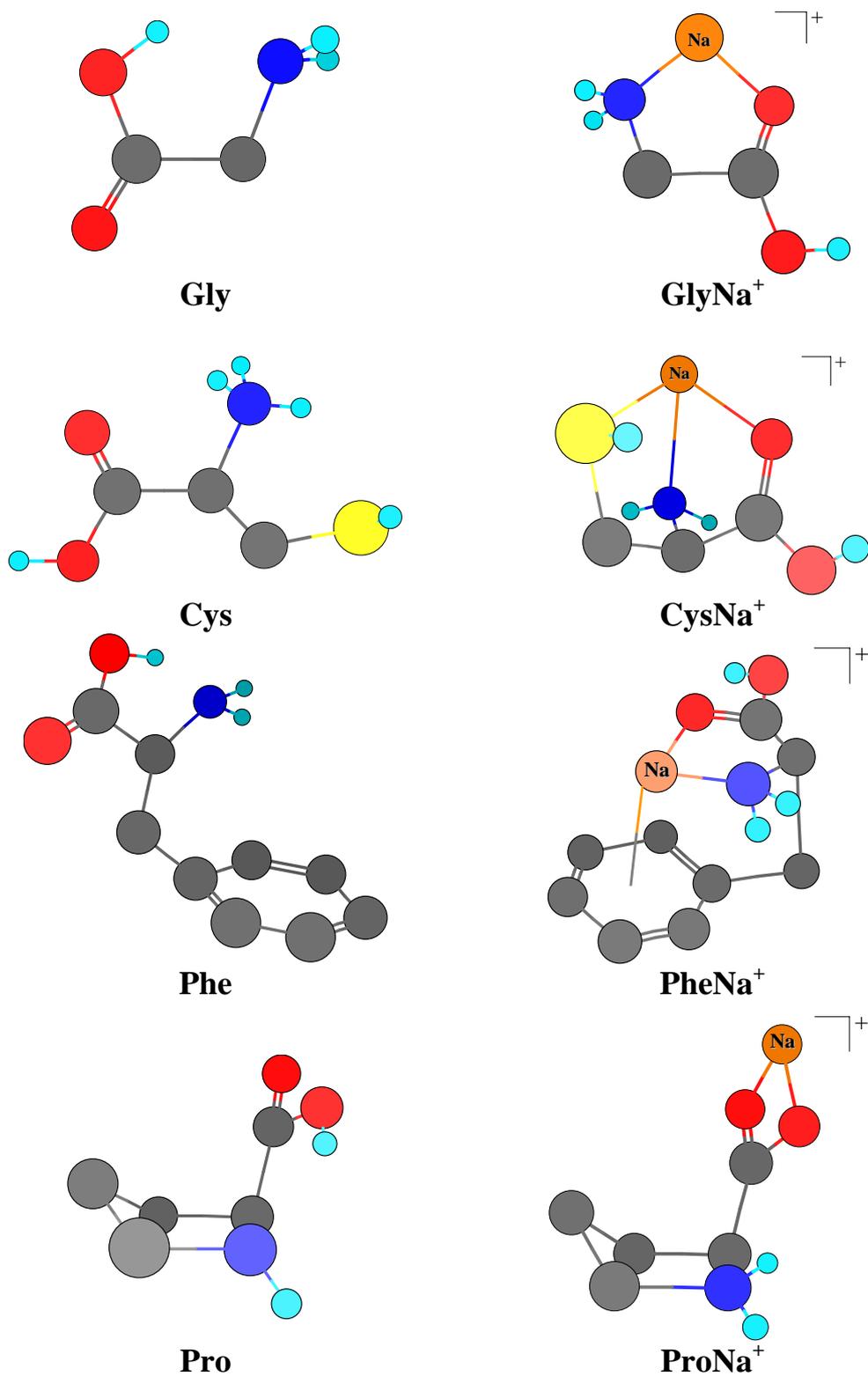


Figure 34 : Structures des formes neutres et cationisées les plus stables des quatre acides aminés étudiés.

Les atomes d'hydrogène des atomes de carbone ne sont pas représentés.

2.5. Méthode retenue

L'ensemble des résultats théoriques obtenu pour quelques acides aminés montre que l'affinité protonique calculée à partir de la DFT avec la fonctionnelle B3P86 associée à la base 6-31+G* est celle qui permet d'obtenir une bonne corrélation entre la valeur expérimentale et celle calculée et un bon compromis entre le temps de calcul et la valeur trouvée expérimentalement.

3. Choix de la base.

Une étude similaire a été menée sur l'affinité cationique d'acides aminés. Il a fallu déterminer de la même manière que précédemment un système de calcul approprié permettant d'obtenir une affinité cationique compatible avec celle obtenue expérimentalement et en un temps raisonnable.

L'affinité cationique des quatre acides aminés étudiés précédemment a été déterminée dans chaque cas, la base utilisée a été la base précédemment sélectionnée (6-31+G*), seul le niveau théorique a été variable : HF, DFT ou MP2. Les formes les plus stables des quatre acides aminés étudiés sont présentées dans le *Figure 34*.

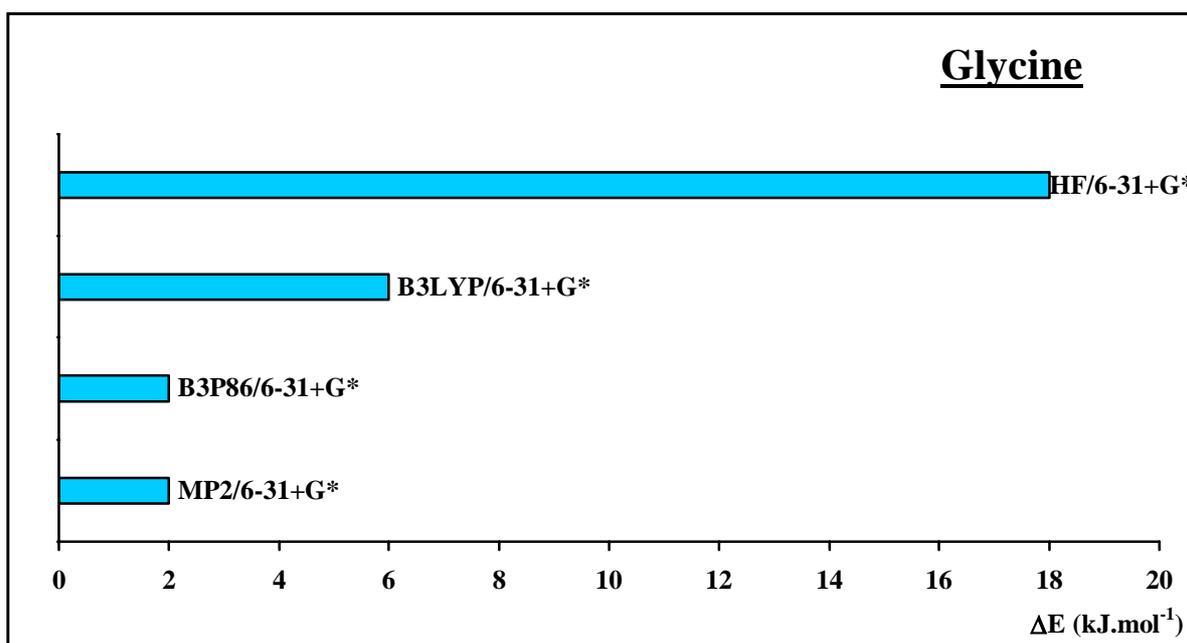


Figure 36 : Différences ΔE en kJ.mol⁻¹ obtenues entre l'affinité cationique calculée à différents niveaux de théorie et l'affinité cationique expérimentale de la glycine.

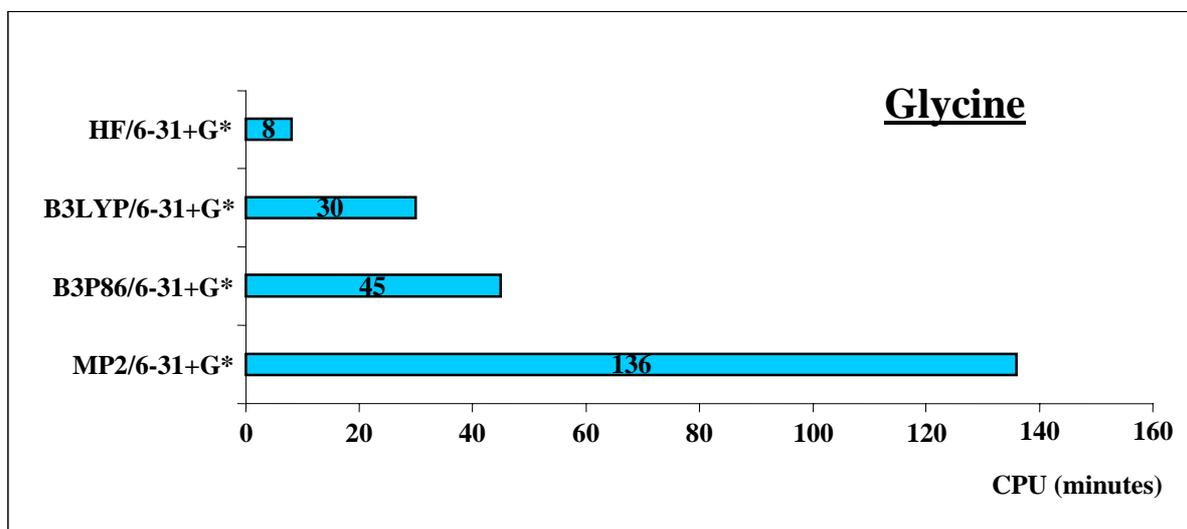


Figure 37 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie pour la forme cationisée de la glycine.

3.1. Etude de la glycine

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et cationisées de la glycine pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.8*. Pour la glycine, la correction BSSE diminue de 3 à 6 kJ.mol⁻¹ l'affinité cationique calculée. La *Figure 35* et la *Figure 36* montrent que les systèmes B3P86/6-31+G* et MP2/6-31+G* donnent la meilleure corrélation avec l'affinité cationique expérimentale.

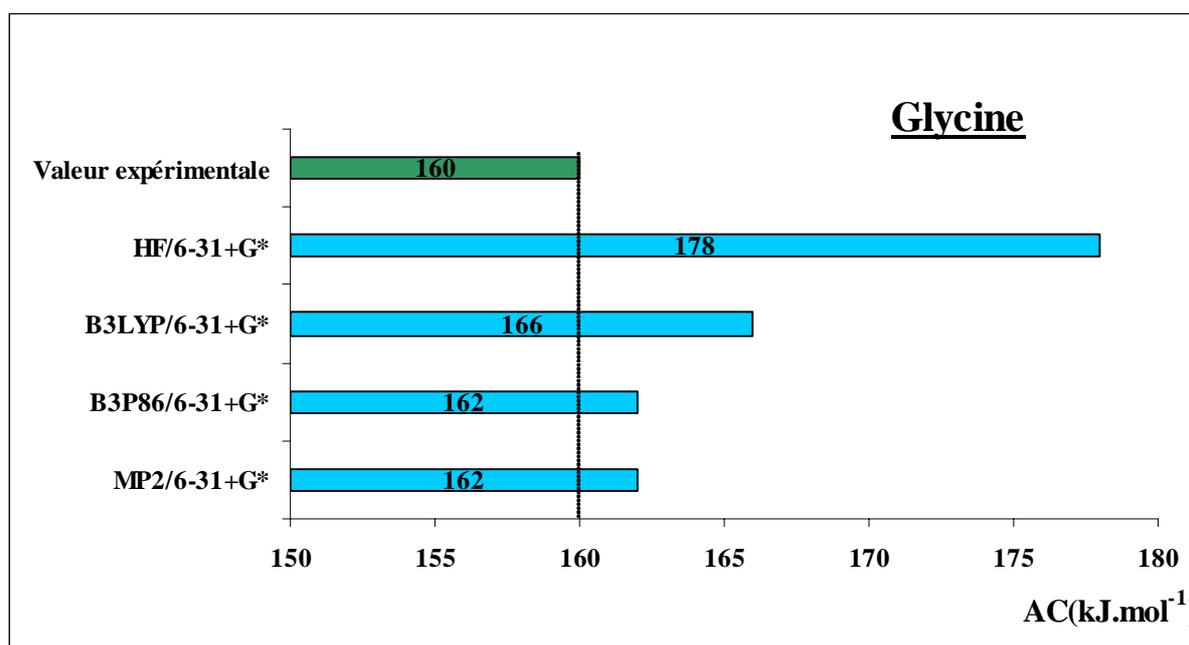


Figure 35 : Affinités cationiques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie pour la glycine.

Les résultats obtenus avec la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31+G* sont en relativement bon accord avec la valeur expérimentale (respectivement 166 et 160 kJ.mol⁻¹). Par contre, le système HF/6-31+G* n'est manifestement pas adapté à l'étude de la glycine, il y a près de 20 kJ.mol⁻¹ d'écart entre les calculs et l'affinité cationique expérimentale. Le choix doit donc s'effectuer entre la DFT avec la fonctionnelle B3P86 ou la méthode MP2. Les temps de calculs nécessaires (*Figure 37*) sont très différents : 45 minutes pour obtenir l'énergie de la structure cationisée la plus stable avec le système B3P86/6-31+G* et 136 minutes avec le système MP2/6-31+G*, il est donc préférable de choisir la fonctionnelle B3P86.

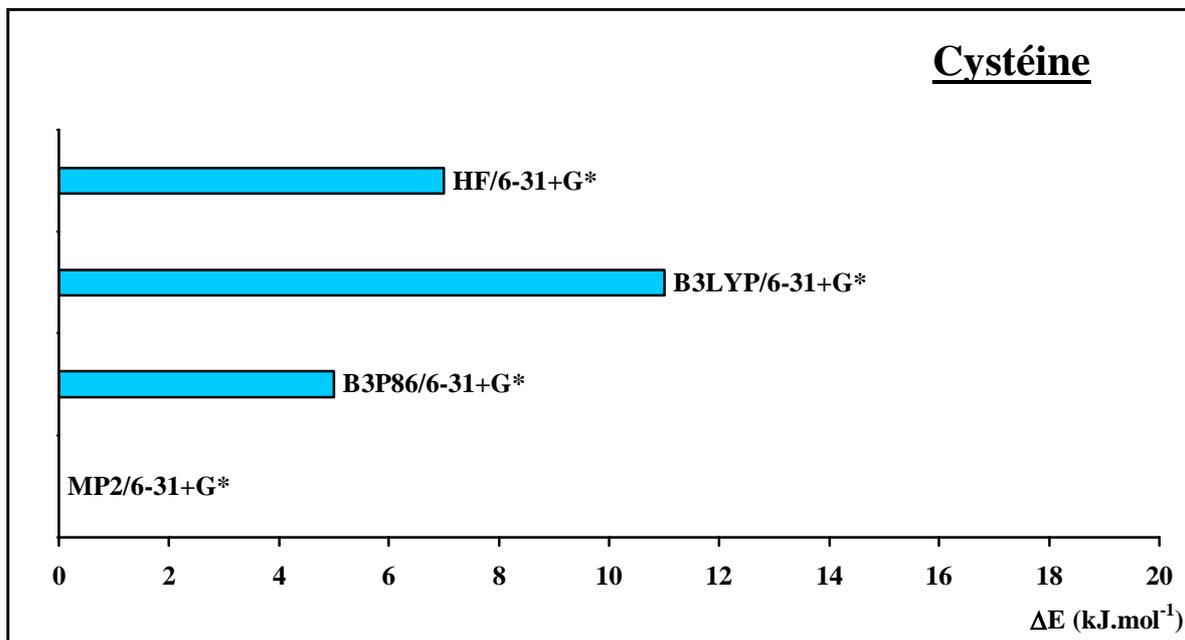


Figure 39 : Différences ΔE en kJ.mol⁻¹ obtenues entre l'affinité cationique calculée à différents niveaux de théorie et l'affinité cationique expérimentale de la cystéine.

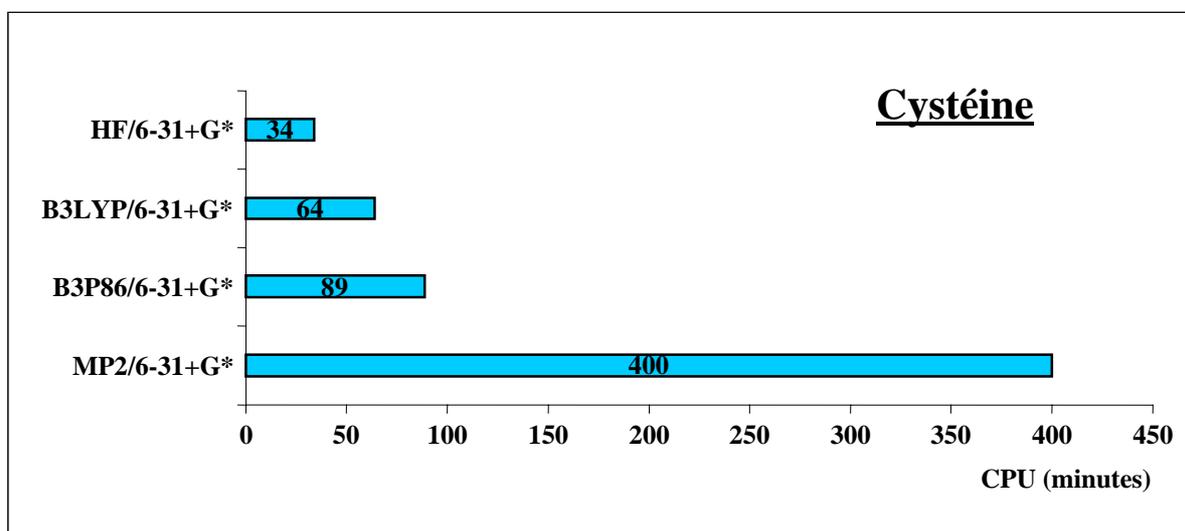


Figure 40 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie pour la forme cationisée de la cystéine.

3.2. Etude de la cystéine

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et cationisées de la cystéine pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.8*. La correction BSSE diminue de 4 à 6 kJ.mol⁻¹ l'affinité cationique.

La *Figure 38* et la *Figure 39* montrent que la meilleure corrélation est obtenue avec la méthode MP2 associée à la base 6-31+G*. L'affinité cationique expérimentale et calculée est de 173 kJ.mol⁻¹ pour la cystéine.

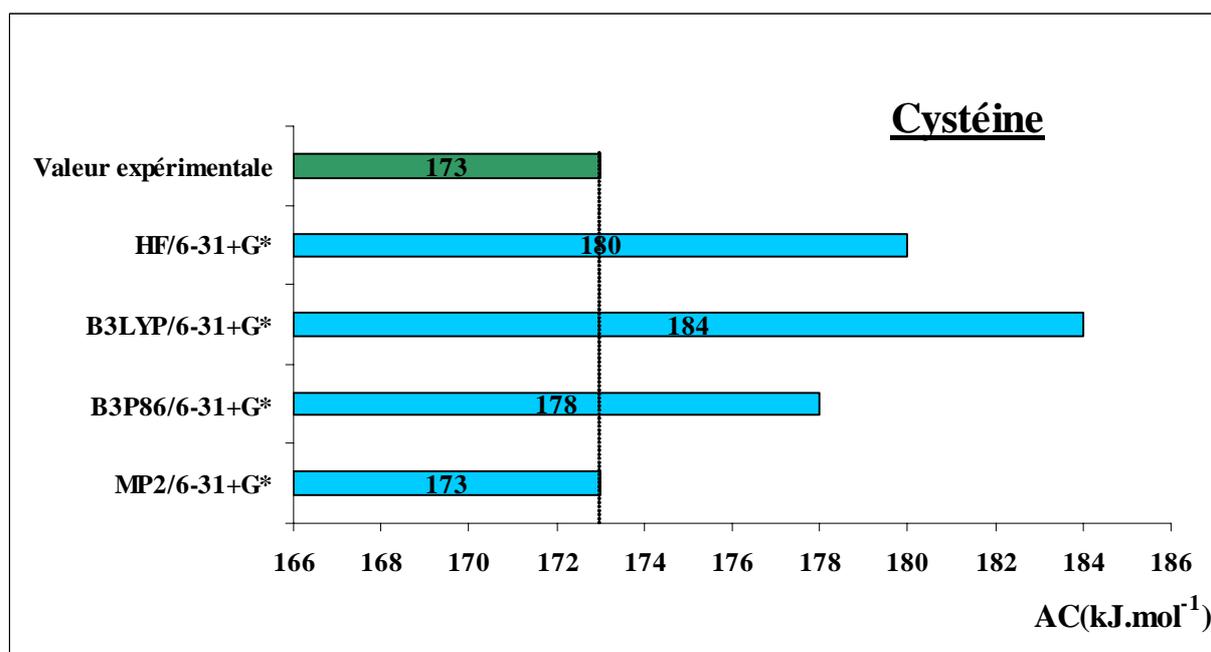


Figure 38 : Affinités cationiques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie pour la cystéine.

Une bonne corrélation est aussi observée avec le système B3P86/6-31+G* pour lequel la différence entre les valeurs expérimentale et calculée est de 5 kJ.mol⁻¹. Par contre, pour la fonctionnelle B3LYP, la valeur calculée est éloignée de la valeur expérimentale de plus de 10 kJ.mol⁻¹.

Avec la méthode Hartree-Fock, la différence observée entre ces deux approches est de $7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Ces résultats nous permettent de montrer que la meilleure corrélation est obtenue avec la méthode MP2 mais avec un temps de calcul très long : 400 minutes pour obtenir l'énergie de la forme cationisée la plus stable (*Figure 40*). Avec la fonctionnelle B3P86, la corrélation est un peu moins bonne ($5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ de différence) mais le temps nécessaire est de seulement 89 minutes. Le système B3P86/6-31+G* paraît donc le plus adéquate pour l'étude de la cystéine.

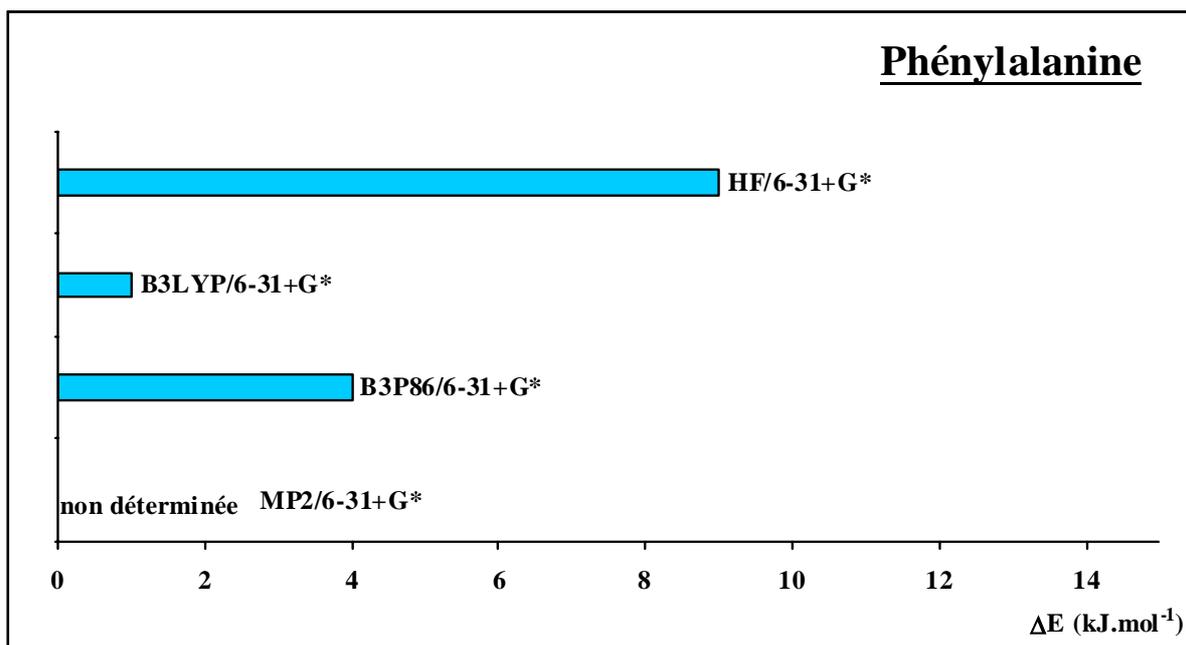


Figure 42 : Différences ΔE en kJ.mol⁻¹ obtenues entre l'affinité cationique calculée à différents niveaux de théorie et l'affinité cationique expérimentale de la phénylalanine.

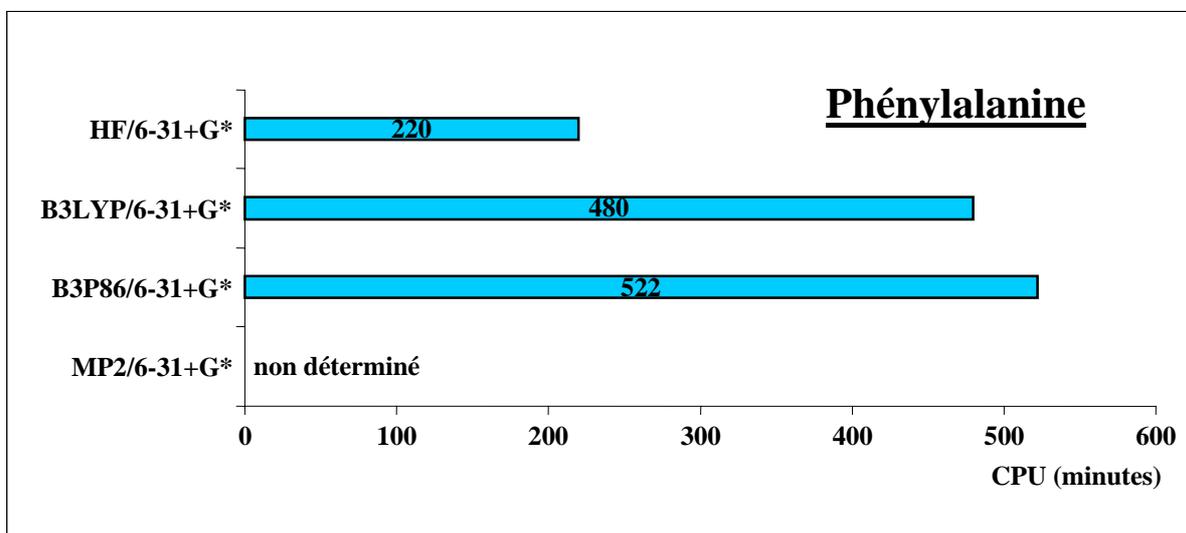


Figure 43 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie avec chaque bases étudiée pour la forme cationisée de la phénylalanine.

3.3. Etude de la phénylalanine

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et cationisées de la phénylalanine pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.9*. Pour la phénylalanine, la correction BSSE diminue de 4 à 5 kJ.mol⁻¹ l'affinité cationique calculée. La *Figure 41* et la *Figure 42* présentent les résultats obtenus pour l'affinité cationique de la phénylalanine.

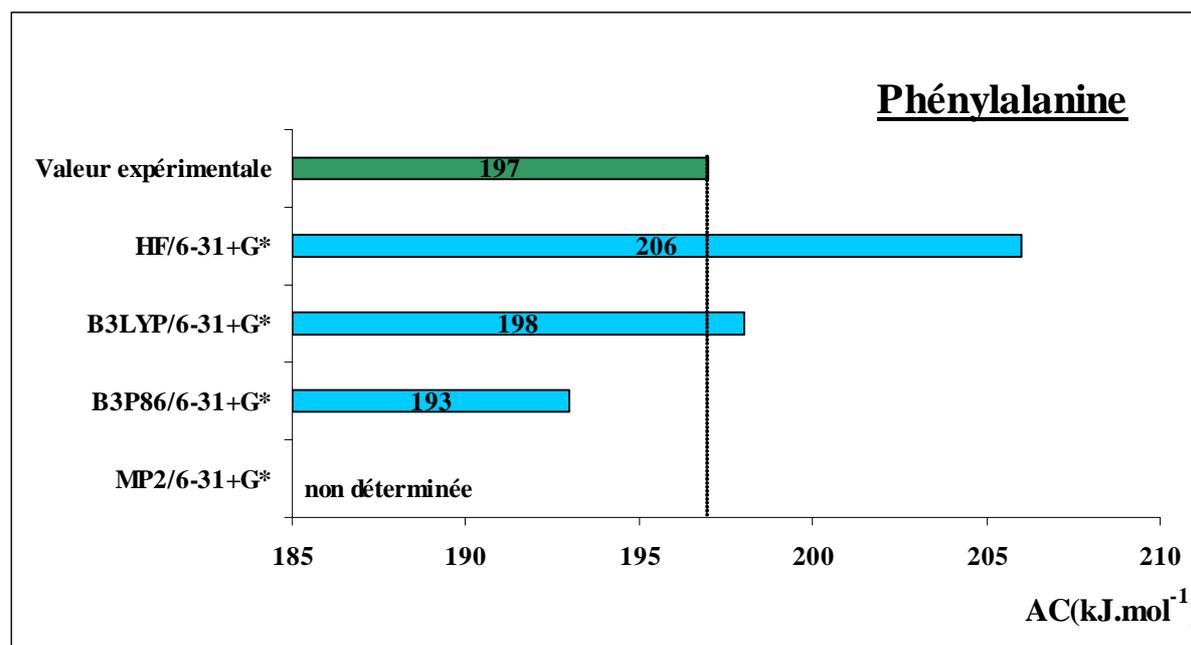


Figure 41 : Affinités cationiques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie pour la phénylalanine.

Les résultats des calculs avec la méthode MP2 n'ont pas pu être obtenus avec les appareils dont nous disposons. En effet, ce système conduit à des calculs contenant un nombre trop important de fonctions de base (252) et de primitives gaussiennes (432). L'affinité cationique de la phénylalanine obtenue avec la méthode Hartree-Fock diffère de près de 10 kJ.mol⁻¹ par rapport à celle obtenue expérimentalement (respectivement 206 et 197 kJ.mol⁻¹). Par contre, les calculs obtenus avec les fonctionnelles B3LYP ou B3P86 permettent d'obtenir une bonne corrélation avec l'affinité cationique expérimentale : on obtient respectivement 198 et 193 kJ.mol⁻¹ pour une AC_{exp} de 197 kJ.mol⁻¹. Les temps de calcul nécessaires (*Figure 43*) sont relativement similaires pour les systèmes B3LYP/6-31+G* et B3P86/6-31+G*, environ 500 minutes pour les deux fonctionnelles utilisées.

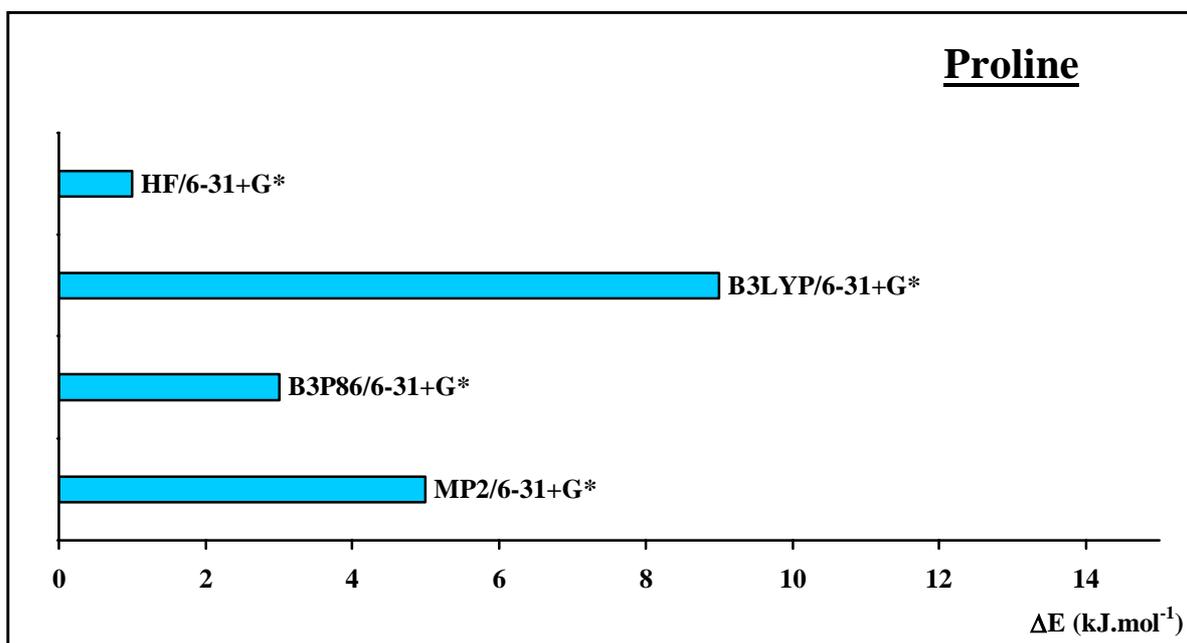


Figure 45 : Différences ΔE en kJ.mol⁻¹ obtenues entre l'affinité cationique calculée à différents niveaux de théorie et l'affinité cationique expérimentale de la proline.

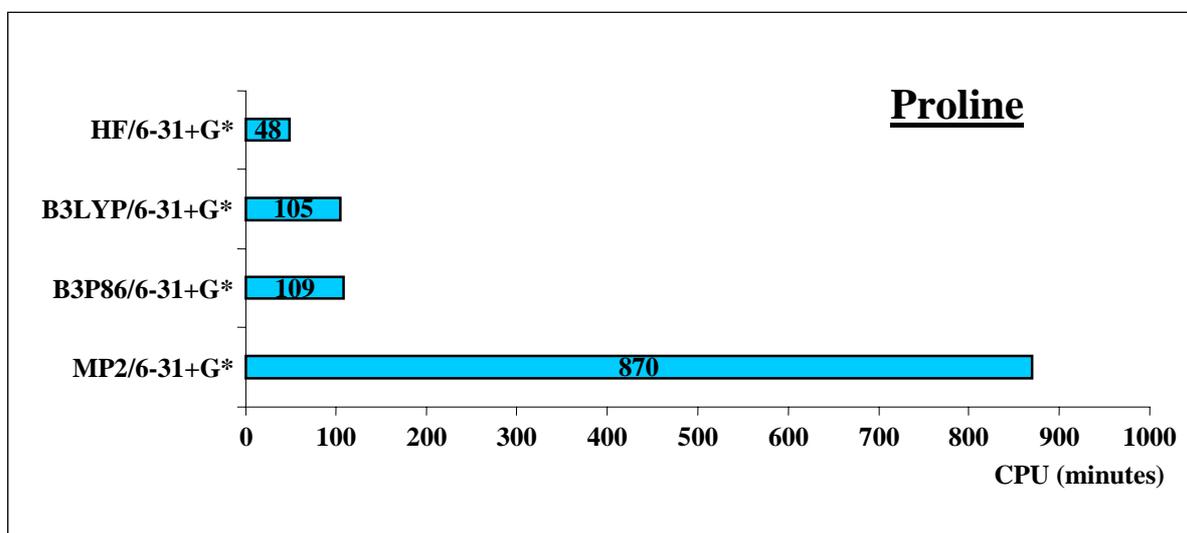


Figure 46 : Temps CPU (en minutes) nécessaires pour chaque niveau de théorie avec chaque bases étudiée pour la forme cationisée de la proline

3.4. Etude de la proline

Les valeurs obtenues pour les énergies des formes neutres et cationisées de la proline pour chaque niveau de calcul sont présentées en *Annexe A.9*. Pour la proline, la correction BSSE diminue de 2 à 3 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ l'affinité cationique calculée. La *Figure 44* et la *Figure 45* indiquent qu'une bonne corrélation est obtenue avec les méthodes Hartree-Fock, MP2 et la DFT en utilisant la fonctionnelle B3P86. Seul l'affinité cationique calculée avec le système B3LYP/6-31+G* n'est pas en accord avec l'affinité cationique expérimentale (respectivement 204 et 195 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

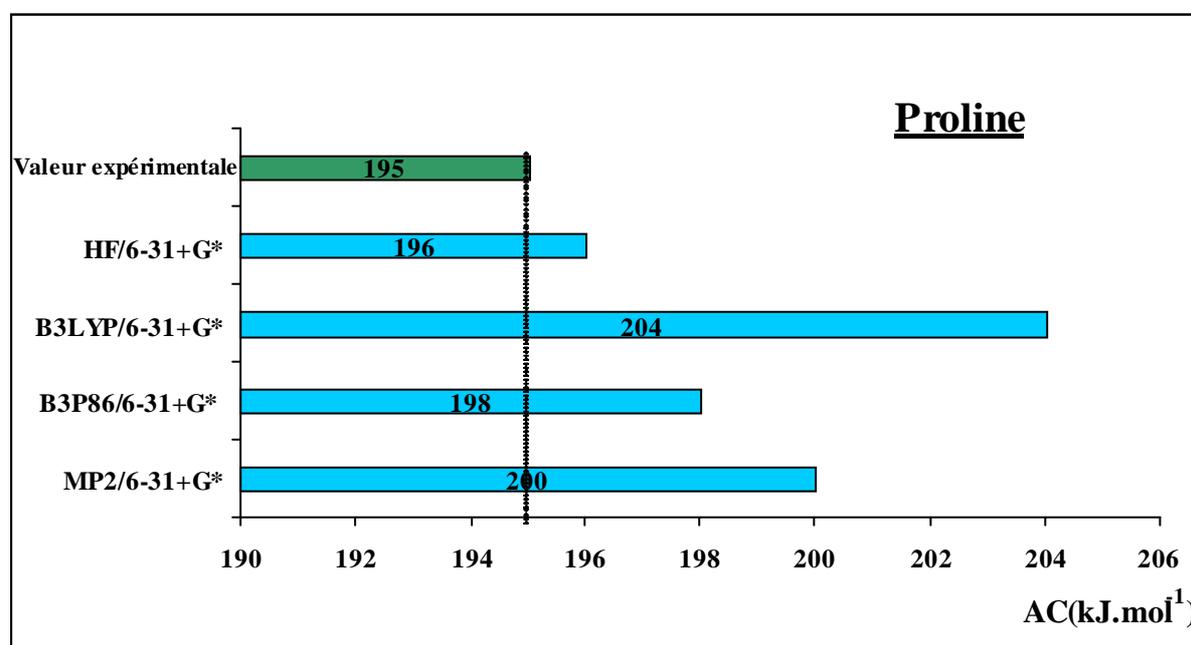


Figure 44 : Affinités cationiques expérimentale et calculées pour chaque niveau de théorie pour la proline.

Le choix de la méthode dépend donc du temps de calcul nécessaire à la détermination de l'énergie de la forme cationisée la plus stable (*Figure 46*). Dans le cas de la méthode MP2, le temps nécessaire est de 870 minutes tandis que pour les systèmes HF/6-31+G* et B3P86/6-31+G* le temps est respectivement de 48 et 109 minutes. Dans le cas de la proline, le choix se porterait curieusement sur la méthode Hartree-Fock mais la fonctionnelle B3P86, celle jusqu'à maintenant retenue, présente aussi une bonne corrélation avec l'affinité cationique expérimentale en un temps de calcul raisonnable.

3.5. Système de calcul retenu.

L'ensemble des résultats obtenus pour la détermination de l'affinité cationique de ces quatre acides aminés permet de choisir pour la suite de notre étude la DFT avec **la fonctionnelle B3P86 associée à la base 6-31+G*** pour obtenir le meilleur compromis entre la valeur expérimentale et celle calculée.

Ce système de calcul est approprié aussi bien à l'affinité protonique que cationique et permet également d'obtenir des résultats en un temps raisonnable.

CHAPITRE III

DETERMINATION DES AFFINITES CATIONIQUES PAR CALCULS *AB INITIO*

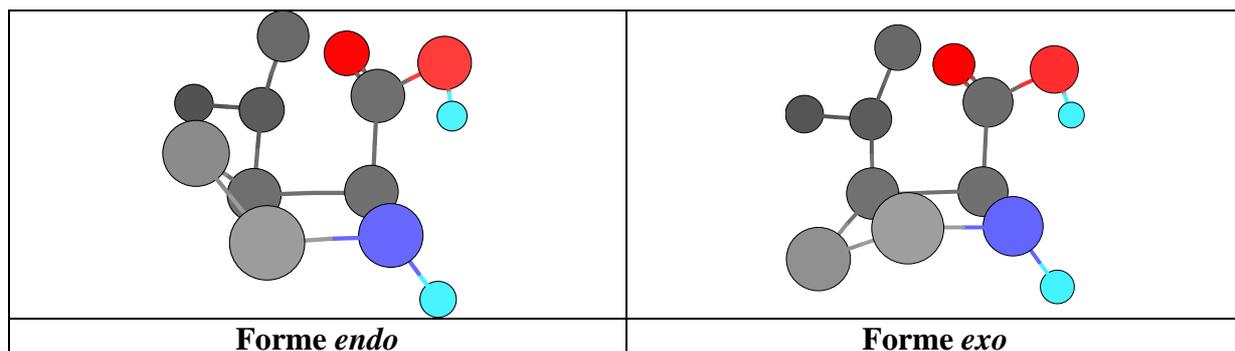


Figure 47 : Forme endo et forme exo de la 5-isopropyl proline.

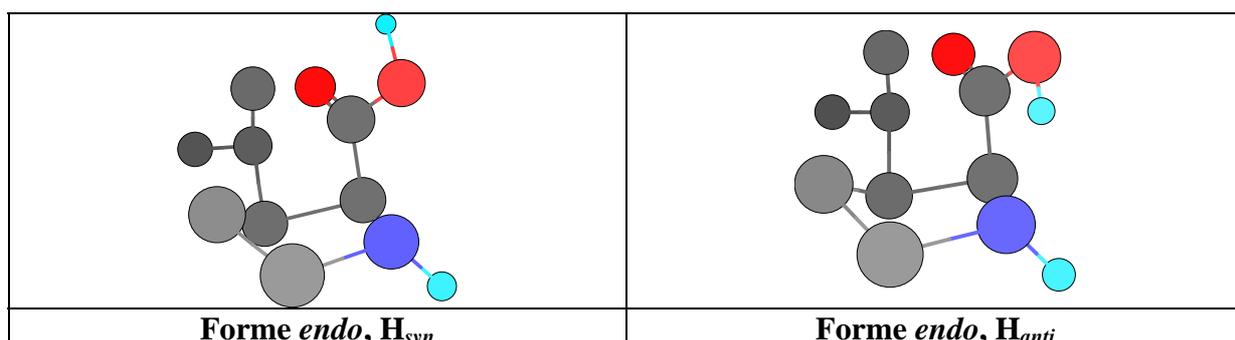


Figure 48 : Forme endo, H_{syn} et forme endo, H_{anti} de la 5-isopropyl proline.

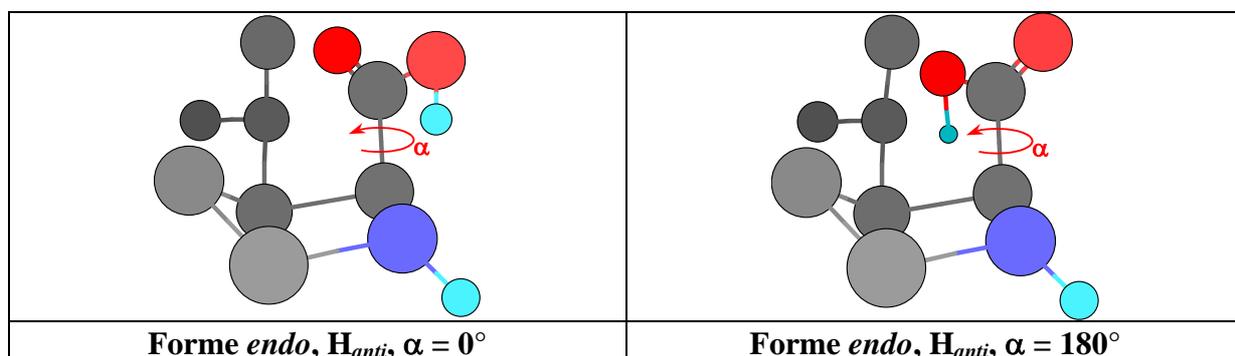


Figure 49 : Forme endo, H_{anti}, $\alpha = 0^\circ$ et forme endo, H_{anti}, $\alpha = 180^\circ$ pour la 5-isopropyl proline.

