Étude de l'ionisation et de la fragmentation de bases de l'ADN-ARN par la théorie de la fonctionnelle de la densité

Leila Sadr-Arani

▶ **To cite this version:**

Leila Sadr-Arani. Étude de l'ionisation et de la fragmentation de bases de l'ADN-ARN par la théorie de la fonctionnelle de la densité. Chimie analytique. Université Claude Bernard - Lyon I, 2014. Français. NNT : 2014LYO10071 . tel-01015739

HAL Id: tel-01015739

https://theses.hal.science/tel-01015739

Submitted on 27 Jun 2014

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.

N° d'ordre 71-2014 Année 2013-2014

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE, PROCEDES, ENVIRONNEMENT

Spécialité : CHIMIE

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 13 mai 2014

par

Mme Leila SADR-ARANI

TITRE :

« Etude de l'ionisation et de la fragmentation de bases de l'ADN/ARN par la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité »

JURY :

M. Jean Cadet	Rapporteur
Mme. Ilaria Ciofini	Rapporteur
M. Thierry Douki	Examinateur
M. Christophe Morell	Examinateur, Président du jury
M. Michel Farizon	Examinateur
M. Henry Chermette	Directeur
M. Pierre Mignon	Co-Directeur

Remerciements

J’adresse mes premiers remerciements au Pr Henry Chermette, directeur de thèse, pour m’avoir accueillie au sein de son équipe, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu’il a consacrées à diriger cette recherche. J’aimerais également lui dire à quel point j’ai apprécié sa grande disponibilité. Enfin, j’ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d’écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral.

Je remercie aussi le Dr Pierre Mignon, mon co-directeur de thèse, pour sa disponibilité et pour m’avoir guidé attentivement dans l’évolution de mon travail, pour ses conseils avisés qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de cette thèse. J’ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma gratitude pour tout cela.

Je voudrais remercier les rapporteurs de cette thèse, le Dr. Jean Cadet, du laboratoire « Lésions des Acides Nucléique » du CEA-Grenoble, et le Dr. Ilaria Ciofini, directrice de recherche CNRS à Paris, pour l’intérêt qu’ils ont porté à mon travail.

J’adresse mes sincères remerciements au Dr. Thierry Douki, chef du laboratoire « Lésions des Acides Nucléique » au CEA-Grenoble, au Pr. Christophe Morell de l’Institut des Sciences Analytiques de Lyon et au Pr. Michel Farizon de l’Institut de Physique Nucléaire de Lyon, pour avoir accepté d’être membres de ce jury.

J’aimerais adresser un remerciement particulier à Mme Françoise Delbecq, du laboratoire de Chimie d’ENS de Lyon, pour sa gentillesse et son soutien tout au long de ces années.

Je désire en outre remercier tous les membres de l’équipe CHEMOD, notamment Alexandra, Jessica, Manon, Valérian et Fréderic pour leur sympathie, leur amitié, leur aide et leur bonne humeur. J’ai eu beaucoup de plaisir à partager de bons moments à leurs côtés.

Je tiens à présenter mes reconnaissances et mes remerciements à mon mari, Abbas, qui n'a jamais cessé de me soutenir pour que je puisse finir mes études et avoir une bonne formation et à qui je voudrais exprimer mon affection et ma gratitude.

Je voudrais remercier mes enfants, Mohsen et Mohammad qui sont ma source d'inspiration et mon plus grand soutien.

Je remercie également mes amies, Neda et Nasrin pour leurs aides et je ne saurais pas oublier de remercier ma mère et mon père, décédé trop tôt, qui m'ont toujours poussées et motivées dans mes études, sans lesquelles je n’en serais pas là aujourd’hui.

Résumé

Les rayonnements ionisants (RI) traversent les tissus humains, y déposent de l'énergie et la dissipent en fragmentant des molécules. Les fragments obtenus peuvent être mis en évidence par spectrométrie de masse. L'interprétation des spectres de masse devient un outil très utile pour la compréhension de la fragmentation des molécules biologiques et leurs propriétés. Malgré la quantité d'informations obtenue expérimentalement à partir du spectre de masse, l'expérience seule ne peut pas répondre à toutes les questions concernant les mécanismes de fragmentation des bases de l'ADN/ARN, et l'étude issue des méthodes quantiques est un complément précieux à ces informations. L'étude théorique permet de connaître les liaisons moléculaires rendues faibles dans chaque base par ionisation et ainsi de prévoir les mécanismes de fragmentation et les fragments produits. Le but de ce travail est d'étudier l'ionisation et les mécanismes de fragmentation de bases de l'ADN/ARN (Uracile, Cytosine, Adénine et Guanine) et d'identifier les cations correspondants à chaque pic des spectres de masse. Nous avons effectué nos calculs en utilisant la DFT avec la fonctionnelle PBE. Les différents pics dans les spectres de masse sont dus à des fragments qui peuvent être obtenus lors de la fragmentation initiale et/ou par perte d'un atome d'hydrogène suivie dans certains cas par une post-fragmentation. Bien que la perte d'un H et la post-fragmentation doivent être pris en compte, elles deviennent énergiquement prohibées pour les petits fragments. Dans cette thèse, pour toutes les bases d'ARN, la réaction de rétro Diels-Alder est une des voies principales de dissociation (élimination de HNCO ou de $NCO^{\bullet}$) à l'exception de l'adénine qui n'a pas d'atome d'oxygène. La perte d'une molécule NH_3 ($NH_2^{\bullet}$) est aussi un chemin commun à toutes les bases contenant un ou plusieurs groupes amine. L'élimination d'une molécule HCN (HNC) ou de CO à partir soit des bases cationiques soit du fragment primaire constitue de même une possibilité commune aux différentes bases conduisant à des petits cations. Aussi, la possibilité de la perte d'un hydrogène à partir des cations est également envisagée, ainsi que la dissociation de ces cations déshydrogénés et des bases protonées, en se limitant à l'uracile. Finalement, l'étude de fragmentation de l'uracile protonée est aussi étudiée et montre de nouvelles voies de fragmentation. Ce travail montre tout l'intérêt de l'apport de calcul (DFT) à l'interprétation des spectres de masse de bases de l'ADN/ARN.

Abstract

Ionizing radiation (IR) may cross human tissue, deposit energy and dissipate the energy by fragmenting molecules. The resulting fragments may be highlighted by mass spectrometry. Despite the amount of information obtained experimentally by the interpretation of the mass spectrum, experience alone cannot answer all the questions of the mechanism of fragmentation of DNA/RNA bases and a theoretical study is a complement to this information. A theoretical study allows us to know the weakest bonds in the molecule during ionization and thus may help to provide mechanisms of dissociation and produced fragments. The purpose of this work, using the DFT with the PBE functional, is to study the ionization and fragmentation mechanisms of DNA/RNA bases (Uracil, Cytosine, Adenine and Guanine) and to identify the cations corresponding to each peak in mass spectra. For all RNA bases, the retro Diels-Alder reaction (elimination of HNCO or $NCO^{\bullet}$) is a major route for dissociating, with the exception of adenine for which there is no atom oxygen in its structure. Loss of NH_3 ($NH_2^{\bullet}$) molecule is another common way to all bases that contain amine group. The elimination of a molecule HCN (HNC) or CO from cationic bases or primary fragment is another common path leading to small cations. The possibility of the loss of hydrogen from the cations is also investigated, as well as the dissociation of dehydrogenated cations on uracil. The fragments can be obtained upon initial fragmentation and/or loss of a hydrogen atom in some cases followed by a post-fragmentation. Although the loss of a H and the post- fragmentation must be taken into account, they become strongly prohibited for small fragments. Finally, the fragmentation of the protonated uracil has been studied and showed new fragmentation routes that not observed for the ionized bases. This work shows the interest of using DFT calculation in the interpretation of mass spectra of DNA/RNA bases.

.

Table des matières

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION 1

1.1. DOMMAGES D'ADN/ARN 5
1.2. EFFETS BIOLOGIQUES D'IRRADIATIONS 5
1.3. INTERET DE LA SPECTROMETRIE DE MASSE (MS) 6
1.3.1. Description d'un spectromètre de masse 6
1.3.2. Interprétation des spectres de masse 9
1.4. BASES D'ADN/ARN (ACIDE NUCLEIQUE) 9
1.5. ETUDES EXPERIMENTALES SUR LA FRAGMENTATION DES BASES D'ADN 10
1.6. ETUDES THEORIQUES SUR LA FRAGMENTATION DES BASES D'ADN 11
1.6.1. Intérêt de la modélisation moléculaire 11
1.6.2. Etude théorique sur la fragmentation des bases 12
1.6.3. Stratégie choisie 12

CHAPITRE 2 : METHODES DE CALCUL EN CHIMIE QUANTIQUE 15

2.1. BASES DE LA CHIMIE QUANTIQUE 17
2.1.1. Equation de Schrödinger 17
2.1.2. Approximation de Born Oppenheimer 17
2.1.3. Approximation orbitalaire 18
2.2. METHODES DE CALCUL 19
2.2.1. Méthodes empiriques 19
2.2.2. Méthodes semi-empiriques 20
2.3. METHODES QUANTIQUES PURES 20
2.3.1. Méthodes ab initio basées sur la détermination de la fonction d'onde 20
2.3.1.1. Equations de Hartree-Fock 20
2.3.1.2. Equations de Roothaan 21
2.3.1.3. Fonctions de bases atomiques utilisées 21
2.3.1.4. Fonction de polarisation 21
2.3.1.5. Fonction diffuses 22
2.3.1.6. Méthodes post Hartree-Fock 22
2.3.2. Méthodes quantiques basées sur la détermination de la densité électronique (DFT) 22
2.3.2.1. Equations de Kohn-Sham (KS) 23
2.3.2.2. Approximation de la densité locale (LDA) 24
2.3.2.3. Approximation du gradient généralisé (GGA) 25
2.3.2.4. Fonctionnelles hybrides 25
2.4. DETAILS DE NOS CALCULS 26
2.4.1. Comparaison des résultats obtenus par les calculs PBE, B3LYP et CCSD 27
2.4.2. BSSE (en anglais Basis set superposition errors) 30

CHAPITRE 3 : IONISATION DES BASES DE L'ADN OU DE L'ARN 31

3.1. ENERGIES ADIABATIQUE ET VERTICALE 33
3.2. STRUCTURES ELECTRONIQUES / ORBITALES MOLECULAIRES 34
3.2.1. Uracile 34
3.2.2. Cytosine 36
3.2.3. Adénine 39
3.2.4. Guanine 41