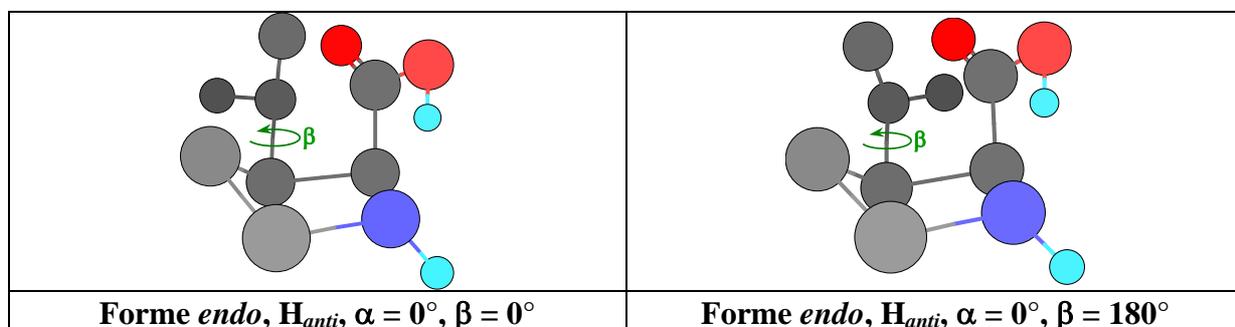
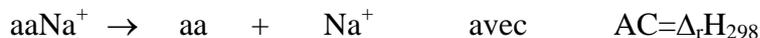


Figure 50 : Forme endo, H_{anti}, $\beta = 0^\circ$ et forme endo, H_{anti}, $\beta = 180^\circ$ pour la 5-isopropyl proline.

1. Principe de détermination des structures neutres les plus stables.

L'affinité cationique est définie comme étant égale à la variation d'enthalpie de la réaction :



$$\text{et } \Delta_r H_{298} = E_{el}(aa) + E_{el}(Na^+) - E_{el}(aaNa^+).$$

Il est donc nécessaire de déterminer la structure la plus stable de la forme neutre ainsi que celle de la forme cationisée pour chacun des acides aminés étudiés et d'obtenir leur énergie respective correspondant au minimum global de la surface d'énergie potentielle (*Schéma 2*).

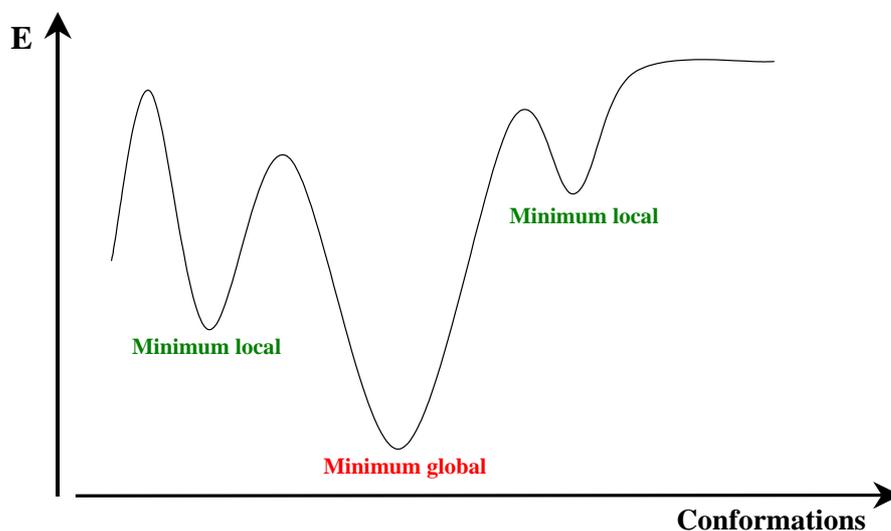


Schéma 2 : Exemple de surface d'énergie potentielle présentant deux minima locaux et un minimum global.

L'optimisation de la géométrie¹⁰⁸ de chaque acide aminé neutre a été obtenue en utilisant la DFT avec la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G*. Pour déterminer le minimum global, de nombreuses structures ont été envisagées. A titre d'exemple, l'étude de la 5-isopropyl proline est présentée : quatre paramètres ont été pris en compte : la conformation du cycle (*endo* ou *exo*), la position de l'atome d'hydrogène de la fonction carboxylique (H_{syn} ou H_{anti} par rapport à la liaison carbonyle.), la position du groupe carboxylique et de celle du groupe isopropylique (*Figure 47* à *Figure 50*).

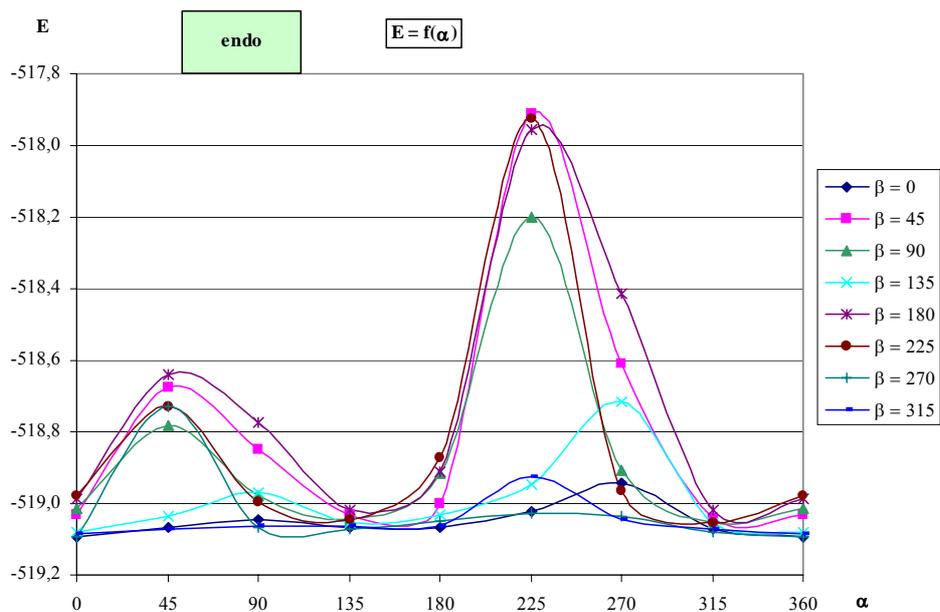


Figure 51 : Variation de l'énergie de la forme endo de la 5-isopropyl proline neutre en fonction de l'angle α , avec l'angle β fixe, obtenue au niveau B3LYP/6-31G*.

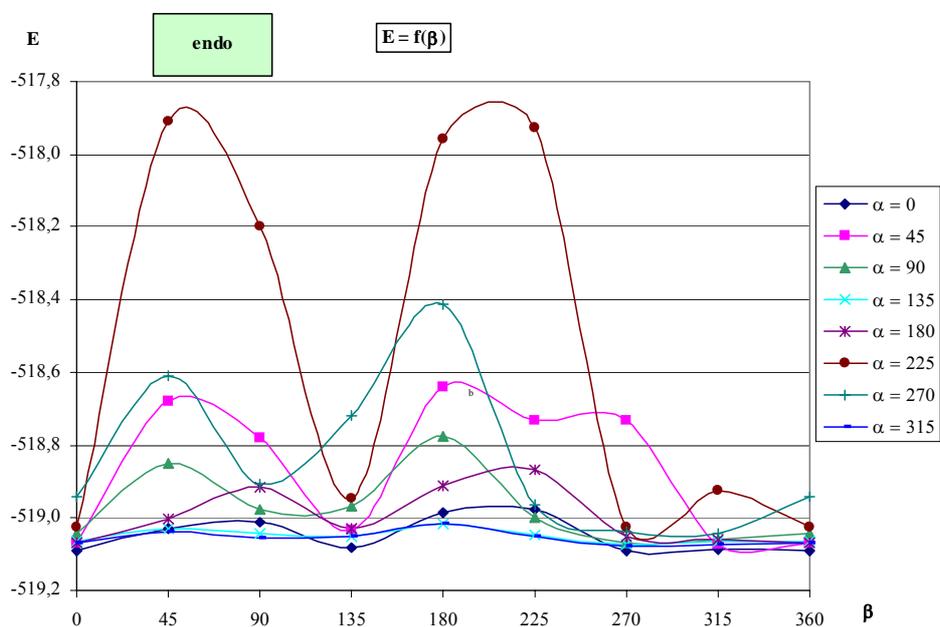


Figure 52 : Variation de l'énergie de la forme endo de la 5-isopropyl proline neutre en fonction de l'angle β , avec l'angle α fixe, obtenue au niveau B3LYP/6-31G*.

Les différences d'énergie (ΔE) entre chaque forme étudiée sont présentées dans le

Tableau 19.

	Formes étudiées de la 5-isopropyl proline	ΔE (kJ.mol ⁻¹)
Figure 47	<i>endo</i> , H _{anti} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 0^\circ$	13,6
	<i>exo</i> , H _{anti} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 0^\circ$	
Figure 48	<i>endo</i> , H _{anti} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 0^\circ$	3,5
	<i>endo</i> , H _{syn} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 0^\circ$	
Figure 49	<i>endo</i> , H _{anti} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 0^\circ$	62,3
	<i>endo</i> , H _{anti} , $\alpha = 180^\circ$, $\beta = 0^\circ$	
Figure 50	<i>endo</i> , H _{anti} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 0^\circ$	273,3
	<i>endo</i> , H _{anti} , $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 180^\circ$	

Tableau 19 : Variation de l'énergie entre chaque forme de la 5-isopropyl proline présentée dans les Figure 47 à Figure 50, obtenues au niveau B3LYP/6-31G*.

La variation d'énergie entre la forme *endo* et la forme *exo* de la **Figure 47** est de l'ordre de 14 kJ.mol⁻¹, la forme la plus stable pour la 5-isopropyl proline neutre étant la forme *endo*. La position de l'atome d'hydrogène de la fonction carbonyle entre la forme *syn* et *anti* implique une variation de 3,5 kJ.mol⁻¹, la position de l'atome d'hydrogène la plus stable est la position *anti*. La **Figure 51** montre les différentes énergies de chaque forme de la 5-isopropyl proline pour une valeur fixe de l'angle β et en faisant varier l'angle α de 45° en 45°. Le minimum global d'énergie est obtenu pour $\alpha = 0^\circ$ dans le cas de la forme *endo* avec l'atome d'hydrogène en position *anti*. Le maximum d'énergie est obtenu pour $\alpha = 225^\circ$, l'encombrement stérique entre les deux groupements isopropyl et carboxylique est dans ce cas le plus important. Plusieurs minima locaux sont également observés notamment pour $\alpha = 90^\circ$ et $\alpha = 270^\circ$ où les interactions entre les groupes carboxylique et isopropyl ne sont pas trop importantes. La **Figure 52** montre l'évolution de l'énergie de la structure en fonction de la variation de l'angle β . Le minimum global d'énergie est obtenu pour $\beta = 270^\circ$. La différence d'énergie pour $\beta = 0^\circ$ et $\beta = 270^\circ$ est faible puisque de l'ordre de 0,4 kJ.mol⁻¹. L'énergie maximale est obtenue lorsque $\alpha = 45^\circ$ et $\alpha = 225^\circ$, l'encombrement stérique entre les

groupements isopropyl et carboxyl est alors maximal. La structure la plus stable pour la 5-isopropyl proline présente finalement les caractéristiques suivantes : forme *endo*, $\alpha = 0^\circ$, $\beta = 270^\circ$ et l'atome d'hydrogène de la fonction carboxylique est en *anti* par rapport à la liaison C=O (**Figure 53**).

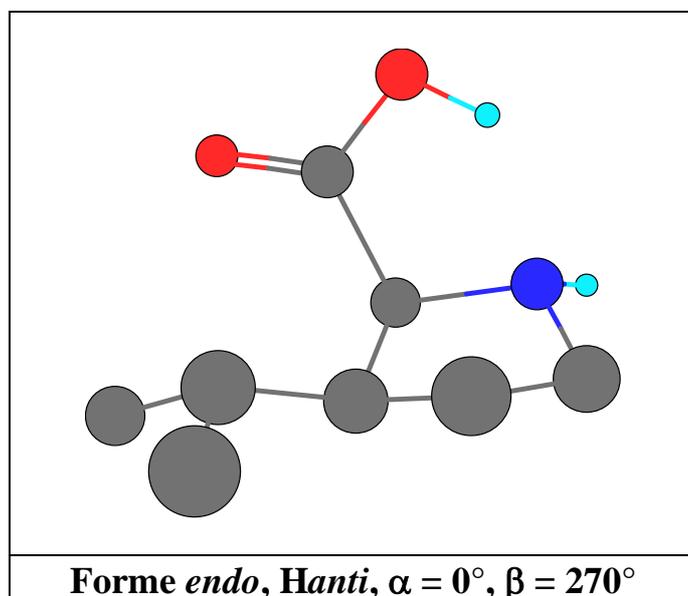


Figure 53 : Structure de la 5-isopropyl proline la plus stable obtenue au niveau B3LYP/6-31G.*

Tous les acides aminés ont été étudiés de façon identique afin de déterminer la structure la plus stable en phase gazeuse, l'ensemble de ces structures neutres est présenté en **Annexes A.10 à A.18**.

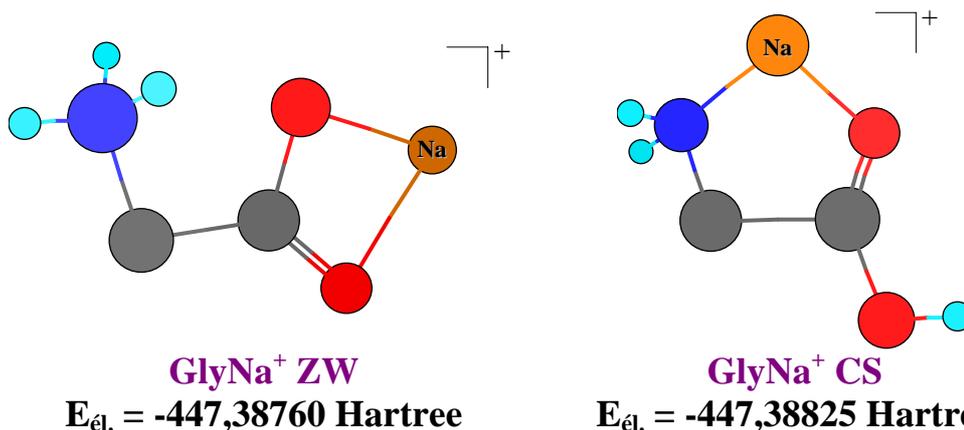


Figure 54 : Structures et énergies des formes CS et ZW les plus stables de la glycine obtenues au niveau B3P86/6-31+G*. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

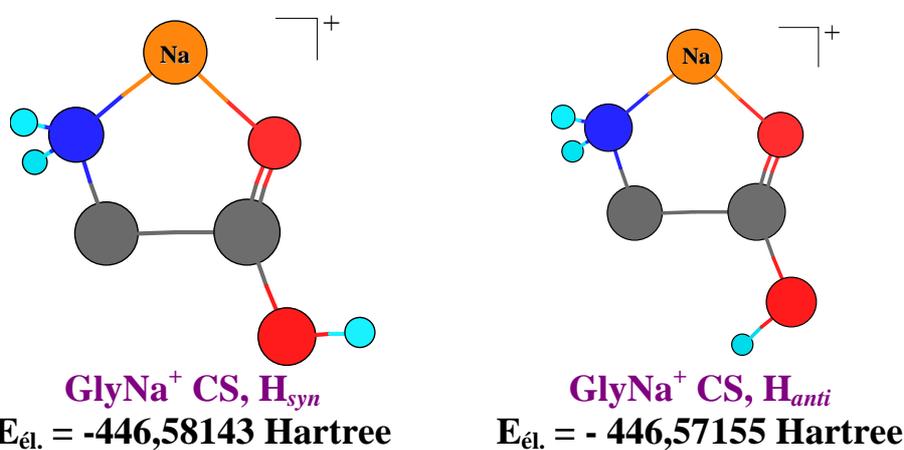


Figure 55 : Structures et énergies des formes CS H_{syn} et CS H_{anti} les plus stables de la glycine obtenues au niveau B3LYP/6-31G*. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

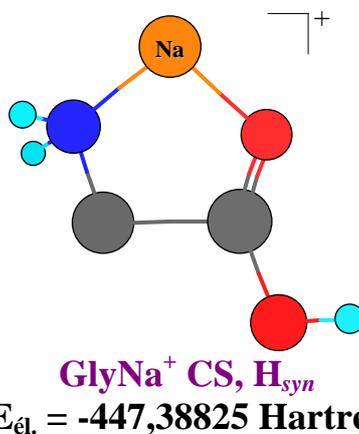


Figure 56 : Structure et énergie de la forme la plus stable de la glycine obtenues au niveau B3P86/6-31+G*. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

2. Détermination des structures des acides aminés cationisés les plus stables.

L'étude des formes cationisées nécessite de déterminer les structures les plus stables en prenant en compte les différentes possibilités d'interaction entre le sodium et les acides aminés. L'étude a été menée en utilisant la DFT avec la fonctionnelle B3P86 et la base 6-31+G* ou avec la fonctionnelle B3LYP associée à la base 6-31G*. **Six groupes d'acides aminés cationisés ont ainsi été mis en évidence.** Pour toutes les structures présentées, les atomes d'hydrogène sur les atomes de carbone ne sont pas indiqués.

2.1. Acides aminés à chaîne latérale aliphatique.

a. La glycine

Deux types de structures, présentées **Figure 54** peuvent être envisagées pour la glycine cationisée. Le sodium est soit en interaction avec les deux oxygènes de la fonction carboxylique (forme zwitterionique, ZW) soit en interaction avec l'azote et l'oxygène du groupement carboxyl (forme charge solvatée, CS).

La différence d'énergie entre la forme CS et ZW est d'environ $2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, la forme CS de la glycine étant la plus stable. La position de l'atome d'hydrogène de la fonction carboxylique a aussi été étudiée. L'atome d'hydrogène est situé soit du côté de l'atome d'oxygène de la fonction carboxylique (H_{syn}), soit à l'opposé (H_{anti}). Les calculs ont été effectués dans ce cas avec le système B3LYP/6-31G* permettant l'optimisation de la géométrie la plus stable. La différence d'énergie est proche de $30 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ en faveur de la forme présentant l'atome d'hydrogène en position *syn* (**Figure 55**). La forme la plus stable en phase gazeuse de la glycine, en accord avec les structures relevées lors de précédentes études⁴¹⁻⁴⁸, est présentée **Figure 56**. Le **Groupe I** n'est représenté que par la glycine, son affinité cationique déterminée expérimentalement est également la plus faible de l'ensemble des acides aminés étudiés.

b. La valine

La **Figure 57** présente les structures CS et ZW les plus stables pour la valine. Le minimum global d'énergie est obtenu pour la forme zwitterionique, l'écart entre les deux formes est d'environ 2 kJ.mol⁻¹.

Nous avons pu ainsi montrer que l'ensemble des acides aminés aliphatiques (l'alanine, l'acide α aminobutyrique, la leucine et l'isoleucine), la proline et ses dérivées aliphatiques (5-méthyl proline, 5-éthyl proline, 5-isopropyl proline et 5-(3-méthyl butyl) proline) appartiennent au **Groupe II**. Les structures déterminées pour l'alanine^{47,49,50} et la proline⁵⁰ sont en accord avec les précédentes études. Les structures des formes cationisées les plus stables sont présentées en **Annexes A.10 à A.13**.

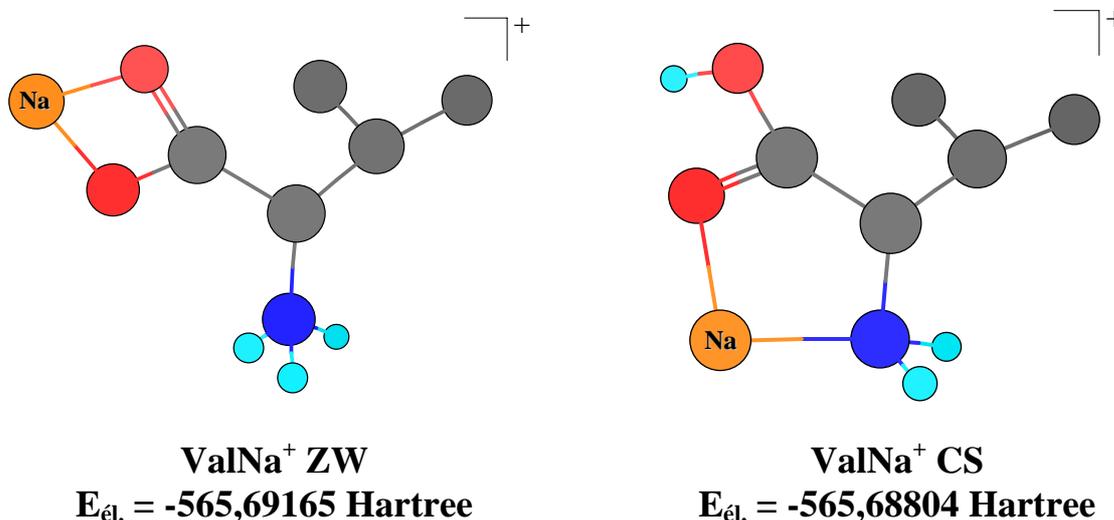
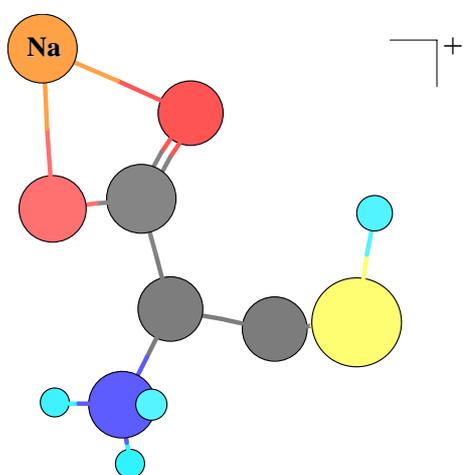
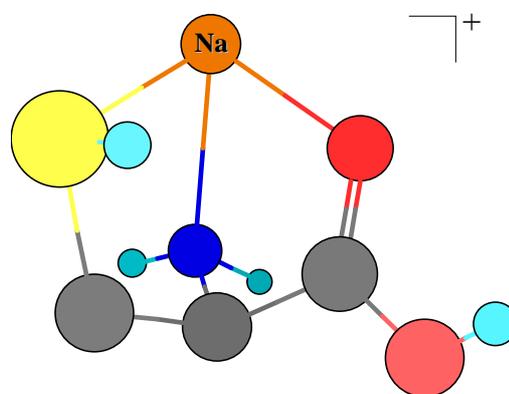


Figure 57 : Structures et énergies des formes CS et ZW les plus stables de la valine obtenues au niveau B3P86/6-31+G.*



CysNa⁺ ZW

$E_{\text{él.}} = -885,31491$ Hartree



CysNa⁺ CS

$E_{\text{él.}} = -885,31564$ Hartree

Figure 58 : Structures et énergies des formes CS et ZW les plus stables de la cystéine obtenues au niveau B3P86/6-31+G. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.*

2.2. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un ou plusieurs hétéroatomes (N, O, S)

a. Cas de la cystéine.

La chaîne latérale de la cystéine contient un hétéroatome, le soufre, susceptible d'être en interaction avec le sodium. Deux types de structures, présentées **Figure 58**, ont été envisagés : la forme ZW et une seconde forme où le sodium est en interaction avec les atomes d'azote et d'oxygène ainsi que l'atome de soufre de la chaîne latérale (forme CS). La différence obtenue entre les deux structures les plus stables de ces deux formes est seulement de 2 kJ.mol^{-1} . La structure la plus stable serait donc celle pour laquelle le sodium est en interaction avec trois atomes (le soufre, l'azote et l'oxygène).

Après des études similaires, les acides aminés cationisés dont la chaîne latérale contient un ou plusieurs hétéroatome (l'homocystéine, la sérine, la méthionine, la thréonine, l'acide glutamique, la glutamine, la lysine et l'arginine) font partie du **Groupe IIIa**. Pour ce groupe, le sodium est en interaction avec les atomes d'azote et d'oxygène de la fonction amino acide ainsi qu'avec un hétéroatome de la chaîne latérale. Les structures de ces complexes tridentates sont présentées en **Annexes A.14 et A.15**.

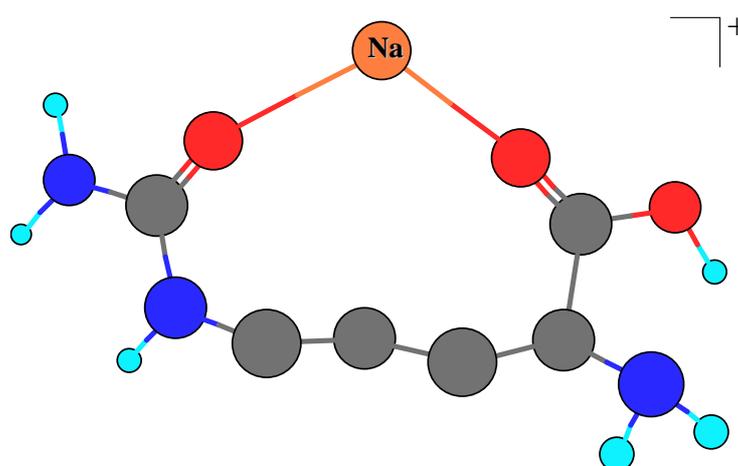
Dans le cas de la cystéine, de l'homocystéine et de la méthionine, le sodium est en interaction avec le soufre. Pour la thréonine et la sérine, le sodium est en interaction avec l'oxygène de la chaîne latérale, comme il a été montré par Hoyau *et al.*⁵¹ pour la sérine. Les résultats expérimentaux nous avaient conduit à émettre l'hypothèse qu'il existait probablement une interaction entre le sodium et l'hétéroatome de la chaîne latérale, les résultats théoriques confirment donc cette hypothèse.

L'étude expérimentale de la glutamine et de l'acide glutamique laissait présager qu'une interaction entre le sodium et l'un des hétéroatomes de la chaîne latérale était possible, les résultats théoriques nous permettent de nouveau de confirmer cette hypothèse concernant ces acides aminés. En effet, les formes cationisées sont des structures tridentates, dans le cas de l'acide glutamique, le sodium est en interaction avec l'atome d'oxygène de la chaîne latérale et dans le cas de la glutamine, avec l'atome d'azote de la fonction amide de la chaîne latérale. La lysine et l'arginine ont des affinités cationiques élevées ce qui laissait supposer que le sodium était en interaction avec un atome de la chaîne latérale. Les structures les plus stables déterminées à partir des calculs théoriques sont effectivement celles pour lesquelles le sodium est en interaction avec trois atomes : les atomes d'azote et d'oxygène de la fonction amino acide ainsi que l'atome d'azote de la chaîne latérale pour la lysine et l'arginine.

b. La citrulline

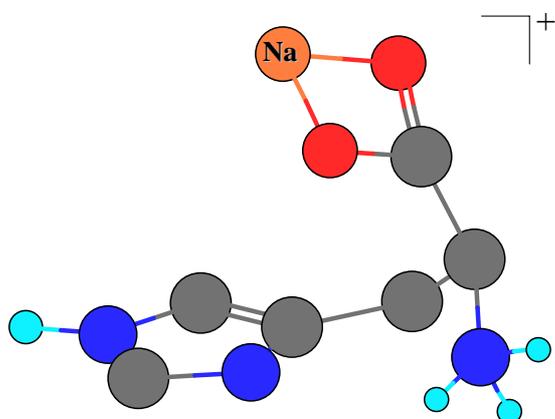
La chaîne latérale de la citrulline contient un groupe acétamide. Plusieurs structures ont été envisagées avec des complexes bidentates ou tridentates CS ou ZW, et il s'est avéré que la forme la plus stable de la citrulline cationisée n'est ni la forme CS ni la forme ZW mais celle où le sodium est en interaction avec deux atomes d'oxygène : un du groupement carboxylique de la fonction amino acide et un de la fonction urée N substitué (**Figure 59**).

La citrulline fait partie du **Groupe IIIa** comme les acides aminés précédents.



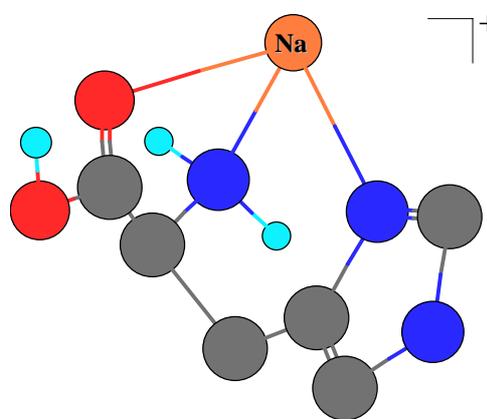
E_{él.} = -790,27774 Hartree

Figure 59 : Structure et énergie de la forme cationisée la plus stable de la citrulline obtenue au niveau B3P86/6-31+G.*



HisNa⁺ ZW

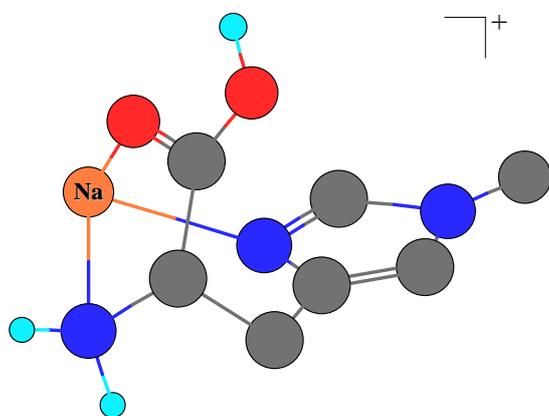
$E_{el.} = -712,43810$ Hartree



HisNa⁺ CS

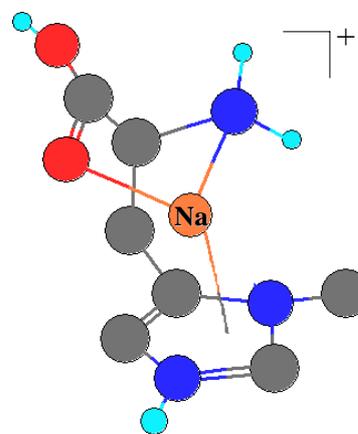
$E_{el.} = -712,43901$ Hartree

Figure 60 : Structures et énergies des formes CS et ZW les plus stables de l'histidine cationisée obtenues au niveau B3P86/6-31+G*. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.



3MeHisNa⁺

$E_{el.} = -751,87016$ Hartree



1MeHisNa⁺

$E_{el.} = -751,84569$ Hartree

Figure 61 : Structures et énergies les plus stables de la 1-méthyl histidine et de la 3-méthyl histidine cationisées obtenues au niveau B3P86/6-31+G*. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

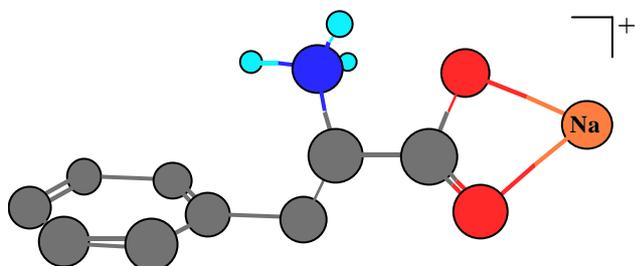
2.3. Acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle aromatique.

a. L'histidine et ses dérivés.

La chaîne latérale de l'histidine présente un cycle imidazol qui peut être en interaction avec le sodium. Comme pour les acides aminés précédemment étudiés, les deux types de structures CS et ZW ont été étudiés. Les formes les plus stables sont présentées **Figure 60**. Dans le cas de la forme CS, le sodium est en interaction avec les atomes d'azote et d'oxygène mais également avec le doublet libre de l'atome d'azote N1 du cycle imidazol.

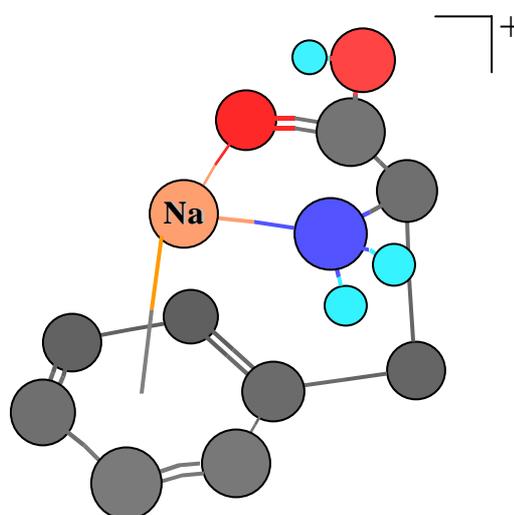
La différence d'énergies entre les formes ZW et CS est d'environ $2,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$. La structure la plus stable est une fois de plus celle faisant intervenir trois atomes en interaction avec le sodium. Cette structure est également la plus stable obtenue pour la 3-méthyl histidine (**Figure 61**). Dans le cas de la 1-méthyl histidine, le sodium est toujours en interaction avec l'azote N1 mais le doublet libre de l'azote est engagé partiellement dans l'aromaticité du cycle imidazol. L'interaction entre ce doublet de l'azote N1 et le sodium est donc beaucoup moins importante que dans le cas de l'histidine et de la 3-méthyl histidine cationisée. Les énergies des structures les plus stables sont présentées dans la **Figure 61**. Ces trois acides aminés font partie du **Groupe IIIa**.

Les résultats obtenus expérimentalement confirment le fait qu'il y a bien deux modes d'interaction différents en fonction de la position du groupement méthyl sur le cycle imidazol. L'histidine et la 3-méthyl histidine ont une affinité cationique expérimentale proche, ce qui nous laissait penser qu'il existait le même mode d'interaction entre le sodium et ces deux acides aminés. L'affinité cationique déterminée expérimentalement de la 1-méthyl histidine est beaucoup plus faible que celles de la 3-méthyl histidine ou de l'histidine, ce qui confirme nos hypothèses précédentes et est conforme aux structures proposées pour l'histidine cationisée et ses dérivés.



PheNa⁺ ZW

$E_{el.} = -718,52377$ Hartree



PheNa⁺ CS

$E_{el.} = -718,52719$ Hartree

Figure 62 : Structures et énergies des formes CS et ZW les plus stables de la phénylalanine obtenues au niveau B3P86/6-31+G. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.*

b. La phénylalanine.

La chaîne latérale de la phénylalanine contient un cycle benzénique donc des électrons Π susceptibles d'être en interaction avec le sodium. Comme précédemment, deux types de structures ont été envisagées, la structure ZW et la structure CS pour laquelle le sodium est en interaction avec les électrons Π du cycle benzénique (*Figure 62*).

La différence entre les formes CS et ZW est de $9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, la forme CS de la phénylalanine cationisée étant la plus stable en phase gazeuse. La phénylalanine ainsi que la tyrosine et le tryptophane font partie du **Groupe IIIb**. Les structures, en accord avec celles déterminées par Ryzhov *et al.*⁵³, sont présentées en *Annexe A.18*.

Les affinités cationiques obtenues expérimentalement de la phénylalanine, de la tyrosine et du tryptophane sont beaucoup plus élevées que celles des acides aminés aliphatiques. D'après les résultats expérimentaux, nous avons émis l'hypothèse qu'il existait une interaction entre les électrons Π du cycle aromatique et le sodium, les résultats théoriques confirment qu'il existe bien une interaction entre le sodium et le cycle aromatique de la chaîne latérale.

La détermination des structures les plus stables des acides aminés cationisés nous a permis de distinguer quatre groupes différents selon le type de complexes formés.

Groupe I : Structure bidentate (CS) : uniquement rencontrée pour la *Glycine*.

Groupe II : Structure bidentate (ZW) : *Alanine, Acide α aminobutyrique, Valine, Leucine, Isoleucine, Proline, 5-méthyl proline, 5-éthyl proline, 5-isopropyl proline, 5-(3-méthyl butyl) proline.*

Groupe IIIa : Structure tridentate (CS) : *Cystéine, Homocystéine, Méthionine, Sérine, Thréonine, Acide glutamique, Lysine, Glutamine, Arginine, Histidine, 3-méthyl histidine, 1-méthyl histidine* et la *Citrulline* **qui elle, est bidentate.**

Groupe IIIb : Structure tridentate (CS) avec interaction Π : *Phénylalanine, Tyrosine, Tryptophane.*

Acides aminés étudiés	E_{neutre} (Hartree)	E_{cationisée} (Hartree)	AC_{calc} après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)
<i>Glycine</i>	-285,06908	-447,38828	162
<i>Alanine</i>	-324,50390	-486,82606	172
<i>Acide α aminobutyrique</i>	-363,93379	-526,25665	173
<i>Isoleucine</i>	-442,79656	-605,1194	176
<i>Leucine</i>	-442,79656	-605,12046	177
<i>Cystéine</i>	-722,99003	-885,31564	178
<i>Valine</i>	-403,36680	-565,69174	179
<i>Homocystéine</i>	-762,422195	-924,74884	180
<i>Sérine</i>	-399,85432	-562,18402	188
<i>Méthionine</i>	-801,84981	-964,18101	193
<i>Thréonine</i>	-439,29004	-601,62201	195
<i>Tyrosine</i>	-631,55401	-793,88565	195
<i>1-méthyl histidine</i>	-589,51401	-751,84569	198
<i>Phénylalanine</i>	-556,19639	-718,52719	198
<i>Proline</i>	-402,13995	-564,47191	198
<i>5-méthyl proline</i>	-441,57132	-603,90391	200
<i>5-éthyl proline</i>	-480,99807	-643,33089	200
<i>5-(3-méthyl butyl) proline</i>	-599,29153	-761,62422	200,5
<i>5-isopropyl proline</i>	-520,43233	-682,76595	203
<i>Acide glutamique</i>	-552,88091	-715,21553	203
<i>Tryptophane</i>	-688,10288	-850,43919	210
<i>Glutamine</i>	-533,00799	-695,34887	219
<i>Lysine</i>	-498,26851	-660,61213	223
<i>Histidine</i>	-550,09629	-712,43901	226
<i>3-méthyl histidine</i>	-589,52534	-751,87016	231
<i>Arginine</i>	-608,02251	-770,37466	250
<i>Citrulline</i>	-627,92394	-790,27774	256

Tableau 20 : Energies des formes neutres et cationisées les plus stables et affinités cationiques des acides aminés étudiés obtenues au niveau B3P86/6-31+G*. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

2.4. Récapitulation des résultats d'affinités cationiques obtenus théoriquement.

Après avoir déterminé les énergies des formes neutres et cationisées les plus stables au niveau B3P86/6-31+G*, les affinités cationiques de chaque acide aminé étudié ont été déterminées et l'ordre indiqué dans le **Tableau 20** a été établi. Les structures neutres et cationisées les plus stables de l'ensemble des acides aminés étudiés sont présentées en **Annexes A.10 à A.18**. Les affinités cationiques des acides aminés se différencient selon leur chaîne latérale. Tout d'abord, les acides aminés aliphatiques dont la chaîne latérale est linéaire, ont les affinités cationiques les plus faibles, de l'ordre de 160 à 180 kJ.mol⁻¹. Lorsque la chaîne latérale est cyclique, cas de la proline et de ses dérivées, l'affinité cationique se situe vers 200 kJ.mol⁻¹ selon la nature des chaînes aliphatiques greffées. Pour les acides aminés dont la chaîne latérale contient un seul hétéroatome tel que le soufre ou l'oxygène, l'affinité cationique se situe entre celles des acides aminés aliphatiques linéaire et celles de la proline et de ses dérivées, entre 178 et 195 kJ.mol⁻¹. L'affinité cationique des acides aminés dont la chaîne latérale contient un cycle aromatique se situe vers 200 kJ.mol⁻¹, juste après la proline et ses dérivées. Par contre, dès que la chaîne latérale contient plusieurs hétéroatomes, l'affinité cationique augmente fortement, de 219 kJ.mol⁻¹ pour la lysine à 256 kJ.mol⁻¹ pour la citrulline. L'histidine et la 3-méthyl histidine ont également une affinité cationique élevée (respectivement 226 et 231 kJ.mol⁻¹), par contre celle de la 1-méthyl histidine est beaucoup plus faible, elle est de 198 kJ.mol⁻¹ pour les raisons évoquées précédemment.

Acides aminés étudiés	AC_{calc} après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)	AC_{exp} (kJ.mol ⁻¹)	ΔAC (kJ.mol ⁻¹)
<i>Glycine</i>	162	160 ³⁶	+2
<i>Alanine</i>	172	165 ³⁶	+7
<i>Acide α aminobutyrique</i>	173	169 ³⁶	+4
<i>Isoleucine</i>	176	175	+1
<i>Leucine</i>	177	173	+4
<i>Cystéine</i>	178	174	+4
<i>Valine</i>	179	172	+7
<i>Homocystéine</i>	180	179	+1
<i>Sérine</i>	188	192 ³⁷	-4
<i>Méthionine</i>	193	194,5	-1,5
<i>Thréonine</i>	195	197 ³⁷	-2
<i>Tyrosine</i>	195	198	-3
<i>1-méthyl histidine</i>	198	202	+4
<i>Phénylalanine</i>	198	197	+1
<i>Proline</i>	198	196 ³⁷	+2
<i>5-méthyl proline</i>	200	199	+1
<i>5-éthyl proline</i>	200	201	-1
<i>5-(3-méthyl butyl) proline</i>	200,5	203	-2,5
<i>5-isopropyl proline</i>	203	203	0
<i>Acide glutamique</i>	203	204	-1
<i>Tryptophane</i>	210	210 ³⁷	0
<i>Glutamine</i>	219	231	-12
<i>Lysine</i>	223	220	+3
<i>Histidine</i>	226	237	-11
<i>3-méthyl histidine</i>	231	243	-12
<i>Arginine</i>	250	258	-8
<i>Citrulline</i>	256	255	+1

Tableau 21 : Affinités cationiques calculées et expérimentales des acides aminés.

2.5. Comparaison des résultats expérimentaux et calculés.

Les affinités cationiques calculées et celles obtenues expérimentalement pour l'ensemble des acides aminés étudiés sont indiquées dans le **Tableau 21**. La précision sur les résultats théoriques est de l'ordre de 5 à 7 kJ.mol⁻¹. Pour la détermination expérimentale des affinités cationiques à partir de la méthode de Cooks³⁸⁻⁴⁰, l'imprécision due aux approximations intrinsèques à la méthode a été évaluée par Kish *et al.*³⁷ à environ 8 kJ.mol⁻¹. Par contre, la grande précision sur les rapports des intensités des pics des monomères issus de la fragmentation du dimère implique une erreur inférieure à 0,1 à 0,5 kJ.mol⁻¹ sur la détermination expérimentale de l'ordre des affinités cationiques⁷⁸. Une très bonne corrélation entre les résultats théoriques et expérimentaux est observée puisque l'écart obtenu entre les deux méthodes est de 1 à 7 kJ.mol⁻¹, parfois une dizaine de kJ.mol⁻¹, pour les acides aminés étudiés. Les structures les plus stables déterminées par calculs *ab initio* sont donc très probablement celles qui se forment en phase gazeuse dans le spectromètre de masse.

Acide aminé	Energie de la forme ZW (Hartree)	Energie de la forme CS (Hartree)	$\Delta E = E_{zw} - E_{cs}$ (kJ.mol⁻¹)	AC (kJ.mol⁻¹)	AP (kJ.mol⁻¹)
<i>Glycine</i>	-447,38760	-447,38825	-1,7	160	888
<i>Alanine</i>	-486,82606	-486,82420	+4,9	165 ³⁶	895
<i>Acide α aminobutyrique</i>	-526,25665	-526,25603	+1,6	169 ³⁶	890
<i>Valine</i>	-565,69165	-565,68804	+9,5	172 ³⁷	910
<i>Leucine</i>	-605,12046	-605,11664	+10	173	911
<i>Proline</i>	-564,47191	-564,46108	+28,4	196 ³⁷	937

Tableau 22 : Energies des formes les plus stables CS et ZW, affinités cationiques et affinités protoniques des acides aminés aliphatiques étudiés. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Acide aminé	Energie de la forme ZW (Hartree)	Energie de la forme CS (Hartree)	$\Delta E = E_{zw} - E_{cs}$ (kJ.mol⁻¹)	AC (kJ.mol⁻¹)	AP (kJ.mol⁻¹)
<i>Cystéine</i>	-885,31491	-885,34564	-1,9	174	897
<i>Sérine</i>	-562,17935	-562,18402	-12,3	192 ³⁷	906
<i>Méthionine</i>	-964,17456	-964,18101	-16,9	194,5	927
<i>Thréonine</i>	-601,61800	-601,62201	-10,5	197 ³⁷	914
<i>Phénylalanine</i>	-718,52377	-718,52719	-9	197	920
<i>Histidine</i>	-712,43810	-712,43901	-2,4	237	959

Tableau 23 : Energies des formes les plus stables CS et ZW, affinités cationiques et affinités protoniques des acides aminés non aliphatiques étudiés. 1 Hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

2.6. Etude des formes zwitterioniques et non zwitterioniques en fonction des affinités cationiques et protoniques.

Pour quelques acides aminés, nous avons déterminé les énergies des formes cationisées zwitterioniques (E_{ZW}) et non zwitterionique (E_{CS}) les plus stables pour chacun d'entre eux après avoir optimisé les géométries au niveau B3LYP/6-31G*. Pour chaque acide aminé étudié, nous avons tenté d'établir une corrélation entre la différence d'énergie [$E_{ZW}-E_{CS}$] en fonction des affinités cationiques déterminées expérimentalement et des affinités protoniques de la littérature. Les acides aminés aliphatiques (glycine, alanine, acide α aminobutyrique, valine, leucine, proline) ainsi que quelques acides aminés non aliphatiques (cystéine, sérine, méthionine, thréonine, phénylalanine, histidine) ont été étudiés. Les **Tableaux 22** et **23** montrent les énergies obtenues au niveau B3P86/6-31+G* des formes zwitterioniques (ZW) et non zwitterioniques (CS) pour les structures les plus stables de chaque acide aminé aliphatique et non aliphatique étudié (**Annexes A.19 et A.20**). Pour ce qui concerne la variation d'énergie entre les formes ZW et CS pour les acides aminés aliphatiques, celle-ci est positive dans le cas de la protonation et de la cationisation pour la glycine tandis que cette différence est négative pour tous les autres acides aminés aliphatiques, ce qui confirme nos précédents résultats. Cette variation semble d'autant plus grande que l'affinité cationique ou l'affinité protonique est grande. Pour ce qui concerne les acides aminés non aliphatiques, la variation d'énergie entre les formes ZW et CS est négative, conformément à nos précédents résultats, mais il ne semble pas y avoir de corrélation nette entre ΔE et l'affinité protonique ou l'affinité cationique des acides aminés correspondants.

Pour ce qui concerne les acides aminés aliphatiques, les courbes $\Delta E=f(AC)$ et $\Delta E=f(AP)$, **Figures 63 et 64** montrent que l'affinité protonique ainsi que l'affinité cationique augmentent de façon linéaire avec ΔE . Les affinités protoniques et cationiques sont d'autant plus élevées que la forme zwitterionique de l'acide aminé correspondant est stable.

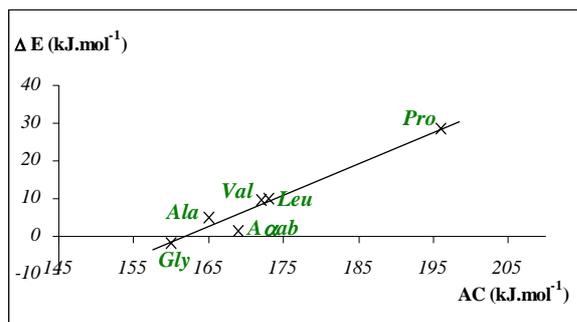


Figure 63 : $\Delta E=f(AC)$ ($r^2=0,95$)

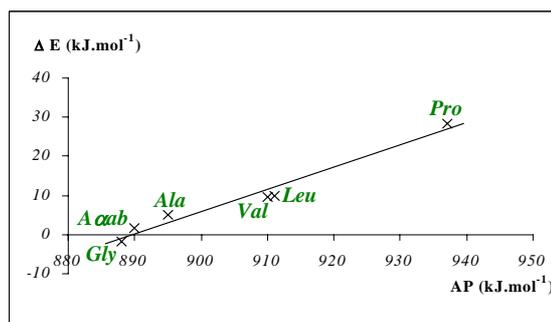


Figure 64 : $\Delta E=f(AP)$ ($r^2=0,97$)

Par contre, pour les acides aminés non aliphatiques (**Figure 65 et Figure 66**), il n'y a pas de corrélation entre $\Delta E=|E_{ZW}|-|E_{CS}|$ et l'affinité cationique ou l'affinité protonique, la stabilité des formes CS par rapport aux formes ZW n'est pas liée aux affinités protoniques ou cationiques.

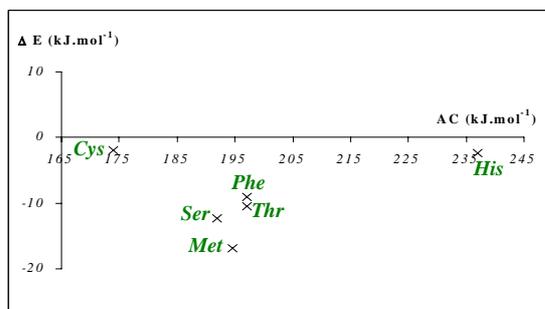


Figure 65 : $\Delta E=f(AC)$.

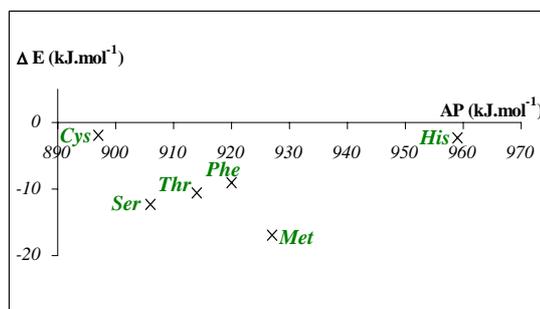


Figure 66 : $\Delta E=f(AP)$.

Ces résultats sont cohérents puisque, pour les acides aminés aliphatiques, la forme ZW prédomine tandis que pour les acides aminés non aliphatiques, il s'agit de la forme CS.

**DETERMINATION DES
AFFINITES CATIONIQUES
DES BASES NUCLEIQUES**

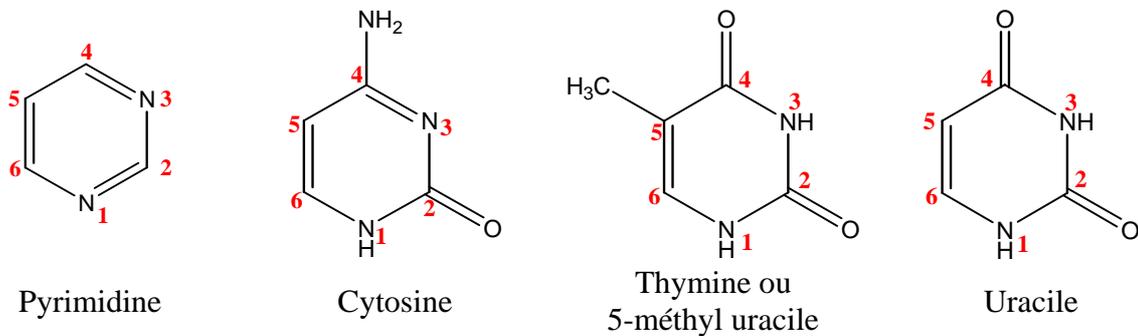
CHAPITRE I

DETERMINATION EXPERIMENTALE DE L'ORDRE DES AFFINITES CATIONIQUES

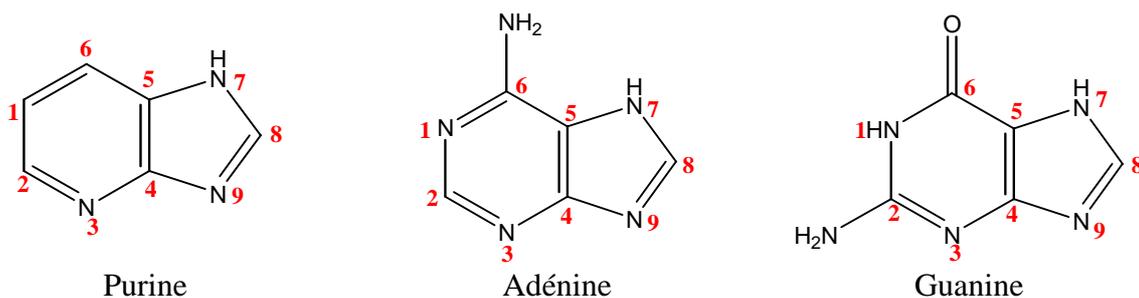
1. Présentation des bases nucléiques.

Une échelle relative d'affinité cationique pour une vingtaine de bases nucléiques modifiées et non modifiées a été déterminée à partir de la méthode cinétique de Cooks³⁸⁻⁴⁰. Les bases nucléiques se répartissent en deux groupes :

-celles dérivées de la pyrimidine (bases pyrimidiques) : la cytosine, la thymine et l'uracile ainsi que leurs dérivés.



-celles dérivées de la purine (bases puriques) : l'adénine, la guanine et leurs dérivés.



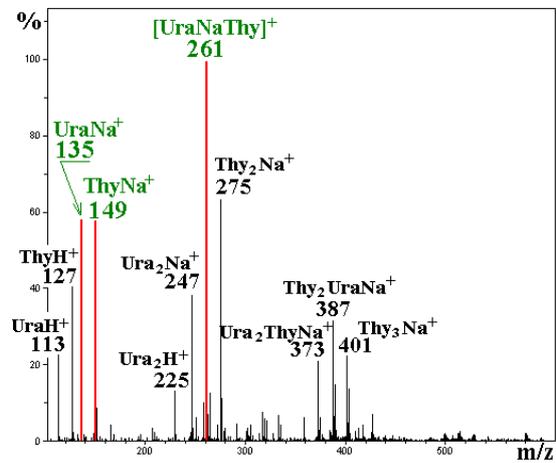


Figure 67: Spectre de masse de la solution uracile/thymine dans $CH_3CN/H_2O-NaCl$.

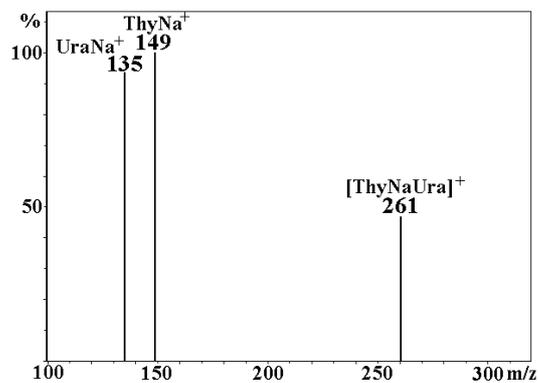


Figure 68: Spectre CID du dimère $[ThyNaUra]^+$.

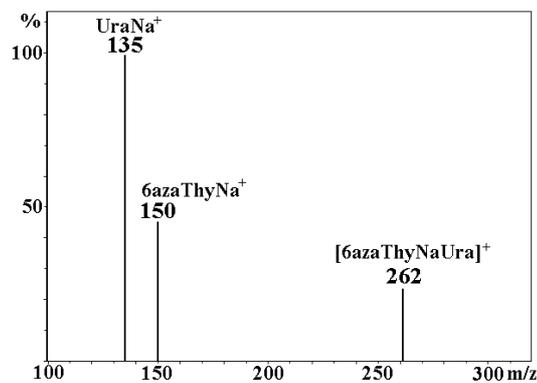


Figure 69 : Spectre CID du dimère $[6azaThyNaUra]^+$.

2. Détermination de l'échelle relative d'affinités cationiques des bases nucléiques.

2.1. Description des expériences.

Ces bases nucléiques ont été étudiées selon le même principe que celui utilisé pour les acides aminés.

La **Figure 67** représente le spectre de masse obtenu pour une solution composée d'uracile et de thymine dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}-\text{NaCl}$ (50:50 ; v/v). Les monomères protonés de l'uracile (m/z 113) et de la thymine (m/z 127) sont présents ainsi que les deux monomères cationisées UraNa^+ (m/z 135) et ThyNa^+ (m/z 149). Plusieurs dimères protonés ou cationisés sont également observés, Ura_2H^+ (m/z 225), Ura_2Na^+ (m/z 247), Thy_2Na^+ (m/z 275) et $[\text{ThyNaUra}]^+$ (m/z 261). Trois trimères cationisés sont aussi relativement abondants, $[\text{Ura}_2\text{NaThy}]^+$ (m/z 373), $[\text{UraNaThy}_2]^+$ (m/z 387) et Thy_3Na^+ (m/z 401). Après sélection du dimère $[\text{ThyNaUra}]^+$ de rapport m/z 261, et fragmentation induite par collision, les deux monomères cationisés ThyNa^+ et UraNa^+ sont produits sous des abondances sensiblement identiques (**Figure 68**), l'affinité cationique de l'uracile est donc proche, voire égale à celle de la thymine. Plusieurs uraciles modifiées ont été ensuite étudiées, certains dimères cationisés n'ont pas été envisagés, comme le dimère formé par la thymine et l'un de ses isomères, la 6-méthyl uracile puisque leurs masses moléculaires sont identiques (ions isobares).

L'ordre des affinités cationiques des bases nucléiques a été déterminé en étudiant chacun des composés les uns par rapport aux autres. La 6-aza thymine a été étudiée uniquement avec l'uracile, la différence de masse moléculaire étant trop faible entre la thymine cationisée (m/z 149) et la 6-aza thymine cationisée (m/z 150). Le spectre CID obtenu après fragmentation du dimère $[\text{6azaThyNaUra}]^+$ m/z 262 à $V_{p,p} = 0,70$ V est présenté **Figure 69**. L'affinité cationique de la 6-aza thymine est inférieure à celle de l'uracile.

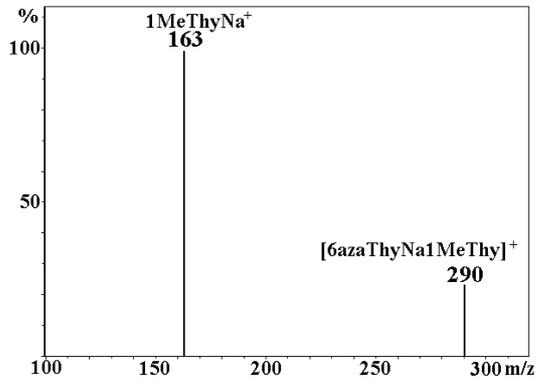


Figure 70 : Spectre CID du dimère [6azaThyNa1MeThy]⁺.

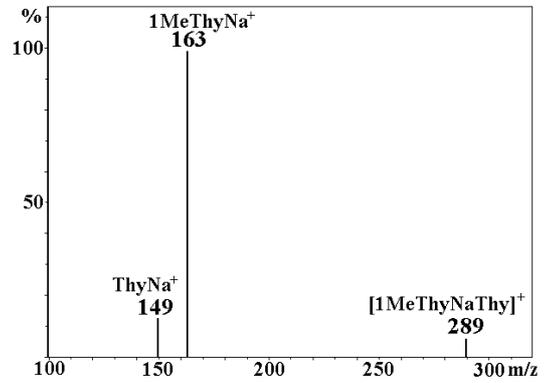


Figure 71 : Spectre de masse CID du dimère [1MeThyNaThy]⁺.

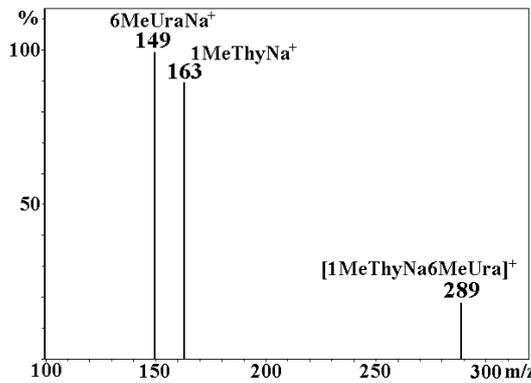


Figure 72 : Spectre CID du dimère [1MeThyNa6MeUra]⁺.

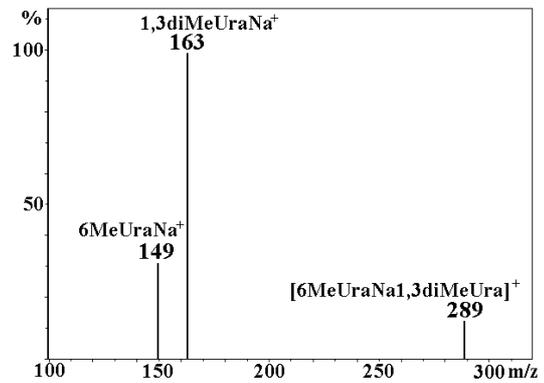


Figure 73 : Spectre CID du dimère [6MeUraNa1,3diMeUra]⁺.

La 6-aza thymine a été étudiée avec la 1-méthyl thymine mais, après fragmentation du dimère cationisé $[6\text{azaThyNa1MeThy}]^+$, seul le monomère cationisé 1MeThyNa^+ et le dimère cationisé $[6\text{azaThyNa1MeThy}]^+$ sont observés (**Figure 70**), l'affinité cationique de la 6-aza thymine est donc très inférieure à celle de la 1-méthyl thymine.

La **Figure 71** montre que l'affinité cationique de la 1-méthyl thymine est supérieure à celle de la thymine, $[\text{AC}(1\text{MeThy}) > \text{AC}(\text{Thy})]$, et l'affinité cationique de la 6-méthyl uracile est très légèrement supérieure à celle de la 1-méthyl thymine (**Figure 72**). Enfin, l'affinité cationique de la 1,3-diméthyl uracile est supérieure à celle de la 6-méthyl uracile (**Figure 73**). L'ensemble des résultats obtenus permet d'établir l'ordre suivant :



La présence d'un azote en position 6 diminue de manière très importante l'affinité cationique de l'uracile, les résultats nous indiquent également que plus l'uracile est méthylée, plus l'affinité cationique augmente, ce qui était un résultat attendu.

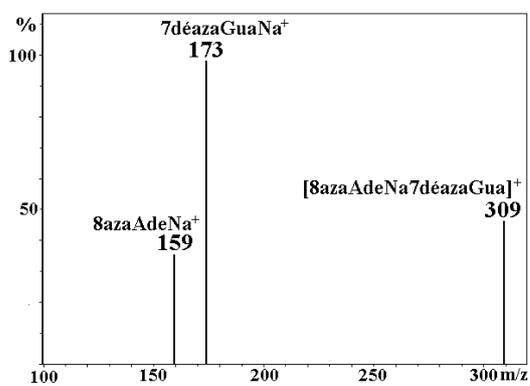


Figure 74 : Spectre CID du dimère [8azaAdeNa7déazaGua]⁺.

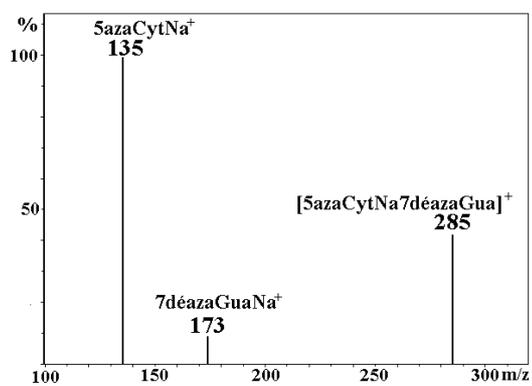


Figure 75 : Spectre CID du dimère [5azaCytNa7déazaGua]⁺.

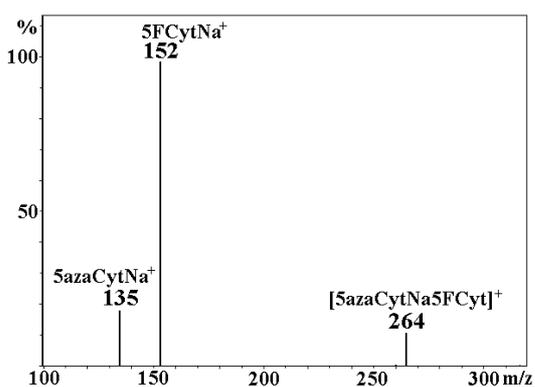


Figure 76 : Spectre CID du dimère [5FCytNa5azaCyt]⁺.

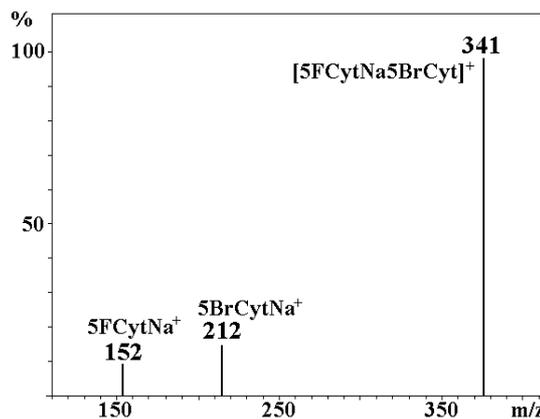


Figure 77 : Spectre CID du dimère [5FCytNa5BrCyt]⁺.

L'affinité cationique de la 7-déaza guanine est supérieure à celle de la 8-aza adénine (*Figure 74*) mais elle est inférieure à celle de la 5-aza cytosine (*Figure 75*). Pour ces bases nucléiques modifiées, l'ordre des affinités cationiques est le suivant :



Deux cytosines halogénées ont été étudiées : la 5-fluoro et la 5-bromo cytosine. L'affinité cationique de la 5-fluoro cytosine est supérieure à celle de la 5-aza cytosine (*Figure 76*) mais proche de celle de la 5-bromo cytosine (*Figure 77*). Pour l'ensemble de ces bases modifiées, l'échelle d'affinité cationique est la suivante :



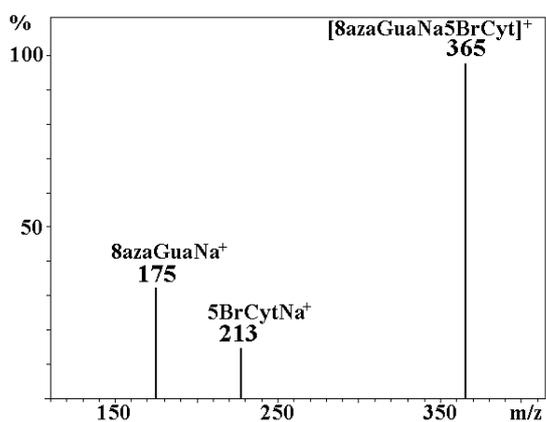


Figure 78 : Spectre CID du dimère [8azaGuaNa5BrCyt]⁺.

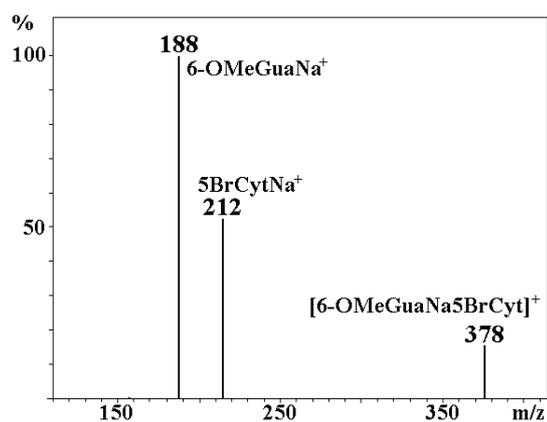


Figure 79 : Spectre CID du dimère [6OMeGuaNa5BrCyt]⁺.

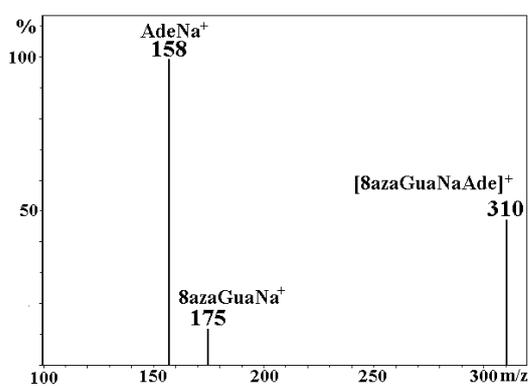


Figure 80 : Spectre CID du dimère [8azaGuaNaAde]⁺.

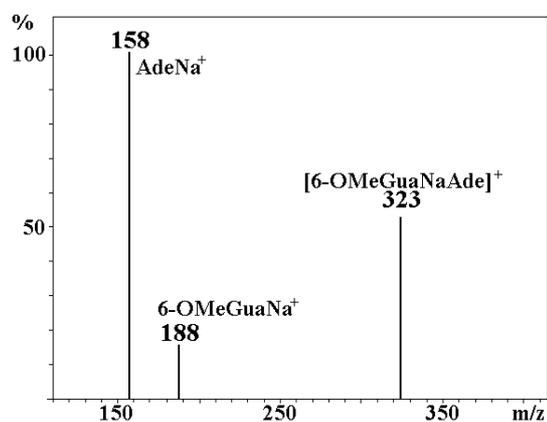


Figure 81 : Spectre CID du dimère [6OMeGuaNaAde]⁺.

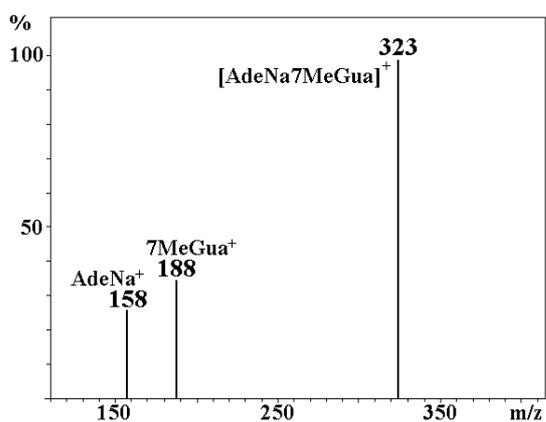


Figure 82 : Spectre CID du dimère [7MeGuaNaAde]⁺.

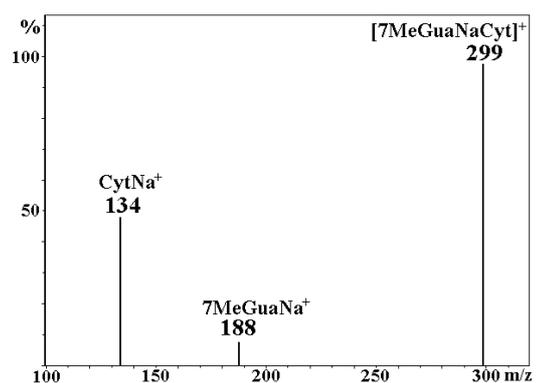


Figure 83 : Spectre CID du dimère [7MeGuaNaCyt]⁺.

Les dérivés de la guanine sont très peu solubles dans l'eau c'est pourquoi le dimère constitué de la 8-aza guanine et de la 6-O méthyl guanine n'a pas pu être étudié. L'affinité cationique de chacune de ces deux bases a donc été déterminée par rapport à celle de la 5-bromo cytosine et de l'adénine. La **Figure 78** montre que l'affinité cationique de la 5-bromo cytosine est inférieure à celle de la 8-aza guanine, comme pour celle de la 6-O méthyl guanine (**Figure 79**). Par contre, la 8-aza guanine et la 6-O méthyl guanine ont une affinité cationique inférieure à celle de l'adénine comme le montrent la **Figure 80** et la **Figure 81**. Les deux dérivés de la guanine ont, a priori, une affinité cationique très proche l'une de l'autre et l'ordre suivant a été obtenu :



L'adénine a été également étudiée avec une autre guanine modifiée, la 7-méthyl guanine. La **Figure 82** montre que l'affinité cationique de l'adénine est proche de celle de la 7-méthyl guanine. La 7-méthyl guanine a été étudiée avec la cytosine et dans ce cas, l'affinité cationique de la cytosine est supérieure à celle de la 7-méthyl guanine (**Figure 83**). L'ensemble des résultats obtenus avec la 7-méthyl guanine nous permet de mettre en évidence que l'affinité cationique de l'adénine est inférieure à celle de la cytosine et l'ordre suivant a été établi :



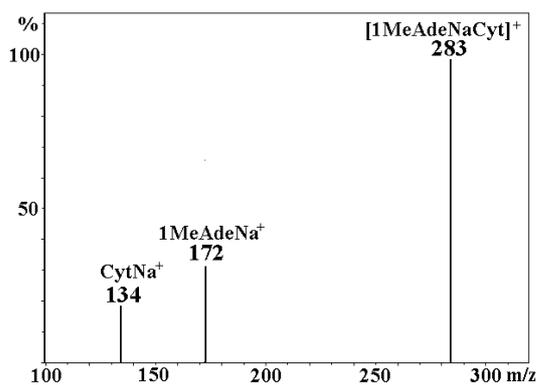


Figure 84 : Spectre CID du dimère [1MeAdeNaCyt]⁺.

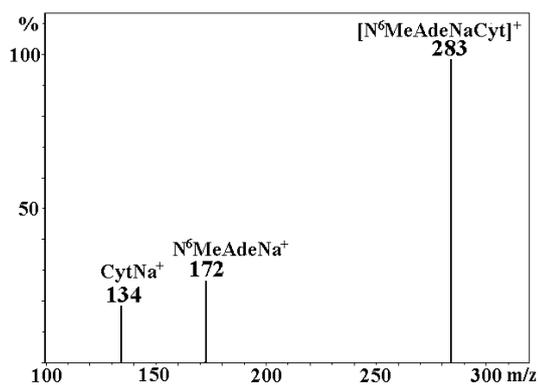


Figure 85 : Spectre CID du dimère [N⁶MeAdeNaCyt]⁺.

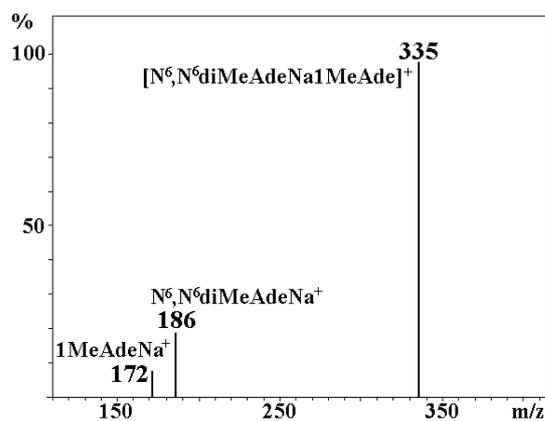


Figure 86 : Spectre CID du dimère [N⁶,N⁶diMeAdeNa1MeAde]⁺.

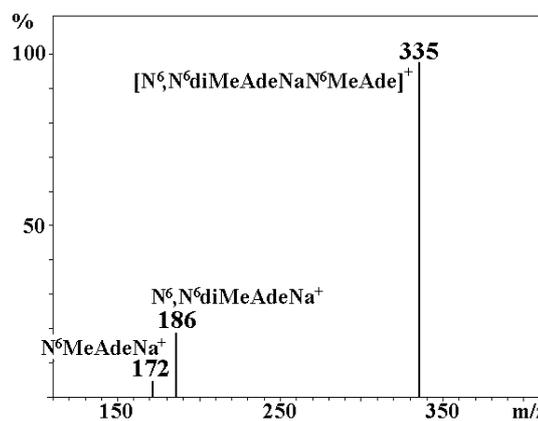


Figure 87 : Spectre CID du dimère [N⁶,N⁶diMeAdeNaN⁶MeAde]⁺.

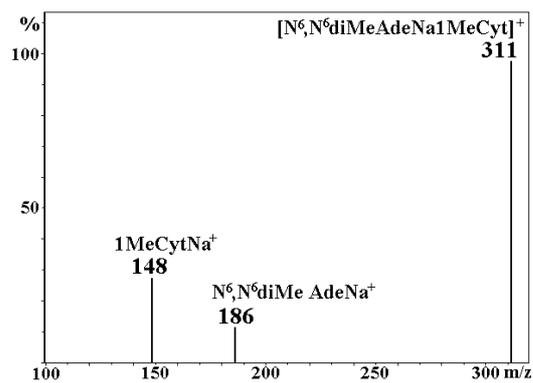


Figure 88 : Spectre CID du dimère [N⁶,N⁶diMeAdeNa1MeCyt]⁺.

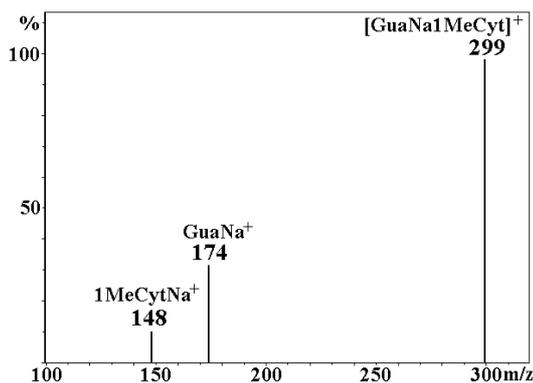


Figure 89 : Spectre CID du dimère [GuaNa1MeCyt]⁺.

Deux adénines méthylées isomères de position, la 1-méthyl adénine et la N⁶-méthyl adénine, ont été étudiées successivement avec la cytosine et la N⁶,N⁶-diméthyl adénine. La **Figure 84** et la **Figure 85** montrent que l'affinité cationique de la cytosine est inférieure à celle de la 1-méthyl adénine et de la N⁶-méthyl adénine. Par contre, les adénines méthylées ont une affinité cationique inférieure à celle de la N⁶,N⁶-diméthyl adénine (**Figure 86 et Figure 87**). De plus, l'affinité cationique de la 1-méthyl adénine et de la N⁶-méthyl adénine sont très proches voire égales l'une par rapport à l'autre. L'ordre d'affinité cationique pour ces quatre bases nucléiques est le suivant :



Les deux dernières bases nucléiques étudiées sont la 1-méthyl cytosine et la guanine. La **Figure 88** montre que l'affinité cationique de la 1-méthyl cytosine est supérieure à celle de la N⁶,N⁶-diméthyl adénine mais l'affinité cationique de la guanine est supérieure à celle de la 1-méthyl cytosine (**Figure 89**). La guanine possède une affinité cationique qui est la plus élevée de celles de l'ensemble des bases nucléiques étudiées. L'ordre pour les bases nucléiques ayant une affinité cationique élevée a été déterminé :



2.2. Exploitation des résultats.

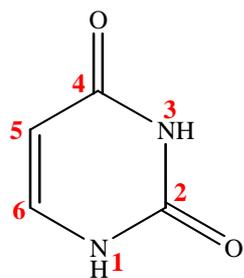
L'ensemble de ces résultats nous a permis de pouvoir établir un ordre d'affinité cationique pour le sodium d'une vingtaine de bases nucléiques modifiées ou non modifiées (**Tableau 24**).

Ordre des bases étudiées.
<i>6-aza thymine (6-aza,5-méthyl uracile)</i>
<i>Uracile</i>
<i>Thymine (5-méthyl uracile)</i>
<i>1-méthyl thymine (1,5-diméthyl uracile)</i>
<i>6-méthyl uracile</i>
<i>1,3-diméthyl uracile</i>
<i>8-aza adénine</i>
<i>7-déaza guanine</i>
<i>5-aza cytosine</i>
<i>5-fluoro cytosine</i>
<i>5-bromo cytosine</i>
<i>8-aza guanine</i>
<i>6-O méthyl guanine</i>
<i>Adénine</i>
<i>7-méthyl guanine</i>
<i>Cytosine</i>
<i>1-méthyl adénine</i>
<i>N⁶-méthyl adénine</i>
<i>N⁶,N⁶-diméthyl adénine</i>
<i>1-méthyl cytosine</i>
<i>Guanine</i>

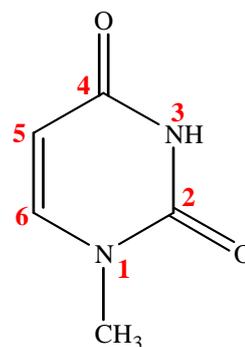
Tableau 24 : Ordre d'affinité cationique pour le sodium de l'ensemble des bases nucléiques étudiées.

a. Les bases nucléiques puriques.

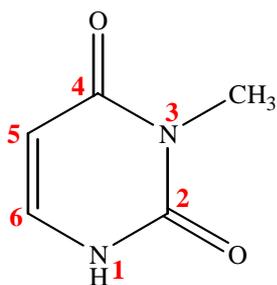
Les affinités cationiques des uraciles modifiées ou non modifiées, dont les structures sont présentées ci-dessous, sont les plus faibles.



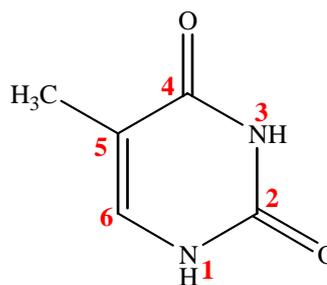
Uracile



1-méthyl uracile



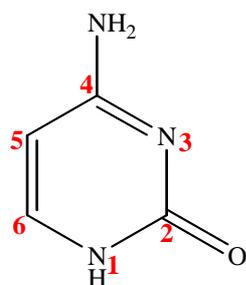
3-méthyl uracile



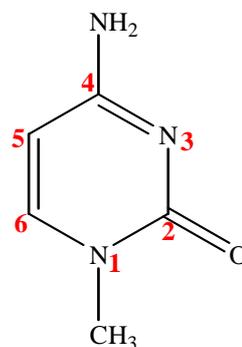
Thymine (5-méthyl uracile)

La méthylation de l'uracile sur les atomes N1, N3 ou C5 ne modifie que très peu l'affinité cationique. On peut donc émettre l'hypothèse que le sodium n'est pas en interaction avec les atomes N1 ou N3, il est donc probable que l'un des deux atomes d'oxygène O2 et O4 soit en interaction avec le cation.

Pour la cytosine, présentée ci-dessous, ainsi que pour ses dérivés, les affinités cationiques sont plus élevées que celles de l'uracile et de ses dérivés, une fonction amine en position C4 se substitue à la fonction carbonyle par rapport à l'uracile.



Cytosine

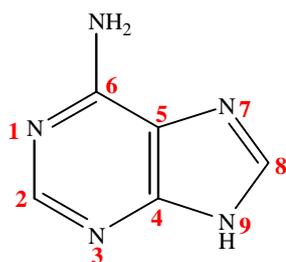


1-méthyl cytosine

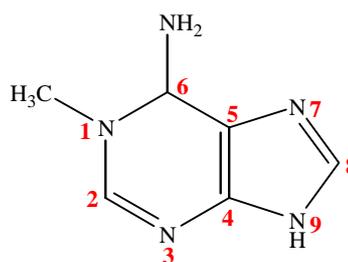
Les résultats expérimentaux montrent que l'affinité cationique de la cytosine et de la 1-méthyl cytosine sont proches l'une de l'autre, celle de la 1-méthyl cytosine étant supérieure à celle de la cytosine. Comme le groupement méthyl en N1 ne modifie que très peu l'affinité cationique, on peut émettre l'hypothèse que le sodium n'est pas en interaction avec N1, comme la structure de la cytosine pouvait le laisser présager.

b. Les bases nucléiques pyrimidiques.

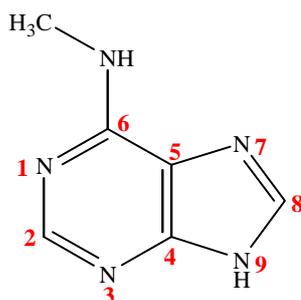
Pour l'adénine présentée ci-dessous, l'affinité cationique est peu modifiée en fonction de la position du groupement méthyl.



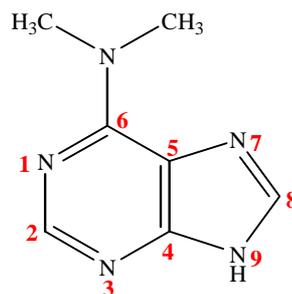
Adénine



1-méthyl adénine



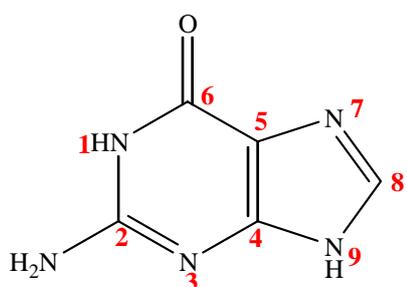
N⁶-méthyl adénine



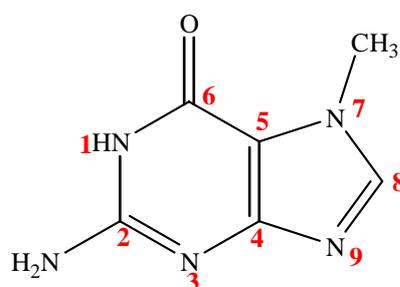
N⁶,N⁶-diméthyl adénine

L'affinité cationique de la 1-méthyl adénine est du même ordre de grandeur que celle de l'adénine, ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse que l'atome N1 n'est probablement pas en interaction avec le sodium. De plus, la méthylation en N6 modifie peu l'affinité cationique de l'adénine, l'atome N6 n'est donc probablement pas en interaction avec le sodium.

La guanine, dont la structure est présentée ci-dessous, diffère de l'adénine par la présence en C6 d'une fonction carbonyle qui se substitue à la fonction amine et que celle-ci est déplacée en C2. Son affinité cationique est supérieure à celle de l'adénine.



Guanine



7-méthyl guanine

D'après les résultats expérimentaux, l'affinité cationique de la 7-méthyl guanine est très inférieure à celle de la guanine, le sodium est donc probablement en interaction avec l'atome N7.

c. Récapitulatif

L'étude par la méthode de Cooks des bases nucléiques modifiées et non modifiées cationisées (Na^+) nous a permis de déterminer une échelle relative d'affinité cationique, cet ordre nous permet de mettre en évidence des sites probables d'interaction avec le sodium qui doivent être confirmés par une étude théorique des affinités cationiques de ces bases nucléiques modifiées et non modifiées.

CHAPITRE II

DETERMINATION DES AFFINITES CATIONIQUES PAR CALCULS *AB INITIO*

L'optimisation de la géométrie des bases nucléiques modifiées et non modifiées a été obtenue à partir du même système de calcul que pour les acides aminés, c'est-à-dire au niveau B3LYP/6-31G* pour l'optimisation des géométries¹⁰⁸ et au niveau B3P86/6-31+G* pour obtenir les énergies des bases nucléiques neutres ou cationisées pour calculer leur affinité cationique.

1. Etude des bases nucléiques neutres.

1.1 Les bases nucléiques pyrimidiques.

a. L'uracile et ses dérivés.

Les structures les plus stables et les énergies de l'uracile neutre et de ses dérivés sont présentées dans le **Tableau 25**.

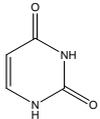
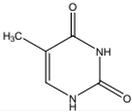
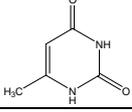
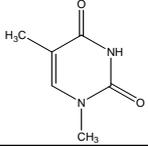
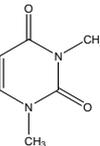
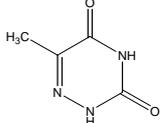
Bases nucléiques	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>Uracile</i>		-415,77695
<i>Thymine (5-méthyl uracile)</i>		-455,21465
<i>6-méthyl uracile</i>		-415,21818
<i>1-méthyl thymine (1,5-diméthyl uracile)</i>		-494,64202
<i>1,3-diméthyl uracile</i>		-494,63190
<i>6-aza thymine (6-aza,5-méthyl uracile)</i>		-471,23865

Tableau 25 : Structures optimisées des bases nucléiques dérivées de l'uracile et énergies correspondantes obtenues au niveau B3LYP/6-31G*.

b. La cytosine et ses dérivés.

Les structures et les énergies des formes neutres les plus stables de la cytosine et de ses dérivés sont présentées dans le **Tableau 26**.

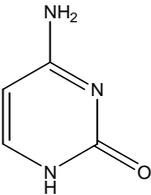
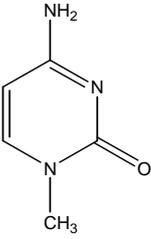
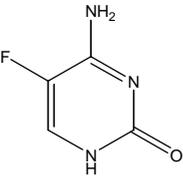
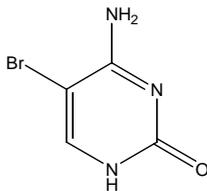
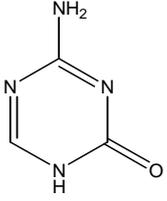
Bases nucléiques	Structure	E_{ét} (Hartree)
<i>Cytosine</i>		-395,88117
<i>1-méthyl cytosine</i>		-435,30940
<i>5-fluoro cytosine</i>		-495,25815
<i>5-bromo cytosine</i>		-2967,80317
<i>5-aza cytosine</i>		-411,94519

Tableau 26 : Structures optimisées des bases nucléiques dérivées de la cytosine et énergies correspondantes obtenues au niveau B3LYP/6-31G.*

1.2. Les bases nucléiques puriques neutres.

a. L'adénine et ses dérivés.

Les structures les plus stables ainsi que les énergies correspondantes de l'adénine neutre et de ses dérivés sont présentées dans le **Tableau 27**.