CHAPITRE 4 : FRAGMENTATION DES BASES DE L'ADN ET DE L'ARN 45

4.1. URACILE 47
4.1.1. Fragmentation de l'uracile 48
4.1.1.1. Fragmentation initiale par rupture de N1-C2 (Figure 4-3) 49
4.1.1.1.1. Rupture de la liaison N3-C4 à partir d'I1-1(Figure 4-3) 50
4.1.1.1.2. Rupture de la liaison C4-C5 à partir d'I1-1 (Figure 4-3) 52
4.1.1.1.3. Rupture de la liaison C5-C6 à partir d'I1-1 (Figures 4-3) 53
4.1.1.2. Fragmentation initiale par la rupture C5-C6 (Figure 4-5) 53
4.1.1.3. Fragmentation initiale par la rupture N3-C4 (Figure 4-6) 55
4.1.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux 60
4.2. CYTOSINE 64
4.2.1. Fragmentation de la cytosine 65
4.2.1.1. Fragmentation initiale par la rupture C5-C6 (en bleu dans la Figure 4-10) 65
4.2.1.2. Fragmentation initiale par la rupture N3-C4 (en vert dans la Figure 4-10) 66
4.2.1.3. Fragmentation initiale par la rupture N1-C2 (en rouge dans la Figure 4-10) 67
4.2.1.3.1. Rupture de la liaison N3-C4 après N1-C2 67
4.2.1.3.2. Rupture de la liaison C5-C6 après N1-C2 69
4.2.1.3.3. Rupture de la liaison C2-N3 après N1-C2 69
4.2.1.4. Fragmentation initiale par la rupture C4-O8 (en marron dans la Figure 4-10) 70
4.2.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux 70
4.3. ADENINE 73
4.3.1. Fragmentation de l'adénine 73
4.3.1.1. Rupture initiale C2-N3 (en bleu dans la Figure 4-12) 74
4.3.1.2. Rupture initiale N7-C8 (en orange dans la Figure 4-12) 75
4.3.1.3. Rupture initiale C5-C6 (en vert dans la Figure 4-12) 77
4.3.1.4. Rupture initiale N1-C6 (en rouge dans la Figure 4-13) 77
4.3.1.5. Rupture initiale C4-N9 (en bleu dans la Figure 4-13) 78
4.3.1.6. Rupture initiale C6-N10 (en rose dans la Figure 4-13) 80
4.3.1.7. Rupture initiale N1-C2 (en violet dans la Figure 4-13) 80
4.3.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux 81
4.4. GUANINE 84
4.4.1. Fragmentation de la Guanine 84
4.4.1.1. Rupture initiale C2-N3 (en bleu dans la Figure 4-15) 85
4.4.1.2. Rupture initiale N7-C8 (en vert dans la Figure 4-15) 86
4.4.1.3. Rupture initiale C5-C6 (en rouge dans la Figure 4-16) 88

4.4.1.4. Rupture initiale N1-C6 (en bleu dans la Figure 4-16) 89
4.4.1.5. Rupture initiale N1-C2 (en marron dans la Figure 4-17) 91
4.4.1.6. Rupture initiale C2-N11 (en violet dans la Figure 4-17) 91
4.4.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux 93
4.5. CONCLUSION 95

CHAPITRE 5 : LA FRAGMENTATION DE L'URACILE DESHYDROGENE ET DE SES FRAGMENTS DESHYDROGENES 97

5.1. FRAGMENTS A 111-112 TH 100
5.2. FRAGMENTS A 67-70 TH 101
5.2.1. À partir du fragment $C_3H_4NO^+$ (DF1-1; 70 Th) 101
5.2.2. À partir du fragment $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (DF3-1; 69 Th) 101
5.3. FRAGMENTS A 50-56 TH 102
5.4. FRAGMENTS A 40-42 TH 102
5.4.1. À partir du fragment $C_2H_4N^+$ (DF1-22; 42 Th) 102
5.4.2. À partir du fragment $C_2H_2O^{\bullet+}$ (DF1-22; 42 Th) 104
5.5. FRAGMENTS A 27-29 TH 105
5.5.1. À partir du fragment $CH_3N^{\bullet+}$ (DF1-3; 29 Th) 105
5.5.2. À partir du fragment CH_2N^+ (DF1-3; 28 Th) 106
5.6. CONCLUSION 106

CHAPITRE 6 : LA FRAGMENTATION DE L'URACILE PROTONEE 107

6.1. PROTONATION DE L'URACILE 111
6.2. FRAGMENTATION A PARTIR DE LA FORME ANTI-O8 (FIGURE 6-3) 111
6.2.1. Rupture de la liaison C4-O8 (en vert dans la Figure 6-3) 111
6.2.2. Rupture de la liaison C2-N3 (en bleu dans la Figure 6-3) 112
6.2.3. Rupture de la liaison C5-C6 (en rouge dans la Figure 6-3) 113
6.2.4. Rupture de la liaison N1-C2 (en violet dans la Figure 6-3) 113
6.3. FRAGMENTATION A PARTIR DE LA FORME SYN-O8 (FIGURE 6-4) 114
6.4. COMPARAISON DE NOS RESULTAT AVEC LES RESULTATS EXPERIMENTAUX 116
6.5. CONCLUSION 120

CHAPITRE 7 : CONCLUSION GENERALE 121

BIBLIOGRAPHIE 125

Chapitre 1 : Introduction

L'interaction des rayonnements ionisants (RI) avec les molécules biologiques intervient lors des diverses activités humaines telles que la radiothérapie[1], dans les industries alimentaires[2] pour améliorer la durée de conservation, et aussi les procédés de stérilisation (radiostérilisation). L'absorption d'un rayonnement ionisant par les molécules biologiques entraine leur ionisation, excitation et peut aussi mener à la dissociation de molécules ayant un rôle biologique important. En particulier, l'ADN ou l'ARN cellulaire est une des principales cibles des RI dans les tissus[3]. Les différents RI conduisent à des modifications de propriétés du milieu irradié et donc à des dommages de l'ADN[4] et de l'ARN qui peuvent entraîner des cassures de doubles brins[5,6] et des changements dans les fonctionnalités biologiques (ADN et protéines mutagenèse)[7], qui peut mener à la mort cellulaire et finalement à l'apparition de cancers.[8]

Les rayonnements ionisants (RI) traversent les tissus humains, y déposent de l'énergie et leur énergie se dissipe en fragmentant des molécules d'intérêt biologique. Expérimentalement, le dépôt d'énergie et la fragmentation des molécules peuvent être reproduits par la technique de spectrométrie de masse. Elle donne les masses des ions obtenus par dissociation de la molécule parente ainsi que leur abondance relative. Elle a été appliquée avec succès dans la chimie des acides nucléiques, notamment les bases d'ADN/ARN. L'interprétation des spectres de masse devient un outil très utile pour la compréhension de la fragmentation de ces molécules biologiques et leurs propriétés.[9] Des expérimentateurs ont proposé des mécanismes et des voies de fragmentation pour chaque base et également attribué un ou plusieurs fragments chargés aux différents pics du spectre de masse. Malgré la grande quantité d'informations obtenue à partir du spectre de masse, parfois aucun mécanisme de fragmentation et aucun fragment n'a pu être proposé pour un pic. A contrario, parfois plusieurs cations possibles sont proposés pour une même valeur de *m/z*. L'expérience seule ne peut donc pas répondre à toutes les questions du mécanisme de la fragmentation des bases d'ADN/ARN, et pour compléter ces informations, l'étude théorique est la bienvenue.

En particulier, la chimie quantique nous permet de connaître les liaisons moléculaires rendues faibles dans une molécule ionisée et ainsi de prévoir les mécanismes de fragmentations et les fragments produits. Bien qu'à ce jour dans la littérature, les études théoriques sur l'ionisation soient nombreuses, les informations sur la fragmentation des bases d'ADN restent parcellaires.

Dans l'introduction nous exposons quelques généralités sur les dommages de l'ADN/ARN, les radiations ionisantes et les effets d'irradiation sur l'ADN/ARN. Aussi on s'intéressera brièvement à la description et l'interprétation des spectres de masse des bases d'ADN/ARN, ainsi qu'aux résultats théoriques sur la dissociation de ces bases. Dans le deuxième chapitre, les méthodes quantiques et les détails de calculs utilisés dans ce travail seront présentés. Nous étudierons dans le chapitre 3 les structures concernant des bases ionisées en comparant avec les molécules neutres pour trouver les liaisons les plus faibles. Puis dans le chapitre 4, nous analyserons les mécanismes de fragmentation de chaque base (l'uracile, la cytosine, l'adénine et la guanine) par rupture de ces liaisons. Pour chaque rupture initiale, les ruptures de liaisons supplémentaires conduisant à de plus petits fragments sont également considérées. Nous présenterons également les fragments obtenus pouvant éventuellement correspondre aux pics des spectres expérimentaux. En raison de l'existence de pics consécutifs dans tous les spectres de masse, nous considérerons la possibilité de la perte d'un atome d'hydrogène à partir soit des bases cationiques soit des fragments obtenus lors de la dissociation. Dans le chapitre 5, nous étudierons donc cette possibilité seulement pour la base de l'uracile. Nous comparerons également la fragmentation à partir de bases et fragments déshydrogénés avec la fragmentation initiale à partir de base cationique. Enfin, différents travaux expérimentaux ont été publiés sur la dissociation des bases protonées issues de différentes techniques d'ionisation, comme l'electrospray (ESI). Ceci nous permet d'étudier la dissociation de bases protonées. Le chapitre 6 présente d'abord les différentes structures de l'uracile protonée, puis le mécanisme de fragmentation en comparant avec les résultats expérimentaux.