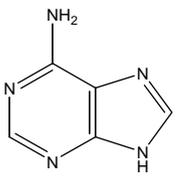
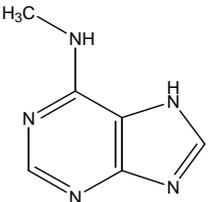
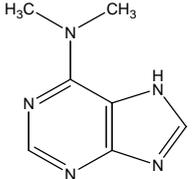
Bases nucléiques	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>Adénine</i>		-468,47643
<i>N6-méthyl adénine</i>		-506,62794
<i>N6,N6-diméthyl adénine</i>		-545,93461

Tableau 27 : Structures optimisées des bases nucléiques dérivées de l'adénine et énergies correspondantes obtenues au niveau B3LYP/6-31G*.

b. La guanine et ses dérivés.

Les énergies et les structures les plus stables de la guanine neutre ainsi que de ses dérivés sont présentées **Tableau 28**.

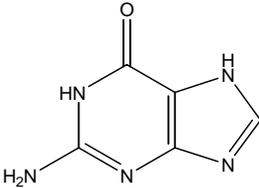
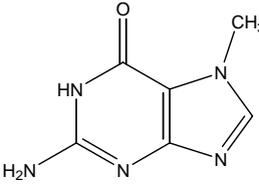
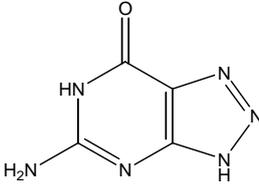
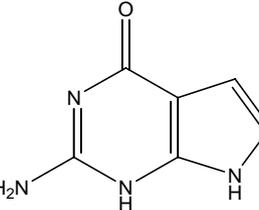
Bases nucléiques	Structure	E_{ét} (Hartree)
<i>Guanine</i>		-543,84998
<i>7-méthyl guanine</i>		-583,27903
<i>8-aza guanine</i>		-559,86256
<i>7-déaza guanine</i>		-527,77535

Tableau 28 : Structures optimisées des bases nucléiques dérivées de la guanine et énergies correspondantes obtenues au niveau B3LYP/6-31G.*

Bases nucléiques		E_{él}(O4) (Hartree)	E_{él}(O2) (Hartree)	ΔE_{él} (E_{él}(O4)-E_{él}(O2)) (kJ.mol ⁻¹)
R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₆ = H	<i>Uracile</i>	-578,08827	-578,08159	-17,5
R ₅ = CH ₃ R ₁ = R ₃ = R ₆ = H	<i>Thymine</i>	-617,52569	-617,52221	-9
R ₆ = CH ₃ R ₁ = R ₃ = R ₅ = H	<i>6-méthyl uracile</i>	-616,28909	-616,28142	-20
R ₁ = R ₅ = CH ₃ R ₃ = R ₆ = H	<i>1-méthyl thymine</i>	-655,59736	-655,59097	-17
R ₁ = R ₃ = CH ₃ R ₅ = R ₆ = H	<i>1,3-diméthyl uracile</i>	-655,58967	-655,58100	-23

Tableau 29 : Energie des structures cationisées les plus stables pour l'uracile et quatre uraciles méthylées en fonction du site d'interaction avec le sodium, les atomes O2 ou O4. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

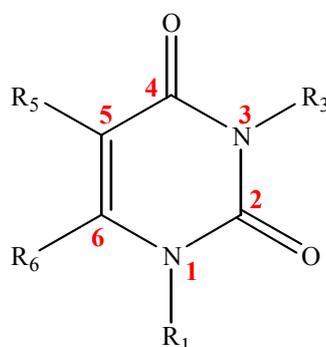
2. Etudes des bases nucléiques cationisées.

2.1. Les bases nucléiques pyrimidiques cationisées.

a. L'uracile et ses dérivés.

α . L'uracile et ses dérivés méthylés.

L'uracile ainsi que quatre dérivés méthylés dont la structure générale est présentée ci-dessous, la thymine, la 6-méthyl uracile, la 1,3-diméthyl uracile et la 1-méthyl thymine, ont été étudiées. L'ensemble des structures cationisées étudiées ainsi que les énergies sont présentées en *Annexes A.21 et A.22*.



Pour chacune de ces bases nucléiques, deux sites d'interaction entre la molécule et le sodium ont été envisagés, les atomes d'oxygène O2 et O4. Le *Tableau 29* montre les valeurs des énergies obtenues en fonction du site d'interaction (O2 ou O4) et de la nature de R₁, R₃, R₅ et R₆.

La différence d'énergie entre la structure pour laquelle le sodium est en interaction avec O2 et celle pour laquelle le sodium est en interaction avec O4 varie de près de 10 kJ.mol⁻¹ environ pour la thymine à 20 kJ.mol⁻¹ environ pour la 6-méthyl uracile et la 1,3-diméthyl uracile. Pour l'uracile et la 1-méthyl thymine, la différence énergétique entre les deux structures est de 17 kJ.mol⁻¹. La structure la plus stable pour les cinq bases étudiées est toujours celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome O4.

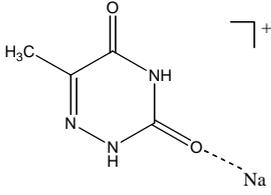
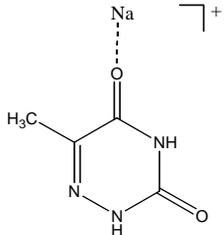
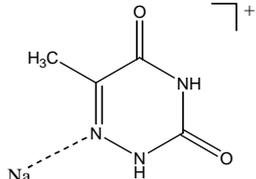
Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
<i>6-aza thymine</i>		-633,54168	0
		-633,54016	+4
		-633,51562	+68

Tableau 30 : Structures et énergies des formes cationisées les plus stables de la 6-aza thymine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

β. La 6-aza thymine

Dans le cas de la 6-aza thymine, un troisième site de cationisation (N6) a été envisagé. Les structures les plus stables sont présentées dans le **Tableau 30**. La structure pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome N6 est moins stable que celles pour lesquelles le sodium est en interaction avec les atomes O2 ou O4, la différence énergétique est de $4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ entre la structure pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome O4, la plus stable, et celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome O2. La différence entre la structure la plus stable et celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome N6 est de $68 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Contrairement aux uraciles méthylées étudiées précédemment, la structure la plus stable est celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome O2. La 6-aza thymine est donc la seule base nucléique de la série des uraciles modifiées à avoir pour structure cationisée la plus stable celle où le sodium est en interaction avec l'atome d'oxygène O2.

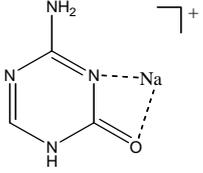
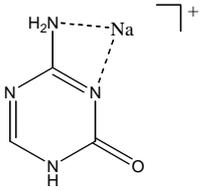
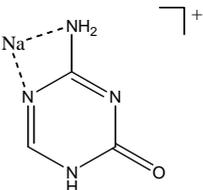
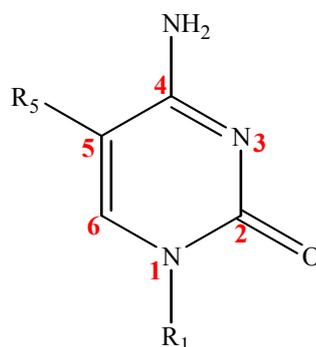
Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
<i>5-aza cytosine</i>		-573,14916	0
		-573,14252	+ 17,5
		-573,10884	+106

Tableau 31 : Structures et énergies des formes cationisées les plus stables de la 5-aza cytosine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

b. La cytosine et ses dérivés.

Les géométries de la cytosine cationisée ainsi que quatre dérivés substitués en position 1 (1-méthyl cytosine) ou en position 5 (5-fluoro cytosine, 5-bromo cytosine et 5-aza cytosine) ont été étudiées au niveau B3LYP/6-31G*. La structure générale de la cytosine est indiquée ci-dessous.



α. La 5-aza cytosine.

Trois structures cationisées ont été envisagées pour la 5-aza cytosine. Elles sont présentées **Tableau 31**.

La forme cationisée la plus stable pour la 5-aza cytosine est celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O2 et N3. La différence énergétique entre la forme la plus stable et celle où le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N4 est de 17,5 kJ.mol⁻¹ tandis que pour la forme pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N4 et N5, la différence d'énergie est de 106 kJ.mol⁻¹.

Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
5-fluoro cytosine		-656,32411	0
		-656,27418	+ 131
		-656,25496	+182

Tableau 32 : Structures et énergies non corrigées des formes cationisées les plus stables de la 5-fluoro cytosine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$).

Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
5-bromo cytosine		-3128,20144	0
		-3128,15895	+112
		-3128,15895	+112

Tableau 33 : Structures et énergies non corrigées des formes cationisées les plus stables de la 5-bromo cytosine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$).

β. La 5-fluoro cytosine et la 5-bromo cytosine.

Deux dérivés halogénés en position C5 de la cytosine ont également été étudiés, la 5-fluoro et la 5-bromo cytosine. Pour chaque base nucléique, trois structures ont été envisagées, une première pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O2 et N3, une seconde pour laquelle le sodium est en interaction entre l'atome N6 et l'atome d'halogène et une troisième pour laquelle le sodium est en interaction uniquement avec l'atome d'halogène en C5. Le **Tableau 32** indique les énergies et les structures de la 5-fluoro cytosine cationisée.

La structure la plus stable de la 5-fluoro cytosine cationisée est celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O2 et N3. La différence d'énergie entre la structure la plus stable et celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome de fluor est de 131 kJ.mol^{-1} . La différence d'énergie est également très élevée entre la structure la plus stable et celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome N4 et l'atome de fluor, elle est de plus de 180 kJ.mol^{-1} .

Les trois structures identiques aux précédentes ont été envisagées pour la 5-bromo cytosine cationisée. Les énergies et les structures sont présentées **Tableau 33**.

La structure pour laquelle le cation sodium est en interaction avec l'atome de brome et celle pour laquelle le sodium est en interaction avec l'atome de brome et N4 ont la même énergie, dans ce cas, le sodium est uniquement en interaction avec l'atome de brome. La structure la plus stable de la 5-bromo cytosine cationisée est celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O2 et N3, la différence d'énergie avec la structure pour laquelle le cation sodium est en interaction avec l'atome de brome est de 112 kJ.mol^{-1} . Comme dans le cas de la 5-fluoro cytosine, la structure cationisée la plus stable est celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O2 et N3.

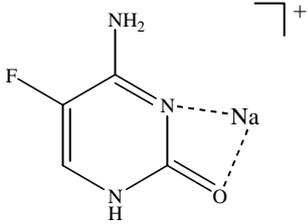
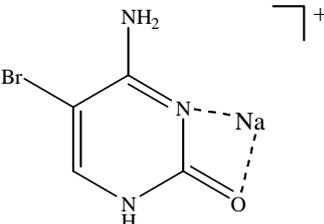
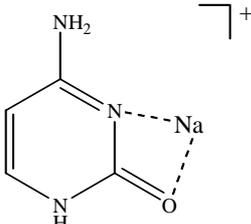
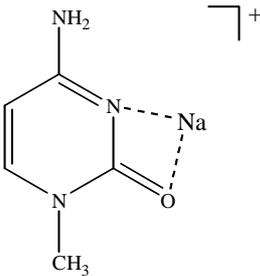
Bases nucléiques	Structure	E_{ét} (Hartree)
<i>5-fluoro cytosine</i>		-657,58927
<i>5-bromo cytosine</i>		-3130,13609
<i>Cytosine</i>		-558,21837
<i>1-méthyl cytosine</i>		-597,64903

Tableau 34 : Energie corrigées obtenues au niveau B3LYP/6-31G* des structures cationisées les plus stables pour la cytosine et ses dérivés. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

γ. La 1-méthyl cytosine.

Pour la cytosine et la 1-méthyl cytosine, une seule forme a été envisagée, celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O2 et N3. La structure pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N4 n'a pas été étudiée à la suite des résultats obtenus dans le cas de la 5-aza cytosine (**Tableau 31**).

Les résultats expérimentaux ont montré que l'affinité cationique de la cytosine est proche de celle de la 1-méthyl cytosine et l'hypothèse selon laquelle N1 ne serait pas en interaction avec le sodium a été émise. Les résultats obtenus à partir des calculs confirment cette hypothèse.

δ. Récapitulatif des structures cationisées de la cytosine et de ses dérivés.

Les structures et les énergies corrigées des structures cationisées les plus stables de la cytosine et de ses quatre dérivés sont présentées **Tableau 34**.

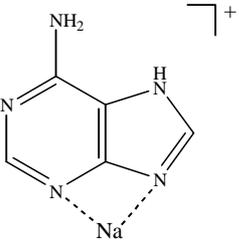
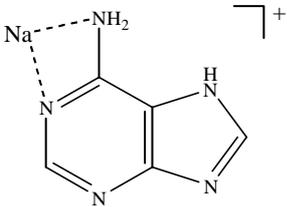
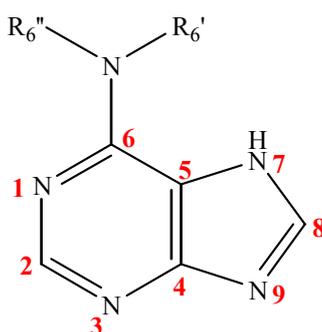
Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Adénine</i>		-629,47690	0
		-629,44575	+82

Tableau 35 : Structures et énergies des formes cationisées de l'adénine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

2.2. Les bases nucléiques puriques cationisées.

a. L'adénine et ses dérivés.

Les structures cationisées de l'adénine et de trois adénines modifiées, dont la structure est présentée ci-dessous, ont été étudiées au niveau B3LYP/6-31G*.



Pour l'adénine cationisée, deux géométries ont été envisagées, une pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N9 et l'autre pour laquelle il est en interaction avec les atomes N1 et N6. Les structures et les énergies correspondantes sont présentées dans le **Tableau 35**.

La différence d'énergie entre les deux structures cationisées est de $82 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. La structure cationisée la plus stable pour l'adénine est celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N9.

Pour la N⁶-méthyl adénine et la N⁶,N⁶-diméthyl adénine, la structure pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N1 et N6 n'a pas été envisagée puisque l'atome N6 est méthyli. Les énergies pour chaque structure cationisée les plus stables sont présentées

Tableau 36.

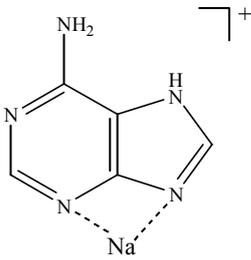
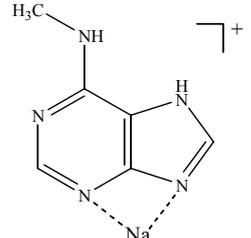
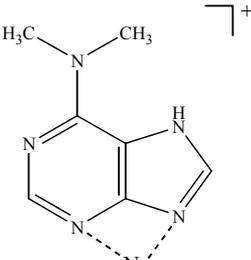
Bases nucléiques	Structure	E_{ét} (Hartree)
<i>Adénine</i>		-630,79775
<i>N⁶-méthyl adénine</i>		-670,22480
<i>N⁶,N⁶-diméthyl adénine</i>		-709,64993

Tableau 36 : Energie électronique des structures cationisées les plus stables pour l'adénine et deux adénines méthylées en N6.

Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
<i>8-aza guanine</i>		-722,19589	0
		-722,17943	+43

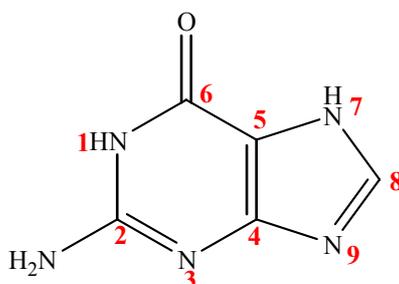
Tableau 37 : Structures et énergies des deux formes cationisées envisagées pour la 8-aza guanine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$).
1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
<i>7-méthyl guanine</i>		-745,61067	0
		-745,60954	+3

Tableau 38 : Structures et énergies des deux formes cationisées envisagées pour la 7-méthyl guanine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$).
1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

b. La guanine et ses dérivés.

Les structures cationisées de la guanine, présentée ci-dessous, ainsi que trois de ses dérivés ont été étudiées.



Les guanines modifiées étudiées sont la 7-méthyl guanine, la 8-aza guanine et la 7-déaza guanine. Plusieurs géométries ont été envisagées pour chacune de ces bases.

α. La 8-aza guanine.

Pour ce qui concerne la 8-aza guanine, deux formes ont été envisagées, une première structure pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O6 et N7 et une seconde pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N9 (*Tableau 37*). La structure correspondant à une interaction entre les atomes O6 et N7 est la plus stable.

β. La 7-méthyl guanine.

Dans le cas de la 7-méthyl guanine, deux structures ont été envisagées, une forme pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N9 et une autre forme pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O6 et N1, les structures ainsi que les énergies correspondantes sont indiquées dans le *Tableau 38*. La différence d'énergie entre les deux structures envisagées est faible ($3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), la structure la plus stable de la 7-méthyl guanine correspond à une interaction entre les atomes O6 et N1 avec le sodium.

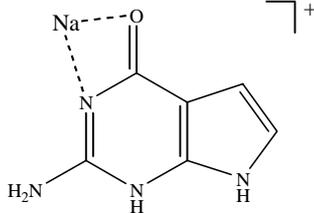
Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>7-déaza guanine</i>		-690,09964

Tableau 39 : Structure et énergie de la 7-déaza guanine cationisée.

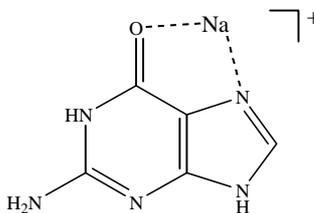
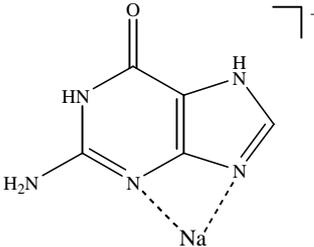
Base nucléique	Structure	E_{el} (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Guanine</i>		-706,19415	0
		-706,17808	+42

Tableau 40 : Structures et énergies des deux formes cationisées envisagées pour la guanine. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el} = 0$).
1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

γ. La 7-déaza guanine

Contrairement aux deux précédentes bases nucléiques, une seule structure cationisée a été envisagée pour la 7-déaza guanine, celle pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O6 et N1 (**Tableau 39**), puisque la structure de celle-ci ne permet pas d'envisager une interaction entre l'atome N7 (qui n'existe plus) et l'atome O6 et que les atomes N3 et N9 possèdent chacun un atome d'hydrogène rendant impossible une interaction avec le sodium.

δ. La guanine

Pour la guanine, deux structures cationisées ont été envisagées, une forme pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes N3 et N9 puis une seconde pour laquelle le sodium est en interaction avec les atomes O6 et N7. Le **Tableau 40** montre les énergies obtenues pour chaque structure envisagée.

La structure de la guanine correspondant à une interaction entre le sodium et les atomes O6 et N7 est la plus stable. La différence importante d'affinité cationique entre la guanine et la 7-méthyl guanine déterminée expérimentalement nous a permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle l'atome N7 serait un des sites d'interaction possible entre le sodium et la guanine, les calculs confirment ces résultats.

c. Récapitulatif des résultats calculés.

A partir des géométries optimisées des bases nucléiques modifiées et non modifiées neutres et cationisées, les énergies correspondantes ont été calculées au niveau B3P86/6-31+G* en tenant compte de la correction ZPVE et de la correction BSSE. Ces énergies permettent de déterminer l'affinité cationique de chaque base nucléique étudiée en calculant la variation d'enthalpie de la réaction $BNa^+ \rightarrow B + Na^+$ avec $\Delta_r H^\circ = AC = E_B + E_{Na^+} - E_{BNa^+}$. Le **Tableau 41** présente les résultats obtenus pour les affinités cationiques calculées. L'ensemble des structures neutres et cationisées déterminées pour toutes les bases nucléiques ainsi que l'énergie correspondante sont présentées en **Annexes A.23 à A.28**.

Bases	E_{el} neutre (Hartree)	E_{el} cationisée (Hartree)	AC_{calc.} (kJ.mol⁻¹)
<i>6-aza thymine</i>	-471,23865	-633,54168	124
<i>thymine</i>	-455,21465	-617,52569	145
<i>uracile</i>	-415,77695	-578,08827	146
<i>1-méthyl thymine</i>	-494,64202	-656,95640	154
<i>6-méthyl uracile</i>	-455,21818	-617,53282	155
<i>1,3-diméthyl uracile</i>	-494,63190	-656,94731	157
<i>Adénine</i>	-468,47643	-630,79775	172
<i>7-déaza guanine</i>	-527,77535	-690,09964	180
<i>5-aza cytosine</i>	-411,94519	-574,27369	191
<i>5-fluoro cytosine</i>	-495,25815	-657,58927	198
<i>7-méthyl guanine</i>	-583,27903	-745,61067	200
<i>5-bromo cytosine</i>	-2967,80317	-3130,13609	203
<i>8-aza guanine</i>	-559,86256	-722,19589	204
<i>Cytosine</i>	-395,88117	-558,21837	214
<i>N⁶-méthyl adénine</i>	-507,88745	-670,22480	215
<i>1-méthyl cytosine</i>	-435,30940	-597,64903	220
<i>N⁶,N⁶-diméthyl adénine</i>	-547,30976	-709,64993	222
<i>Guanine</i>	-543,84998	-706,19415	232

Tableau 41 : Affinités cationiques calculées à partir des énergies des structures neutres et cationisées les plus stables au niveau B3P86/6-31+G pour l'ensemble des bases nucléiques étudiées.*

2.3. Comparaison des résultats expérimentaux et calculés.

L'ordre des affinités cationiques pour les bases nucléiques, obtenu par le calcul, a été comparé à celui obtenu expérimentalement (**Tableau 42**).

Ordre des affinités cationiques obtenues par calcul	AC _{calc} (kJ.mol ⁻¹)	Ordre des affinités cationiques obtenues expérimentalement
<i>6-aza thymine</i>	124	<i>6-aza,5-méthyl uracile</i>
<i>Thymine</i>	145	<i>Uracile</i>
<i>Uracile</i>	146	<i>Thymine</i>
<i>1-méthyl thymine</i>	154	<i>1-méthyl thymine</i>
<i>6-méthyl uracile</i>	155	<i>6-méthyl uracile</i>
<i>1,3-diméthyl uracile</i>	157	<i>1,3-diméthyl uracile</i>
<i>Adénine</i>	172	<i>7-déaza guanine</i>
<i>7-déaza guanine</i>	180	<i>5-aza cytosine</i>
<i>5-aza cytosine</i>	191	<i>5-fluoro cytosine</i>
<i>5-fluoro cytosine</i>	198	<i>5-bromo cytosine</i>
<i>7-méthyl guanine</i>	200	<i>8-aza guanine</i>
<i>5-bromo cytosine</i>	203	<i>Adénine</i>
<i>8-aza guanine</i>	204	<i>7-méthyl guanine</i>
<i>Cytosine</i>	214	<i>Cytosine</i>
<i>N⁶-méthyl adénine</i>	215	<i>N⁶-méthyl adénine</i>
<i>1-méthyl cytosine</i>	220	<i>1-méthyl cytosine</i>
<i>N⁶,N⁶-diméthyl adénine</i>	222	<i>N⁶,N⁶-diméthyl adénine</i>
<i>Guanine</i>	232	<i>Guanine</i>

Tableau 42 : Comparaison des affinités cationiques calculées avec l'ordre obtenu expérimentalement des bases nucléiques.

L'ordre des affinités cationiques déterminé par calcul est en accord avec l'ordre des affinités cationiques obtenu à partir de la méthode expérimentale, hormis pour l'adénine, c'est la raison pour laquelle nous avons repris l'étude théorique de l'adénine.

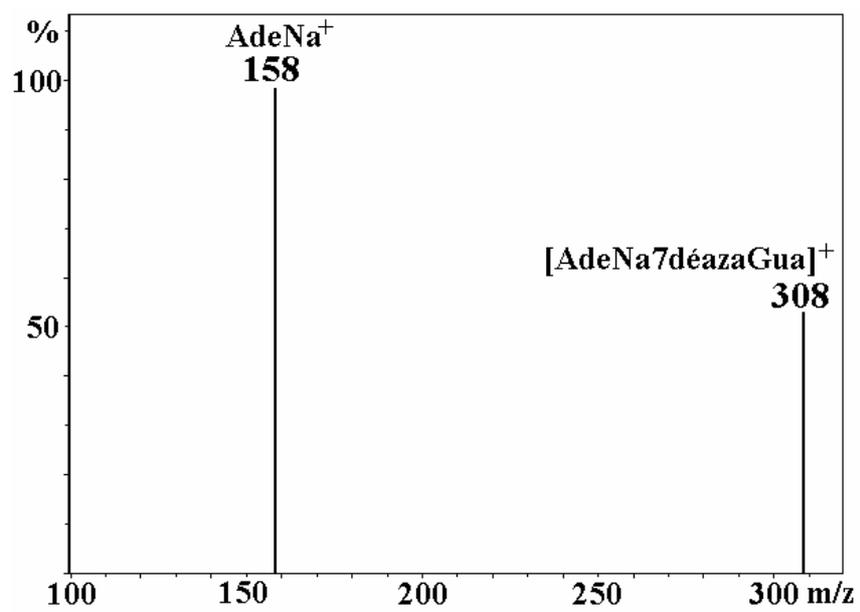
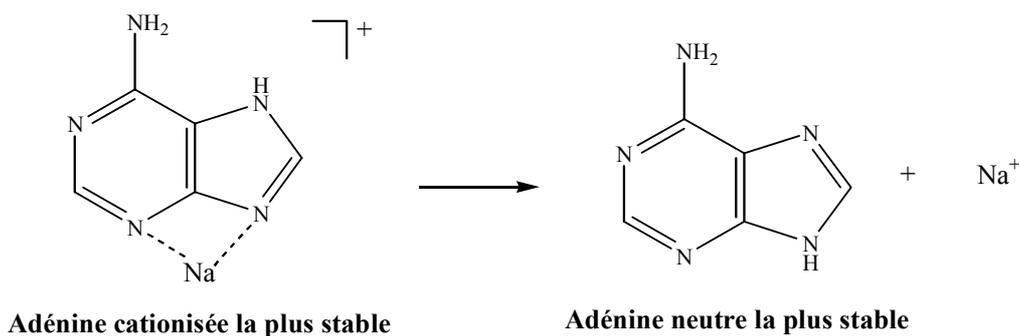


Figure 90 : Spectre de masse obtenu après sélection et fragmentation du dimère [AdeNa7déazaGua]⁺.

3. Etude théorique de l'adénine

L'affinité cationique de l'adénine a été calculée comme étant égale à 172 kJ.mol^{-1} , ce qui est en accord avec l'étude réalisée par Russo *et al.*³³, cette valeur est proche de celle obtenue pour la 7-déaza guanine (180 kJ.mol^{-1}). En fonction de ces résultats, il est clair qu'expérimentalement, lorsque l'on étudie les fragmentations du dimère cationisé $[\text{AdeNa7déazaGua}]^+$, les monomères cationisés AdeNa^+ et 7déazaGuaNa^+ devraient être observés, or, seul est présent le monomère cationisé AdeNa^+ (**Figure 90**). L'affinité cationique de l'adénine est donc très supérieure à celle de la 7-déaza guanine, ce qui est contraire au résultat théorique.

L'affinité cationique correspond à la variation d'enthalpie de la réaction : $\text{BNa}^+ \rightarrow \text{B} + \text{Na}^+$ avec $\Delta_r H^\circ = AC = E_B + E_{\text{Na}^+} - E_{\text{BNa}^+}$. Habituellement, pour calculer l'affinité cationique, les énergies des formes neutres et cationisées des structures les plus stables sont utilisées. Dans le cas de l'adénine, on remarque que les structures de la forme neutre et cationisée sont différentes, la réaction étudiée est la suivante :



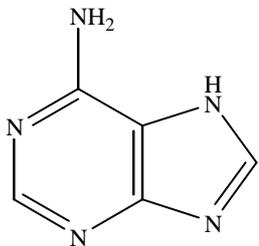
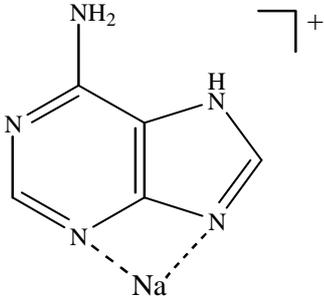
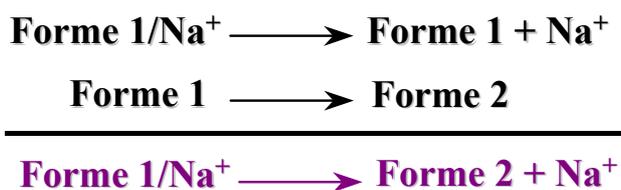
Adénine neutre	Adénine cationisée
 <p>The structure shows the neutral form of adenine, a purine base consisting of a fused pyrimidine and imidazole ring system. It features an amino group (-NH₂) at the 6-position and two hydrogen atoms on the ring nitrogens.</p>	 <p>The structure shows the protonated form of adenine. A sodium ion (Na⁺) is coordinated to the two ring nitrogens via dashed lines, forming a zwitterionic salt. A positive charge (+) is indicated in the upper right corner.</p>
-468,46320 Hartree	-630,79775 Hartree

Tableau 43 : Structure et énergie de l'adénine neutre et cationisée. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

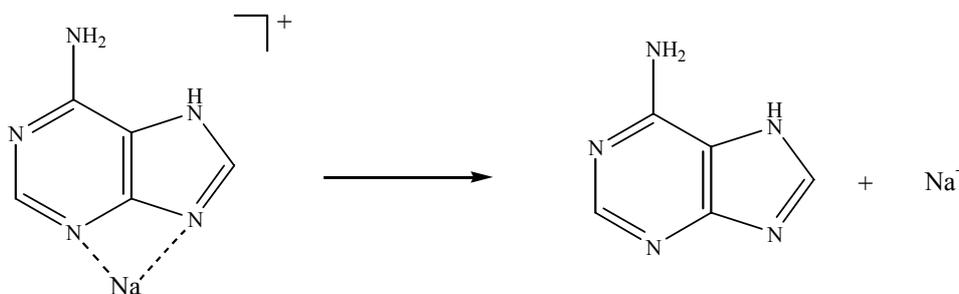
La structure de l'adénine neutre et de l'adénine cationisée ne sont pas les mêmes, la réaction n'est donc pas élémentaire, elle est de la forme :



En fait, on réalise une addition de deux réactions élémentaires :



Pour respecter la définition même de l'affinité cationique, nous avons décidé d'utiliser les structures des formes neutres identiques aux structures des formes cationisées les plus stables. Dans le cas de l'adénine, la réaction pour laquelle la structure de la forme neutre correspond à l'adénine cationisée la plus stable serait la suivante :



Les énergies de chacune de ces structures déterminées précédemment sont indiquées dans le **Tableau 43**.

A partir de ces énergies, l'affinité cationique de l'adénine devient égale à 202 kJ.mol⁻¹, valeur en parfait accord avec nos résultats expérimentaux.

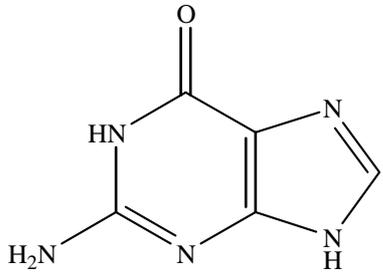
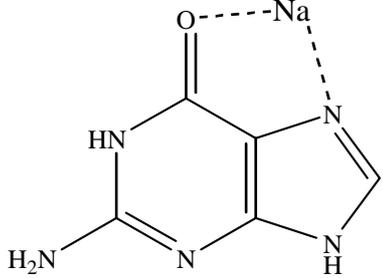
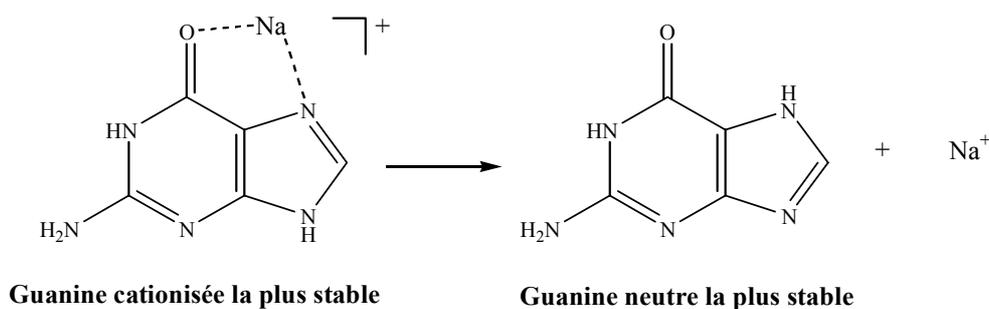
Guanine neutre	Guanine cationisée
 <p>The structure shows neutral guanine, a purine base with a fused bicyclic ring system. It features a carbonyl group at the 6-position, an amino group at the 2-position, and hydrogen atoms on the nitrogen atoms at positions 1 and 3.</p>	 <p>The structure shows cationized guanine. The carbonyl oxygen at the 6-position is coordinated to a sodium ion (Na⁺) via a dashed line, representing an ionic interaction. The rest of the molecule is identical to the neutral form.</p>
-543,84906 Hartree	-706,19415 Hartree

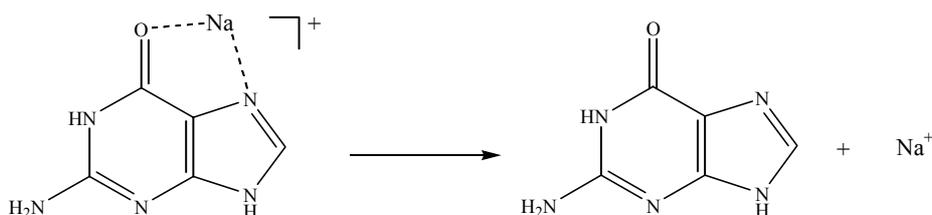
Tableau 44 : Structure et énergie de la guanine neutre et cationisée. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

4. Etude théorique de la guanine.

Dans le cas de la guanine, la forme cationisée la plus stable ne correspond pas à la forme neutre la plus stable :



Comme précédemment, nous avons étudié la réaction de cationisation suivante :



Les énergies de chacune de ces structures neutres et cationisées sont présentées dans le **Tableau 44**.

L'affinité cationique de la guanine est alors de 234 kJ.mol^{-1} , qui est de nouveau en excellent accord avec les résultats expérimentaux.

CHAPITRE III

DETERMINATION EXPERIMENTALE DES AFFINITES CATIONIQUES

Ordre des bases étudiées.
<i>6-aza thymine</i>
<i>Uracile</i> <i>Thymine</i>
<i>1-méthyl thymine</i>
<i>6-méthyl uracile</i>
<i>1,3-diméthyl uracile</i>
<i>8-aza adénine</i>
<i>7-déaza guanine</i>
<i>5-aza cytosine</i>
<i>5-fluoro cytosine</i>
<i>5-bromo cytosine</i>
<i>8-aza guanine</i>
<i>6-O méthyl guanine</i>
<i>Adénine</i> <i>7-méthyl guanine</i>
<i>Cytosine</i>
<i>1-méthyl adénine</i> <i>N⁶-méthyl adénine</i>
<i>N⁶,N⁶-diméthyl adénine</i>
<i>1-méthyl cytosine</i>
<i>Guanine</i>

Tableau 46 : Ordre d'affinité cationique pour le sodium de l'ensemble des bases étudiées.

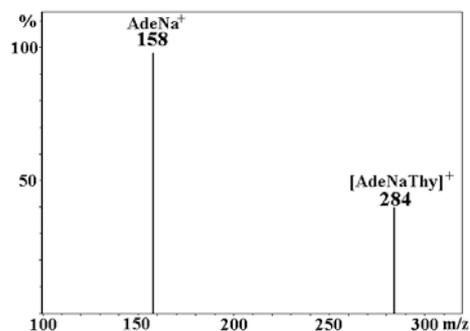


Figure 91 : Spectre de masse obtenu après fragmentation du dimère $[AdeNaThy]^+$.

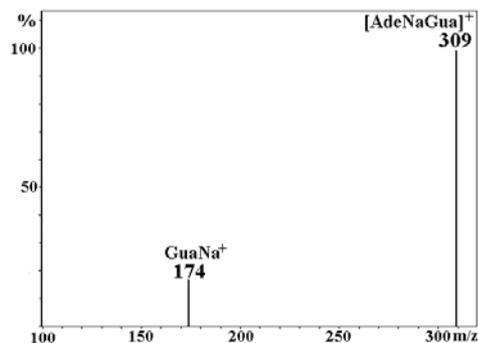


Figure 92 : Spectre de masse obtenu après fragmentation du dimère $[AdeNaGua]^+$.

1. Rappel des précédents résultats.

Nous avons vu que l'ordre des affinités cationiques des bases nucléiques déterminées expérimentalement est en accord avec celui déterminé théoriquement. L'obtention des valeurs expérimentales de ces affinités cationiques nécessite des valeurs de référence. Dans la littérature^{20,30}, les affinités cationiques de l'uracile et de la thymine (environ 140 kJ.mol⁻¹) sont en relativement bon accord avec nos calculs. Par contre, les affinités cationiques de l'adénine^{20,30}, de la cytosine³⁰ et de la guanine³⁰ sont très inférieures à celles que nous avons obtenues par le calcul. Comme nos résultats expérimentaux le montrent, seul le monomère cationisé AdeNa⁺ est observé après la fragmentation du dimère cationisé [AdeNaThy]⁺, l'affinité cationique de l'adénine est donc très supérieure (20 kJ.mol⁻¹ au moins) à celle de ThyNa⁺ (**Figure 91**). Les résultats de Rodgers *et al.*²⁰ (**Tableau 45**) ne peuvent pas être pris comme référence. Les résultats obtenus par Cerda *et al.*³⁰ montrent que les affinités cationiques de l'adénine et de la guanine sont relativement proches puisque seulement 10 kJ.mol⁻¹ les séparent.

	<i>Uracile</i>	<i>Thymine</i>	<i>Adénine</i>	<i>Cytosine</i>	<i>Guanine</i>
B.A.Cerda, C.Wesdemiotis ³⁰	141	144	172	177	182
M.T.Rodgers, P.B.Armentrout ²⁰	134,6	135,3	139,6	/	/

Tableau 45 : Affinités cationiques expérimentales, en kJ.mol⁻¹, des bases nucléiques relevées dans la littérature.

Or, nos résultats expérimentaux (**Tableau 46**) montrent que l'affinité cationique de l'adénine est très inférieure à celle de la guanine (**Figure 92**), probablement de plus de 20 kJ.mol⁻¹, puisque après fragmentation du dimère cationisé [AdeNaGua]⁺, seul le monomère cationisé GuaNa⁺ est observé donc l'affinité cationique de l'adénine est très inférieure à celle de la guanine. Il nous est donc impossible de prendre comme références les valeurs déterminées par Cerda *et al.*³⁰.

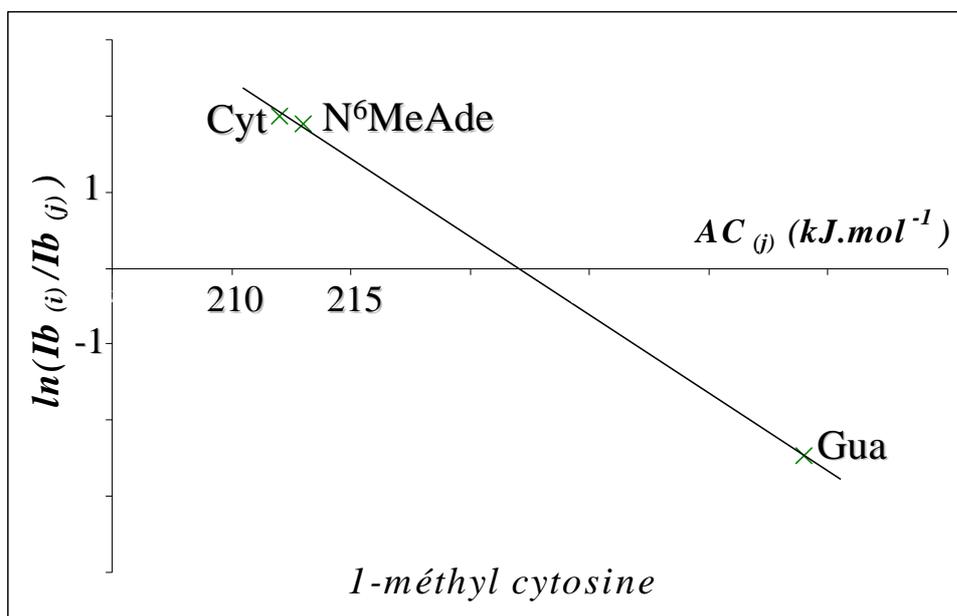


Figure 93 : Détermination de l'affinité cationique de la 1-méthyl cytosine à partir de la droite $\ln(Ib_{(i)}/Ib_{(j)})$ en fonction des affinités cationiques des références ($AC_{(j)} kJ mol^{-1}$).

De plus, les affinités cationiques calculées pour l'uracile, la thymine, la cytosine et la guanine sont en accord avec celles déterminées par Russo³³, hormis pour l'adénine, comme le montre le **Tableau 47**.

	<i>Uracile</i>	<i>Thymine</i>	<i>Adénine</i>	<i>Cytosine</i>	<i>Guanine</i>
N.Russo et al. ³³	145	146	127	213	230
Nos résultats	145	144	202	212	234

Tableau 47 : Affinités cationiques calculées, en kJ.mol⁻¹, des bases nucléiques.

Les références nécessaires pour déterminer les affinités cationiques expérimentales ont donc été prises parmi les valeurs calculées.

2. Détermination des affinités cationiques expérimentales des bases nucléiques.

Afin de déterminer l'ensemble des affinités cationiques expérimentales, six références calculées ont été choisies : l'uracile (145 kJ.mol⁻¹), la 1,3-diméthyl uracile (158 kJ.mol⁻¹), la 8-aza guanine (188 kJ.mol⁻¹), la cytosine (212 kJ.mol⁻¹), la N⁶-méthyl adénine (213 kJ.mol⁻¹) et la guanine (234 kJ.mol⁻¹).

Les affinités cationiques de chacune des bases ont été déterminées à partir de la méthode cinétique de Cooks³⁸⁻⁴⁰ présentée dans le **Chapitre IV de Méthodologie**. A titre d'exemple, la 1-méthyl cytosine a été successivement étudiée avec la cytosine, la N⁶-méthyl adénine et la guanine. La droite obtenue en traçant $\ln(Ib_{(1MeCyt)}/Ib_{(j)})$ vs. $AC(b_{(j)})$ a un bon coefficient de corrélation ($r^2=0,99 \pm 0,10$) et nous permet ainsi de déterminer l'affinité cationique de la 1-méthyl cytosine qui est de 222 kJ.mol⁻¹ (**Figure 93**).

Les affinités cationiques expérimentales ont été obtenues de la même manière pour l'ensemble des bases nucléiques.

Les droites permettant l'obtention de l'ensemble des affinités cationiques expérimentales sont présentées en **Annexes A.29 et A.30**.

Bases	AC_{exp} (kJ mol ⁻¹)	AC_{calc} (kJ mol ⁻¹)	ΔAC (kJ mol ⁻¹)
<i>6-aza thymine</i>	<140	124	
<i>Uracile</i>	ref	145	/
<i>Thymine</i>	145	144	+1
<i>1-méthyl thymine</i>	153	152	+1
<i>6-méthyl uracile</i>	154	153	+1
<i>1,3-diméthyl uracile</i>	ref	158	/
<i>5CH₂OH-uracile</i>	168		
<i>8-aza adénine</i>	171		
<i>7-déazaguanine</i>	173	178	-5
<i>5-azacytosine</i>	187	188	-1
<i>5-fluorocytosine</i>	190	194	-4
<i>5-bromocytosine</i>	196	199	-3
<i>8-azaguanine</i>	ref	188	+3
<i>6 O-méthyl guanine</i>	191		
<i>Adénine</i>	201	202	-1
<i>7-méthyl guanine</i>	202	198	+4
<i>Cytosine</i>	ref	212	/
<i>1-méthyl adénine</i>	215		
<i>N⁶-méthyl adénine</i>	ref	213	/
<i>N⁶, N⁶-diméthyl adénine</i>	221	220	+1
<i>1-méthyl cytosine</i>	222	220	+2
<i>Guanine</i>	ref	234	/

Tableau 48 : Affinités cationique expérimentales et calculées de l'ensemble des bases étudiées au niveau B3P86/6-31+G*/B3LYP/6-31G*.

3. Comparaison des résultats expérimentaux et calculés.

Il a ainsi été possible d'obtenir les affinités cationiques expérimentales et calculées pour l'ensemble des bases étudiées comme le présente le *Tableau 48*.

La valeur expérimentale de l'affinité cationique de la 6-aza thymine n'a pas pu être déterminée avec précision en raison de la très grande différence qui existe entre l'affinité cationique de la 6-aza thymine et celle de la 1-méthyl thymine. De plus, la 6-aza thymine ne peut pas être étudiée avec la thymine puisque leurs rapports m/z ne diffèrent que d'une unité de masse atomique, on ne peut qu'affirmer que l'affinité cationique de la 6-aza thymine est inférieure à 140 kJ.mol^{-1} .

Une très bonne corrélation est observée entre la détermination expérimentale et théorique des affinités cationiques des bases nucléiques, l'écart obtenu pour l'ensemble des résultats est inférieur ou égale à 5 kJ.mol^{-1} . Les résultats nous permettent de montrer que les structures cationisées les plus stables déterminées par calculs sont très probablement celles formées en phase gazeuse.

3.1. Influence de la coordination du sodium avec les bases nucléiques sur l'affinité cationique.

D'une manière générale, les affinités cationiques les plus faibles, de 120 à 160 kJ.mol^{-1} , sont observées pour les complexes monodentates (uracile, thymine et leurs dérivés). Le sodium est alors en interaction avec l'atome O4 pour toutes les bases nucléiques dérivées de l'uracile et de la thymine, sauf pour le 5-aza thymine pour laquelle le cation sodium est en interaction avec l'atome O2.

Les affinités cationiques les plus élevées, de 165 à 234 kJ.mol^{-1} , sont observées pour les complexes bidentates (la cytosine et ses dérivés et l'ensemble des bases nucléiques puriques). Le sodium est en interaction avec deux atomes d'azote ou avec un seul atome d'azote et un atome d'oxygène selon les bases et permet ainsi la formation d'un cycle à 4

chaînon (ex. : adénine, cytosine, 7-déaza guanine...) ou d'un cycle à 5 chaînon (guanine et 8-aza guanine).

3.2. Influence des groupements méthyl sur l'affinité cationique.

La présence d'un groupement méthyl influence de façon plus ou moins importante la valeur de l'affinité cationique en fonction de sa position. L'affinité cationique de la thymine et de l'uracile est la même, alors que la thymine possède un groupement méthyl en position 5 par rapport à l'uracile. Le même phénomène est observé pour la 6-méthyl uracile et la 1-méthyl thymine qui ont la même affinité cationique pourtant la 1-méthyl thymine possède deux groupements méthyl greffés (un sur la position C1 et un second sur l'atome C5). Ces résultats permettent de montrer que l'ajout d'un méthyl sur l'atome C5 n'a quasiment pas d'influence sur l'affinité cationique des bases nucléiques pyrimidiques.

Par contre, l'ajout d'un groupement méthyl en position C1 (1-méthyl thymine) augmente l'affinité cationique de 7 kJ.mol^{-1} par rapport à celle de la thymine et dans le cas de la 1,3-diméthyl uracile, l'affinité cationique augmente de plus de 10 kJ.mol^{-1} par rapport à celle de l'uracile.

Lorsque l'adénine est méthylée en position C1 ou en sur l'atome N6, l'affinité cationique augmente d'une dizaine de kJ.mol^{-1} , comme dans le cas de la cytosine et de la 1-méthyl cytosine pour lesquelles les affinités cationiques passent de 212 à 222 kJ.mol^{-1} .

3.3. Influence de la présence d'un atome d'halogène sur l'affinité cationique de la cytosine.

La présence d'un atome d'halogène en position C5 sur la cytosine diminue de manière importante l'affinité cationique, elle passe de 212 kJ.mol^{-1} pour la cytosine respectivement à 190 et 196 kJ.mol^{-1} pour la 5-fluoro et la 5-bromo cytosine. L'effet électro-attracteur des halogènes conduit à une forte diminution de la densité électronique dans la zone de chélation.

**DETERMINATION DES
AFFINITES CATIONIQUES
DES NUCLEOSIDES**

CHAPITRE I

DETERMINATION EXPERIMENTALE DES AFFINITES CATIONIQUES

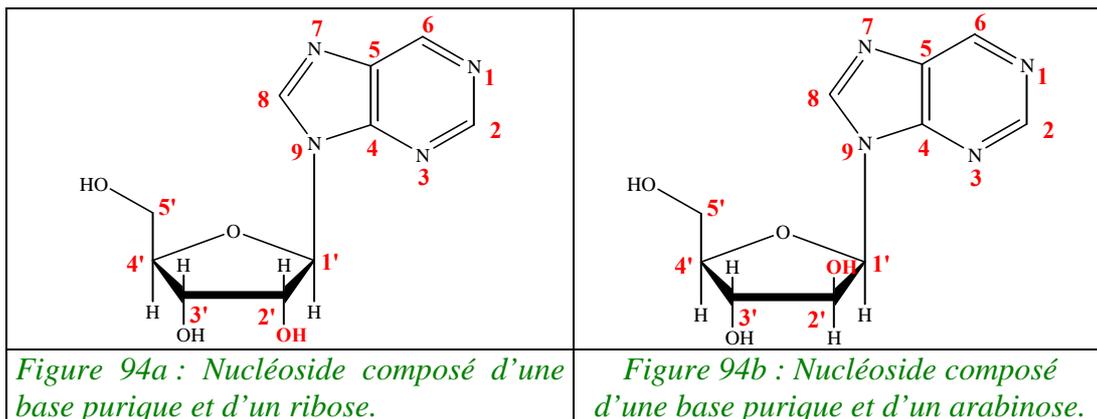


Figure 94 : Structure d'un nucléoside composé d'une base purique.

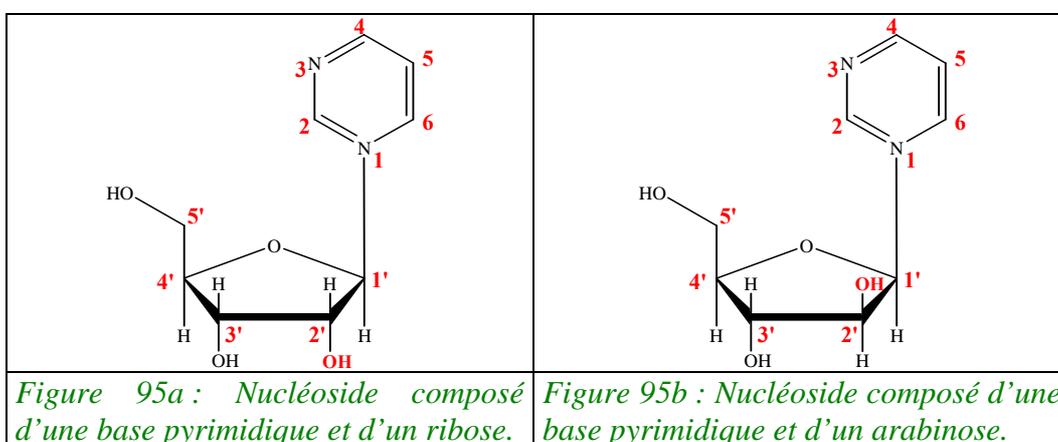


Figure 95 : Structure d'un nucléoside composé d'une base pyrimidique.

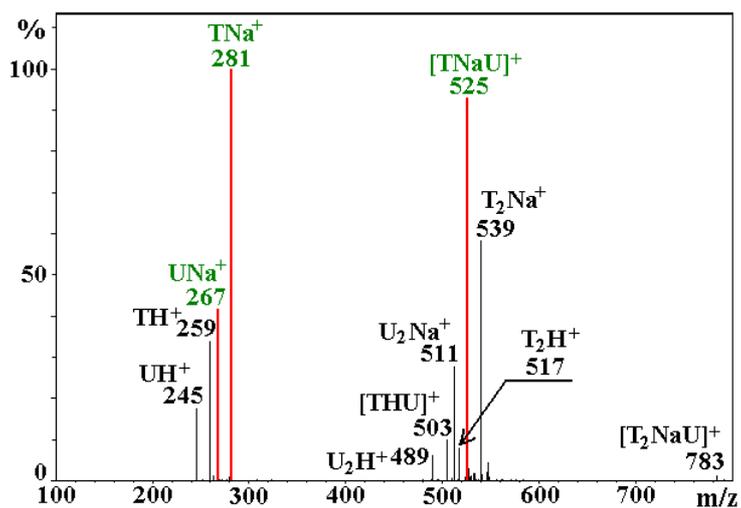


Figure 96 : Spectre de masse d'une solution composée de thymidine et d'uridine dans CH₃CN/H₂O-NaCl.

1. Présentation des nucléosides.

Une échelle relative d'affinité cationique pour une quinzaine de nucléosides a été obtenue à partir de la méthode cinétique de Cooks³⁸⁻⁴⁰. Les structures des nucléosides sont présentées *Figure 94* et *Figure 95*. Les nucléosides sont composés d'une base azotée liée à un ribose, (*Figure 94a* et *Figure 95a*). Si les groupements hydroxy en position 2' et 3' sont absents, il s'agit alors d'un désoxyribonucléoside ou d'un didésoxyribonucléosides. Pour certains nucléosides, il arrive également que le ribose soit remplacé par l'arabinose, la fonction alcool en 2' n'est plus en position α mais en position β (*Figure 94b* et *Figure 95b*).

2. Détermination expérimentale des affinités cationiques.

L'affinité cationique de l'ensemble de ces nucléosides a été étudiée selon le même principe que celui utilisé pour les bases nucléiques ou les acides aminés.

A titre d'exemple, la *Figure 96* indique le spectre de masse ESI obtenu pour une solution contenant un mélange de thymidine et d'uridine dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}-\text{NaCl}$ (50:50). Les monomères protonés UH^+ (m/z 245) et TH^+ (m/z 259) ainsi que cationisés, UNa^+ (m/z 267) et TNa^+ (m/z 281), sont présents. Les dimères protonés, U_2H^+ , m/z 489, $[\text{THU}]^+$, m/z 503, T_2H^+ , m/z 517, et cationisés, U_2Na^+ , m/z 511, $[\text{TNaU}]^+$, m/z 525, T_2Na^+ , m/z 539, sont également observés. Seul le trimère cationisé constitué de deux thymidines et d'une uridine de rapport m/z 783, est très faiblement abondant, sinon aucun autre trimère n'est détecté. Après sélection puis fragmentation du dimère $[\text{TNaU}]^+$ à m/z 525, l'intensité du monomère cationisé UNa^+ (m/z 267) est inférieure à celle du monomère cationisé TNa^+ (m/z 281), on en déduit donc que l'affinité cationique de l'uridine est inférieure à celle de la thymidine.

2.1. Détermination de l'échelle d'affinités cationiques des nucléosides.

Les nucléosides ont été étudiés les uns par rapport aux autres de la même façon afin de déterminer une échelle relative d'affinité cationique pour le sodium. Le **Tableau 49** présente les résultats obtenus pour les seize nucléosides étudiés.

Nucléosides
<i>Uridine (dU)</i>
<i>Désoxy-uridine (ddU)</i>
<i>Thymidine (T)</i>
<i>Uridine arabinose (Uara)</i>
<i>Didésoxy uridine (ddU)</i>
<i>Adénosine (A)</i>
<i>Désoxy-thymidine (dT)</i>
<i>Désoxy-adénosine (dA)</i>
<i>5-aza Cytidine (5azaC)</i>
<i>Cytidine (C)</i>
<i>Guanosine (G)</i>
<i>Désoxy-cytidine (dC)</i>
<i>Cytidine arabinose (Cara)</i>
<i>Didésoxy-cytidine (ddC)</i>
<i>Désoxy-guanosine (dG)</i>

Tableau 49 : Echelle relative expérimentale des affinités cationiques des nucléosides.

Les affinités cationiques augmentent de l'uridine à la guanosine, l'ordre obtenu pour l'affinité cationique des nucléosides est identique à celui des bases nucléiques correspondantes. On remarque également que pour un même nucléoside, le composé didésoxy a une affinité cationique plus élevée que le désoxy qui est lui-même plus élevé que le nucléoside non modifié. Enfin, lorsque le sucre est sous la forme arabinose, l'affinité cationique est plus élevée que lorsqu'il est sous forme ribose.

Nucléosides	AC_{exp} (kJ.mol ⁻¹)
<i>Uridine (U)</i>	181
<i>Désoxy-uridine (dU)</i>	188
<i>Thymidine (T)</i>	189
<i>Uridine arabinose (Uara)</i>	192
<i>Didésoxy uridine (ddU)</i>	193
<i>Adénosine (A)</i>	193
<i>Désoxy-thymidine (dT)</i>	194,5
<i>Désoxy-adénosine (dA)</i>	199
<i>5-aza Cytidine (5azaC)</i>	≈ 200
<i>Cytidine (C)</i>	>220
<i>Guanosine (G)</i>	
<i>Désoxy-cytidine (dC)</i>	
<i>Cytidine arabinose (Cara)</i>	
<i>Didésoxy-cytidine (ddC)</i>	
<i>Désoxy-guanosine (dG)</i>	

Tableau 50 : Affinités cationiques expérimentales (en kJ.mol⁻¹) des nucléosides étudiés.

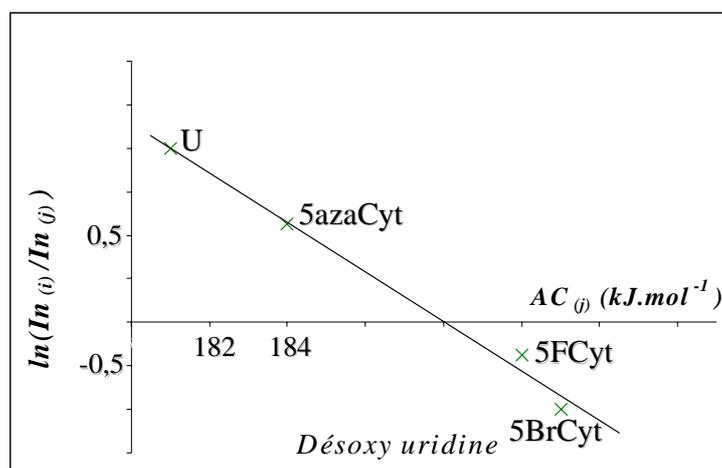


Figure 97 : Détermination de l'affinité cationique de la désoxy-uridine à partir de la droite $\ln(\ln_{(dU)}/\ln_{(j)})$ en fonction des affinités cationiques de références ($AC(\ln_{(j)})$ en kJ.mol⁻¹).

2.2. Détermination des affinités cationiques expérimentales des nucléosides.

Afin de déterminer les affinités cationiques expérimentales, les nucléosides ont été étudiés avec les bases nucléiques dont les affinités cationiques ont été déterminées précédemment, la 7-déaza guanine ($173 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), la 5-aza cytosine ($184 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), la 5-fluoro cytosine ($190 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) et la 5-bromo cytosine ($191 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) ont été utilisées comme référence. En effet, les bases nucléiques sont de composition chimique plus proche des nucléosides que les acides aminés et, jusqu'à présent, il n'existait aucune étude sur les nucléosides cationisés. A partir des courbes $\ln(\ln(I_{(i)}/I_{(j)}))$ vs. $AC(n_{(j)})$ obtenues, les affinités cationiques expérimentales des nucléosides ont été déterminées (**Tableau 50**). A titre d'exemple, la **Figure 97** présente la droite de détermination de l'affinité cationique de la désoxy uridine (dU). Ce nucléoside a été successivement étudié avec l'uridine (U), la 5-aza cytosine (5azaCyt), la 5-fluoro cytosine (5FCyt) et la 5-bromo cytosine (5BrCyt). La droite $\ln(\ln(I_{(dU)}/I_{(j)}))$ vs. $AC(I_{(j)})$ a un bon coefficient de corrélation ($r^2=0,99 \pm 0,10$), l'affinité cationique ainsi déterminée de la désoxy uridine est de $188 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Les droites permettant d'obtenir les affinités cationiques des nucléosides sont présentées en **Annexe A.31**.

Les références utilisées sont des bases nucléiques, l'échelle ne peut donc pas aller au delà des valeurs les plus élevées, c'est-à-dire environ $234 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. De plus, les affinités cationiques les plus élevées des nucléosides sont assez éloignées les unes des autres, c'est la raison pour laquelle nous n'avons pu déterminer qu'un ordre d'affinités cationiques pour l'extrémité supérieure. La synthèse d'autres nucléosides modifiés permettra d'obtenir une échelle d'affinité cationique plus complète.

CHAPITRE II

DETERMINATION DES AFFINITES CATIONIQUES PAR CALCULS *AB INITIO*

1. Description des nucléosides étudiés.

Comme pour les bases nucléïques et les acides aminés, la géométrie des nucléosides a été optimisée¹⁰⁸ au niveau B3LYP/6-31G* et les énergies des nucléosides neutres et cationisés les plus stables ont été obtenues au niveau B3P86/6-31+G* pour calculer les affinités cationiques.

Dans le cas des nucléosides, seuls ceux dérivés des bases pyrimidiques ont été étudiés, c'est-à-dire les dérivés de l'uridine (*Figure 98*) et de la thymidine (*Figure 99*).

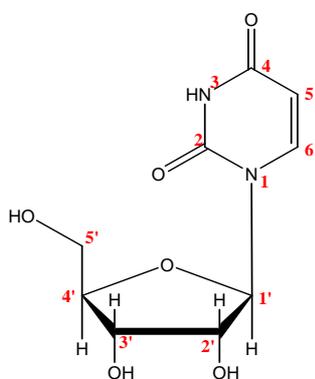


Figure 98 : Structure de l'uridine.

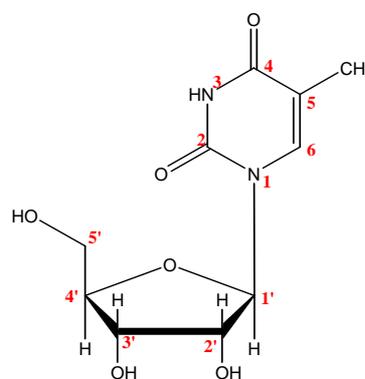


Figure 99 : Structure de la thymidine.

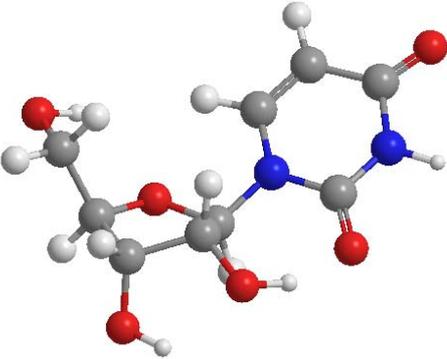
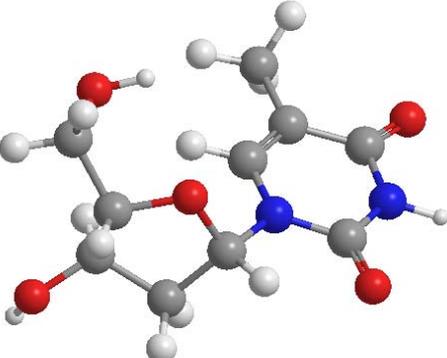
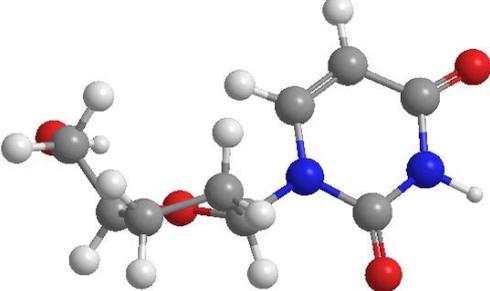
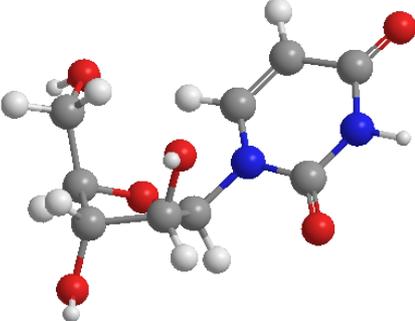
Nucléoside	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>Uridine</i> (U)		-913,11728
<i>Désoxy uridine</i> (dU)		-837,76091
<i>Didésoxy uridine</i> (ddU)		-762,41192
<i>Uridine</i> (arabinose) (Uara)		-913,10952

Tableau 52 : Structures optimisées des nucléosides dérivés de l'uridine et énergies correspondantes déterminées au niveau B3P86/6-31+G.*

2. Détermination des structures neutres les plus stables.

Les structures des formes neutres les plus stables ont été déterminées, les énergies et les structures des nucléosides dérivés de la thymidine sont présentées dans le **Tableau 51** et celles de l'uridine dans le **Tableau 52**.

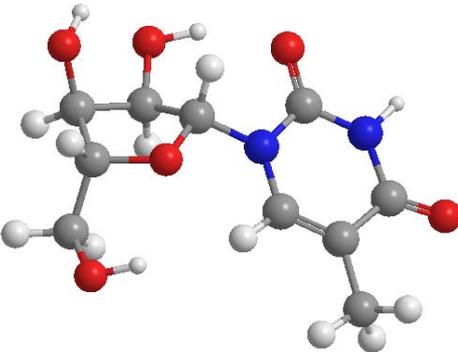
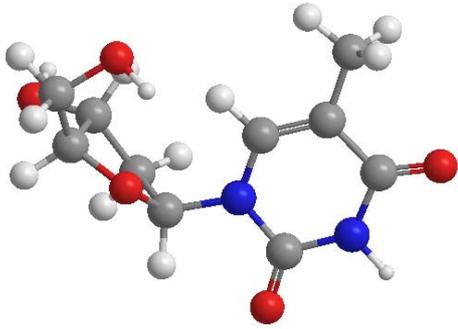
Nucléoside	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>Thymidine</i> (T)		-952,55499
<i>Désoxy thymidine</i> (dT)		-877,19836

Tableau 51 : Structures optimisées des nucléosides dérivés de la thymidine et énergies correspondantes déterminées au niveau B3P86/6-31+G.*

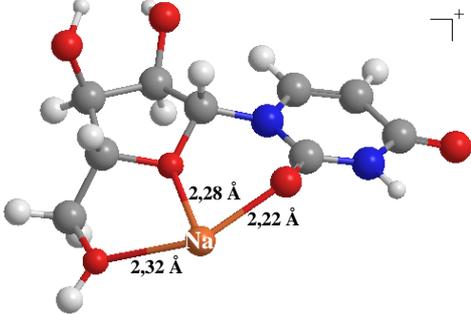
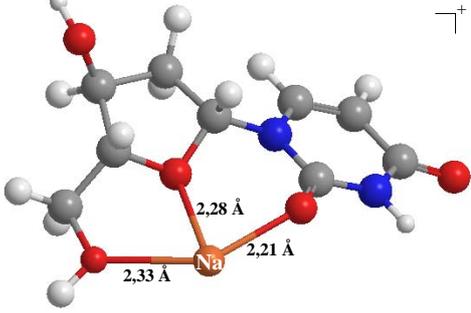
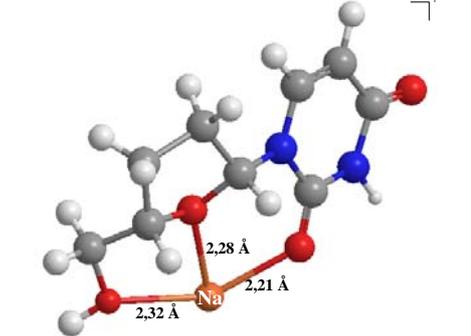
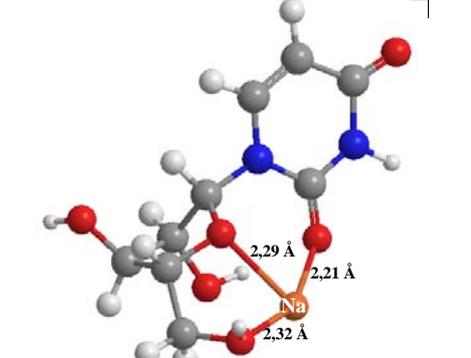
Nucléoside	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>Uridine cationisée</i> (UNa^+)		-1075,44124
<i>Désoxy uridine cationisée</i> ($dUNa^+$)		-1000,09370
<i>Didésoxy uridine cationisée</i> ($ddUNa^+$)		-924,74370
<i>Uridine (arabinose) cationisée</i> ($UaraNa^+$)		-1075,43831

Tableau 53 : Structures optimisées des nucléosides cationisés dérivés de l'uridine et énergies correspondantes déterminées au niveau B3P86/6-31+G*.

3. Détermination des structures cationisées les plus stables.

Les structures cationisées les plus stables et leurs énergies correspondantes pour l'ensemble des six nucléosides ont été ensuite déterminées, elles sont présentées dans le **Tableau 53** pour l'uridine et ses dérivés et dans le **Tableau 54** pour la thymidine et la désoxy thymidine.

Tous les nucléosides cationisés avec le cation sodium ont une structure tridentate, ce cation est toujours en interaction avec l'atome d'oxygène O2 de la base, et deux atomes d'oxygène du sucre, celui lié à l'atome de carbone C2' et l'atome d'oxygène du cycle, O6'.

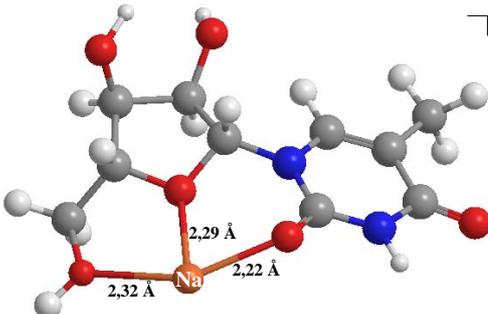
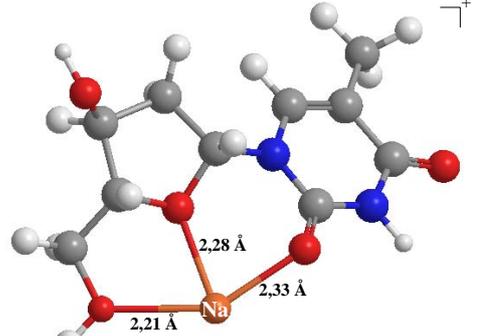
Nucléoside	Structure	E_{el} (Hartree)
<i>Thymidine cationisée</i> (TNa^+)		-1114,88116
<i>Désoxy thymidine cationisée</i> ($dTNa^+$)		-1039,53366

Tableau 54 : Structures optimisées des nucléosides cationisés dérivés de la thymidine et énergies correspondantes déterminées au niveau B3P86/6-31+G.*

Nucléosides	E_{el} neutre (Hartree)	E_{el} cationisée (Hartree)	AC_{calc} après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)
<i>Uridine</i>	-913,11728	-1075,44124	177
<i>Thymidine</i>	-952,55499	-1000,09370	181
<i>Uridine arabinose</i>	-913,10952	-1075,43831	188
<i>Didésoxy uridine</i>	-762,41192	-924,74370	194
<i>Désoxy uridine</i>	-837,76091	-1000,09370	196
<i>Désoxy thymidine</i>	-877,19836	-1039,53366	203

Tableau 55 : Affinités cationiques calculées à partir des énergies des structures neutres et cationisées les plus stables au niveau B3P86/6-31+G*. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

Nucléosides	AC_{calc} après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)	AC_{exp} (kJ.mol ⁻¹)	ΔAC (kJ.mol ⁻¹)
<i>Uridine</i>	177	181	-4
<i>Thymidine</i>	181	189	-8
<i>Uridine arabinose</i>	188	192	-4
<i>Didésoxy uridine</i>	194	193	+1
<i>Désoxy uridine</i>	196	188	+8
<i>Désoxy thymidine</i>	203	194,5	+8,5

Tableau 56 : Affinités cationiques calculées et expérimentales des nucléosides.

4. Détermination des affinités cationiques calculées des nucléosides.

A partir des énergies des formes neutres et cationisées, une échelle de valeurs d'affinités cationiques des nucléosides issus des bases pyrimidiques a été déterminée (*Tableau 55*).

L'affinité cationique augmente lorsque la fonction alcool disparaît sur les sucres : l'affinité cationique des nucléosides est inférieure à celle des désoxy nucléosides, qui est également inférieure à celle des didésoxy nucléosides. Comme pour l'affinité cationique des bases nucléiques, l'ajout d'un groupement méthyl en position 5 sur la base n'a qu'une très faible influence, l'affinité cationique passe de 177 kJ.mol^{-1} pour l'uridine à 181 kJ.mol^{-1} pour la thymidine. Par contre, si le ribose est remplacé par l'arabinose, l'affinité cationique augmente de plus de 10 kJ.mol^{-1} , elle est de 177 kJ.mol^{-1} pour la ribo-uridine et de 188 kJ.mol^{-1} pour l'arabino-uridine.

Les affinités cationiques théoriques des six nucléosides étudiées ont été comparées à celles déterminées expérimentalement, les différentes valeurs sont présentées *Tableau 56*.

Une très bonne corrélation est obtenue entre les affinités cationiques expérimentales et théoriques. L'écart n'est pas supérieur à 4 kJ.mol^{-1} sauf pour la thymidine, la désoxy uridine et la désoxy thymidine pour lesquelles la différence entre les affinités cationiques et expérimentales est d'environ 8 kJ.mol^{-1} .

La bonne corrélation entre les résultats expérimentaux et théoriques nous laisse supposer que les structures cationisées les plus stables déterminées par calculs sont très probablement celles qui se forment en phase gazeuse.

**ETUDE THEORIQUE DES
DIMERES D'ACIDES AMINES**

1. Définition de la température « effective »

D'après l'Equation 17 du Chapitre IV de Méthodologie. :

$$\ln \frac{I_2}{I_1} = \frac{AC_2 - AC_1}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 17}$$

Lorsque l'on trace $\ln \frac{I_2}{I_1} = f(AC_2)$, la droite obtenue à une pente de $-\frac{1}{RT_{eff}}$ où T_{eff} est la

« température effective » exprimée en Kelvin. Pour essayer de comprendre à quoi peut correspondre cette température dite “effective”¹⁰⁹⁻¹¹¹ son expression littérale a été déterminée.

D'après la théorie du quasi-équilibre, la constante de dissociation k , les fréquences de vibration ν , l'énergie interne E et s la somme des degrés de liberté vibrationnels sont reliées entre elles par la relation suivante :

$$k = \frac{\prod_{i=1}^s \nu_i^{\#}}{\prod_{i=1}^{s-1} \nu_i} \left[\frac{E - E^{\circ}}{E} \right]^{s-1} \quad \text{Equation 26}$$

Pour les deux voies de dissociation, les expressions de k_1 et k_2 sont alors les suivantes

$$k_1 = \frac{\prod_i^s \nu_{1i}^{\#}}{\prod_i^{s-1} \nu_{1i}} \left[\frac{E_1 - E_1^{\circ}}{E_1} \right]^{s-1} \quad \text{et} \quad k_2 = \frac{\prod_i^s \nu_{2i}^{\#}}{\prod_i^{s-1} \nu_{2i}} \left[\frac{E_2 - E_2^{\circ}}{E_2} \right]^{s-1}$$

¹⁰⁹ K.Vékey. *J.Mass Spectrom.* **1996**, 31, 445.

¹¹⁰ L.Drahos, K.Vékey. *J.Am.Soc.Mass Spectrom.* **1999**, 10, 323.

¹¹¹ K.M.Ervin. *Int.J.Mass Spectrom.* **2000**, 195/196, 271.

En première approximation, les fréquences de vibration $\nu_{1i}^{\#}$, $\nu_{2i}^{\#}$ et ν_{1i} , ν_{2i} sont sensiblement identiques et le rapport des constantes de dissociation devient alors :

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{\left[\frac{E_2 - E_2^{\circ}}{E_2} \right]^{s-1}}{\left[\frac{E_1 - E_1^{\circ}}{E_1} \right]^{s-1}} \quad \text{Equation 27}$$

Or, l'état initial de chacun des deux monomères ainsi que leurs deux états finaux étant très proche l'un de l'autre, on peut considérer que $E_1 \approx E_2$, la relation précédente devient alors

$$\ln \frac{k_2}{k_1} \approx (s-1) \ln \frac{E_2 - E_2^{\circ}}{E_1 - E_1^{\circ}} \quad \text{Equation 28}$$

Comme $E - E^{\circ}$ correspond à la variation d'enthalpie de la réaction, $\Delta_r H^{\circ}$, on obtient alors

$$\ln \frac{k_2}{k_1} \approx (s-1) \ln \frac{\Delta_r H_2^{\circ}}{\Delta_r H_1^{\circ}} \quad \text{Equation 29}$$

En combinant l'Equation 29 et l'Equation 16 issue de la méthode de Cooks³⁸⁻⁴⁰, l'Equation 30 est obtenue :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{\Delta_r H_2^{\circ} - \Delta_r H_1^{\circ}}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 16}$$

$$(s-1) \ln \frac{\Delta_r H_2^{\circ}}{\Delta_r H_1^{\circ}} = \frac{\Delta_r H_2^{\circ} - \Delta_r H_1^{\circ}}{RT_{eff}} \quad \text{Equation 30}$$

La « température effective » est alors de la forme :

$$T_{eff} = \frac{\Delta_r H_2^{\circ} - \Delta_r H_1^{\circ}}{\ln \Delta_r H_2^{\circ} - \ln \Delta_r H_1^{\circ}} \frac{1}{R(s-1)} \quad \text{Equation 31}$$

L'*Equation 31* est du type $T_{eff} = \frac{a-b}{\ln a - \ln b} \frac{1}{R(s-1)}$ avec :

$$a = \Delta_r H_2^\circ \text{ et } b = \Delta_r H_1^\circ.$$

Le développement en série de $\ln \frac{a}{b}$, si $a/b > 0$, est de la forme : $\ln \frac{a}{b} \approx 2 \left(\frac{a/b - 1}{a/b + 1} \right)$.

On obtient alors, $\frac{\frac{a-b}{b}}{\frac{a+b}{b}} = \frac{a-b}{b} \times \frac{b}{a+b}$ donc $\ln \frac{a}{b} = 2 \left(\frac{a-b}{a+b} \right)$

T_{eff} est de la forme $T_{eff} = \frac{a-b}{\ln a - \ln b} \times \frac{1}{R(s-1)}$, ce qui nous permet d'obtenir :

$$T_{eff} = \frac{(a-b)(a+b)}{2(a-b)} \times \frac{1}{R(s-1)} = \frac{a+b}{2} \times \frac{1}{R(s-1)}.$$

Comme $a = \Delta_r H_2^\circ$ et $b = \Delta_r H_1^\circ$, l'expression de T_{eff} est donné par l'*Equation 32*

$$T_{eff} = \frac{\Delta_r H_2^\circ + \Delta_r H_1^\circ}{2R(s-1)}$$

Equation 32

D'après la relation précédente, la température déterminée dépend de la variation d'enthalpie standard de la réaction de dissociation du dimère en monomère ainsi que du nombre de degrés de liberté vibrationnels du dimère. Cette température est donc caractéristique d'un dimère particulier puisque $\Delta_r H_1^\circ$ et $\Delta_r H_2^\circ$ dépendent de la nature des dimères et que s dépend aussi de la nature du dimère. Expérimentalement, on peut l'obtenir en faisant une moyenne à partir des différents rapports d'abondances relatives des monomères issus des dimères étudiés.

L'erreur lors de la détermination expérimentale peut être très importante si celles de chaque dimère sont très différentes.

L'interprétation physique de cette température dite "effective" (T_{eff}) par de nombreux auteurs¹¹²⁻¹¹⁵ n'est pas toujours claire. Certains l'assimilent à un paramètre thermodynamique pour déduire la différence de variation d'entropie standard apparente entre deux clusters d'ions^{30,116,117}. Armentrout⁸⁴ propose un traitement statistique des résultats obtenus par la méthode isoentropique pour avoir accès aux différences d'entropie et aux entropies apparentes avec, malgré tout, de nombreuses approximations. Drahos et Armentrout émettent quelques réserves si la température "effective" est assimilée à une température thermodynamique pour ainsi avoir accès à l'entropie.

Ervin a introduit à un autre paramètre dans l'*Equation 33* caractéristique du spectromètre de masse utilisé :

$$T_{eff} = \frac{\Delta_r H_1^\circ + \Delta_r H_2^\circ}{2R(s-1) \left[(2\nu\tau)^{1/(s-1)} - 1 \right]} \quad \text{Equation 33}$$

où s correspond aux nombres d'oscillateurs harmoniques classiques de fréquence ν pour le dimère qui se dissocie. τ représente le temps nécessaire observé pour la dissociation du dimère (ou le temps de résidence du dimère dans l'analyseur), et cette valeur est caractéristique pour chaque type d'appareil.

Cette relation est valable pour des valeurs de $\nu = 10^{13} \text{ s}^{-1}$, $\tau = 10^{-5} \text{ s}$ avec $s \geq 20$. Cette relation, comme la précédente, montre que la température "effective" dépend du dimère

¹¹² L.Drahos.,K. Vékey. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 34, 79.

¹¹³ P.B.Armentrout. *Mass Spectrom.* **1999**, 34, 79.

¹¹⁴ J.L.Holmes, C.Aubry, P.M.Mayer. *J.Phys.Chem.A.* **1999**, 103, 705.

¹¹⁵ P.D.Thomas, R.G.Cooks, K.Vékey, L.Drahos. *J.Phys.Chem.A.* 2000, **104**, 1359.

¹¹⁶ B.A.Cerda, S.Hoyau, G.Ohanessian, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **1998**, 120, 2437.

¹¹⁷ B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 185/186/187, 107.

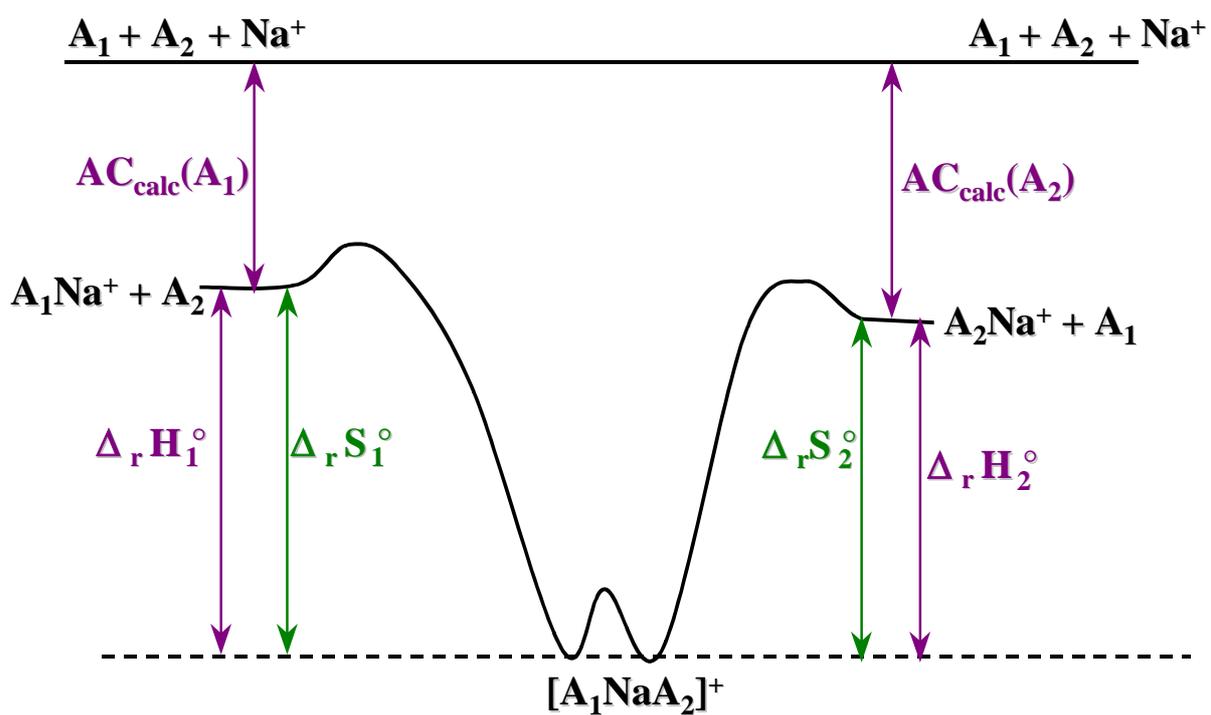


Schéma 3 : Diagramme énergétique de dissociation du dimère $[A_1NaA_2]^+$.

étudié (T_{eff} est inversement proportionnelle à la somme des degrés de liberté vibrationnelles s , ainsi qu'à la fréquence de vibration du dimère ν) et est également inversement proportionnelle à τ , qui, pour un analyseur de type piège ionique n'a pas de sens puisque les ions étudiés restent dans l'analyseur tout au long de l'étude. Par contre, cette relation est valable pour les analyseurs de type quadripolaire pour lesquels les espèces étudiées sont éjectées au fur et à mesure de l'analyse.

Ces deux relations définissant la température "effective" ne nous permettent pas vraiment de comprendre la signification physique de cette température "effective".

2. Principe de l'étude théorique.

Nous avons exploré la surface d'énergie potentielle de cinq dimères cationisés constitués d'acides aminés pour déterminer dans chaque cas la structure du dimère le plus stable. A partir de l'énergie du dimère cationisé le plus stable et de celle de chacun des monomères neutre et cationisé, les variations d'enthalpies $\Delta_r H_1^\circ$ et $\Delta_r H_2^\circ$ des réactions de dissociation de l'hétérodimère selon les deux voies de décomposition possibles ont pu être calculées (*Schéma 3*) :



$$\Delta_r H_1^\circ = E_{el}(A_1Na^+) + E_{el}(A_2) - E_{el}([A_1NaA_2]^+)$$

et



$$\Delta_r H_2^\circ = E_{el}(A_2Na^+) + E_{el}(A_1) - E_{el}([A_1NaA_2]^+)$$

avec $\Delta(\Delta_r H^\circ) = \Delta_r H_2^\circ - \Delta_r H_1^\circ = E_{el}(A_2Na^+) + E_{el}(A_1) - E_{el}(A_1Na^+) - E_{el}(A_2)$

Structure de [GlyNaAla] ⁺	Energie du dimère (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
[Gly _{CS} NaAla _{CS}] ⁺	-771,93772	0
[Gly _{ZW} NaAla _{ZW}] ⁺	-771,93668	+3
[Gly _{CS} NaAla _{ZW}] ⁺	-771,93121	+17

Tableau 57 : Energie des trois formes cationisées du dimère [GlyNaAla]⁺. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el}=0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

Structure de [AlaNaVal] ⁺	Energie du dimère (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
[Ala _{CS} NaVal _{CS}] ⁺	-890,23595	0
[Ala _{ZW} NaVal _{ZW}] ⁺	-890,23375	+6

Tableau 58 : Energie des deux formes cationisées du dimère [AlaNaVal]⁺. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el}=0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

Structure de [MeProNaPro] ⁺	Energie du dimère (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
[MePro _{ZW} NaPro _{ZW}] ⁺	-1006,08924	0
[MePro _{CS} NaPro _{CS}] ⁺	-1006,07475	+38

Tableau 59 : Energie des deux formes cationisées du dimère [MeProNaPro]⁺. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el}=0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

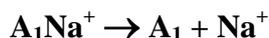
Structure de [ThrNaPro] ⁺	Energie du dimère (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
[Pro _{ZW} NaThr _{CS}] ⁺	-1003,80491	0
[Pro _{CS} NaThr _{CS}] ⁺	-1003,79344	+30

Tableau 60 : Energie des deux formes cationisées du dimère [ThrNaPro]⁺. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el}=0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

Structure de [PheNaTyr] ⁺	Energie du dimère (Hartree)	ΔE_{el} (kJ.mol ⁻¹)
[Phe _{CS} NaTyr _{CS}] ⁺	-1350,11944	0
[Phe _{ZW} NaTyr _{ZW}] ⁺	-1350,11920	+1

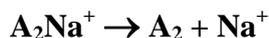
Tableau 61 : Energie des deux formes cationisées du dimère [PheNaTyr]⁺. La structure la plus stable est prise comme référence ($\Delta E_{el}=0$). 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹

L'affinité cationique de chaque monomère correspond à :



$$AC(A_1) = E_{el}(A_1) + E_{el}(Na^+) - E_{el}(A_1Na^+)$$

et



$$AC(A_2) = E_{el}(A_2) + E_{el}(Na^+) - E_{el}(A_2Na^+)$$

avec $\Delta AC = AC(A_1) - AC(A_2) = E_{el}(A_2Na^+) - E_{el}(A_2) - E_{el}(A_1Na^+) + E_{el}(A_1)$

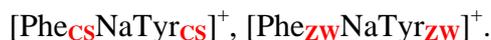
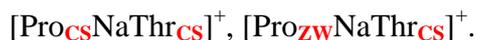
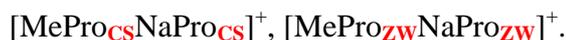
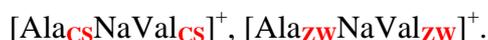
On en déduit alors que $\Delta(\Delta_r H^\circ) = \Delta AC$

3. Etude des hétérodimères cationisés.

Les cinq dimères cationisés étudiés sont [GlyNaAla]⁺, [AlaNaVal]⁺, [MeProNaPro]⁺, [ProNaThr]⁺ et [PheNaTyr]⁺. Comme on a pu le voir dans le *Chapitre III sur la Détermination des affinités cationiques des acides aminés*, les acides aminés cationisés sont soit sous la forme zwitterionique (ZW), soit sous la forme charge solvatée (CS). Pour ces cinq dimères, plusieurs structures ont été envisagées :

-trois structures pour le dimère [GlyNaAla]⁺ : [Gly_{CS}NaAla_{CS}]⁺, [Gly_{ZW}NaAla_{ZW}]⁺, [Gly_{CS}NaAla_{ZW}]⁺.