1.1. Dommages d'ADN/ARN

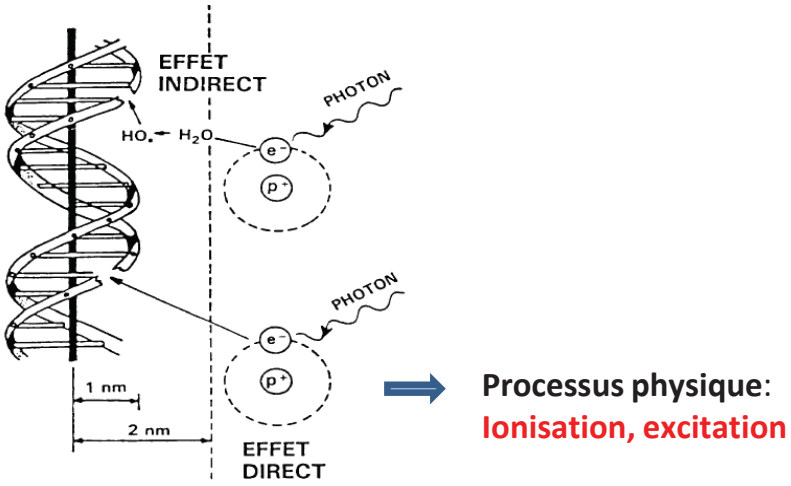
Les dommages de l'ADN[10-12] peuvent apparaitre sous de multiples formes comme les pertes de bases, les dommages des bases, les cassures de brins[6,13,14] simples ou doubles, etc… Certains dommages peuvent provenir d'agents chimiques, de particules non chargées (neutres) ou chargées (α, protons, électrons, ions carbone) ou de certains rayonnements. Les différents types de rayonnement ionisant se divisent en deux groupes : direct et indirect. Le premier est dû aux rayonnements α, aux électrons, et aux protons qui ionisent directement la matière, le deuxième est dû aux particules non chargées comme les neutrons ou les photons induits par des rayonnements X et γ.

Les cassures des brins sont le plus fréquemment induites par un rayonnement ionisant[13]. Un rayonnement ionisant est capable de produire des ionisations et des excitations durant leur absorption par les molécules biologiques. Si cette énergie est bien supérieure au potentiel d'ionisation de la molécule biologique, la molécule cible perd non seulement un électron mais elle absorbe également une certaine énergie. L'énergie absorbée provoque une sorte de « mouvement » électronique et/ou mécanique dans la molécule et l'ion $M^{\bullet+}$ va vers un état vibrationnel excité qui peut être instable et donc se fragmenter.

1.2. Effets biologiques d'irradiations

Les effets de RIs sur les tissus sont dus aux modifications des propriétés du milieu irradié et donc aux dommages de l'ADN. Si pour une raison quelconque, l'action de réparation[15] ne se fait pas correctement les modifications au niveau des sous-unités de l'ADN peuvent induire des instabilités génomiques conduisant à des cancers ou des mutations[6,16-18]. Le mécanisme de dégradation de l'ADN peut être produit suivant deux modes d'action: l'effet direct et l'effet indirect (Figure 1-1). Les effets directs se traduisent par des excitations des atomes et des molécules avec lesquels les rayonnements ionisants rentrent directement en collision, dans une durée très courte menant à la formation de fragment chargé et d'un électron éjecté. Les effets indirects interviennent avec la radiolyse de l'eau, qui conduit à la libération d'espèces réactives comme les radicaux libres ($OH^{\bullet}$, $H^{\bullet}$) et des électrons hydratés pouvant interagir avec les molécules voisines (voir la Figure 1-1). Dans cette thèse, nous nous sommes concentrés sur le premier effet qui correspond à un processus physique et qui est la première altération intervenant sur la matière vivante après un dépôt d'énergie. Les processus physico-chimiques (effet indirect), chimiques, biochimiques et biologiques sont d'autres évènements subséquents au dépôt d'énergie dans un milieu irradié[19,20].

Figure 1-1 : Effet direct et indirect des rayonnement X et γ.[21]



1.3. Intérêt de la spectrométrie de masse (MS)

Afin de mieux appréhender les dommages de l'ADN, il est nécessaire de comprendre le processus physico-chimique de l'interaction entre les RIs et ces molécules biologique en se concentrant sur les bases de l'ADN. L'absorption de ces rayonnements entraîne la fragmentation de bases d'ADN/ARN. La connaissance de ces changements est possible en utilisant la spectroscopie de masse, qui permet de fournir des informations sur les fragments qui constituent cette molécule.

1.3.1. Description d'un spectromètre de masse

Un spectromètre de masse est constitué de quatre parties principales (Figure 1-2). La première partie est la source d'ionisation qui permet d'ioniser l'échantillon. Les ions obtenus sont ensuite transmis au sein d'un ou de plusieurs analyseurs où ils seront séparés selon leur rapport *m/z*. A la sortie, le détecteur compte les ions et amplifie le signal qui sera transmis au système informatique pour traitement. Le résultat obtenu est un spectre de masse représentant l'abondance relative de ces ions en fonction des rapports *m/z* (unité (Th), Thomson) des ions détectés.[22,23]

Plusieurs types de sources peuvent être couplés à un spectromètre de masse et leurs utilisations varient en fonction du résultat recherché et des molécules analysées[24]. Les sources d'ionisation les plus utilisées actuellement sont :

- impact électronique (EI) : des électrons émis peuvent arracher un électron provenant d'une couche de valence de la molécule M, la transformant en un ion radical $M^{\bullet+}$ (M +

$e^- \rightarrow M^{\bullet+} + 2e^-$). Il existe d'autres possibilités pour remplacer les électrons, par exemple avec des photons ($M + h\upsilon \rightarrow M^{\bullet+} + e^-$).

Les ions $M^{\bullet+}$ peuvent aussi se produire par impact de protons[20,25-28], soit par ionisation directe soit par capture électronique (voir Figure 1-3). L'ionisation directe est associée à l'impact d'un proton et entraîne l'éjection d'un électron, donc pas changement de charge de l'état du projectile (Figure 1-3a). Pour l'ionisation par la capture électronique, un atome d'hydrogène est produit et donc la charge du projectile (proton) change (Figure 1-3b). La contribution des ions obtenus par la deuxième méthode est plus importante que pour la première.[29,30]

Figure 1-2 : a) Schéma général et b) principe d'un spectromètre de masse

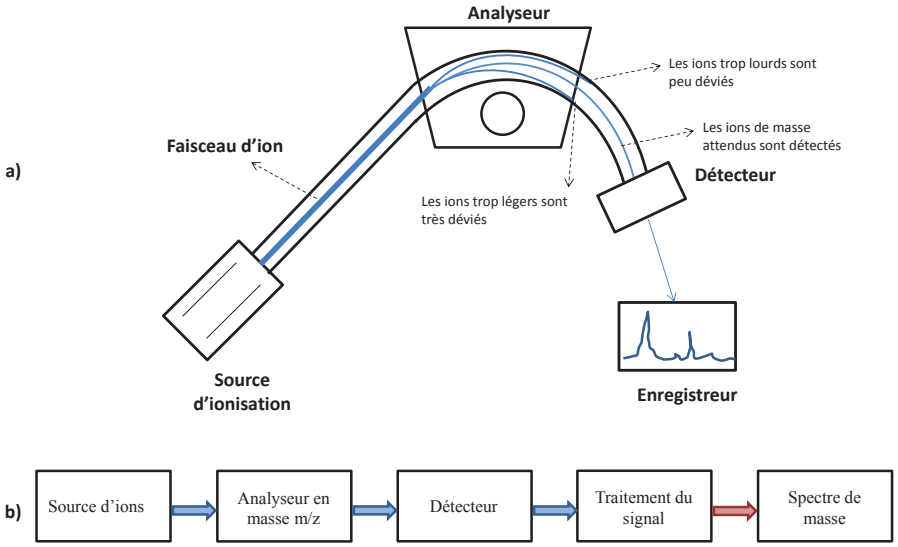
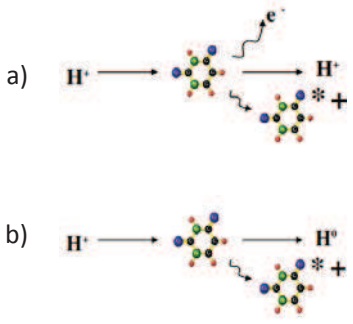


Figure 1-3 : a) Ionisation directe et b) capture électronique de la molécule uracile.[20]



- l'ionisation chimique (CI) : un gaz réactif ionisé $(gaz)^{\bullet+}$ dans la source peut provoquer des réactions qui donnent naissance à des ions, par la suite ces ions peuvent réagir avec la molécule (M) arrivant dans la source, en produisant principalement des ions $(MH)^+$ et $[M(gaz)H)^{\bullet+}$,
- l'électro-nébulisation ou "électrospray" (ESI) : qui est produit par application d'un champ électrique fort sur un liquide contenant l'analyte M. Sous l'effet de ce champ et grâce à l'assistance éventuelle d'un courant d'air coaxial, l'effluent liquide est transformé en nuage de fines gouttelettes (spray) chargées suivant le mode d'ionisation. Les gouttelettes explosent en libérant des microgouttelettes constituées de molécules protonées $(MH)^+$ et souvent multichargées $[M+2H]^{2+}$, $[M+3H]^{3+}$,….

Ensuite les ions chargés entrent dans l'analyseur. Tout comme il existe une grande variété de sources d'ionisation, il existe là aussi plusieurs types d'analyseurs dont le choix doit se faire en fonction de l'application (qualitative et/ou quantitative). Son rôle en combinaison avec le détecteur va être de déterminer le rapport *m/z* des ions qui le traversent. Après la traversée des ions dans l'analyseur, il est nécessaire de détecter ce faisceau pour le transformer en signal utilisable. Les détecteurs utilisés sont basés sur la détection d'un courant d'ions ou la génération d'un courant électrique suite à la collision des ions avec une surface de type multiplicateur d'électrons ou de photons.

La spectrométrie de masse en tandem (MS/MS ou MS^3) est une des techniques les plus utilisées qui associe plusieurs analyseurs et implique de multiples étapes de fragmentations par CID (Dissociation Induite par Collision) et de sélection des ions obtenus (Figure 1-4). Entre les analyseurs, il y a une cellule de gaz de collision, les ions précurseurs sélectionnés par MS1 entrent en collision avec le gaz sous haute pression dans la cellule et subissent une fragmentation. Les ions secondaires résultants sont analysés dans MS2.

Figure 1-4 : principe d'un spectromètre de masse en tandem (MS/MS).

1.3.2. Interprétation des spectres de masse

Le spectromètre de masse détecte uniquement les espèces chargées, les neutres ne sont pas détectés même si leur présence peut être déduite de la différence de masse entre la molécule parent et les fragments chargés.[31] Le spectre de masse est un résumé de l'expérience, qui montre les masses des fragments chargés obtenus à partir de la molécule mère ainsi que leur abondance relative.

L'abondance d'un cation est le résultat d'un équilibre entre le taux de sa production et de sa décomposition. La facilité de production dépend de facteurs tels que la capacité du cation pour stabiliser une charge, le nombre et la force des liaisons qui ont été rompues en formant le cation, et la stabilité de toute espèce neutre pouvant avoir été formée simultanément. De plus, la fragmentation dépend de l'excès d'énergie restant dans le cation, la disponibilité d'autres liaisons facile à rompre, et la stabilité des petits produits de décomposition neutres.[31]

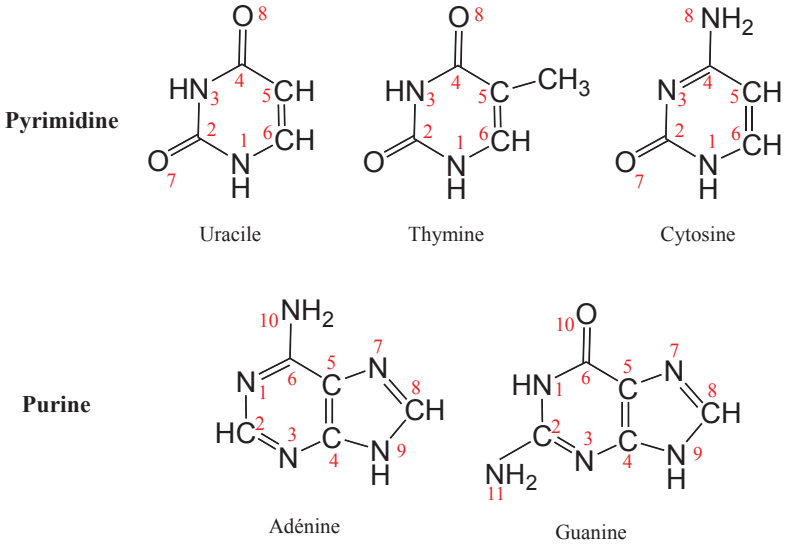
L'objectif de l'interprétation consiste à identifier le composé dont le spectre a été dérivé. Une quantité surprenante d'informations peut être recueillie en analysant les fragments obtenus lors de la dissociation d'une molécule. En principe, l'interprétation des spectres de masse peut être réalisée par deux approches : arithmétique et mécanistique. Avec «l'arithmétique» il est souvent possible de déterminer immédiatement quelle molécule correspond au pic. L'approche mécanistique explique comment et pourquoi certaines fragmentations sont produites.[9]

1.4. Bases d'ADN/ARN (Acide nucléique)

Dans le cadre des dégradations physiques de l'ADN, on s'intéresse ici aux bases de l'ADN (acide désoxyribonucléique) et l'ARN (acide ribonucléique) qui sont les gardiens moléculaires de l'information génétique nécessaire et constituent le génome des êtres vivants. La structure des acides nucléiques est une double-hélice, composée de deux brins complémentaires composés de plusieurs séquences de nucléotide. Chaque nucléotide est constitué de trois éléments: des groupes phosphates, des sucres et des bases azotées. L'association des bases entre chacun des brins ne se fait pas au hasard : l'adénine s'associe toujours avec la thymine formant la paire (A-T), la cytosine avec la guanine (C-G) par des liaisons hydrogène. La seule différence importante entre les bases de l'ADN et celle de l'ARN est que la base thymine dans l'ADN est remplacée par l'uracile dans l'ARN.[15] Les bases sont classées en deux groupes pyrimidines et purines.[15]

Les pyrimidines (Figure 1-5) ont un noyau aromatique hexagonal de quatre carbones et deux azotes: ainsi on a soit la cytosine qui porte également une fonction amine et une fonction cétone, soit la thymine (ADN) et l'uracile (ARN) qui sont substituées par deux groupes cétone. La thymine et l'uracile ont la même structure sauf que le carbone 5 dans la thymine est substitué par un méthyle. Les purines (Figure 1-5) sont constituées de deux hétérocycliques accolés, un cycle hexagonal de pyrimidine et un cycle pentagonal (imidazole). Les bases de purines sont l'adénine qui comprend un groupe amine et la guanine avec deux groupes amine et cétone en plus de leurs noyaux purine. On peut souligner que l'adénine est la seule des bases nucléiques dont la formule ne contient pas d'atome d'oxygène.

Figure 1-5 : les bases pyrimidines et purines.



1.5. Etudes expérimentales sur la fragmentation des bases d'ADN

La fragmentation de bases d'ADN ou d'ARN a été étudiée expérimentalement par spectroscopie de masse. Dans ces études, les ions ont été produits en phase gazeuse par impact d'électrons, de protons ou de différents ions. Les résultats de l'interaction de ces ions chargés avec l'uracile[29,32-34], la thymine[33,35-38], l'adénine[39-41] en phase gazeuse montrent que la dissociation dépend de la structure électronique et de la vitesse des ions projectiles et aussi des propriétés des molécules cibles.

L'uracile, une molécule importante a fait l'objet de différents travaux. Tabet *et al.*[20,25-28] ont étudié l'ionisation des bases d'ADN par impact de protons. Ils ont distingué les ions issus de

l'ionisation directe ($M + H^+ \rightarrow M^{\bullet+} + e^- + H^+$) et ceux issus de la capture électronique ($M + H^+ \rightarrow M^{\bullet+} + H^\bullet$). D'autres travaux sur la fragmentation du radical cation uracile ont été effectués par impact d'électrons [29,34,42-46] ($M + e^- \rightarrow M^{\bullet+} + 2e^-$) ou photoionisation[47] ($M + h\upsilon \rightarrow M^{\bullet+} + e^-$). Les spectres de masse de ces bases sont composés de pics importants qui sont plus ou moins attribués à des fragments. La réaction de rétro Diels-Alder (RDA) est la première étape proposée avec la perte de la molécule neutre HNCO (Figure 1-6).

Figure 1-6: La réaction de rétro Diels-Alder dans le cation uracile.

Cette réaction a été observée dans le mécanisme de fragmentation de deux autres bases d'ADN/ARN, la cytosine [20,26,43,48-50] et la guanine[51,52]. La fragmentation de l'adénine qui n'a pas d'atome d'oxygène, implique la perte de la molécule HCN au lieu de HNCO. [20,26 51,53-55]

1.6. Etudes théoriques sur la fragmentation des bases d'ADN

1.6.1. Intérêt de la modélisation moléculaire

Comme on l'a mentionné précédemment, l'interprétation d'un spectre de masse est compréhensible par les approches arithmétique et mécanistique. Bien que les expérimentateurs utilisent la première, ils ne peuvent pas déterminer très facilement les mécanismes de fragmentation d'une molécule, car aucune des espèces chargées n'est isolée et leurs structures 3D ne sont pas connues. Mais avec des calculs utilisant des méthodes quantiques, plusieurs informations permettent de connaître les fragments possibles et les mécanismes de fragmentation. Ces facteurs sont : l'énergie de formation de chaque fragment et leurs propriétés électroniques. De plus, les calculs permettent de connaître les changements de propriétés des liaisons durant l'ionisation et/ou la fragmentation des molécules, et donc d'identifier les liaisons les plus faibles et ainsi les voies principales de dissociation.

1.6.2. Etude théorique sur la fragmentation des bases

Une étude théorique sur la fragmentation de la thymine a été réalisée par Improta *et al.*[56] avec la fonctionnelle B3LYP. Ces auteurs ont montré que l'élimination de la molécule HNCO correspondant à la réaction de rétro Diels-Alder est le chemin principal dans la fragmentation de cette base. Ils ont également analysé la structure électronique et les géométries de deux formes neutre et cationique des autres bases de l'ADN. Pour l'uracile, Zhou *et al.*[57] par des calculs de type MP2/6-31G(d) et MP2/6-311++G(d,p) ont montré différentes voies de dissociation. Leur principal objectif avec ces calculs était d'obtenir des estimations relatives des énergies nécessaires pour rompre les liaisons conduisant à des petits cations.

Pour la cytosine, Tehrani *et al.*[58], comme Improta *et al.*[56] en analysant la structure électronique et les géométries du cation cytosine ont proposé deux voies importantes de fragmentation par élimination des molécules HNCO ($NCO^{\bullet}$)[56] et CO. Cependant, ils n'ont pas étudié les différents chemins de dissociation, ni calculé les énergies nécessaires à la formation de cations issus de la fragmentation.

Pour l'adénine, une molécule ne possédant pas d'atome d'oxygène, il n'a été proposé que l'élimination des molécules HCN comme voie principale de fragmentation. [56]

Pour la guanine, l'étude théorique par Cheng *et al.*[59] issue de calculs DFT a montré l'expulsion de molécules comme HNCO (rétro Diels Alder) et cyanamide par différents mécanismes possibles.

1.6.3. Stratégie choisie

Notre travail s'est articulé en plusieurs étapes. Durant l'ionisation d'une base, les liaisons les plus faibles peuvent être déterminées et leurs ruptures correspondantes sont envisagées. La fragmentation de l'ion moléculaire ($M^{\bullet+}$) conduit soit à la formation d'un fragment neutre et d'un radical cationique (Figure 1-7a), soit à la formation d'un fragment neutre radicalaire et d'un cation (Figure 1-7b). Les cations primaires peuvent, à leur tour, subir des fragmentations secondaires. Les possibilités exposées dans la Figure 1-7 ont été explorées par analyse énergétique et de la densité électronique des molécules.

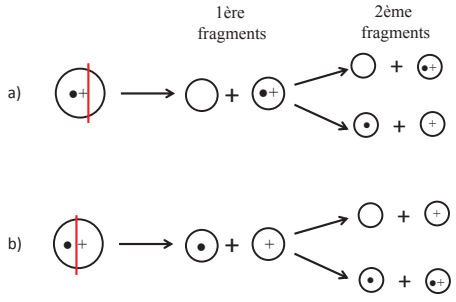
Ainsi, pour les bases d'ADN ou d'ARN, comme pour d'autres molécules, l'ion moléculaire peut subir toutes sortes de fragmentations selon différentes ruptures de liaisons. On considère

les voies de décomposition conduisant aux ions et aux radicaux les plus intéressants énergétiquement.