-deux structures pour les quatre autres dimères :



Les *Tableaux 57 à 61* indiquent les énergies obtenues pour chacune des structures envisagées.

Dimère	Structure la plus stable	E_{el} (Hartree)
<i>[Gly_{cs}NaAla_{cs}]⁺</i>		-771,93772
<i>[Ala_{cs}NaVal_{cs}]⁺</i>		-890,23595
<i>[MePro_{zw}NaPro_{zw}]⁺</i>		-1006,08924
<i>[Pro_{zw}NaThr_{cs}]⁺</i>		-1003,80491
<i>[Phe_{cs}NaTyr_{cs}]⁺</i>		-1350,11944

Tableau 62 : Structure et énergie des formes les plus stables des cinq dimères étudiés au niveau B3P86/6-31+G*.

3.1. Structures des dimères cationisés.

Pour les dimères cationisés [GlyNaAla]⁺, [AlaNaVal]⁺ et [PheNaTyr]⁺ la structure la plus stable est celle pour laquelle les acides aminés sont sous la forme charge solvatée.

Pour le dimère cationisé [ProNaMePro]⁺, la structure la plus stable est celle pour laquelle les deux acides aminés sont sous la forme zwitterionique.

Enfin, pour le dimère [ProNaThr]⁺, la structure la plus stable est celle pour laquelle la proline est sous la forme zwitterionique et la thréonine sous la forme charge solvatée.

Les structures les plus stables ainsi que leur énergie sont présentées **Tableau 62**.

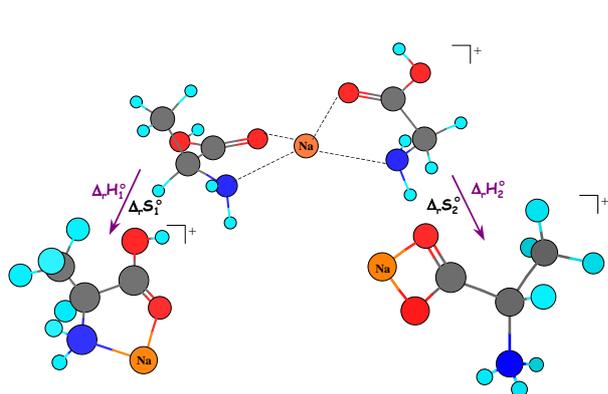


Figure 100 : Fragmentation du dimère $[GlycsNaAlacs]^+$ en $GlycsNa^+$ et $AlazwNa^+$.

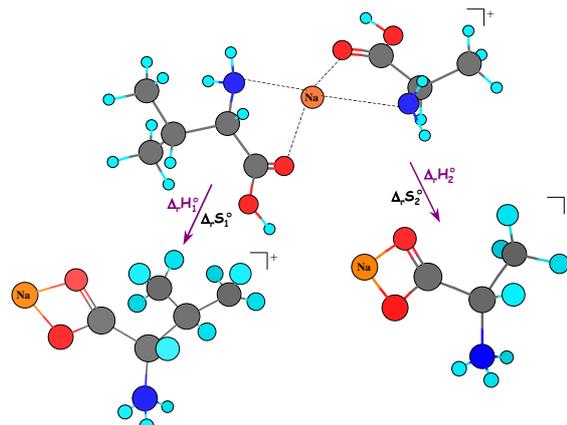


Figure 101 : Fragmentation du dimère $[AlacsNaValcs]^+$ en $AlazwNa^+$ et $Valzwna^+$.

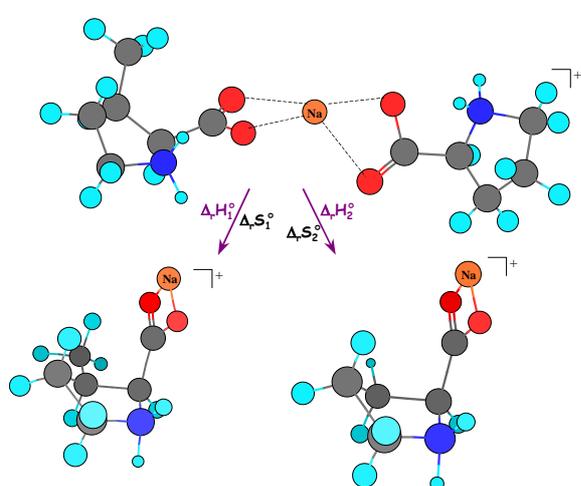


Figure 102 : Fragmentation du dimère $[ProzwnaMeProzwn]^+$ en $Prozwna^+$ et $MeProzwna^+$.

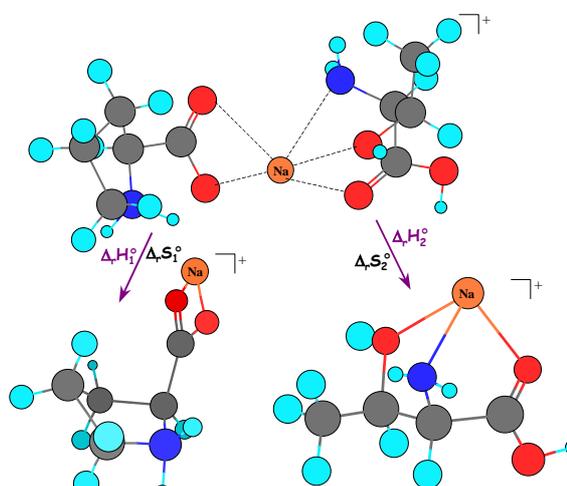


Figure 103 : Fragmentation du dimère $[ThrcsNaProzwn]^+$ en $ThrcsNa^+$ et $Prozwna^+$.

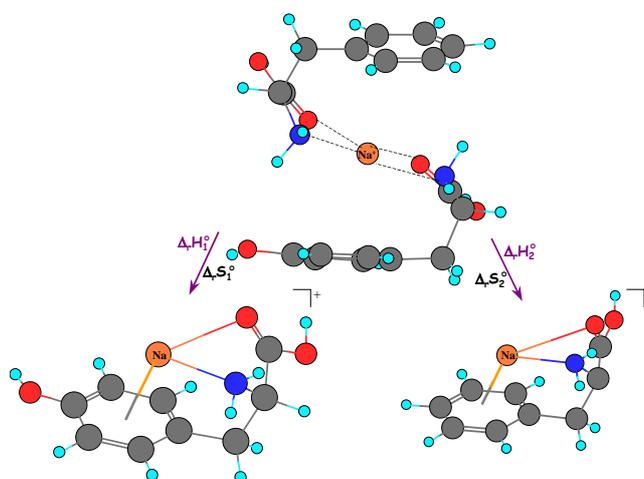


Figure 104 : Fragmentation du dimère $[PhecsNaTyracs]^+$ en $PhecsNa^+$ et $TyracsNa^+$.

3.2. Fragmentation des hétérodimères cationisés.

Les **Figures 100** à **104** montrent les structures les plus stables des hétérodimères cationisés étudiés ainsi que des monomères cationisés obtenus après dissociation. Les géométries des monomères cationisés les plus stables déterminés lors de l'étude des acides aminés **Chapitre III sur la Détermination des affinités cationiques des acides aminés** ont été obtenues. Le **Tableau 63** indique les variations d'entropie de chaque réaction de dissociation envisagée à partir du **Schéma 3**.

On peut constater que :

(a)-Pour la glycine, la proline, la 5-méthyl proline, la thréonine, la phénylalanine et la tyrosine, la structure de l'acide aminé cationisé au niveau du dimère et du monomère reste la même. Dans le cas de la glycine, de la thréonine, de la phénylalanine et de la tyrosine, les acides aminés cationisés sont sous la forme CS dans le dimère comme pour le monomère. Pour la proline et la 5-méthyl proline, le monomère et le dimère cationisés sont tous deux sous la forme ZW. Pour chacun des dimères étudiés, $\Delta(\Delta_r S^\circ)$ a été calculée, elle n'est pas supérieure à $10 \text{ J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ sauf pour le dimère $[\text{Pro}_{\text{ZW}}\text{NaThr}_{\text{CS}}]^+$ pour lequel $\Delta(\Delta_r S^\circ)$ est de $18 \text{ J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$.

Dimères	$\Delta_r S_1^\circ$ ($\text{J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$)	$\Delta_r S_2^\circ$ ($\text{J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$)	$\Delta(\Delta_r S^\circ)$ ($\text{J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$)
$[\text{Gly}_{\text{CS}}\text{NaAla}_{\text{CS}}]^+$	175	173	+2
$[\text{Ala}_{\text{CS}}\text{NaVal}_{\text{CS}}]^+$	184	180	+4
$[\text{Pro}_{\text{ZW}}\text{NaMePro}_{\text{ZW}}]^+$	200	198	+2
$[\text{Pro}_{\text{ZW}}\text{NaThr}_{\text{CS}}]^+$	195	177	+18
$[\text{Phe}_{\text{CS}}\text{NaTyr}_{\text{CS}}]^+$	164	160	+4

Tableau 63 : Variation d'entropie ($\text{J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$) pour chaque dimère étudié au niveau B3P86/6-31+G^* .

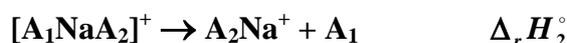
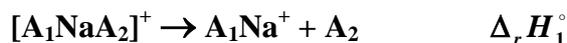
(b)-Pour l'alanine et la valine, les interactions entre le sodium et les acides aminés ne sont pas identiques dans le dimère et dans le monomère. En effet, l'alanine et la valine sont de géométrie CS dans le dimère cationisé mais leur forme la plus stable pour les monomères

cationisés est de géométrie ZW. Malgré ce changement de géométrie, $\Delta(\Delta_r S^\circ)$ est toujours inférieure à $10 \text{ J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ (**Tableau 63**)

Même si la géométrie de l'acide aminé est différente dans le dimère et dans le monomère, la variation de $\Delta_r S^\circ$ n'est pas supérieure à 20 J.mol^{-1} pour des valeurs d'affinités cationiques de l'ordre de la centaine de kJ.mol^{-1} , on peut donc en déduire que l'entropie n'a aucune influence sur les valeurs d'affinités déterminées expérimentalement à partir de la méthode cinétique.

3.3. Détermination théorique de la température effective.

L'étude de la fragmentation des dimères les plus stables donnant les monomères cationisés les plus stables nous a permis d'obtenir les variations d'enthalpie $\Delta_r H_1^\circ$ et $\Delta_r H_2^\circ$ des réactions suivantes :



Comme il a été démontré précédemment, la température effective peut être déterminée à partir de la variation d'enthalpie des réactions de fragmentation du dimère et de la somme des degrés de liberté vibrationnels du dimère :

$$T_{eff} = \frac{\Delta_r H_1^\circ + \Delta_r H_2^\circ}{2R(s-1)}$$

Pour chacun des dimères, les variations d'enthalpie $\Delta_r H_1^\circ$ et $\Delta_r H_2^\circ$ ainsi que la somme des degrés de liberté vibrationnels ont été déterminées, permettant d'obtenir la température "effective".

Dimère	$\Delta_r H_1^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	$\Delta_r H_2^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	$\frac{\Delta_r H_1^\circ + \Delta_r H_2^\circ}{2}$ (kJ.mol ⁻¹)	s	T_{eff} (K)
<i>[Gly_{CS}NaAla_{CS}]⁺</i>	111	119	115	21	692
<i>[Ala_{CS}NaVal_{CS}]⁺</i>	113	106	109,5	30	454
<i>[Pro_{ZW}NaMePro_{ZW}]⁺</i>	121	119	120	27	530
<i>[Pro_{ZW}NaThr_{CS}]⁺</i>	112	111,5	112	28	499
<i>[Phe_{CS}NaTyr_{CS}]⁺</i>	100	98	99	40	210

Tableau 64 : Variations d'enthalpie ($\Delta_r H_1^\circ$ et $\Delta_r H_2^\circ$), degrés de liberté vibrationnels (s) et température effective (T_{eff}) obtenus pour chacun des dimères les plus stables

Dimère [A₁NaA₂]⁺	AC₁	AC₂	ΔAC	$\Delta_r H_1^\circ$	$\Delta_r H_2^\circ$	$\Delta(\Delta_r H^\circ)$
<i>[Gly_{CS}NaAla_{CS}]⁺</i>	162	172	10	111	119	8
<i>[Ala_{CS}NaVal_{CS}]⁺</i>	172	179	7	113	106	7
<i>[Pro_{ZW}NaMePro_{ZW}]⁺</i>	198	200	2	121	119	2
<i>[Pro_{ZW}NaThr_{CS}]⁺</i>	198	195	3	112	111,5	0,5
<i>[Phe_{CS}NaTyr_{CS}]⁺</i>	198	195	3	100	98	2

Tableau 65 : Comparaison des variations d'affinités cationiques et des variations d'enthalpies (en kJ.mol⁻¹) pour les cinq dimères étudiés.

Le **Tableau 64** récapitule l'ensemble des résultats.

La température effective se situe vers 500 °K sauf pour le dimère constitué de la glycine pour lequel la température effective est beaucoup plus élevée, de l'ordre de 700°K.

La température effective est déterminée expérimentalement à partir de la droite

$\ln \frac{I_2}{I_1} = f(AC_2)$ de pente $-\frac{1}{RT_{eff}}$ mais elle correspond à une moyenne de température

effective pour plusieurs hétérodimères étudiés et non à celle d'un hétérodimère. Il n'est pas possible de déterminer expérimentalement la température effective d'un hétérodimère particulier.

A partir des variations d'enthalpies $\Delta_r H_1^\circ$ et $\Delta_r H_2^\circ$ ainsi que des affinités cationiques des acides aminés cationisés, la relation $\Delta(\Delta_r H^\circ) = \Delta AC$ peut être vérifiée comme le montre le

Tableau 65.

Les formes des dimères déterminées par calcul sont donc très probablement celles formées en phase gazeuse.

CONCLUSION

L'étude de l'affinité cationique du sodium a été menée sur plusieurs familles de molécules, les acides aminés, les bases nucléiques et les nucléosides. L'ensemble de ces molécules a été étudié selon deux approches, l'une expérimentale par spectrométrie de masse à partir de la méthode cinétique de Cooks, et la seconde théorique par calculs *ab initio*. Une étude rigoureuse a permis de mettre au point un protocole de calculs permettant d'obtenir une méthode avec laquelle il existe une excellente corrélation entre les affinités cationiques expérimentales et celles calculées. Il a été montré que l'emploi de la DFT avec la fonctionnelle B3P86 associée à la base 6-31+G* est la méthode la plus adéquate pour l'étude des affinités protoniques et cationiques avec le sodium. La très bonne corrélation entre les résultats expérimentaux et calculés a permis de déterminer les structures en phase gazeuse d'une quarantaine d'acides aminés neutres et cationisés.

Les mêmes méthodes ont permis d'obtenir une échelle d'affinité cationique pour les quatre bases nucléiques (adénine, cytosine, guanine, thymine et uracile) et pour la première fois, des bases nucléiques modifiées. Une très bonne corrélation entre les affinités cationiques calculées et expérimentales a également été obtenue, ce qui nous a permis de déterminer la structure en phase gazeuse d'une vingtaine de bases nucléiques modifiées ou non modifiées cationisées par le sodium.

L'étude s'est ensuite poursuivie avec les nucléosides et, pour la première fois, une échelle d'affinité cationique pour les dérivés de l'uridine et de la thymidine a été déterminée. Le très bon accord entre les résultats expérimentaux et calculés a permis également de déterminer les structures des complexes cationisés les plus stables.

Nous comptons valider les résultats que nous avons obtenus en comparant les structures des complexes en phase gazeuse et en phase aqueuse. Par cela, nous allons mener une étude

conjointe en IRTF et en ESI/ITMS sur des structures de complexes formés entre des bases nucléiques et le cation Mg^{2+} (les complexes avec le sodium n'étant pas stable en phase aqueuse).

Des études théoriques préliminaires, que nous n'avons pas développées au cours de cette thèse, nous ont permis de montrer que les énergies des hétérodimères cationisés dépendent de la nature R ou S des acides aminés qui les constituent. Il peut être donc possible de mettre au point une technique expérimentale permettant la différenciation d'isomères R et S des acides aminés, ce qui serait intéressant puisque les études pourraient être faites sur des concentrations très faibles en acide aminé.

Des techniques de spectrométrie de masse très pointues telles que le FT/ICR permettront également d'obtenir, à partir de l'étude des dimères cationisés, les constantes de vitesse de dissociation et les énergies d'activation des réactions de dissociations d'hétérodimères en phase gazeuse auxquelles nous n'avons pas accès actuellement, ni expérimentalement ni théoriquement.

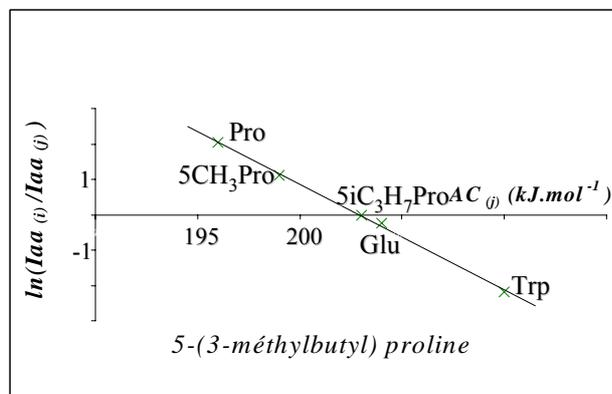
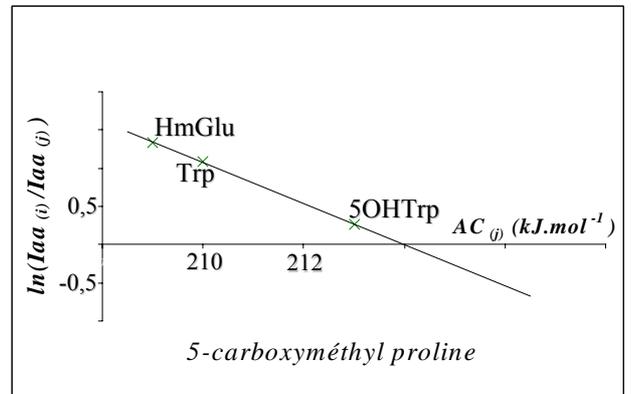
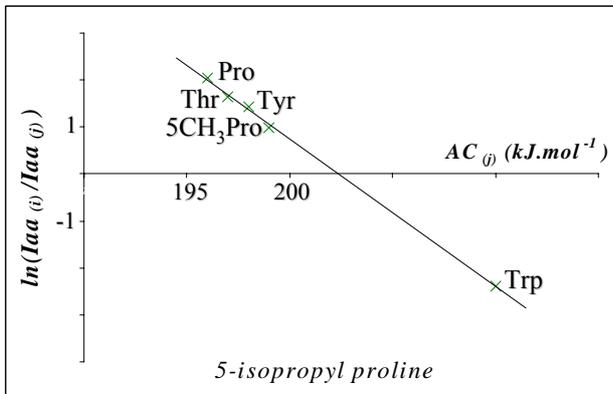
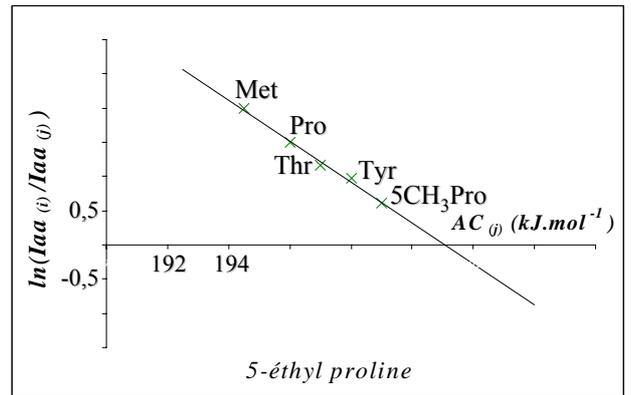
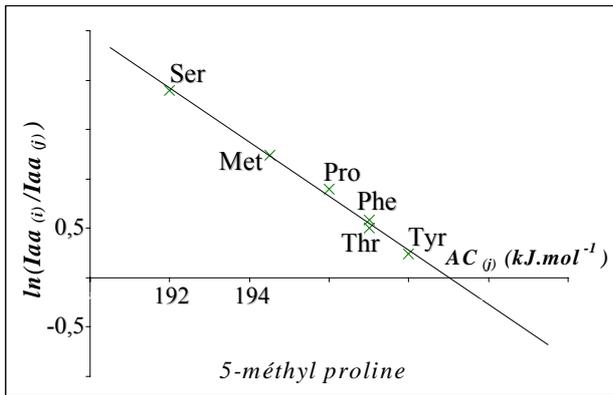
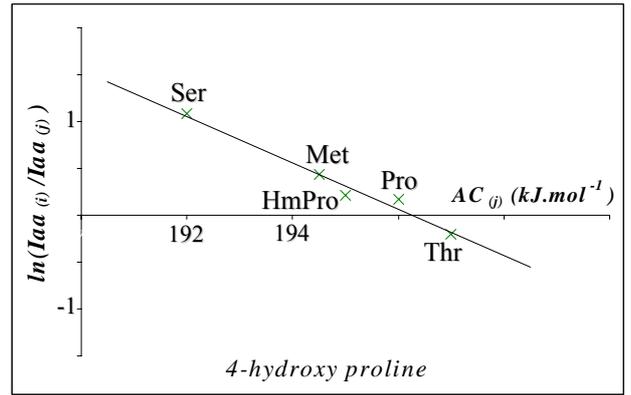
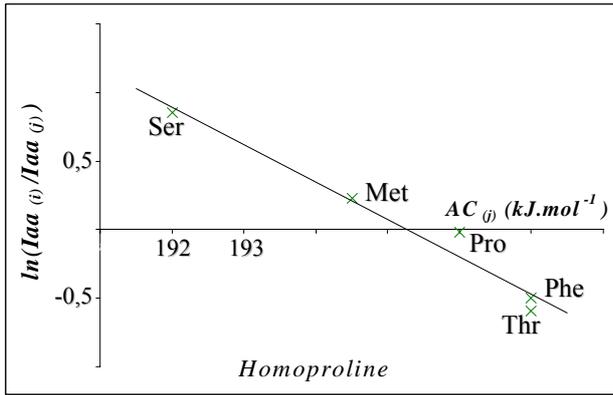
REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ G.L.Eichhorn. *Adv.Inorg.Biochem.* **1981**, 3, 1.
- ² W.Saenger. *Principle of nucleic Acid Structure*. Springer-Verlag:New York, 1984.
- ³ R.B.Martin. *Acc.Chem.Res.* **1985**, 18, 32.
- ⁴ H.Sigel. *Chem.Soc.Rev.* **1993**, 22, 255.
- ⁵ (a) *Interactions of Metal Ions With Nucleotides, Nucleic Acids and their Constituents*. Sigel A., Sigel H. Eds. Metal Ions in Biological Systems 32; Marcel Dekker:New York, 1996. (b) *Probing of Nucleic Acids by Metal Ion Complexes of Small Molecules*; Sigel A., Sigel H. Eds. Metal Ions in Biological Systems 33; Marcel Dekker:New York, 1996.
- ⁶ S.I.Nakano, M.Fujimoto, H. Hara, N.Sugimoto. *Nucleic Acids Res.* **1999**, 27, 2957.
- ⁷ V.N.Potaman, V.N.Soyfer. *J.Biomol.Struct.Dyn.* **1994**, 11, 1035.
- ⁸ W.Guschlbauer, J.F.Chantot, D.Thiele. *J.Biomol.Struct.Dyn.* **1990**, 8, 491.
- ⁹ (a)X.Jia, G.Zon, L.G.Marzili. *Inorg.Chem.* **1991**, 30, 228. (b)N.A.Froystein, J.T.Davis, B.R.Reid, E.Sletten. *Acta Chem.Scand.* **1993**, 47, 649. (c)D.Yang, S.S.G.E.Van Boom, J.Reedijk, J.H.Van Boom, A.H.-J.Wang. *Biochemistry.* **1995**, 34, 12912. (d)L.G.Marzilli, S.O.Ano, F.P.Intini, G.Natile. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, 121, 9133.
- ¹⁰ J.Duguid, V.A.Bloomfield, J.Benevides, G.J.Thomas. *Biophys.J.* **1993**, 65, 1916.
- ¹¹ (a)N.G.A.Abrescia, L.Malinina, L.G.Fernandez, T.Huynh-Dinh, S.Neidle, J.A.Subirana. *Nucleic Acids Res.* **1999**, 27, 1593. (b)M.Egli, L.D.Williams, C.A.Fredericks, A.Rich. *Biochemistry.* **1991**, 30, 1364. (c)J.Coste, J.M.Maligne, L.Serre, W.Shepard, M.Roth, M.Leng, C.Zelwer. *Nucleic Acids Res.* **1999**, 27, 1837. (d)P.M.Takahara, C.A.Fredericks, S.J.Lippard. *J.Am.Chem.Soc.* **1996**, 118, 12309. (e)L.McFail-Isom, X.Shui, L.D.Williams, *Biochemistry.* **1998**, 47, 17105. (f)A.Harper, J.A.Brannigan, M.Buck, L.Hewitt, R.J.Lewis, M.H.Moore, B.Schneider. *Acta Crystallogr.D.* **1998**, 54, 1273. (g)C.C.Correl, B.Freeborn, P.B.Moore, T.Steitz. *Cell.* **1997**, 91, 705. (h)A.H-J.Wang, T.Hakoshima, G.Van Der Marel, J.H.Van Boom, A.Rich. *Cell.* **1984**, 37, 321.
- ¹² J.Gu, J.Leszczynski. *J.Phys.Chem A.* **2000**, 104, 6308.
- ¹³ (a)S.J.Lippard, J.M.Berg. *Principle of Bioinorganic Chemistry*. University Science Books. Mill Valley, CA, 1994.(b)W.Kaim, B.Schwedersky. *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*. John Wiley & Sons. Chichester, U.K. 1994.
- ¹⁴ L.A.Loeb, A.R.Zakour. In *Nucleic Acid-Metal Ion Interactions*. T.G.Spiro. Ed John Wiley & Sons: New York, 1980, pp115-144.
- ¹⁵ N.Špačková, I.Berger, J.Šponer. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, 121, 5519.
- ¹⁶ N.Špačková, I.Berger, J.Šponer. *J.Am.Chem.Soc.* **2001**, 123, 3295.
- ¹⁷ W.D.Cornell, P.Cieplak, C.I.Bayly, I.R.Gould, K.M.Merz, D.M-J.Ferguson, D.C.Spellmeyer, T.Fox, J.W. Caldwell, P.A.Kollman. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, 117, 5179.
- ¹⁸ T.A.Halgren. *Curr.Opin.Struct.Biol.* **1995**, 5, 205.
- ¹⁹ P.Hobza, M.Kabeláč, J.Šponer, P.Mejzlík, J.Vondrášek. *J.Comput.Chem.* **1997**, 18, 1136.
- ²⁰ M.T.Rodgers, P.B.Armentrout. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, 122, 8548.
- ²¹ P.B.Armentrout, M.T.Rodgers. *J.Phys.Chem. A.* **2000**, 104, 2238.
- ²² D.A.McCreery, M.L.Gross. *Anal.Chem.* **1985**, 178, 91.
- ²³ K.B.Tomer, M.L.Gross. *Anal.Chem.* **1986**, 58, 2527.
- ²⁴ A.M.Hogg, J.G.Kelland, C.J.Verदारas. *Helv.Chim.Acta.* **1986**, 69, 908.
- ²⁵ M.P.Chiarelli, M.L.Gross. *J.Phys.Chem.* **1989**, 93, 3595.
- ²⁶ R.D.Voyksner. *Org.Mass Spectrom.* **1987**, 22, 513.
- ²⁷ K.P.Madhusudan, S.B.Katti, S.A.Hashmi. *Org.Mass Spectrom.* **1993**, 28, 970.
- ²⁸ G.J.C.Paul, T.Theophanides, J.Anastassopoulou, I.Marcotte, M.Bertrand. *Proceedings of the 43th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*. Atlanta, GA, May 21-26, 1995. p608.
- ²⁹ M.T.Rodgers, P.B.Armentrout, *Proceedings of the 44th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*. Portland, OR, May 12-16, 1996. p88.
- ³⁰ B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **1996**, 118, 11884.
- ³¹ B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, 117, 9734.
- ³² J.V.Burda, J.Šponer, P.Hobza. *J.Phys.Chem.* **1996**, 100, 7250.
- ³³ N.Russo, M.Toscano, A.Grand. *J.Am.Chem.Soc.* **2001**, 123, 10272.
- ³⁴ D.J.Aidley, P.R.Stanfield. *Ion Channels : Molecules in Action*, Cambridge University Press, Cambridge, **1996**.
- ³⁵ J.A.Cowan. *Inorganic Biochemistry : An Introduction*, 2nd ed. Wiley-VCH, New York, **1997**.

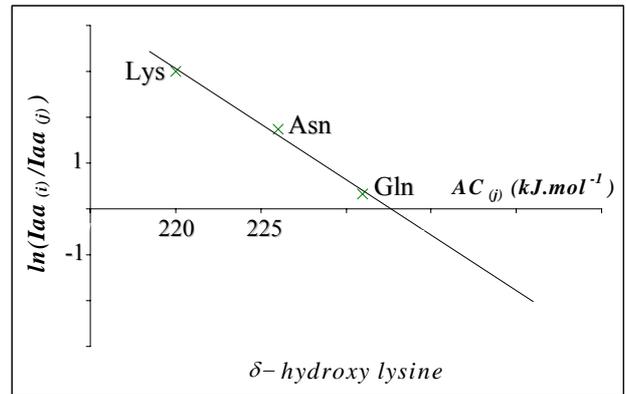
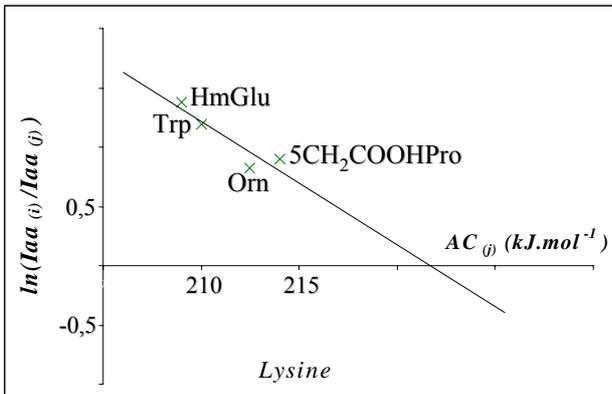
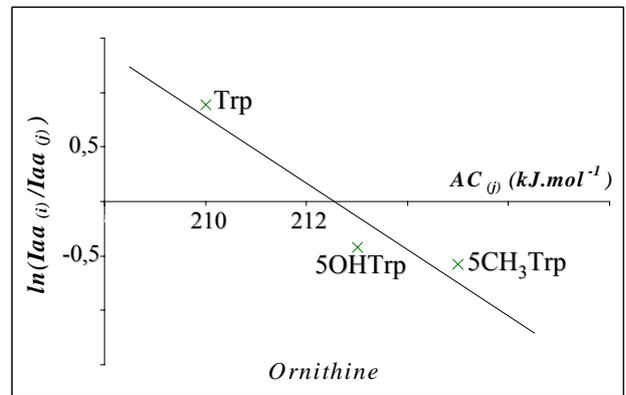
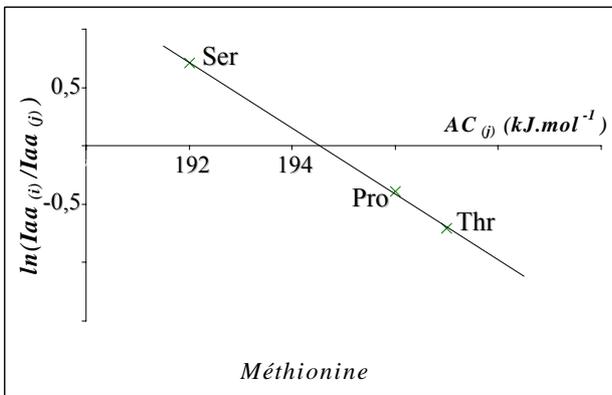
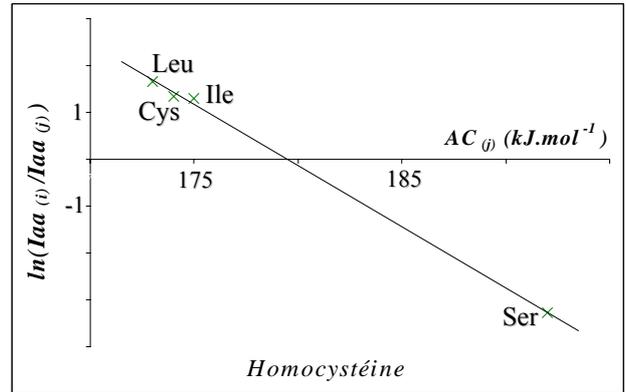
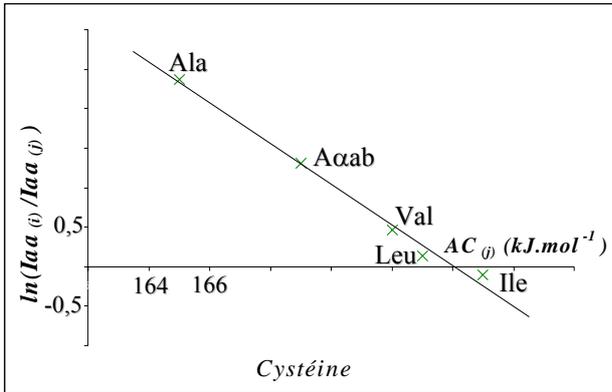
- ³⁶ G.Bojesen, T.Breindahl, U.N.Andersen. *Org.Mass Spectrom.* **1993**, 28, 1448.
- ³⁷ M.M.Kish, G.Ohanessian, C.Wesdemiotis. *Int.J.Mass Spectrom.* **2003**, 227, 509.
- ³⁸ R.G.Cooks, T.L.Kruger. *J.Am.Chem.Soc.* **1977**, 99, 1279.
- ³⁹ R.G.Cooks, J.S.Patrick, T.Kotiaho, S.A.McLuckey. *Mass Spectrom.Rev.* **1994**, 13, 287.
- ⁴⁰ R.G.Cooks, P.S.H.Wong. *Acc.Chem.Res.* **1998**, 31, 379.
- ⁴¹ F.Jensen. *J.Am.Chem.Soc.* **1992**, 114, 9533.
- ⁴² S.Bouchonnet, Y.Hoppilliard. *Org.Mass Spectrom.* **1992**, 27, 71.
- ⁴³ D.Yu, A.Rauk, D.A.Armstrong. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, 117, 1789.
- ⁴⁴ S.Hoyau, G.Ohanessian. *Chem.Eur.J.* **1998**, 4, 1561.
- ⁴⁵ T.Wyittenbach, J.E.Bushnell, M.T.Bowers. *J.Am.Chem.Soc.* **1998**, 120, 5098.
- ⁴⁶ T.Wyittenbach, M.Witt, M.T.Bowers. *Int.J.Mass Spectrom.* **1999**, 182/183, 243.
- ⁴⁷ T.Wyittenbach, M.Witt, M.T.Bowers. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, 122, 3458.
- ⁴⁸ T.Marino, N.Russo, M.Toscano. *J.Inorg.Biochem.* **2000**, 79, 179.
- ⁴⁹ T.Marino, N.Russo, M.Toscano. *Inorg.Chem.* **2000**, 40, 6439.
- ⁵⁰ J.M.Talley, B.A.Cerda, G.Ohanessian, C.Wesdemiotis. *Chem.Eur.J.* **2002**, 8, 1377.
- ⁵¹ S.Hoyau, K.Norrman, T.B.McMahon, G.Ohanessian. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, 121, 8864.
- ⁵² R.C.Dunbar. *J.Phys.Chem. A.* **2000**, 104, 8067.
- ⁵³ V.Ryzhov, R.C.Dunbar, B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, 11, 1037.
- ⁵⁴ R.A.Jockusch, W.D.Price, E.R.Williams. *J.Phys.Chem. A.* **1999**, 103, 9266.
- ⁵⁵ P.B.Armentrout, C.Wesdemiotis. *J.Phys.Chem.A.* **2000**, 104, 2238.
- ⁵⁶ M.Dole, L.L.Mack, R.L.Hines, R.C.Mobley, L.D.Ferguson, M.B.Alice. *J.Chem.Phys.* **1968**, 49, 2240.
- ⁵⁷ J.B.Fenn, M.Yamashita. *J.Phys.Chem.* **1984**, 88, 4451.
- ⁵⁸ M.L.Aleksandrov, L.N.Gall, V.N.Krasnov, V.I.Nikolaev, V.A.Pavlenko, V.A.Shkurov. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **1984**, 277, 379.
- ⁵⁹ S.F.Wong, C.K.Meng, J.B.Fenn. *J.Phys.Chem.* **1998**, 92, 546.
- ⁶⁰ R.J.Pfeiffer, C.D.Hendricks. *A.I.A.A.J.* **1968**, 6, 496.
- ⁶¹ G.I.Taylor. *Proc.R.Soc.London A.* **1964**, A280, 383.
- ⁶² Lord Rayleigh. *Philas.Mag.* **1882**, 14, 184.
- ⁶³ D.P.H.Smith. *I.E.E.E.Trans.Ind.Appl.* **1986**, IA-22, 527
- ⁶⁴ G.Schmelzeisen-Redeker, L.Buttering, F.W.Röllgen. *Int.J.Mass Spectrom.Ion Process.* **1989**, 90, 139
- ⁶⁵ J.V.Iribarne, B.A.Thomson. *J.Chem.Phys.* **1976**, 64, 2287.
- ⁶⁶ B.A.Thomson, J.V.Iribarne. *J.Chem.Phys.* **1979**, 71, 4451.
- ⁶⁷ K.W.M.Siu, R.Guevremont, J.C.Y.LeBlanc, R.T.O'Brien, S.S.Bernam. *Org. Mass Spectrom.* **1993**, 28, 579.
- ⁶⁸ J.F.De La Mora. *Anal.Chim.Acta.* **2000**, 406, 93.
- ⁶⁹ P.Kebarle. *J.Mass Spectrom.* **2000**, 35, 804.
- ⁷⁰ P.Kebarle, M.Peschle. *Anal.Chim.Acta.* **2000**, 406, 11.
- ⁷¹ Paul, Steinwedel. U.S.Patent 2 939 952
- ⁷² E.Mathieu. *J.Math.Pure Appl. (J.Liouville)* **1868**, 13, 137.
- ⁷³ R.E.March. *J.Mass Spectrom.* **1997**, 32, 351.
- ⁷⁴ F.G.Major, H.G.Dehmelt. *Phys.Rev.* **1968**, 179, 91.
- ⁷⁵ R.E.Pedder, J.V.Johnson, R.A.Yost. *Proceeding of the 41th ASMS, San Francisco CA.* **1993**, p.711
- ⁷⁶ R.A.Marcus, O.K.Rice. *J.Phys. and Colloid Chem.* **1951**, 55, 894.
- ⁷⁷ R.A.Marcus. *J.Chem.Phys.* **1952**, 87,2657.
- ⁷⁸ C.Afonso. Thèse Paris VI. **2001**.
- ⁷⁹ P.B.Armentrout. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 34, 74.
- ⁸⁰ X.H.Cheng, Z.C.Wu, C.Fenselau. *J.Am.Chem.Soc.* **1993**, 115, 4844.
- ⁸¹ F.Greco, A.Liguori, G.Sindona, N.Ucella. *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, 112, 9092.
- ⁸² R.G.Cooks, J.T.Koshinen, P.D.Thomas. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 34, 85.
- ⁸³ M.J.Nold, B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Am.Soc.Mass Spectrom.* **1999**, 1, 10.
- ⁸⁴ P.B.Armentrout. *J.Am.Soc.Mass Spectrom.* **2000**, 11, 371.
- ⁸⁵ R.R.Krug, W.G.Hunter, R.A.Grieger. *J.Phys.Chem.* **1976**, 80, 2341.

- ⁸⁶ W.J.Hehre, L.Radom, P.V.R.Schleyer, J.A.Pople. *Ab initio molecular orbital theory*, John Wiley and Sons, New York, **1986**.
- ⁸⁷ M.Born, J.R.Oppenheimer. *Ann. Physik.* **1927**, 84, 457.
- ⁸⁸ C.Möller, M.S. Plesset. *Phys.Rev.* **1934**, 46, 618.
- ⁸⁹ J.S.Binkley, J.A.Pople. *Int.J.Quantum Chem.* **1975**, 9, 229.
- ⁹⁰ J.A.Pople, J.S.Binkley, R.Seeger. *Int.J.Quantum Chem.Symp.* **1976**, 10, 1.
- ⁹¹ K.Ragavachari, M.J. Frisch, J.A.Pople. *Int.J.Quantum Chem.Symp.* **1978**, 14, 91.
- ⁹² W.Kohn, L.J.Sham. *Phys.Rev.* **1965**, A140, 1133.
- ⁹³ S.H.Vosko, L.Wilk, M.Nussair. *Can.J.Phys.* **1980**, 58, 1200.
- ⁹⁴ J.P.Perdew, W.Wang. *Phys.Rev.* **1986**, B33, 8800.
- ⁹⁵ J.P.Perdew. *Phys.Rev.* **1986**, B33, 8822.
- ⁹⁶ A.D.Becke. *Phys.Rev.* **1988**, A38, 3098.
- ⁹⁷ C.Lee, W.Yang, R.G.Parr. *Phys. Rev.* **1988**, B37, 785.
- ⁹⁸ S.F.Boys, F.Bernardi. *Mol.Phys.* **1970**, 19, 553.
- ⁹⁹ J.H.Van Lenth, J.G.C.M.Van Duijneveldt-Van de Rijdt, F.B.Van Duijneveldt. *Adv.Chem.Phys.* **1987**, 69, 521.
- ¹⁰⁰ C.Afonso, F.Modeste, P.Breton, F.Fournier, J-C.Tabet. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2000**, 6, 443.
- ¹⁰¹ E.P.Hunter, S.G.Lias. *Proton Affinity Evaluation*. In NIST Chemistry WebBook, NIST ; Standard Reference Database No. 69 ; W.G.Mallard, P.J.Linstrom, Eds. ; National Institute of Standards and Technology : Gaithersburg, MD, **November 1998**.
- ¹⁰² M.Meot-Ner, L.W.Sieck. *J.Am.Chem.Soc.* **1991**, 113, 4448
- ¹⁰³ S.G.Lias, L.F.Liebman, R.D.Levin. *J.Chem.Ref.Data.* **1984**, 13, 695
- ¹⁰⁴ X.Li, A.G.Harrison. *Org.Mass Spectrom.* **1993**, 28, 366
- ¹⁰⁵ S.Mezzache, C.Afonso, C.Pepe, P.Karoyan, F.Fournier, J-C.Tabet. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **2003**, 17, 1626
- ¹⁰⁶ J.B.Foresman, A.Frisch. *In Exploring Chemistry with Electronic Structure Method (2nd edn.)* Gaussian Inc.: Pittsburgh, PA, **1996** ; chap.8.
- ¹⁰⁷ M.J.Frisch, G.W.Trucks, H.B.Schlegel, G.E.Scuseria, M.A.Robb, J.R.Cheeseman, V.G.Zakrzewski, J.A.Montgomery, R.E.Stratmann Jr, J.C.Burant, S.Dapprich, J.M.Millam, A.D.Daniels, K.N.Kudin, M.C.Strain, O.Farkas, J.Tomasi, V.Barone, M.Cossi, R.Cammi, B.Mennucci, C.Pomelli, C.Adamo, S.Clifford, J.Ochterski, G.A.Petersson, P.Y.Ayala, Q.Cui, K.Morokuma, N.Regga, P.Salvador, J.J.Dannenberg, D.K.Malick, A.D.Rabuck, K.Raghavachari, J.B.Foresman, J.Cioslowski, J.V.Ortiz, A.G.Baboul, B.B.Stefanov, G.Liu, A.Liashenko, P.Piskorz, I.Komaromi, R.Gomperts, R.L.Martin, D.J.Fox, T.Keith, M.A.Al-Laham, C.Y.Peng, A.Nanayakkara, M.Challacombe, P.M.W.Gill, B.Johnson, W.Chen, M.W.Wong, J.L.Andres, C.Gonzalez, M.Head-Gordon, E.S.Replogle, J.A.Pople. *Gaussian 98 (Revision A.7)*. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2002**.
- ¹⁰⁸ C.Pepe, S.Rochut, J-P.Paumard, J-C.Tabet. *Rapid Commu.Mass Spectrom.* **2004**, 18, 307.
- ¹⁰⁹ K.Vékey. *J.Mass Spectrom.* **1996**, 31, 445.
- ¹¹⁰ L.Drahos, K.Vékey. *J.Am.Soc.Mass Spectrom.* **1999**, 10, 323.
- ¹¹¹ K.M.Ervin. *Int.J.Mass Spectrom.* **2000**, 195/196, 271.
- ¹¹² L.Drahos, K. Vékey. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 34, 79.
- ¹¹³ P.B.Armentrout. *Mass Spectrom.* **1999**, 34, 79.
- ¹¹⁴ J.L.Holmes, C.Aubry, P.M.Mayer. *J.Phys.Chem.A.* **1999**, 103, 705.
- ¹¹⁵ P.D.Thomas, R.G.Cooks, K.Vékey, L.Drahos. *J.Phys.Chem.A.* **2000**, **104**, 1359.
- ¹¹⁶ B.A.Cerda, S.Hoyau, G.Ohanessian, C.Wesdemiotis. *J.Am.Chem.Soc.* **1998**, 120, 2437.
- ¹¹⁷ B.A.Cerda, C.Wesdemiotis. *J.Mass Spectrom.* **1999**, 185/186/187, 107.

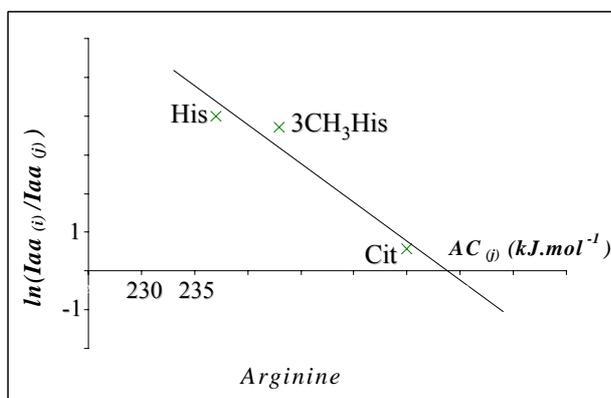
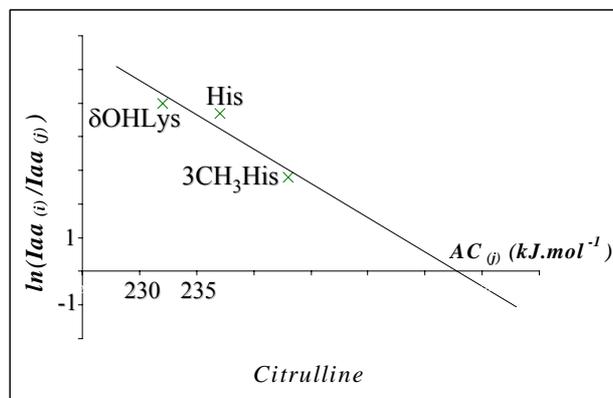
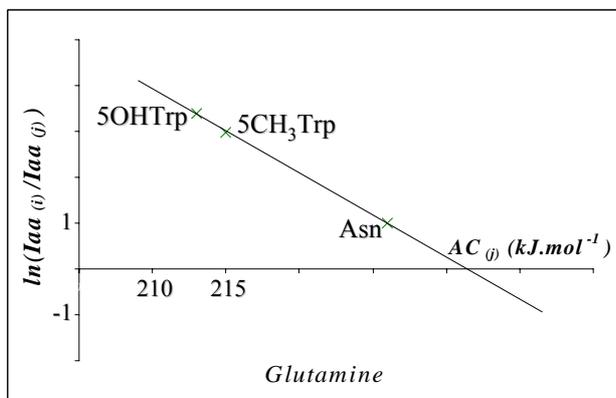
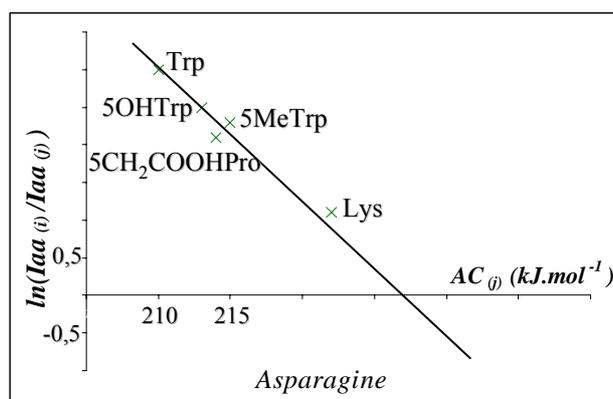
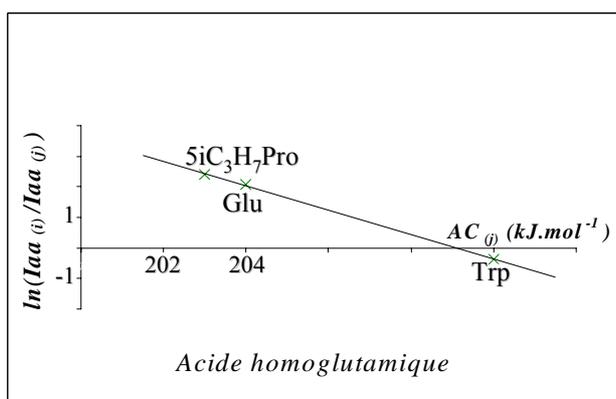
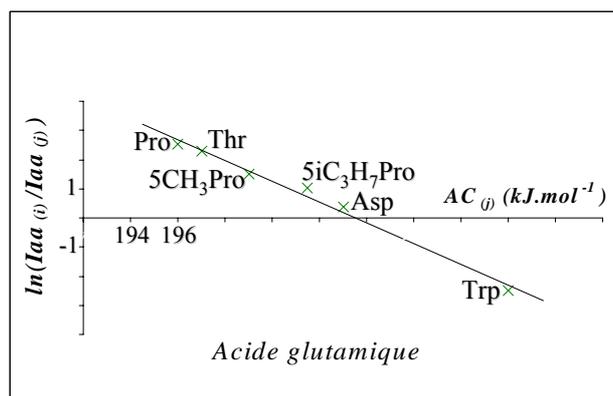
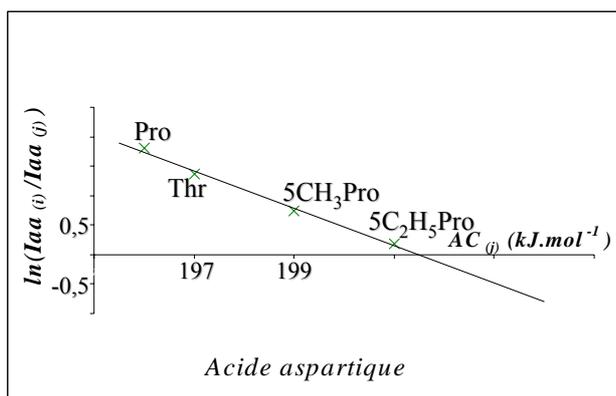
ANNEXES



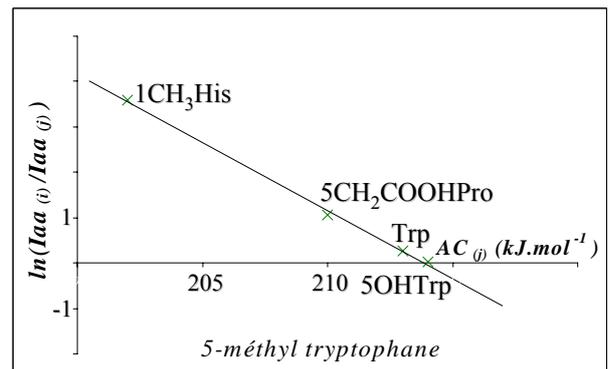
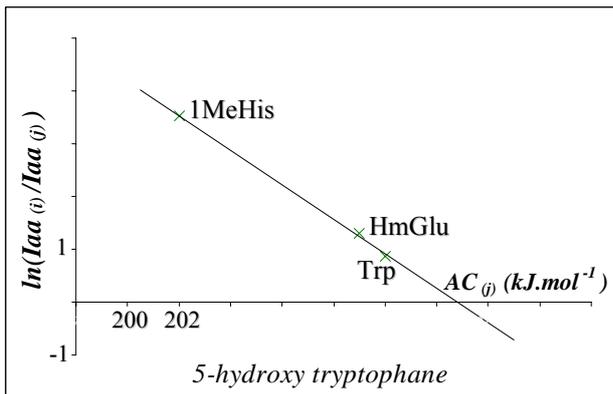
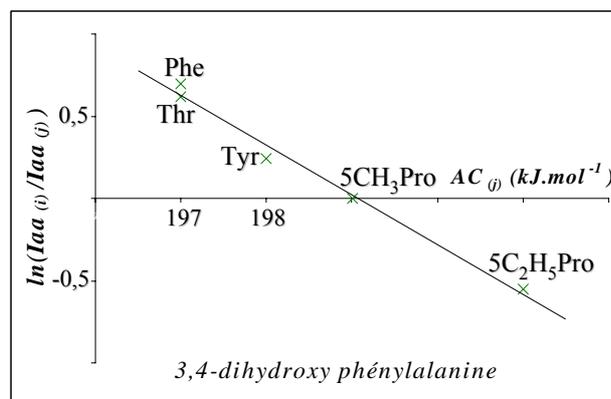
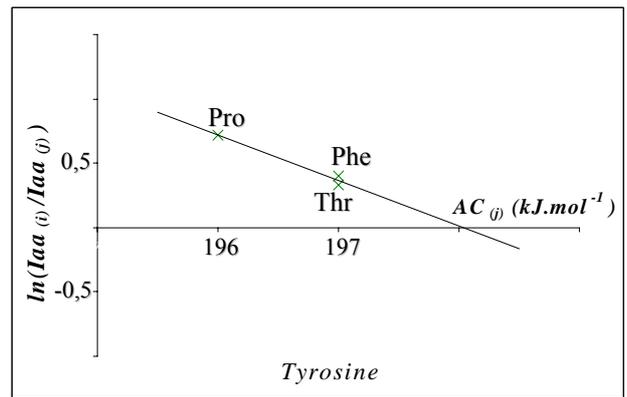
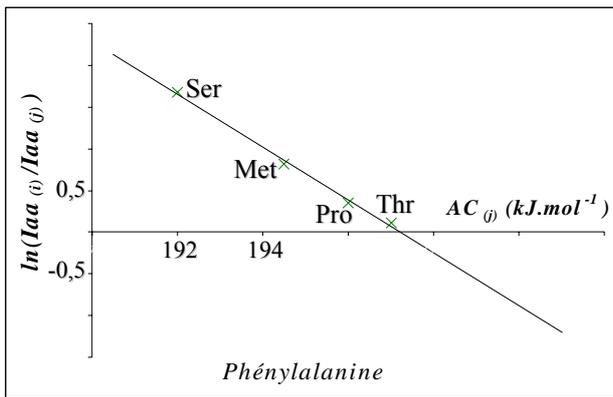
Droites de détermination des affinités cationiques des acides aminés.



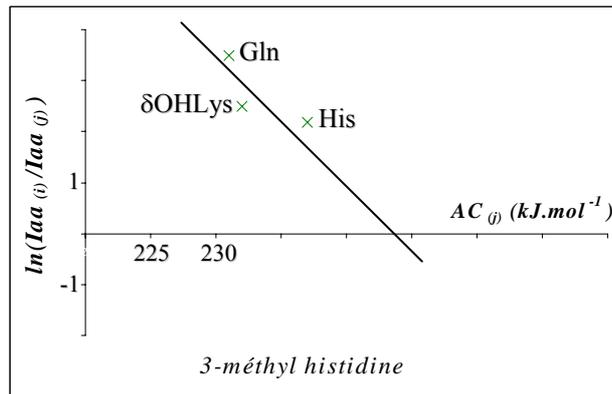
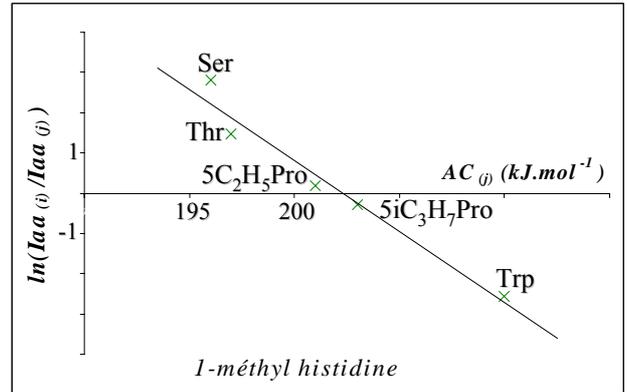
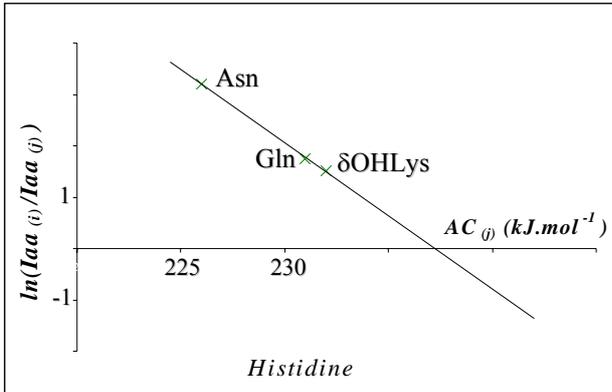
Droites de détermination des affinités cationiques des acides aminés.



Droites de détermination des affinités cationiques des acides aminés.



Droites de détermination des affinités cationiques des acides aminés.



Droites de détermination des affinités cationiques des acides aminés.

Systèmes de calcul		E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{protoné}}$ (hartree)	AP de la glycine (kJ.mol ⁻¹)	
HF	6-31G*	-282,73109	-283,07604	909	
	6-31+G*	-282,74152	-283,08126	895	
	6-311+G*	-282,80735	-283,14868	900	
DFT	B3LYP	6-31G*	-284,33641	-284,68095	908
		6-31+G*	-284,35556	-284,68984	881
		6-311+G*	-284,42774	-284,76282	883
	B3P86	6-31G*	-285,05426	-285,9386	908
		6-31+G*	-285,06908	-285,40546	887
		6-311+G*	-285,13917	-285,47588	887
MP2	6-31G*	-283,51127	-283,85466	895	
	6-31+G*	-283,53498	-283,86902	881	
	6-311+G*	-283,65348	-283,98818	882	
Valeur expérimentale				888	

Energies des formes neutres et protonées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la glycine. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Systèmes de calcul		E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{protoné}}$ (hartree)	AP de la cystéine (kJ.mol ⁻¹)	
HF	6-31G*	-719,2461	-719,58874	903	
	6-31+G*	-719,25648	-719,059521	893	
	6-311+G*	-719,35234	-719,69258	897	
DFT	B3LYP	6-31G*	-721,80678	-722,15417	915
		6-31+G*	-721,82598	-722,16507	894
		6-311+G*	-721,9319	-722,27175	896
	B3P86	6-31G*	-722,97502	-723,3228	917
		6-31+G*	-722,99003	-723,33137	899
		6-311+G*	-723,0927	-723,43479	902
MP2	6-31G*	-720,28043	-720,623375	904	
	6-31+G*	-720,30776	-720,64311	884	
	6-311+G*	-720,46787	-720,80535	890	
Valeur expérimentale				897	

Energies des formes neutres et protonées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la cystéine. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Systèmes de calcul		E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{protoné}}$ (hartree)	AP de la phénylalanine (kJ.mol ⁻¹)	
HF	6-31G*	-551,19243	-551,55116	945	
	6-31+G*	-551,20863	-551,56278	933	
	6-311+G*	-551,31583	-551,67179	938	
DFT	B3LYP	6-31G*	-554,59044	-554,94816	943
		6-31+G*	-554,61578	-554,96511	921
		6-311+G*	-554,73716	-555,08729	923
	B3P86	6-31G*	-556,19639	-556,53401	890
		6-31+G*	-556,19639	-556,54699	924
		6-311+G*	-556,31384	-556,66497	926
MP2	6-31G*	-552,87316	-553,22868	937	
	6-31+G*	*****	*****	*****	
	6-311+G*	*****	*****	*****	
Valeur expérimentale				920	

Energies des formes neutres et protonées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la phénylalanine. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Systèmes de calcul		E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{protoné}}$ (hartree)	AP de la proline (kJ.mol ⁻¹)	
HF	6-31G*	-398,59804	-398,96373	964	
	6-31+G*	-398,60884	-398,96989	952	
	6-311+G*	-398,69272	-398,5507	955	
DFT	B3LYP	6-31G*	-401,00164	-401,36434	956
		6-31+G*	-401,02125	-401,37507	933
		6-311+G*	-401,11397	-401,46795	934
	B3P86	6-31G*	-402,12459	-402,48639	954
		6-31+G*	-402,13995	-402,49458	935
		6-311+G*	-402,22976	-402,58433	935
MP2	6-31G*	-399,77055	-400,13115	951	
	6-31+G*	-399,79946	-400,14963	924	
	6-311+G*	-399,95498	-400,30694	928	
Valeur expérimentale				936	

Energies des formes neutres et protonées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la proline. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Système de calcul	E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{cationisé}}$ (hartree)	AC de la glycine sans correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)	AC de la glycine après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)
HF/6-31+G*	-282,74152	-444,46958	184	178
B3LYP/6-31+G*	-284,35560	-446,49958	169	166
B3P86/6-31+G*	-285,06908	-446,38828	166	162
MP2/6-31+G*	-283,53498	-445,25649	166	162
Valeur expérimentale				160

Energies des formes neutres et cationisées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la glycine. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Système de calcul	E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{cationisé}}$ (hartree)	AC de la cystéine sans correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)	AC de la cystéine après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)
HF/6-31+G*	-719,25648	-880,98509	186	180
B3LYP/6-31+G*	-721,82598	-883,97769	189	184
B3P86/6-31+G*	-722,99003	-885,31564	184	178
MP2/6-31+G*	-720,30776	-882,03348	179	173
Valeur expérimentale				173

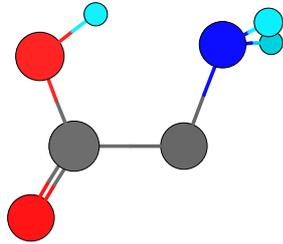
Energies des formes neutres et cationisées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la cystéine. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Système de calcul	E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{cationisé}}$ (hartree)	AC de la phénylalanine sans correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)	AC de la phénylalanine après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)
HF/6-31+G*	-551,20863	-772,94686	211	206
B3LYP/6-31+G*	-554,61578	-716,77294	203	198
B3P86/6-31+G*	-556,19639	-718,52719	197	193
MP2/6-31+G*	/	/	/	/
Valeur expérimentale				197

Energies des formes neutres et cationisées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la phénylalanine. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

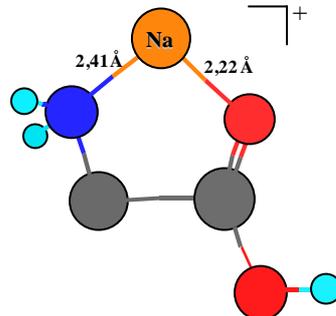
Système de calcul	E_{neutre} (hartree)	$E_{\text{cationisé}}$ (hartree)	AC de la proline sans correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)	AC de la proline après correction BSSE (kJ.mol ⁻¹)
HF/6-31+G*	-398,60884	-560,3422	198	196
B3LYP/6-31+G*	-401,02125	-563,17993	207	204
B3P86/6-31+G*	-402,13995	-564,47191	200	198
MP2/6-31+G*	-399,79946	-561,53421	201	200
Valeur expérimentale				195

Energies des formes neutres et cationisées les plus stables pour chaque système de calcul étudié pour la proline. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

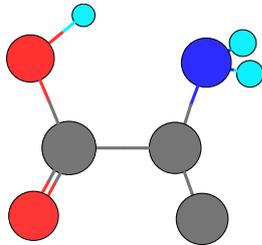


$E_{el.} = -285,06908$ Hartree

Structures les plus stables de la glycine neutre et cationisée en phase gazeuse.

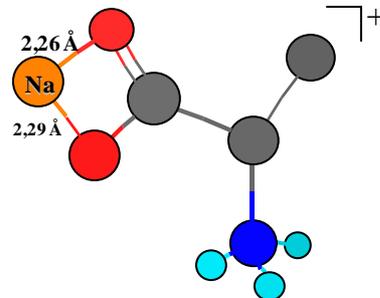


$E_{el.} = -447,38828$ Hartree

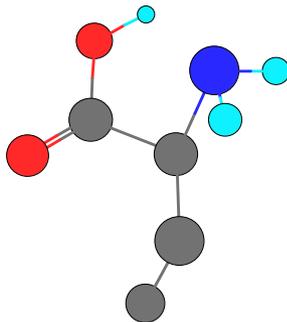


$E_{el.} = -324,50390$ Hartree

Structures les plus stables de l'alanine neutre et cationisée en phase gazeuse.

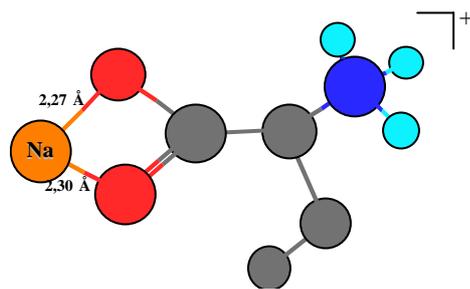


$E_{el.} = -486,82606$ Hartree

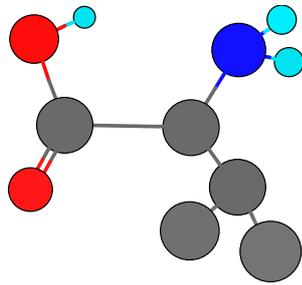


$E_{el.} = -363,93379$ Hartree

Structures plus stables de l'acide α aminobutyrique neutre et cationisé en phase gazeuse.

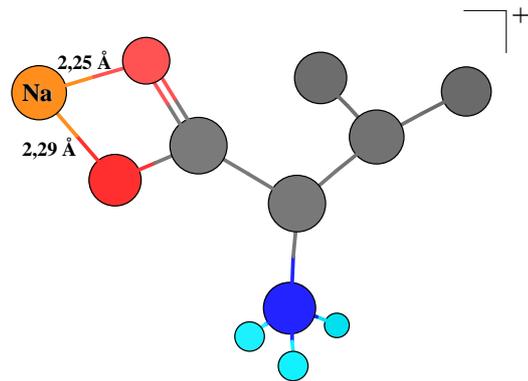


$E_{el.} = -526,25665$ Hartree

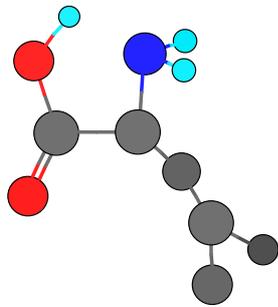


$E_{el.} = -403,36680$ Hartree

Structures les plus stables de la valine neutre et cationisée en phase gazeuse.

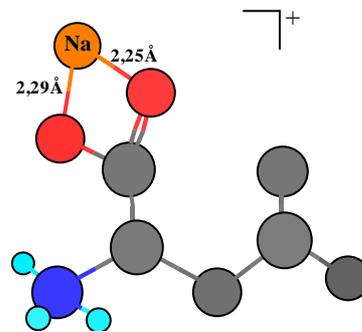


$E_{el.} = -565,69174$ Hartree

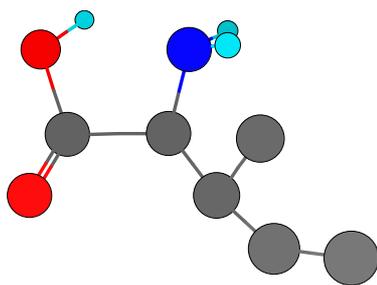


$E_{el.} = -442,79656$ Hartree

Structure de la leucine neutre et cationisée en phase gazeuse.

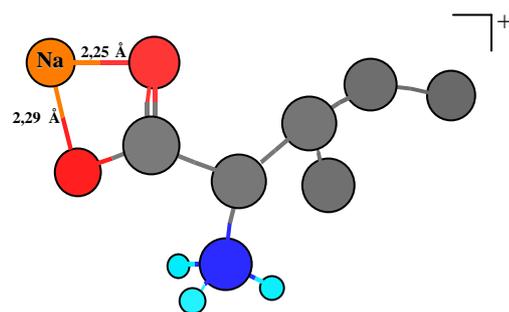


$E_{el.} = -605,12046$ Hartree

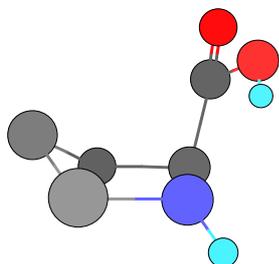


$E_{el.} = -442,79656$ Hartree

Structures les plus stables de l'isoleucine neutre et cationisée en phase gazeuse.

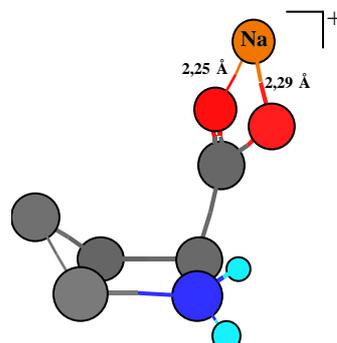


$E_{el.} = -605,1194$ Hartree

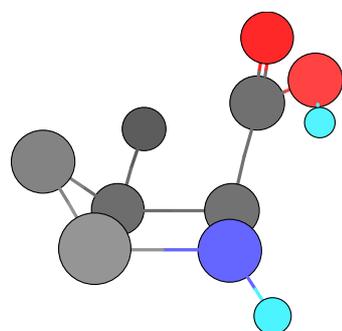


$E_{el.} = -402,13995$ Hartree

Structures les plus stables de la proline neutre et cationisée en phase gazeuse.

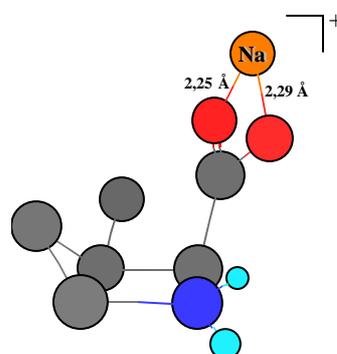


$E_{el.} = -564,47191$ Hartree

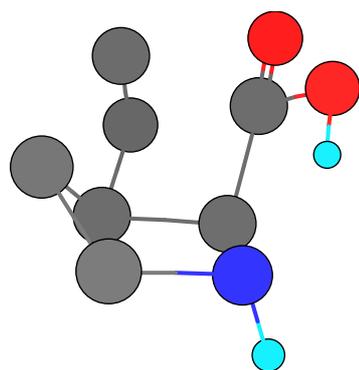


$E_{el.} = -441,57132$ Hartree

Structures les plus stables de la 5-méthyl proline neutre et cationisée en phase gazeuse.

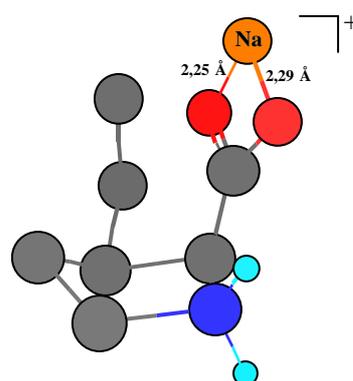


$E_{el.} = -603,90391$ Hartree

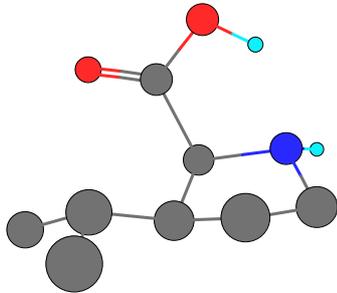


$E_{el.} = -480,99807$ Hartree

Structures les plus stables de la 5-éthyl proline neutre et cationisée en phase gazeuse.

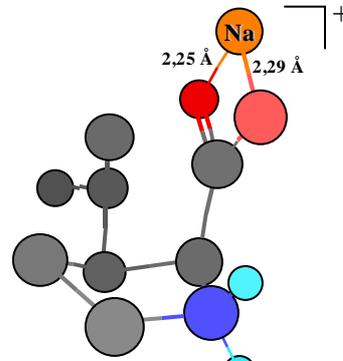


$E_{el.} = -643,33089$ Hartree

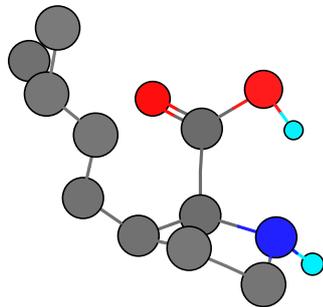


$E_{\text{el.}} = -520,43233$ Hartree

Structures les plus stables de la 5-isopropyl proline neutre et cationisée en phase gazeuse.

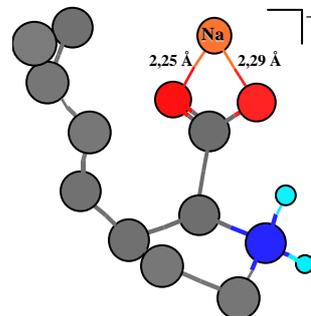


$E_{\text{el.}} = -682,76595$ Hartree

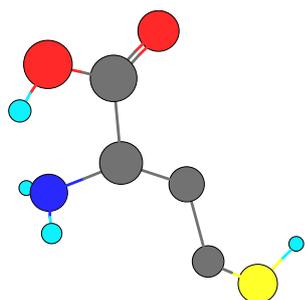


$E_{\text{el.}} = -599,29153$ Hartree

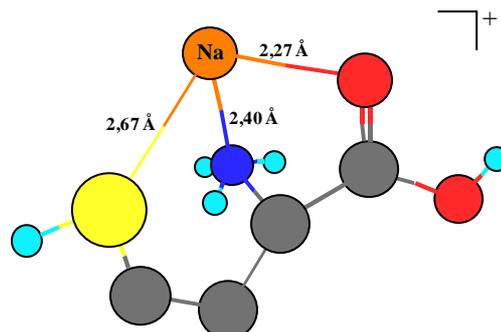
Structures les plus stables de la 5-(3-méthylbutyl) proline neutre et cationisée en phase gazeuse.



$E_{\text{el.}} = -761,62422$ Hartree

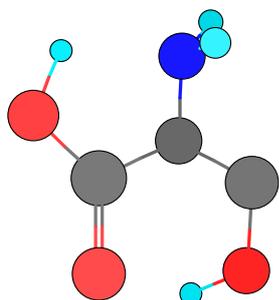


$E_{el.} = -762,422195$ Hartree

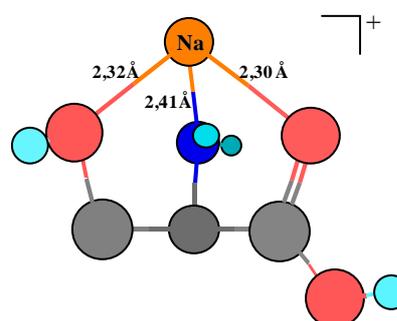


$E_{el.} = -924,74884$ Hartree

Structures les plus stables de l'homocystéine neutre et cationisée en phase gazeuse.

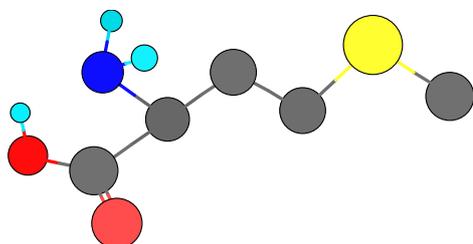


$E_{el.} = -399,85432$ Hartree

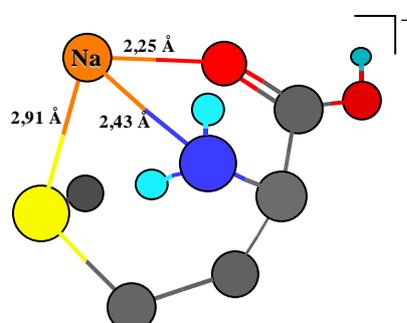


$E_{el.} = -562,1842$ Hartree

Structures les plus stables de la sérine neutre et cationisée en phase gazeuse.

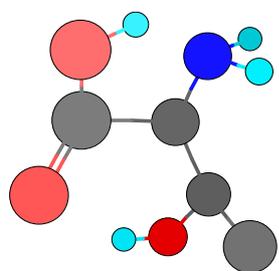


$E_{el.} = -801,84981$ Hartree

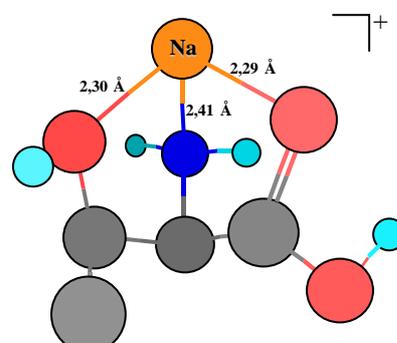


$E_{el.} = -964,18101$ Hartree

Structures les plus stables de la méthionine neutre et cationisée en phase gazeuse.

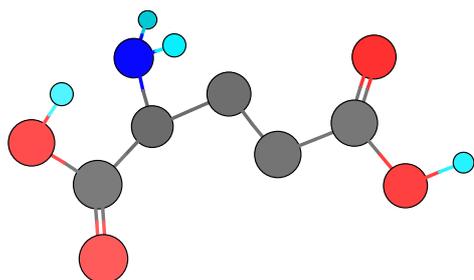


$E_{el.} = -439,29004$ Hartree



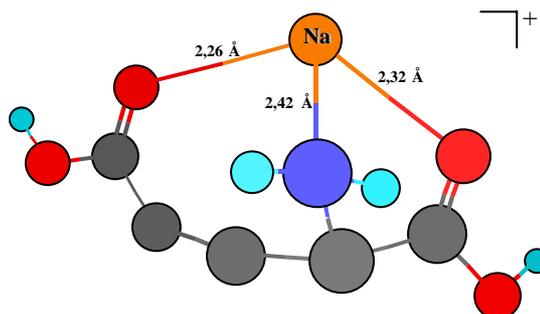
$E_{el.} = -601,62201$ Hartree

Structures les plus stables de la thréonine neutre et cationisée en phase gazeuse.

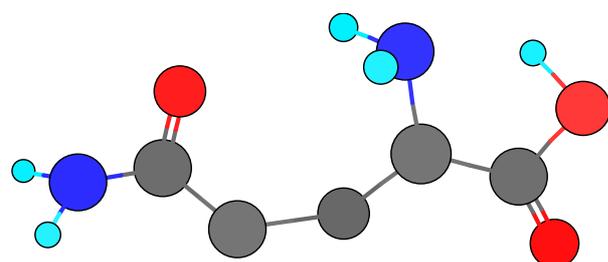


$E_{el.} = -552,88091$ Hartree

Structures les plus stables de l'acide glutamique neutre et cationisé en phase gazeuse.

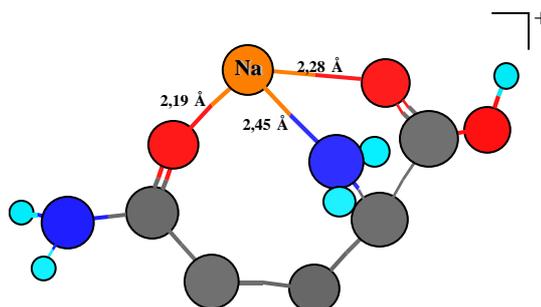


$E_{el.} = -715,21553$ Hartree

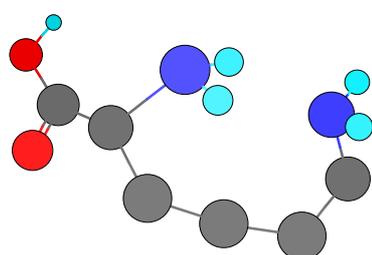


$E_{el.} = -533,00799$ Hartree

Structures les plus stables de la glutamine neutre et cationisée en phase gazeuse.

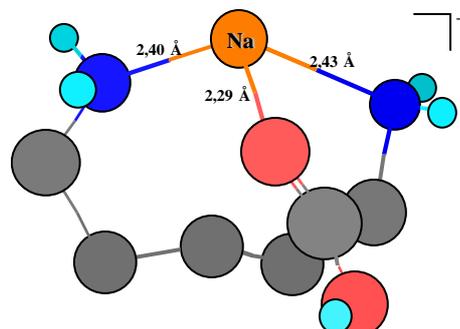


$E_{el.} = -695,34887$ Hartree

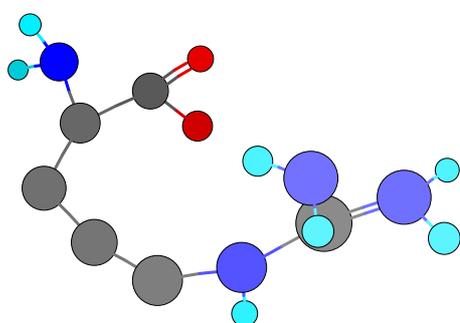


$E_{el.} = -498,26851$ Hartree

Structures les plus stables de la lysine neutre et cationisée en phase gazeuse.

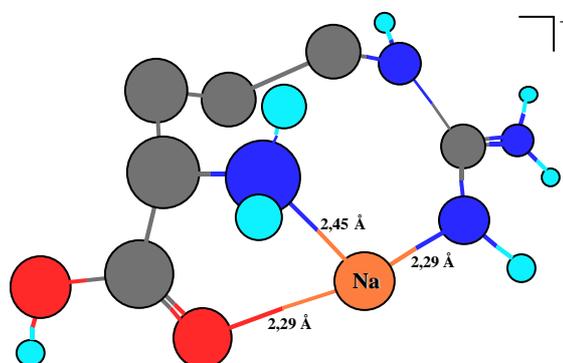


$E_{el.} = -660,61213$ Hartree

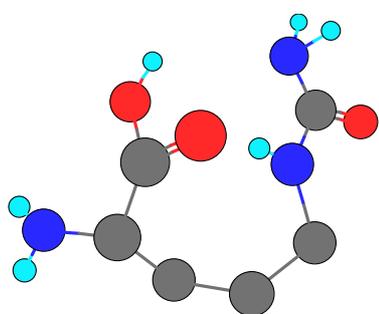


$E_{el.} = -608,02251$ Hartree

Structures les plus stables de l'arginine neutre et cationisée en phase gazeuse.

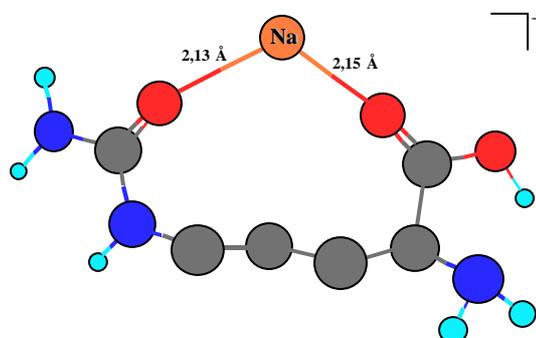


$E_{el.} = -770,37466$ Hartree

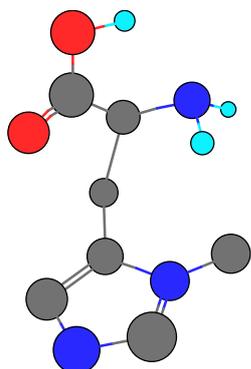


$E_{el.} = -627,92394$ Hartree

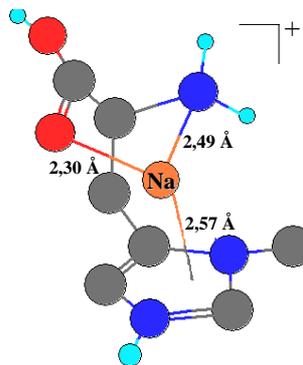
Structures les plus stables de la citrulline neutre et cationisée en phase gazeuse.



$E_{el.} = -790,27774$ Hartree

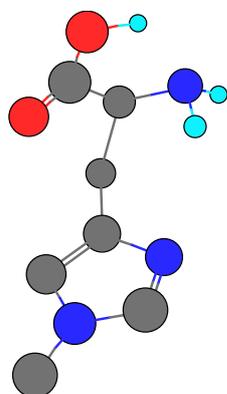


$E_{el.} = -589,51401$ Hartree

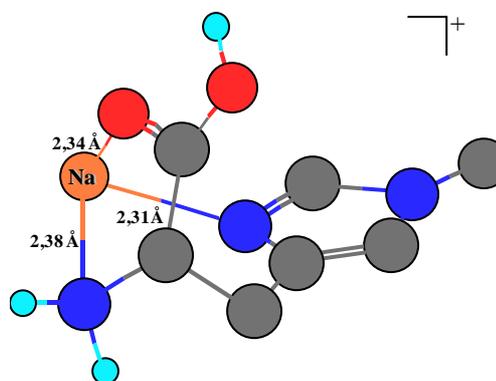


$E_{el.} = -751,84569$ Hartree

Structures les plus stables de la 1-méthyl histidine neutre et cationisée en phase gazeuse.

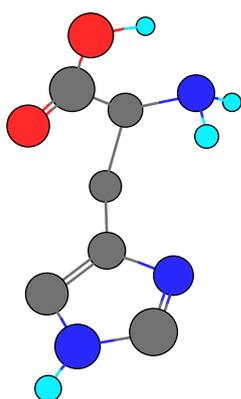


$E_{el.} = -589,52534$ Hartree

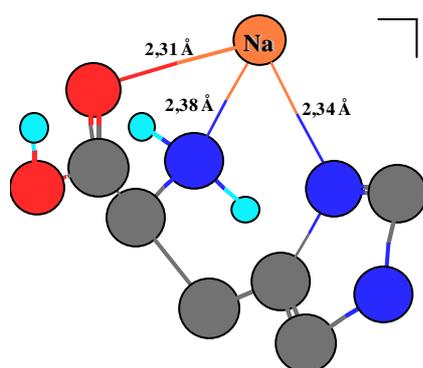


$E_{el.} = -751,87016$ Hartree

Structures les plus stables de la 3-méthyl histidine neutre et cationisée en phase gazeuse.

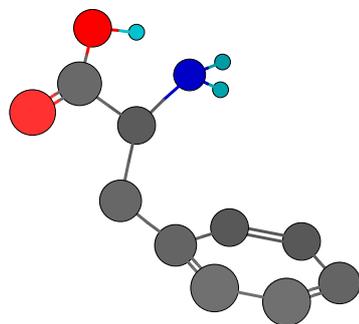


$E_{el.} = -550,09629$ Hartree



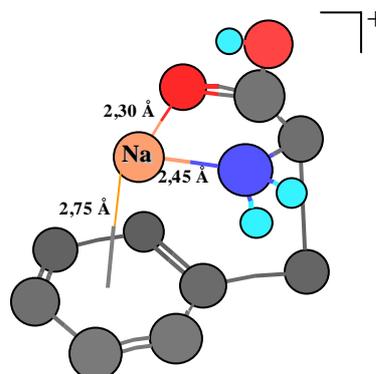
$E_{el.} = -712,43901$ Hartree

Structures les plus stables de l'histidine neutre et cationisée en phase gazeuse.

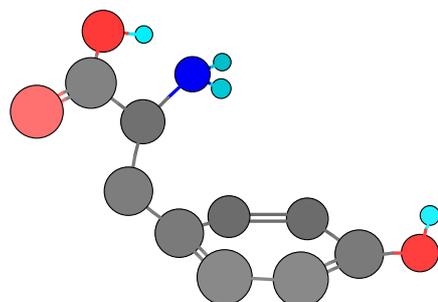


$E_{el.} = -556,19639$ Hartree

Structures les plus stables de la phénylalanine neutre et cationisée en phase gazeuse.