Ainsi on comparera les énergies nécessaires de fragmentation pour obtenir un cation donné et l'énergie qu'il faut pour fragmenter ce cation à son tour à l'intensité des pics dans les spectres de masse.

Nous nous limiterons aux quatre bases de l'ARN dans le présent travail.

Figure 1-7: Deux types processus de fragmentation d'une molécule.



Chapitre 2 : Méthodes de calcul en chimie quantique

2.1. Bases de la chimie Quantique

2.1.1. Equation de Schrödinger

Toute la chimie quantique repose sur la résolution de l'équation de Schrödinger[60-62], afin de déterminer l'énergie et la fonction d'onde d'une molécule. L'équation de Schrödinger indépendante du temps[63,64] s'écrit de manière simple :

$$\hat{H}\Psi\left(\vec{r},(\vec{R})\right) = E_{sys}\Psi\left(\vec{r},(\vec{R})\right) \qquad (1)$$

Cette équation permet de remonter à la fonction d'onde pour un système stationnaire constitué de *N* noyaux et *n* électrons. Cette fonction d'onde est dépendante de $\vec{r}$ et $\vec{R}$ qui correspondent respectivement à la position des électrons ($\vec{r} = \vec{r}_1, \vec{r}_2..., \vec{r}_N$) et des noyaux $\vec{R} = (\vec{R}_1, \vec{R}_2...., \vec{R}_N)$. E_{sys}, l'énergie du système, est la valeur propre de l'hamiltonien $\hat{H}$ du système. L'hamiltonien est la somme des opérateurs d'énergie cinétique $\hat{T}$ des noyaux N et des électrons e, et des opérateurs énergies potentielles $\hat{V}$ résultant des interactions électrostatiques :

$$\hat{H} = \hat{T}_N + \hat{V}_{NN} + \hat{T}_e + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{Ne} \qquad (2)$$

Développé en unités ($\hbar = e = m_e = 4\pi\varepsilon_\circ = 1$) atomiques $\hat{H}$ devient : (*n* nombre total d'électrons, *N* nombre total de noyaux)

$$\hat{H} = -\sum_{A=1}^{N} \frac{\nabla_A^2}{2M_A} + \sum_{A=1}^{N}\sum_{B>A}^{N} \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} - \sum_{i=1}^{n} \frac{\nabla_i^2}{2} + \sum_{i=1}^{n}\sum_{j>i}^{n} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{A=1}^{N}\sum_{i=1}^{n} \frac{Z_A}{r_{iA}} \qquad (3)$$

L'équation de Schrödinger n'est solvable que pour les systèmes hydrogénoïdes (à un électron). C'est pour cela que diverses approximations doivent être utilisées pour simplifier le problème mathématique.

2.1.2. Approximation de Born Oppenheimer

La première approximation utilisée dans la chimie quantique est celle de Born-Oppenheimer[61,65] (B-O). Elle est basée sur le fait que les noyaux sont environ 2000 fois plus lourds que les électrons. Ainsi, le noyau peut être considéré comme quasiment immobile par rapport aux électrons. L'approximation B-O consiste à négliger le terme d'énergie cinétique des noyaux $\hat{T}_N$. Ainsi les coordonnées des noyaux deviennent des paramètres de l'équation de Schrödinger. Le terme d'interaction des noyaux $\hat{V}_{NN}$ devient constant. Nous pouvons alors

séparer l'hamiltonien en deux termes, l'hamiltonien électronique et un terme d'interaction électrostatique entre les noyaux :

$$\mathrm{H} = \widehat{\mathrm{H}}_{\mathrm{el}} + \widehat{\mathrm{V}}_{\mathrm{NN}} \quad \text{avec } \widehat{\mathrm{H}}_{\mathrm{el}} = \widehat{\mathrm{T}}_{\mathrm{e}} + \widehat{\mathrm{V}}_{\mathrm{ee}} + \widehat{\mathrm{V}}_{\mathrm{Ne}} \quad (4)$$

$\widehat{\mathrm{H}}_{\mathrm{el}}$ est appelé "Hamiltonien électronique". Dans cette approximation, la résolution de l'équation de Schrödinger permet de déterminer la "fonction d'onde électronique" $\Phi(\vec{\mathrm{r}})$ qui ne dépend que de la position des électrons. Elle est solution de cette équation qui nous donne une description du mouvement des électrons dans un champ fixe de noyaux[60-62]:

$$\widehat{\mathrm{H}}_{\mathrm{el}}\Phi(\vec{\mathrm{r}}) = \mathrm{E}_{\mathrm{el}}\Phi(\vec{\mathrm{r}}) \qquad (5)$$

Cette équation est appelée *équation de Schrödinger indépendante du temps*.

Avec $\Phi(\vec{\mathrm{r}})$ qui est fonction propre de $\widehat{\mathrm{H}}$.

2.1.3. Approximation orbitalaire

L'approximation orbitale consiste à supposer que les électrons sont pratiquement indépendants les uns des autres, ce qui permet de simplifier l'écriture de la fonction d'onde :

$$\Phi(\vec{\mathrm{r}}_1, \vec{\mathrm{r}}_2, \dots) = \varphi_1(\vec{\mathrm{r}}_1)\varphi_2(\vec{\mathrm{r}}_2) \dots \quad (6)$$

Mais cette approximation n'est pas satisfaisante car il existe des interactions entre les électrons eux-mêmes.

Chacune des fonctions d'onde φ_1 et φ_2 décrit un seul électron : ce sont des fonctions d'onde *mono-électroniques*. Les fonctions d'ondes mono-électroniques décrivant la partie spatiale des états stationnaires des électrons sont appelées *orbitales*. Dans un atome, on parle d'orbitale atomique, et, lorsque les orbitales atomiques de plusieurs atomes interagissent, d'orbitale moléculaire (M.O.).

L'hamiltonien électronique n'est encore solvable que pour les systèmes hydrogénoïdes, c'est-à-dire ne possédant qu'un seul électron. Pour résoudre des systèmes possédant n électrons, nous allons transformer l'équation de Schrödinger électronique en un système d'équations mono-électroniques en considérant un modèle de particules indépendantes. Pour cela, l'électron est caractérisé par une fonction d'onde "spin-orbitale" $\chi_i(\vec{r_i}, \omega\mathrm{i})$, avec $\vec{r_i}$ la position de l'électron *i*, et ω_i une variable de spin. La fonction d'onde électronique Φ devient le produit de Hartree :

$$\Phi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n) = \chi_1(\vec{r}_1, \omega_1) \cdot \chi_2(\vec{r}_2, \omega_2) \dots . \chi_n(\vec{r}_n, \omega_n) \quad (7)$$

Toutefois il faut adapter cette fonction pour qu'elle respecte le principe d'antisymétrie de Pauli. En effet, pour être acceptable physiquement, il faut que les électrons soient indiscernables, ce qui entraîne pour l'échange de deux électrons que :

$$\Phi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n) = -\Phi(\vec{r}_2, \vec{r}_1, \dots, \vec{r}_n) \quad (8)$$

Ainsi Slater propose d'écrire la fonction d'onde comme un déterminant des *n* spin-orbitales :

$$\Phi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \chi_1(\vec{r}_1, \omega_1) & \chi_2(\vec{r}_2, \omega_2) \cdots & \chi_n(\vec{r}_1, \omega_1) \\ \chi_1(\vec{r}_2, \omega_2) & \chi_2(\vec{r}_2, \omega_2) \cdots & \chi_n(\vec{r}_2, \omega_2) \\ \chi_1(\vec{r}_n, \omega_n) & \chi_2(\vec{r}_n, \omega_n) \cdots & \chi_n(\vec{r}_n, \omega_n) \end{vmatrix} \quad (9)$$

Ce déterminant est le déterminant de Slater. La permutation de deux lignes ou deux colonnes entraîne un changement de signe du déterminant ce qui respecte le principe d'antisymétrie de Pauli. Comme la fonction d'onde est orthonormée, le terme $\frac{1}{\sqrt{n!}}$ est le facteur de normalisation. Dans le déterminant de Slater, deux électrons ne peuvent pas être de même spin dans la même orbitale, donc une partie de la corrélation électronique est prise en compte.

2.2. Méthodes de calcul

2.2.1. Méthodes empiriques

Parmi les méthodes empiriques, c'est-à-dire non quantique, la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire classique sont les plus utilisées. La première est une méthode d'analyse conformationnelle basée sur l'utilisation de champs de forces empiriques et la minimisation d'énergie[66]. Elle permet de décrire l'énergie en fonction des coordonnées atomiques et de chercher des minima de l'énergie correspondant à des conformères stables[67]. Toutefois, elle ne permet pas de décrire l'énergie en fonction du temps et de la température (entropie, énergie libre) et de franchir des barrières énergétiques. La dynamique moléculaire classique a pour but de calculer les mouvements des molécules, le plus souvent à partir des énergies de la mécanique moléculaire, en appliquant les lois de la mécanique classique. Elle permet de simuler l'évolution des systèmes dans le temps[68,69].

2.2.2. Méthodes semi-empiriques

Ces méthodes utilisent des données expérimentales ou tabulées à la place de calculs. Il existe deux sortes de méthodes semi-empiriques[70], à savoir celles dans lesquelles l'hamiltonien du système est considéré comme une somme d'hamiltoniens mono-électroniques non explicites (C'est par exemple le cas de la méthode de Hückel étendue (Extended Hückel Theory-EHT) où les termes de la matrice H ont des valeurs empiriques) et celles dérivant des équations de Roothaan (on l'expliquera dans la partie 2.3.1.2.).

2.3. Méthodes quantiques pures

On parle de méthodes quantiques pures quand on ne considère aucun paramètre expérimental ni de données approximatives, à savoir les méthodes *ab-initio* basées sur la détermination de la fonction d'onde et la méthode *DFT (de l'anglais Density Functional Theory)* basée sur la détermination de la densité électronique.