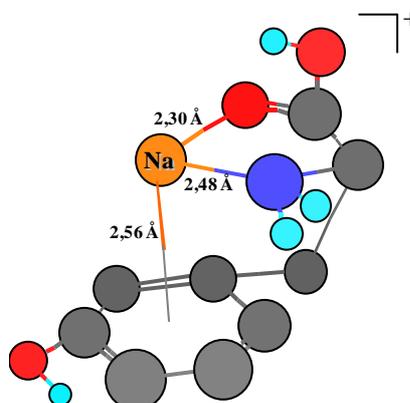


$E_{el.} = -718,52719$ Hartree

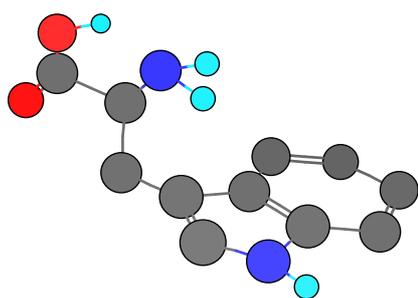


$E_{el.} = -631,55401$ Hartree

Structures les plus stables de la tyrosine neutre et cationisée en phase gazeuse.

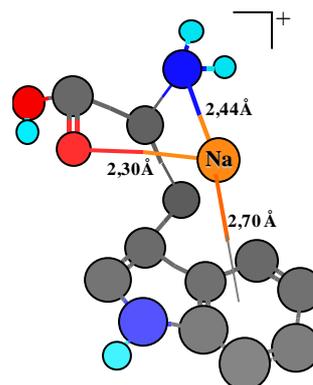


$E_{el.} = -793,88565$ Hartree

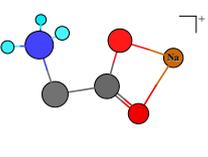
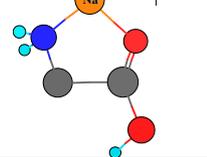
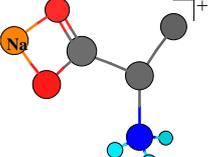
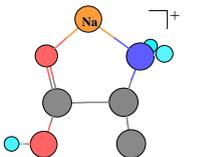
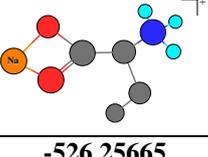
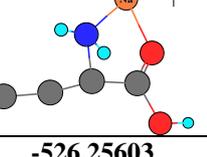
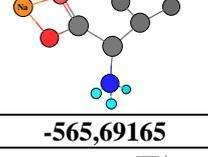
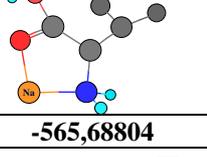
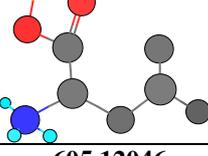
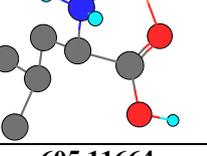
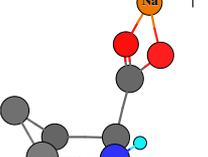
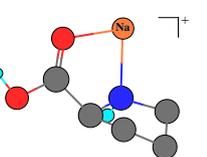


$E_{el.} = -688,10288$ Hartree

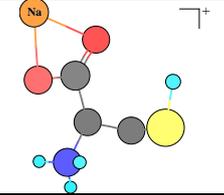
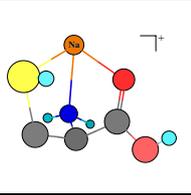
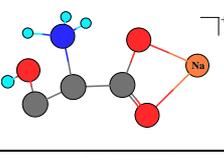
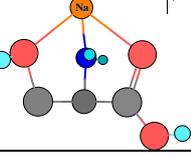
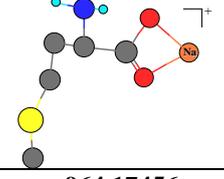
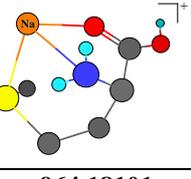
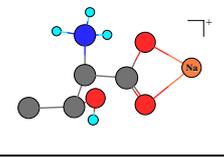
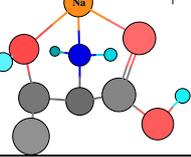
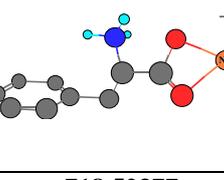
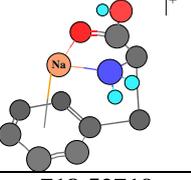
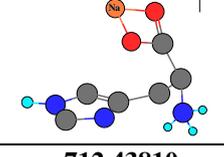
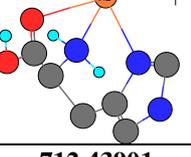
Structures les plus stables du tryptophane neutre et cationisé en phase gazeuse.



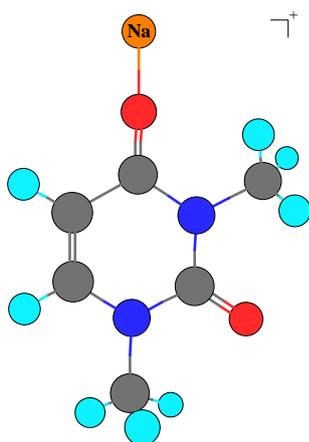
$E_{el.} = -850,43919$ Hartree

Acide aminé	Forme ZW et énergie (Hartree)	Forme CS et énergie (Hartree)	$\Delta E =$ $ E_{ZW} - E_{CS} $ (kJ.mol ⁻¹)	AC (kJ.mol ⁻¹)	AP (kJ.mol ⁻¹)
Glycine			-1,7	160	888
	-447,38760	-447,38825			
Alanine			+4,9	165 ³⁶	895
	-486,82606	-486,82420			
Acide α aminobutyrique			+1,6	169 ³⁶	890
	-526,25665	-526,25603			
Valine			+9,5	172 ³⁶	910
	-565,69165	-565,68804			
Leucine			+10	173	911
	-605,12046	-605,11664			
Proline			+28,4	196 ³⁶	937
	-564,47191	-564,46108			

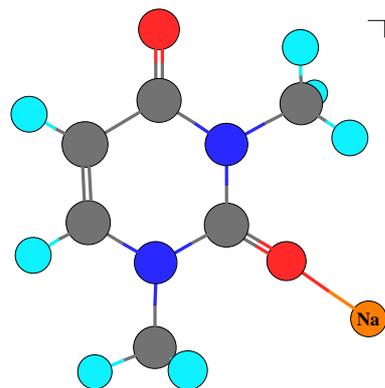
Energies des formes les plus stables CS et ZW, affinités cationiques et affinités protoniques des acides aminés aliphatiques étudiés. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

Acide aminé	Forme ZW et énergie (Hartree)	Forme CS et énergie (Hartree)	$\Delta E =$ $ E_{ZW} - E_{CS} $ (kJ.mol ⁻¹)	AC (kJ.mol ⁻¹)	AP (kJ.mol ⁻¹)
Cystéine	 -885,31491	 -885,34564	-1,9	174	897
Sérine	 -562,17935	 -562,18402	-12,3	192 ³⁷	906
Méthionine	 -964,17456	 -964,18101	-16,9	194,5	927
Thréonine	 -601,61800	 -601,62201	-10,5	197 ³⁷	914
Phénylalanine	 -718,52377	 -718,52719	-9	197	920
Histidine	 -712,43810	 -712,43901	-2,4	237	959

Energies des formes les plus stables CS et ZW, affinités cationiques et affinités protoniques des acides aminés non aliphatiques étudiés. 1 hartree = 2625,5 kJ.mol⁻¹.

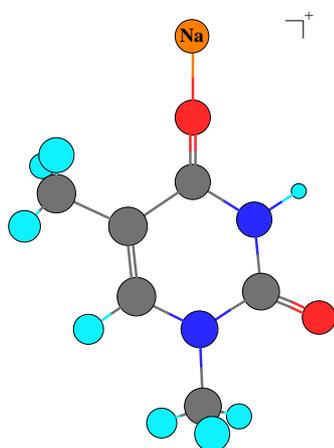


$E_{el.} = -655,58967$ Hartree

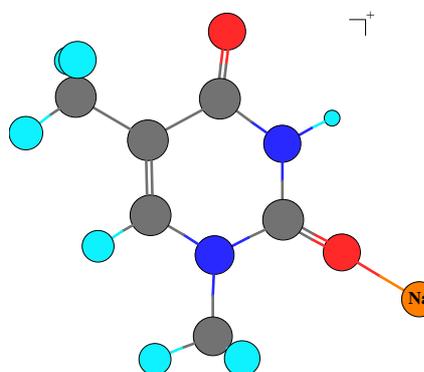


$E_{el.} = -655,58100$ Hartree

Structures et énergies non corrigées des deux formes de la 1,3-diméthyl uracile cationisée.

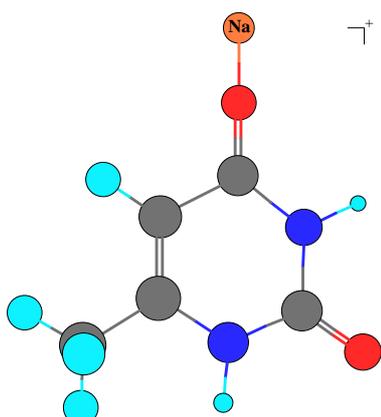


$E_{el.} = -655,59736$ Hartree

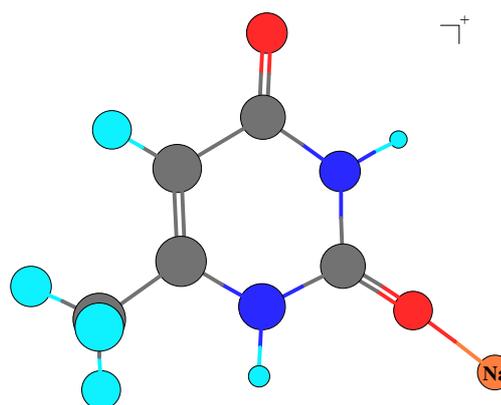


$E_{el.} = -655,59097$ Hartree

Structures et énergies non corrigées des deux formes de la 1-méthyl thymine cationisée.

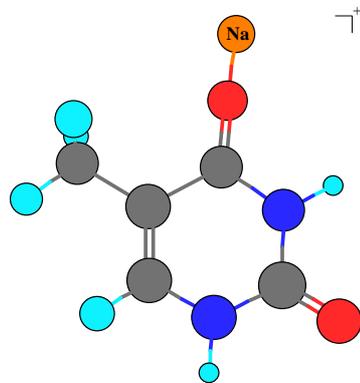


$E_{el.} = -616,28909$ Hartree



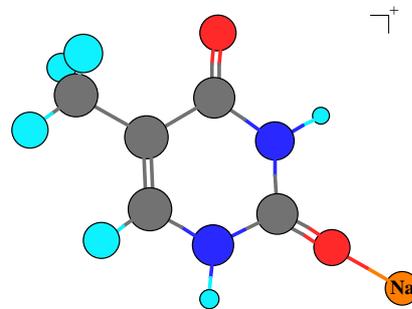
$E_{el.} = -616,28142$ Hartree

Structures et énergies non corrigées des deux formes de la 6-méthyl uracile cationisée.



$E_{el.} = -617,52569$ Hartree

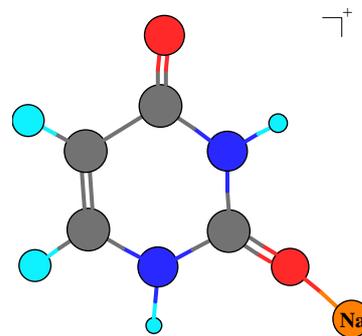
Structures et énergies corrigées des deux formes de la thymine cationisée.



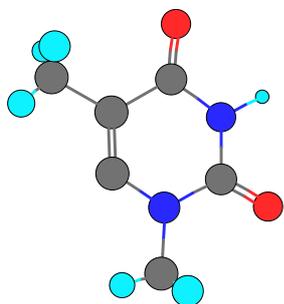
$E_{el.} = -617,52221$ Hartree

$E_{el.} = -578,08159$ Hartree

Structures et énergies corrigées des deux formes de l'uracile et cationisée.

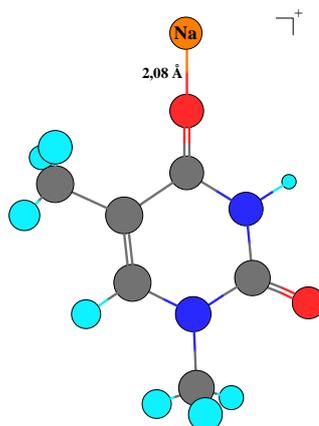


$E_{el.} = -578,08827$ Hartree

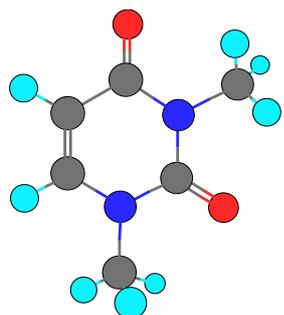


$E_{el.} = -494,64202$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 1-méthyl thymine neutre et cationisée.

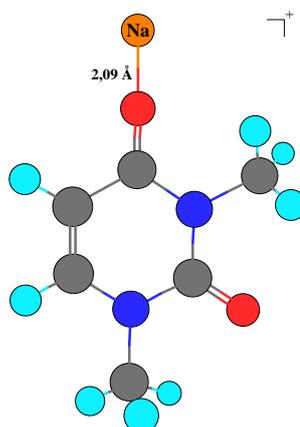


$E_{el.} = -656,95640$ Hartree

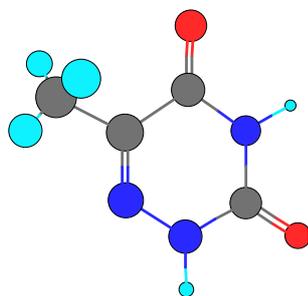


$E_{el.} = -494,63190$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 1,3-diméthyl uracile neutre et cationisée.

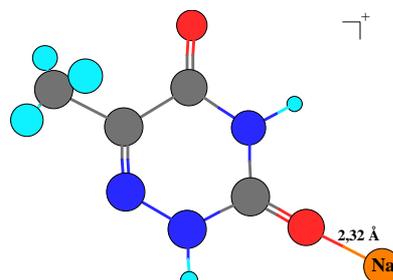


$E_{el.} = -656,94731$ Hartree

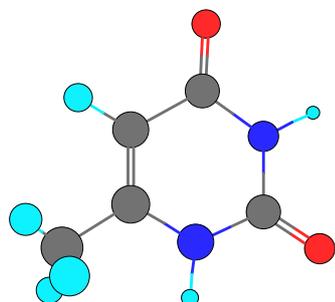


$E_{el.} = -471,23865$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 6-aza,thymine neutre et cationisée.

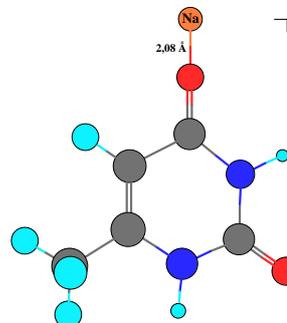


$E_{el.} = -633,54168$ Hartree

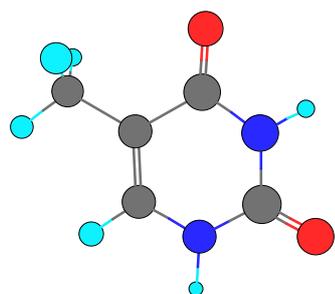


$E_{el.} = -455,21818$ Hartree

Structures en phase gazeuse de 6-méthyl uracile neutre et cationisée.

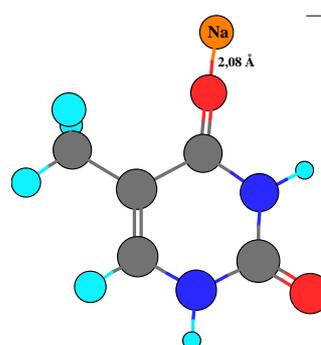


$E_{el.} = -617,53282$ Hartree

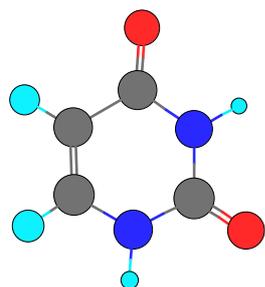


$E_{el.} = -455,21465$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la thymine neutre et cationisée.

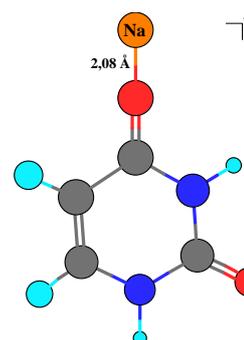


$E_{el.} = -617,52569$ Hartree

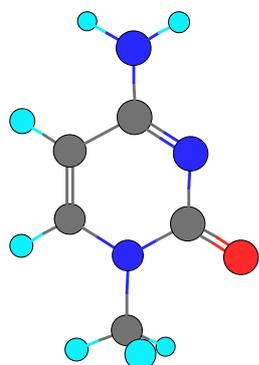


$E_{el.} = -415,77695$ Hartree

Structures en phase gazeuse de l'uracile neutre et cationisée.

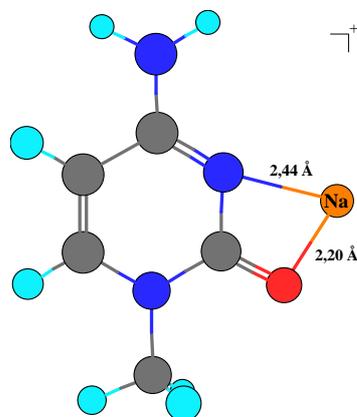


$E_{el.} = -578,08827$ Hartree

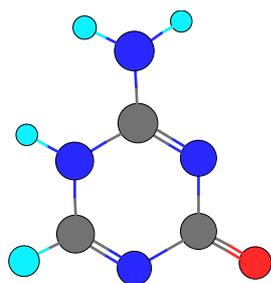


$E_{el.} = -435,30940$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 1-méthyl cytosine neutre et cationisée.

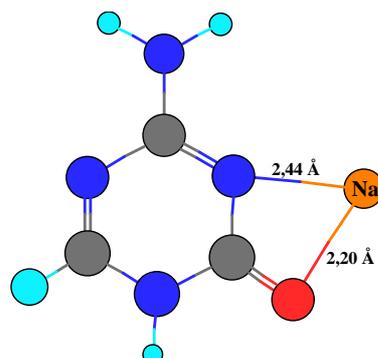


$E_{el.} = -597,64903$ Hartree

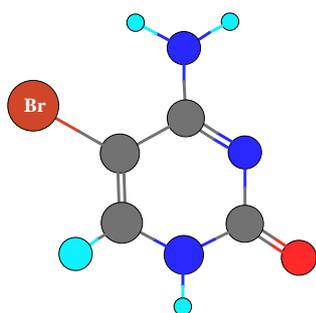


$E_{el.} = -411,94519$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 5-aza cytosine neutre et cationisée.

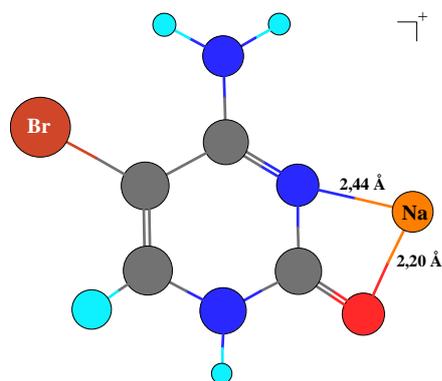


$E_{el.} = -574,17369$ Hartree

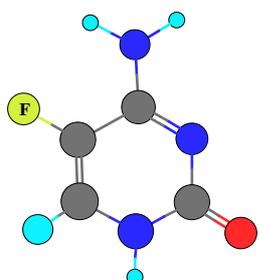


$E_{el.} = -2967,80317$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 5-bromo cytosine neutre et cationisée.

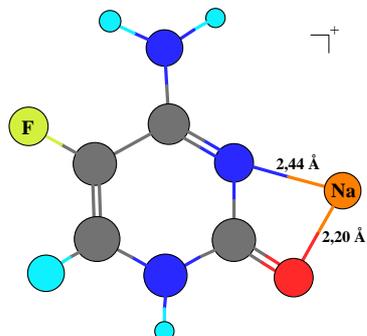


$E_{el.} = -3130,13609$ Hartree

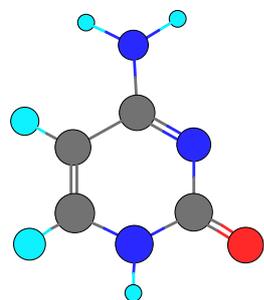


$E_{el.} = -495,25815$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 5-fluoro cytosine neutre et cationisée.

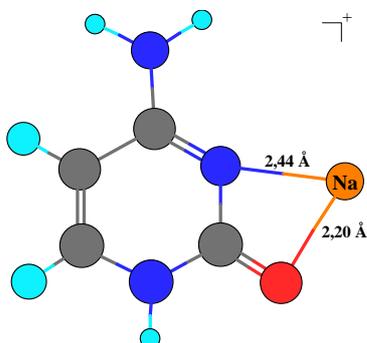


$E_{el.} = -657,58927$ Hartree

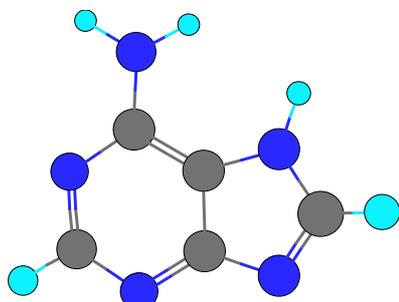


$E_{el.} = -395,88117$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la cytosine neutre et cationisée.

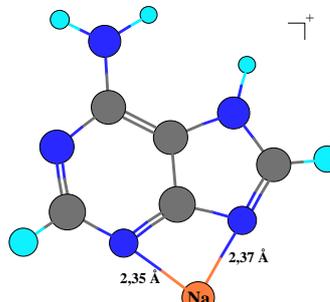


$E_{el.} = -558,21837$ Hartree

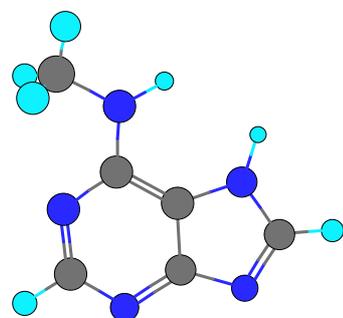


$E_{el.} = -468,46320$ Hartree

Structures en phase gazeuse de l'adénine neutre et cationisée.

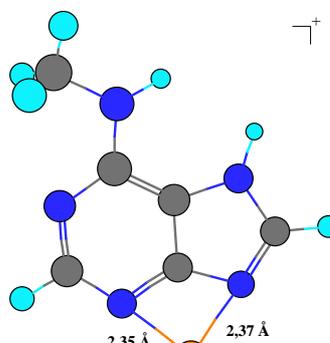


$E_{el.} = -630,79775$ Hartree

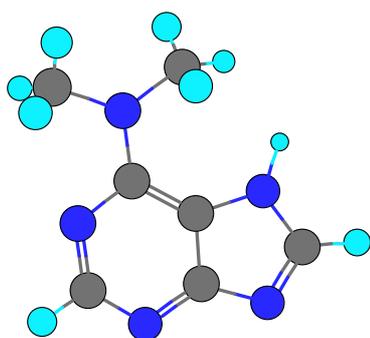


$E_{el.} = -507,88745$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la N⁶-méthyl adénine neutre et cationisée.

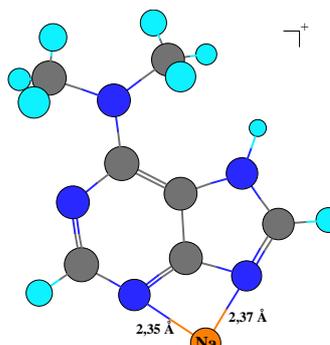


$E_{el.} = -670,22480$ Hartree

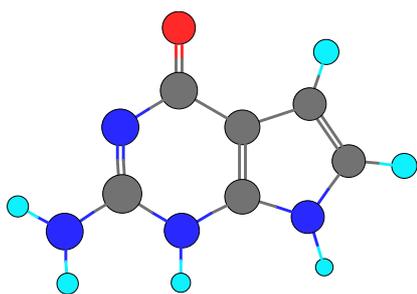


$E_{el.} = -547,30976$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la N⁶,N⁶-diméthyl adénine neutre et cationisée.

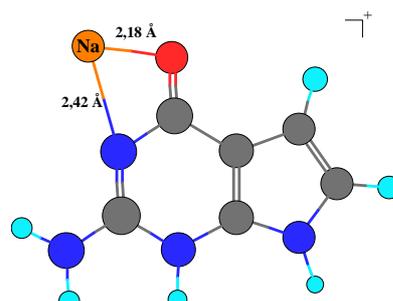


$E_{el.} = -709,64993$ Hartree

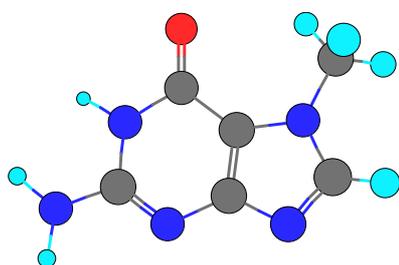


$E_{el.} = -527,77535$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 7-déaza guanine neutre et cationisée.

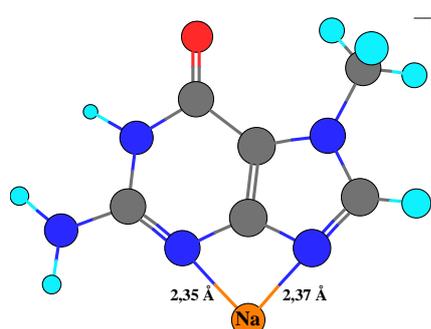


$E_{el.} = -690,09964$ Hartree

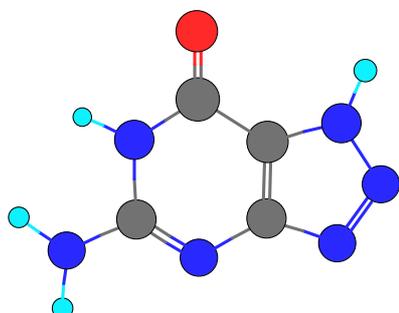


$E_{el.} = -583,27903$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 7-méthyl guanine neutre et cationisée.

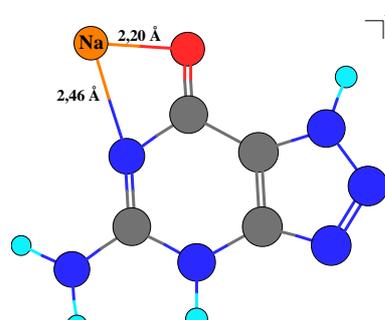


$E_{el.} = -745,61067$ Hartree

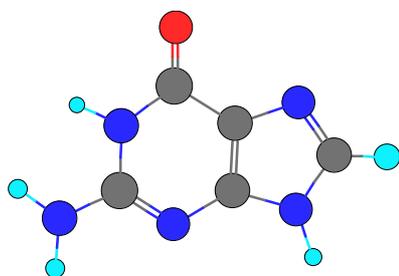


$E_{el.} = -559,84946$ Hartree

Structures en phase gazeuse de la 8-aza guanine neutre et cationisée.

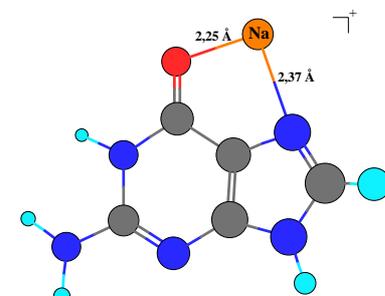


$E_{el.} = -722,17719$ Hartree

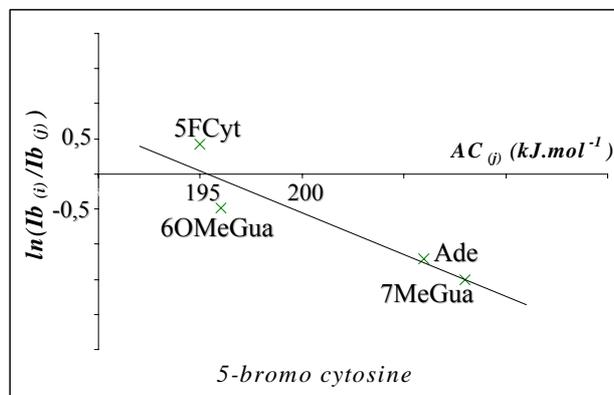
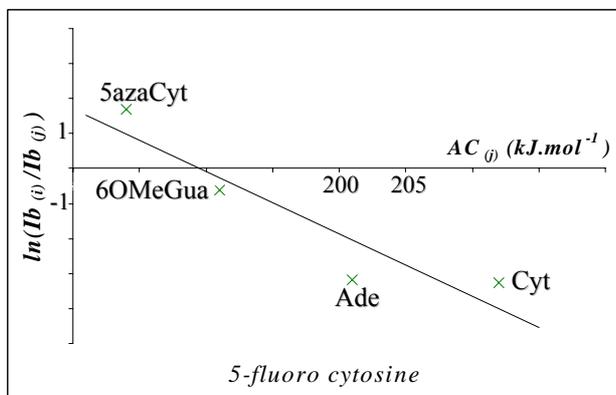
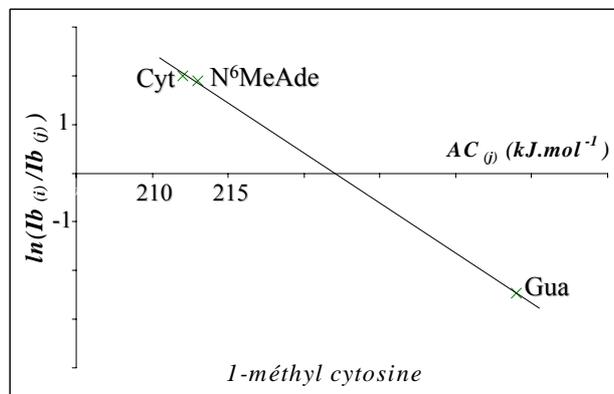
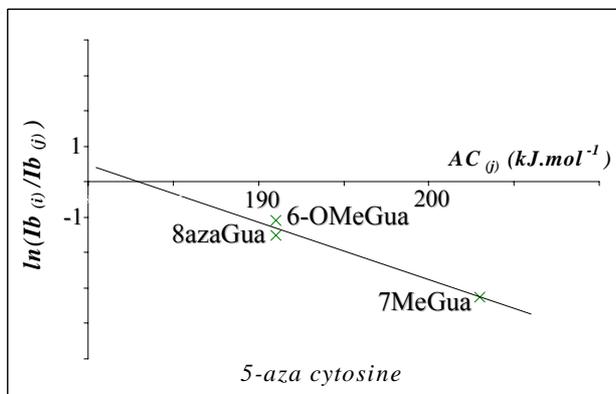
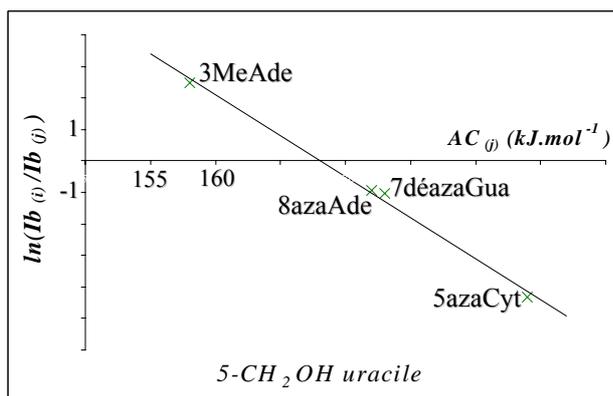
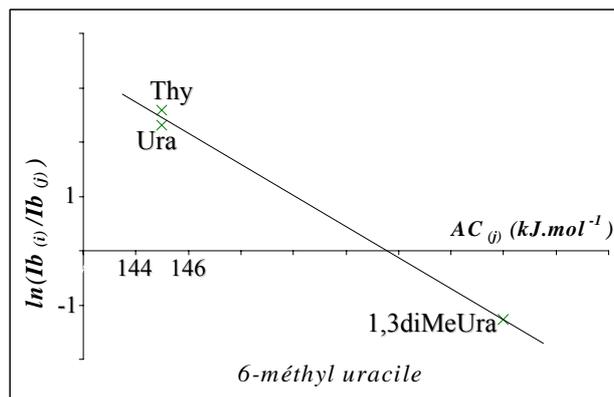
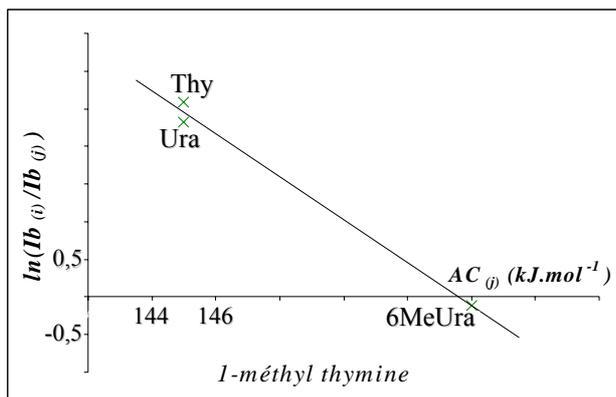


$E_{el.} = -543,84906$ Hartree

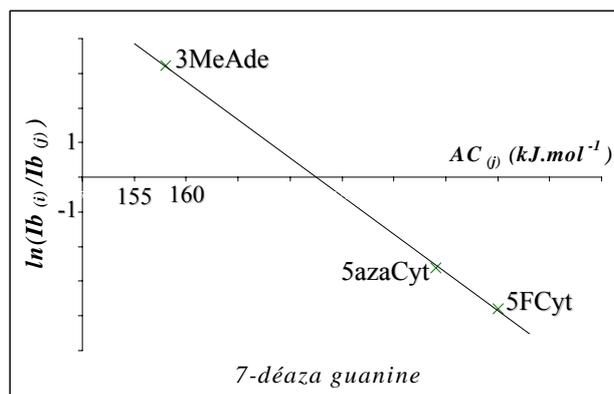
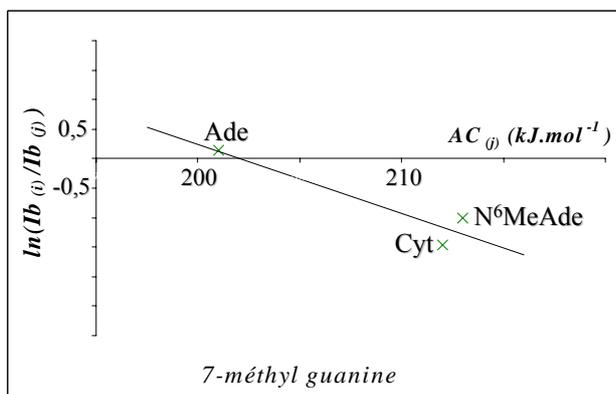
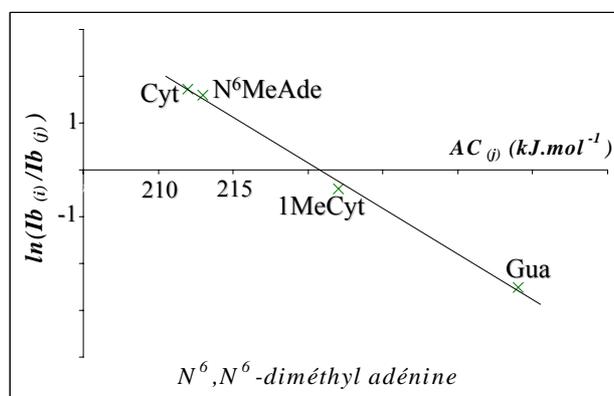
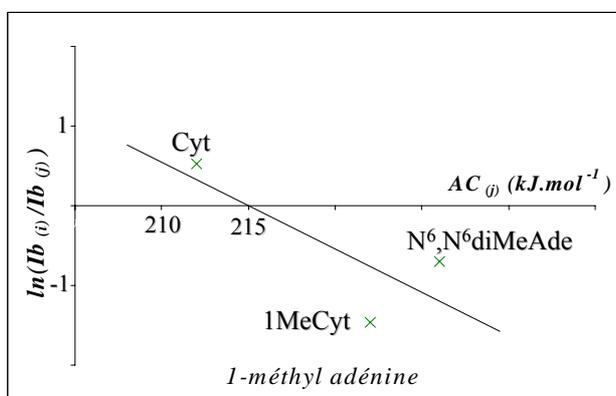
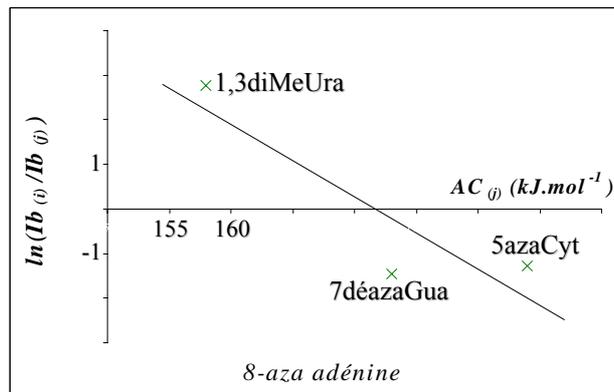
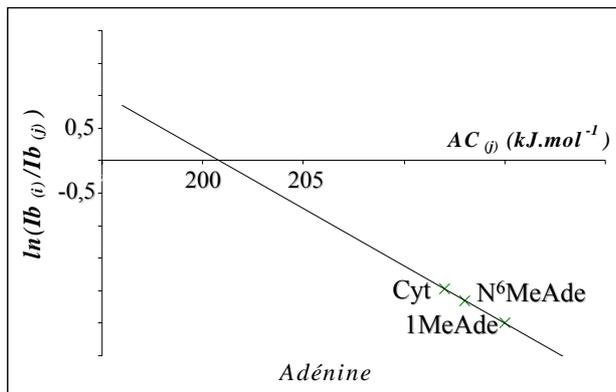
Structures en phase gazeuse de la guanine neutre et cationisée.



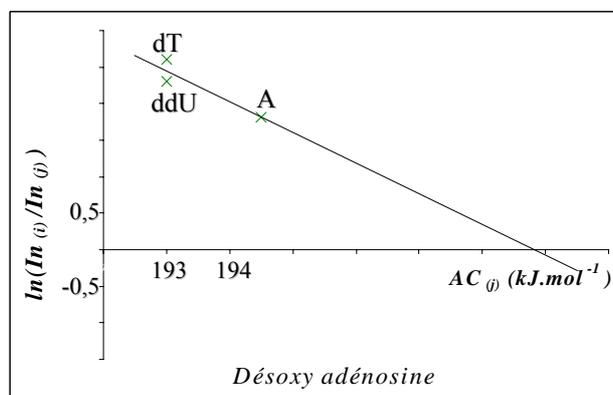
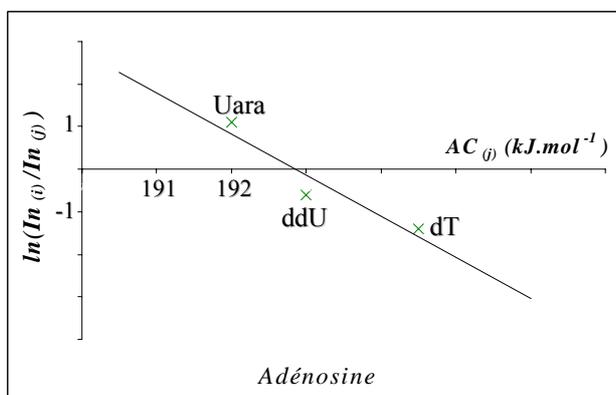
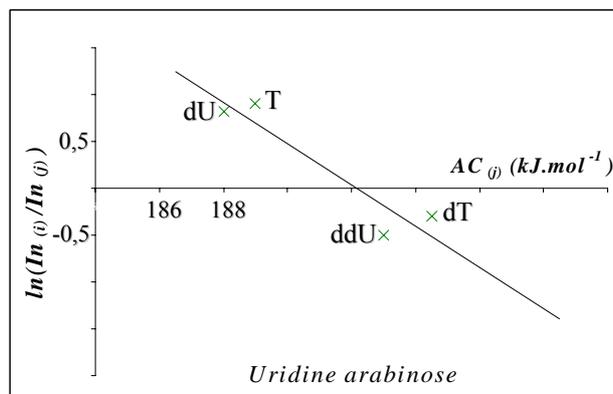
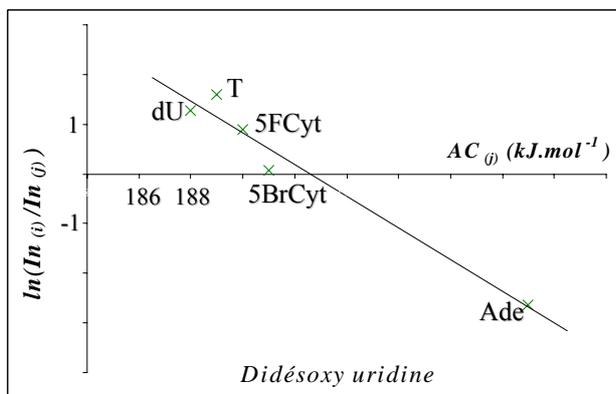
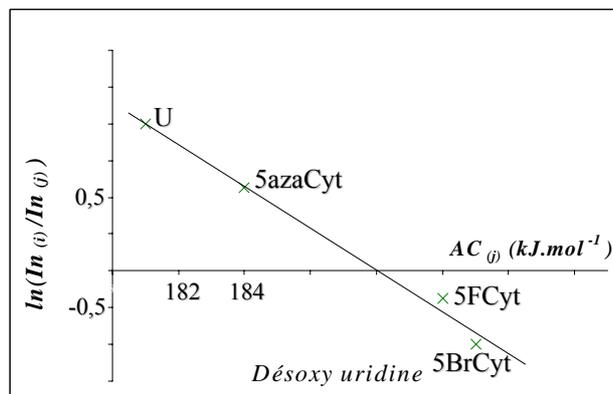
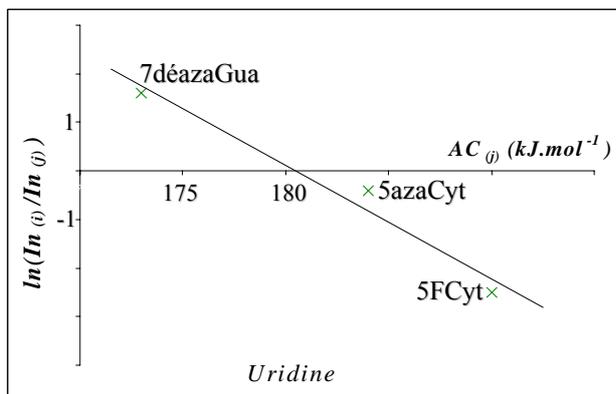
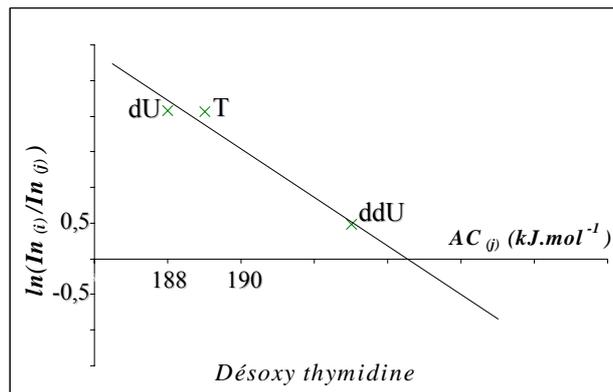
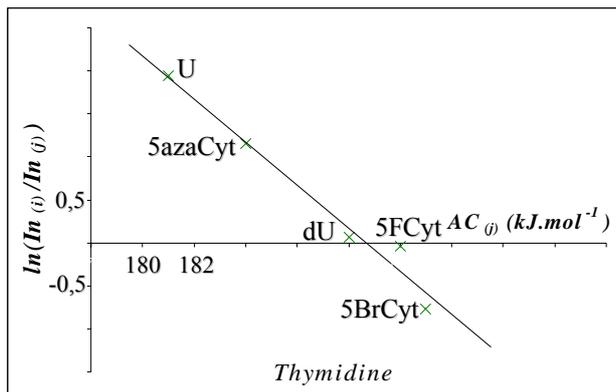
$E_{el.} = -706,19415$ Hartree



Droites de détermination des affinités cationiques des bases.



Droites de détermination des affinités cationiques des bases.



Droites de détermination des affinités cationiques des nucléosides.