2.3.1. Méthodes *ab initio* basées sur la détermination de la fonction d'onde

2.3.1.1. Equations de Hartree-Fock

En 1928, Hartree proposa une méthode permettant de calculer des fonctions d'ondes polyélectroniques approchées en les écrivant sous la forme de produits de fonctions d'ondes monoélectroniques[71]. En 1930, Fock démontra que la méthode de Hartree ne respecte pas le principe d'anti symétrie de la fonction d'onde[72]. En effet, d'après le principe d'exclusion de Pauli, deux électrons ne peuvent pas être simultanément dans le même état quantique. La méthode de Hartree-Fock[73] permet une résolution approchée de l'équation de Schrödinger d'un système quantique à n électrons et N noyaux dans laquelle la fonction d'onde polyélectronique Ψ_{HF} est écrite sous la forme d'un déterminant de Slater composé de spinorbitales mono-électroniques qui respecte l'antisymétrie de la fonction d'onde :

$$\Phi = |\Phi_1\alpha.\,\Phi_1\beta.\,\Phi_2\alpha\Phi_2\beta \ldots \Phi_n\alpha\Phi_n\beta| \qquad (10)$$

En définissant pour chaque électron μ du système un hamiltonien de cœur $h^c(\mu)$:

$$h^c(\mu) = -\frac{1}{2}\nabla^2{}_\mu - \sum_{i=1}^{M} \frac{Z_i}{r_{i\mu}} \qquad (11)$$

2.3.1.2. Equations de Roothaan

Dans le cas d'une molécule, l'approximation LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals) utilise un développement de combinaison linéaire sur une base d'orbitale atomique permetant de décrire les orbitales ou spinorbitales moléculaires. Lorsque le système étudié est à couche fermée, c'est à dire que toute fonction d'espace est occupée par deux électrons du fait de l'orthogonalité de leur fonction de spin (ils ont des spins opposés), on utilise l'expression due à Roothaan[74]. On se positionne alors dans le formalisme restreint ou RHF (Restricted Hartree-Fock).

$$\Phi_k = \sum_r^n \chi_r C_{rk} \qquad (12)$$

Les équations de Hartree-Fock peuvent alors se simplifier en équations de Roothaan en termes de matrices, que s'écritent :

$$[\mathbf{F}]\,[\mathbf{C}] = [\mathbf{E}]\,[\mathbf{S}]\,[\mathbf{C}] \qquad (13)$$

Où $[\mathbf{F}]$ et $[\mathbf{S}]$ représentent respectivement les matrices de Fock et de recouvrement, $[\mathbf{C}]$ la matrice des coefficients C_{rk} et $[\mathbf{E}]$ la matrice diagonale des valeurs propres correspondantes.
Dans la théorie Hartree-Fock, l'énergie la plus basse pouvant être obtenue est E_{HF}, c'est la limite Hartree-Fock. L'énergie de Roothaan est égale à l'énergie Hartree-Fock dans le cas où la base de fonctions utilisée est infinie. Diverses possibilités existent pour améliorer cette base.

2.3.1.3. Fonctions de bases atomiques utilisées

Deux bases de fonctions peuvent être utilisées pour exprimer les OM :

- Les fonctions de Slater plus communément appelées STO (Slater Type Orbital)
- Les fonctions gaussiennes appelées GTO (Gaussian Type Orbital)[70].

Les bases usuelles de bonne qualité sont double zêta (DZ) ou triple zêta (TZ).

2.3.1.4. Fonction de polarisation

Elles correspondent à des orbitales inoccupées dans l'atome à l'état fondamental. Elles seront donc de type p, d pour l'atome d'hydrogène, et de type d, f et g pour les atomes de la seconde

période. Elles doivent augmenter la flexibilité de la base utilisée et prendre en compte les déformations des orbitales atomiques de valence lors de la formation de la molécule.

2.3.1.5. Fonction diffuses

Au-delà de la couche de valence, on peut ajouter des orbitales diffuses. Ces fonctions sont généralement dotées d'un faible exposant qui leur permet de recouvrir l'espace diffus situé à grande distance du noyau. Les fonctions fournies donc permettent d'optimiser cette situation. Elles possèdent le même nombre quantique ℓ que les orbitales de valence des atomes considérés.

2.3.1.6. Méthodes post Hartree-Fock

La méthode Hartree-Fock est approximative ; elle néglige, comme il a été dit, l'énergie de corrélation des électrons. Les électrons de spin opposés (particulièrement ceux situés dans des orbitales ayant des parties spatiales similaires) exercent, en effet, les uns sur les autres des forces répulsives dépendant de leurs positions instantanées. Or, dans le modèle des particules indépendantes de Hartree-Fock, cet effet est en partie négligé puisque l'on suppose que chaque électron se trouve dans le champ moyen créé par tous les autres. La contribution à l'énergie totale de cette interaction interélectronique d'origine quantique est faible, mais elle devient importante lorsque de petites différences d'énergie doivent être calculées[75]. L'énergie de corrélation d'un système correspond à la différence entre l'énergie Hartree-Fock et l'énergie exacte non-relativiste du système :

$$E_{corr} = E^{nr}{}_0 - E_{HF}{}^{\infty} \qquad (14)$$

Les méthodes post Hartree-Fock permettent d'améliorer cette situation, notamment les méthodes d'interaction de configurations (CI), Coupled Cluster (CCSD) et les méthodes multiconfigurationnelles.

2.3.2. Méthodes quantiques basées sur la détermination de la densité électronique (DFT)

La DFT est la méthode de calcul de propriétés chimiques la plus utilisée actuellement en chimie théorique. Elle permet de traiter la corrélation de systèmes comprenant un nombre important d'électrons, quasiment au coût d'un calcul Hartree-Fock. Elle utilise la densité électronique au lieu de la fonction d'onde à N électrons comme variable du système. Cette méthode permet d'écrire l'énergie totale d'un système à N électrons à l'aide d'une

fonctionnelle unique de la densité. Les approximations à l'origine de la DFT traitent toutes de la fonctionnelle d'échange-corrélation.

La densité électronique notée ρ, est une fonction positive qui dépend de trois variables des coordonnées d'espace. Cette quantité, intégrée sur tout l'espace est égale au nombre total des électrons et s'annule à l'infini.

$$\int \rho(\vec{r}) d\vec{r} = n_e \qquad (15)$$

$\rho(\vec{r})$ représente, par définition, la probabilité de présence d'un électron dans un élément de volume défini par $\vec{r}$. Elle permet la description d'un système chimique et la détermination complète de ses propriétés. Plusieurs recherches ont donc été entreprises pour la mise en place d'un formalisme se basant sur cette quantité et ont abouti à la théorie de la fonctionnelle de la densité.

2.3.2.1. Equations de Kohn-Sham (KS)

Les travaux de Hohenberg et Kohn démontrent que, connaissant la densité de l'état fondamental, on peut obtenir toutes les propriétés du système ayant un potentiel V_{ext}. Cependant, sans avoir recours à des approximations de l'équation de Schrödinger, obtenir cette densité de l'état fondamental est, en pratique, impossible pour un système moléculaire (plus de quelques atomes). En effet, dans ce système, la densité du système est alors construite à partir d'une somme de probabilités mono-électroniques. La différence entre l'énergie cinétique et l'énergie cinétique réelle est alors placée dans le terme qui reste inconnu. L'interaction électron-électron se complexifie grandement avec le nombre de particules et l'évaluation de ce terme devient lui aussi difficile, même avec les technologies actuelles. Pour ces raisons, Kohn et Sham élaborèrent en 1965 une méthode afin de rendre envisageable la résolution d'un problème à N corps en interaction[76]. Pour ce faire, ils postulèrent de remplacer l'hamiltonien du système interagissant par un système plus simple avec la condition que les deux hamiltoniens donnent la même densité électronique de l'état fondamental. On peut donc écrire l'énergie exacte d'un système moléculaire en identifiant les différents termes :

$$E[\rho] = T_s[\rho] + V_{en}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \qquad (16)$$

Dans cette expression, le premier terme représente l'énergie cinétique du système fictif, souvent notée $T_s[\rho]$, le second est l'énergie d'attraction électrons-noyaux $V_{en}[\rho]$, le troisième

est l'énergie de répulsion coulombienne interélectronique classique J[ρ] et le dernier terme l'énergie d'échange et de corrélation qui regroupe toutes les interactions électroniques non classiques.

L'application de principe variationnel par rapport aux fonctions Φ_k sur l'équation de l'énergie de système conduit aux équations de Kohn-Sham (KS):

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + \left[\int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{\vec{r}_{12}} d\vec{r}_2 + V_{xc}(\vec{r}_1) - \sum_A^M \frac{Z_A}{\vec{r}_{1A}}\right]\right)\Phi_i = \varepsilon_i \Phi_i \qquad (17)$$

Soit :

$$H_{KS}(\vec{r})\Phi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \Phi_i(\vec{r}) \qquad (18)$$

Dans la mesure où le potentiel d'échange-corrélation V_{xc} [ρ], dérivée fonctionnelle de E_{xc} [ρ] par rapport à la densité ρ($\vec{r}$), est exacte la résolution de ces équations permet d'obtenir la densité électronique exacte donc l'énergie exacte de système.

2.3.2.2. Approximation de la densité locale (LDA)

La première approximation pour l'énergie d'échange-corrélation est l'approximation de la densité locale (LDA). Elle est basée sur l'utilisation du gaz uniforme d'électrons (c'est un système polyélectronique idéalisé, de densité homogène et constante, plongé dans un milieu isotrope de charge positive assurant l'électroneutralité)[70]. Elle consiste à considérer la fonctionnelle de la densité en un point comme localement définie et constante. On la définit de la manière suivante[77] :

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r})\, \varepsilon_{xc}\big(\rho(\vec{r})\big) d\vec{r} \qquad (19)$$

où le terme $\varepsilon_{xc}(\rho(\vec{r}))$ représente l'énergie d'échange-corrélation par particule du gaz uniforme de densité ρ($\vec{r}$) qui peut être considérée comme la somme d'une contribution d'échange et de corrélation :

$$\varepsilon_{xc}(\rho(\vec{r})) = \varepsilon_x(\rho(\vec{r})) + \varepsilon_c(\rho(\vec{r})) \qquad (20)$$

Le terme d'échange $\varepsilon_x(\rho(\vec{r}))$ proposé par Dirac[78,79] est connu exactement :

$$\varepsilon_x(\rho(\vec{r})) = -3/4[\, 3\rho(\vec{r})/\pi]^{1/3} \qquad (21)$$

Pour l'énergie de corrélation, aucune forme analytique exacte n'est connue. La fonctionnelle approchée la plus utilisée est celle proposée par Vosko *et al.*[80]. Elle est basée sur une interpolation des résultats de calculs Monte-Carlo quantiques. On peut citer également celles de Perdew *et al.*[81,82]

Son extension aux systèmes sans contrainte de spin (unrestricted) prend le nom de LSD (*Local Spin Density*)[83]. La fonctionnelle d'échange-corrélation distingue les densités α et β sous la forme :

$$E_{xc}^{LSD}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int \rho(\vec{r})\, \varepsilon_{xc}\left(\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r})\right) d\vec{r} \qquad (22)$$

2.3.2.3. Approximation du gradient généralisé (GGA)

Afin d'améliorer la précision des calculs DFT, des modifications ont été apportées aux différentes équations pour remédier aux insuffisances des méthodes LDA et LSDA. Ce sont les approximations de la fonctionnelle d'échange-corrélation appelées approximations du gradient généralisé GGA (de l'anglais *Generalised Gradient Approximation*)[84]. Cette approximation tient compte de l'inhomogénéité de la densité électronique en considérant des fonctions d'échange-corrélation dépendant, non seulement de la densité en chaque point, mais aussi de son gradient. L'énergie E_{xc} prend une forme générale similaire à celle de la LDA :

$$E_{xc}^{GGA} = \int \varepsilon_{xc}^{GGA}(\rho(\vec{r}), \nabla\rho(\vec{r}))d\vec{r} \qquad (23)$$

Pour l'échange, on peut citer les fonctionnelles d'échange de Becke (B88)[85] et de Perdew et Wang (PW91)[86] et PBE comme les plus connues et les plus utilisées; et pour la corrélation, les fonctionnelles de Perdew (P86)[87] et celle de Lee, Yang et Parr (LYP)[88] et PBE. Toutes ces fonctionnelles permettent une amélioration au niveau des géométries et surtout des énergies de liaisons des systèmes étudiés par rapport à la LDA.

2.3.2.4. Fonctionnelles hybrides

Dans ces fonctionnelles, on introduit un certain pourcentage de l'échange exact calculable tel qu'en théorie HF. Becke a proposé l'expression suivante de l'énergie d'échange et de corrélation, qualifiée d'hybride car elle prend en compte l'énergie d'échange exact HF ainsi que l'énergie d'échange et de corrélation DFT[70] :

$$E_{hybride}^{xc} = c_{HF}E_{HF}^{x} + c_{DFT}E_{DFT}^{xc} \qquad (24)$$

Les paramètres c_{HF} et c_{DFT} étant des constantes à déterminer. La fonctionnelle hybride la plus populaire connue sous le nom de B3LYP, proposée par Becke sous forme d'une expression de trois paramètres désigné par B3[88] et fait appel à l'approximation B88 pour l'échange et celle de Lee, Yang et Parr (LYP) pour la corrélation. Elle permet de décrire correctement les propriétés magnétiques de composés moléculaires organiques et aussi de métaux de transition et de ligands[89-92].

Les calculs basés sur la DFT donnent de bons résultats pour les états fondamentaux de divers systèmes, particulièrement les systèmes moléculaires complexes relativement gros, contenant plusieurs centaines d'électrons (systèmes métalliques, ioniques, organométalliques…) pour de nombreuses propriétés (structures moléculaires, fréquences de vibration, potentiels d'ionisation...).

2.4. Détails de nos calculs

Les calculs DFT moléculaires ont été effectués à l'aide du programme ADF[93-95]. Les corrections non locales d'échange et de corrélation de type gradients généralisés (GGA) ont été introduites selon la formulation de Perdew, Burke et Ernzerhof (PBE)[84,96]. La fonctionnelle PBE est très robuste pour décrire la structure électronique et l'énergie d'ionisation et permet des calculs rapides.

Les orbitales atomiques ont été décrites dans une base d'orbitales de type Slater (STO)[97,98], triple-ζ simple polarisation (TZP). Les orbitales moléculaires ont été traitées dans l'approximation des « cœurs gelés »[99,100]. C'est-à-dire seuls les électrons de valence sont pris en compte et les électrons de cœur restent ce qu'ils sont dans les atomes isolés.

Les optimisations de géométrie ont été entreprises selon la méthode développée par Versluis et Ziegler[101]. La procédure de l'intégration numérique appliquée pour nos calculs a été développée par te Velde *et al.*[95]. Les optimisations de géométries ont été suivies par un calcul des fréquences vibrationnelles[102-104]. Des calculs d'énergie libre ont été effectués pour chaque structure. Les charges calculées sont les charges de Mulliken et les ordres de liaison ont été calculés pour les bases neutre et ionisée avec le méthode Gopinathan-Jug[105] telle que transposée dans ADF[93,95].

2.4.1. Comparaison des résultats obtenus par les calculs PBE, B3LYP et CCSD

Pour comparer les différentes fonctionnelles, la fonctionnelle B3LYP a aussi été introduite dans quelques optimisations. Rappelons que la méthode B3LYP, largement utilisée (environ 80 % des calculs DFT)[106] a été paramétrée afin de récupérer les propriétés énergétiques des petits systèmes moléculaires stables par l'ajustement des trois paramètres de pondération de l'échange « exact », l'échange DFT et la corrélation GGA. Par conséquent, on pourrait s'attendre à une meilleure description des propriétés de l'état fondamental de molécules (par exemple, les potentiels d'ionisation verticaux) par un calcul B3LYP, mais on n'a aucune raison d'attendre une meilleure description des cations ou des radicaux (et des radicaux cationiques) résultant du processus de fragmentation survenant dans le spectre de masse. Rappelons aussi que PBE est maintenant une des fonctionnelles GGA très utilisée. Dans sa constitution les valeurs des paramètres PBE sont justifiées par une discussion théorique basée sur les propriétés du gaz d'électrons. De ce fait, elle est plus robuste pour la structure électronique et l'énergie du fragment ionisé que B3LYP dont les valeurs des paramètres sont obtenues par un ajustement des propriétés moléculaires. B3LYP est donc plus adaptée pour calculer les propriétés des molécules similaires à celles de l'ensemble de données utilisées pour l'ajustement. A des fins de comparaison, les énergies obtenues avec les deux fonctionnelles pour la rupture de la liaison N1-C2/N3-C4 (processus discuté dans la partie 4.1, correspondant à la Figure 4-3) sont présentées dans le Tableau 2-1. Trois types de calculs sont présentés, calculs PBE, B3LYP et CCSD dans lesquels les différences peuvent être attribuées à l'énergie ou à la différence de structures. Le troisième calcul rapporte les énergies B3LYP calculées avec les géométries optimisées avec la fonctionnelle PBE. On peut voir que les barrières d'énergie ou des énergies de réaction ne diffèrent pas significativement (environ 0.1-0.3 eV) suivant les méthodes. Enfin, certains calculs CCSD ont été effectués pour les premières étapes de fragmentation (voir la Figure 2-1 correspondant à la Figure 4-3). Cette Figure montre le diagramme d'énergie électronique correspondant aux ruptures N1-C2/N3-C4 du cation uracile avec les différentes méthodes calculées PBE, B3LYP et CCSD.

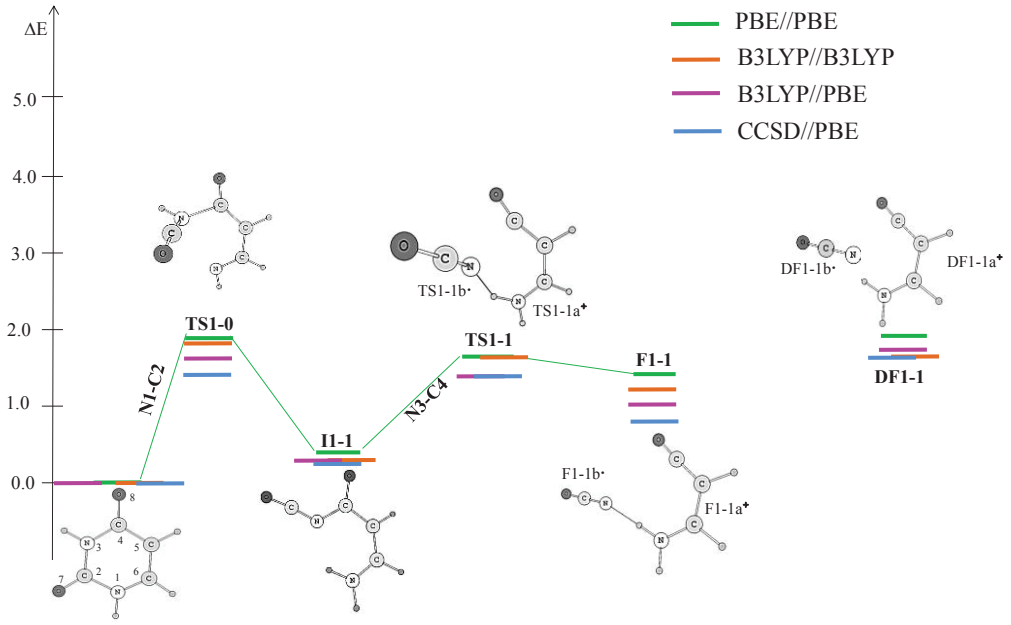
Par les calculs CCSD, on obtient des différences d'énergie de l'ordre de 0.05 à -0.4 eV par rapport aux valeurs DFT, qui conduisent à un profil plus plat que B3LYP ou PBE. Ces différences sont plus grandes, comme on peut le voir dans le tableau 4-3 que les différences entre B3LYP et PBE. Bien qu'étant parfois loin de la vérité (comparés aux mesures

expérimentales), les calculs de "cluster couplé" sont souvent considérés comme une référence pour des calculs DFT.

Tableau 2-1 : Énergies relatives (eV) pour les cinq étapes de la rupture N1-C2 suivie par la rupture N3-C4 calculé au niveau B3LYP (B3LYP//B3LYP), au niveau PBE (PBE//PBE), au niveau B3LYP sur des géométries PBE (B3LYP//PBE) et au niveau CCSD sur des géométries PBE (CCSD//PBE).

	PBE//PBE	B3LYP//PBE	B3LYP//B3LYP	CCSD//PBE
U+	0.000	0.000	0.000	0.000
TS1-0	1.945	1.661	1.847	1.449
I1-1	0.362	0.287	0.257	0.183
TS1-1	1.665	1.393	1.641	1.396
F1-1	1.453	1.047	1.191	0.836
DF1-1	1.935	1.713	1.628	1.603

Figure 2-1 : Diagramme d'énergie électronique correspondant aux clivages N1-C2 et N3-C4 du cation de l'uracile (représenté sur la Figure 4-3, au niveau de PBE). Les énergies ont été calculées en PBE, B3LYP et CCSD aux géométries PBE: PBE//PBE, B3LYP//PBE et CCSD/PBE, respectivement. Les géométries ont également été calculées au niveau B3LYP: B3LYP//B3LYP.



On peut même s'attendre à une différence éventuellement plus grande (par rapport au CCSD) pour un calcul impliquant des excitations triples (CCSD(T)) avec un ensemble de base plus étendue. La Figure 2-1 montre le diagramme d'énergie électronique correspondant aux ruptures N1-C2/N3-C4 du cation uracile avec les différentes méthodes calculées PBE, B3LYP et CCSD.

Concernant les charges de Mulliken, les charges positives dans le cation d'uracile sont localisées sur les atomes C2, C4, C6 (0.68, 0.56, 0.33 au niveau de PBE et 0.63, 0.55, 0.43 a.u. au niveau B3LYP, respectivement) et la densité de spin est localisée sur l'atome de C5 (σ_{C5}= 0.63 a.u., PBE, 0.57 a.u., B3LYP). La plus grande différence dans la géométrie TS1-0 concerne la liaison N1-C2 (à rompre) qui atteint 2.93 Å au niveau B3LYP, et 2.95 Å au niveau PBE, une différence non significative. Seulement très peu de différences sont trouvées pour les structures d'I1-1 fragment : l'angle de dièdre C6C5C4O8 est 172° au niveau B3LYP alors qu'il est 154° au niveau de PBE, la densité de spin sur l'atome C5, σ_{C5}=0.680 a.u. au niveau B3LYP, à comparer à σ_{C5}=0.570 a.u. au niveau PBE. Les charges sur C2, C4 et C6 sont 0.721, 0.559 et 0.375 a.u. pour B3LYP et 0.676, 0.508 et 0.434 a.u. pour PBE.

L'état de transition TS1-1 est 1.384 eV supérieur à I1-1 au niveau B3LYP et 1.304 eV supérieur au niveau de PBE. La distribution électronique entre les deux fragments TS1-1a$^+$ ($C_3H_4NO^+$, $q_{TS1\text{-}1a+}$=1.066a.u.) et TS1-1b$^\bullet$ ($NCO^\bullet$, $\sigma_{TS1\text{-}1b\bullet(N3)}$=0.527 a.u.) au niveau B3LYP qui correspond à ceux de PBE : TS1-1a$^+$ ($C_3H_4NO^+$, $q_{TS1\text{-}1a+}$=1.061a.u.) and TS1-1b$^\bullet$ ($NCO^\bullet$, $\sigma_{TS1\text{-}1b\bullet(N3)}$=0.552 a.u.). La longueur de la liaison N3-C4 dans TS1-1 est 2.09 Å au niveau B3LYP et 2.31 Å au niveau de PBE. Malgré cette différence (0.22 Å), la géométrie des fragments reste pratiquement inchangée, et plus particulièrement la barrière d'énergie est similaire à celle de PBE. Il n'y a presque pas de différences dans l'état F1-1 entre les paramètres géométriques obtenus avec les deux méthodes, excepté la liaison hydrogène entre N3 et H ($d_{N3\text{-}H}$=1.94 Å à B3LYP et $d_{N3\text{-}H}$=1.86 Å au niveau PBE). Enfin, les structures des fragments dissociés DF1-1a,b ($C_3H_4NO^+$, $NCO^\bullet$) sont assez semblables, et la différence d'énergie entre cet état et le cation uracile est +1.628eV au niveau B3LYP et +1.935eV au niveau de PBE.

Pour résumer, comme on pouvait s'y attendre, les différences d'énergie entre PBE et B3LYP sont faibles et les géométries sont très similaires. Plus important, il n'y a pas de différence en ce qui concerne la distribution de charges entre les fragments au cours de leur formation, ni dans la localisation de la densité de spin. En outre, même si il est établi que la description de radicaux par des méthodes *ab initio* et DFT standards est loin de la précision chimique[107], on peut s'attendre à ce qu'une description fiable de la physique impliquée dans les processus de fragmentation soit obtenue à partir de nos calculs GGA . En conséquence, la fonctionnelle GGA PBE, qui n'implique pas le calcul de l'échange HF (nettement plus coûteuse avec les orbitales STO), a donc été retenue pour nos calculs.

2.4.2. BSSE (en anglais Basis set superposition errors)

Dans la Figure 2-1 et les Figures dans les chapitres suivants, on voit que parfois l'état de fragments isolés est un peu plus haut en énergie que l'état des fragments séparés (à côté, mais pas isolés) dans l'état de F1-1. Cela provient soit d'une liaison hydrogène ou Van der Waals entre les fragments séparés, soit des erreurs dites de superposition de base. En effet, la description des fragments séparés (F1-1) donne pour chaque fragment la possibilité d'être décrit avec une base plus étendue que dans le calcul de chaque fragment isolé.

L'erreur de superposition de base (BSSE) provient du caractère fini des bases. Les bases utilisées dans les calculs de chimie quantique ne comportent qu'un nombre fini de fonctions. Pour mieux comprendre prenons l'exemple de deux systèmes A et B interagissant, A+B (DF_x) → AB (F_x), avec la même base pour A, B et AB. Dans AB, les orbitales de B contribuent à stabiliser A, et de même les orbitales centrées sur A contribuent à stabiliser B. Le fait que chaque composé «emprunte» des fonctions centrées sur les autres composants situés à proximité, accroissant de manière effective sa base, permet d'améliorer le calcul des propriétés telles que l'énergie qui est alors plus basse. Il s'ensuit que l'énergie de A+B sous forme de la somme des énergies des deux fragments isolés est sous-estimée par rapport à celle de AB, fragments séparés en interaction faible. Ceci peut être estimé en calculant A (respectivement B) en ajoutant des fonctions orbitales correspondantes à des atomes fictifs centrés sur les atomes B (respectivement A) dans la géométrie de AB.

Chapitre 3 :
Ionisation des bases de l'ADN ou de l'ARN

3.1. Energies adiabatique et verticale

La mesure de l'énergie d'ionisation des bases de l'ADN a été étudiée théoriquement par différentes méthodes comme B3LYP[56,108,109], Hartree-Fock, MP2[110] et Projected MP2[111]. Ces énergies d'ionisations verticales et adiabatiques sont représentées dans le Tableau 3-1 avec les mesures expérimentales. Les énergies verticales ont été obtenues à partir de la différence d'énergie totale entre la base neutre et son cation radical, évaluées toutes les deux à la géométrie optimisée de la base neutre. Les énergies adiabatiques ont été obtenues en utilisant l'énergie obtenue à partir de la géométrie optimisée du cation radicalaire.

Pour toutes les bases d'ADN, les valeurs calculées par les trois méthodes B3LYP[108,109], PMP2[111] et PBE (notre étude) sont en bon accord avec les données expérimentales[112,113] pour les deux potentiels d'ionisation (IP) adiabatique et verticale (Tableau 3-1), bien que B3LYP et PMP2 conduisent à des valeurs légèrement plus proches des valeurs expérimentales que la fonctionnelle PBE utilisée dans ce travail. La différence des IPs adiabatiques et verticales des calculs PBE et leurs valeurs expérimentales pour l'uracile, la cytosine, l'adénine et la guanine sont respectivement d'environ 0.16-0.18, 0.19-0.34, 0.24-0.26, 0.16-0.30 eV.

On peut noter que la meilleure performance de la fonctionnelle B3LYP pour le calcul de l'énergie d'ionisation n'implique pas que la description des propriétés électroniques des radicaux et des ions soit meilleure. Dans la Tableau 3-1, quelles que soient les méthodes de calculs, les énergies d'ionisation adiabatique et verticale suivent l'ordre U(T)[114] > C > A > G. Cette ordre est en très bon accord avec les valeurs expérimentales[38,113].

Tableau 3-1 : Energies d'ionisation en phase gazeuse calculées et expérimentales des bases d'ADN et d'ARN (eV). [a]: Gaussian 6-31++G(d,p) basis set[111]; [b,c]: Gaussian 6-31++G(d,p) basis set[108,109] ; [d]: travail présent (TZP) sont fonction de bases utilisés. [e]: les valeurs expérimentales[112,113].

	HF[a]		PHF[a]		MP2[a]		PMP2[a]		B3LYP [b,c]		PBE[d]		IE[e]	
	IP_{adia}	IP_{vert}	IP_{adia}	IP_{vert}	IP_{adia}	IP_{vert}	IP_{adia}	IP_{vert}	IP_{adia}	IP_{vert}	IP_{adia}	IP_{vert}	IP_{adia}	IP_{vert}
Uracile	8.15	8.77	8.1	8.48	9.47	10.35	9.36	9.43	9.21	9.47	9.16	9.32	9.32	9.50
Cytosine	7.30	7.55	7.35	7.69	9.07	9.44	8.78	8.69	8.63	8.69	8.49	8.60	8.68	8.94
Adénine	7.17	7.45	7.09	7.36	8.38	9.38	8.23	8.62	8.11	8.26	8.02	8.18	8.26	8.44
Guanine	6.61	6.90	6.48	6.97	8.19	8.88	7.90	8.33	7.69	8.02	7.61	7.94	7.77	8.24

3.2. Structures électroniques / Orbitales Moléculaires

3.2.1. Uracile

L'ionisation de l'uracile conduit à certains changements structuraux figurant dans le Tableau 3-2. Les changements les plus importants observés sont environ de +0.05 Å pour les longueurs des liaisons N1-C2, C5-C6 et de -0.05 Å pour N1-C6. Les changements des ordres des liaisons sont également présentés dans le Tableau 3-2. On peut voir que la diminution de l'ordre de liaison calculés par la méthode Gopinathan-Jug[105], pour C5-C6 (-0.302 a.u.) est assez grande par rapport à N1-C2 alors que les longueurs des deux liaisons augmentent d'environ 0.05 Å. Ceci est dû au fait que la double liaison C5-C6 perd son caractère de liaison double lors de l'ionisation. En conséquence, les liaisons N1-C2 et C5-C6 sont plus faibles lors de l'ionisation et deviennent des sites potentiels pour la dissociation de la molécule. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus pour la thymine[115] (même structure que l'uracile avec un groupe méthyle sur C5).

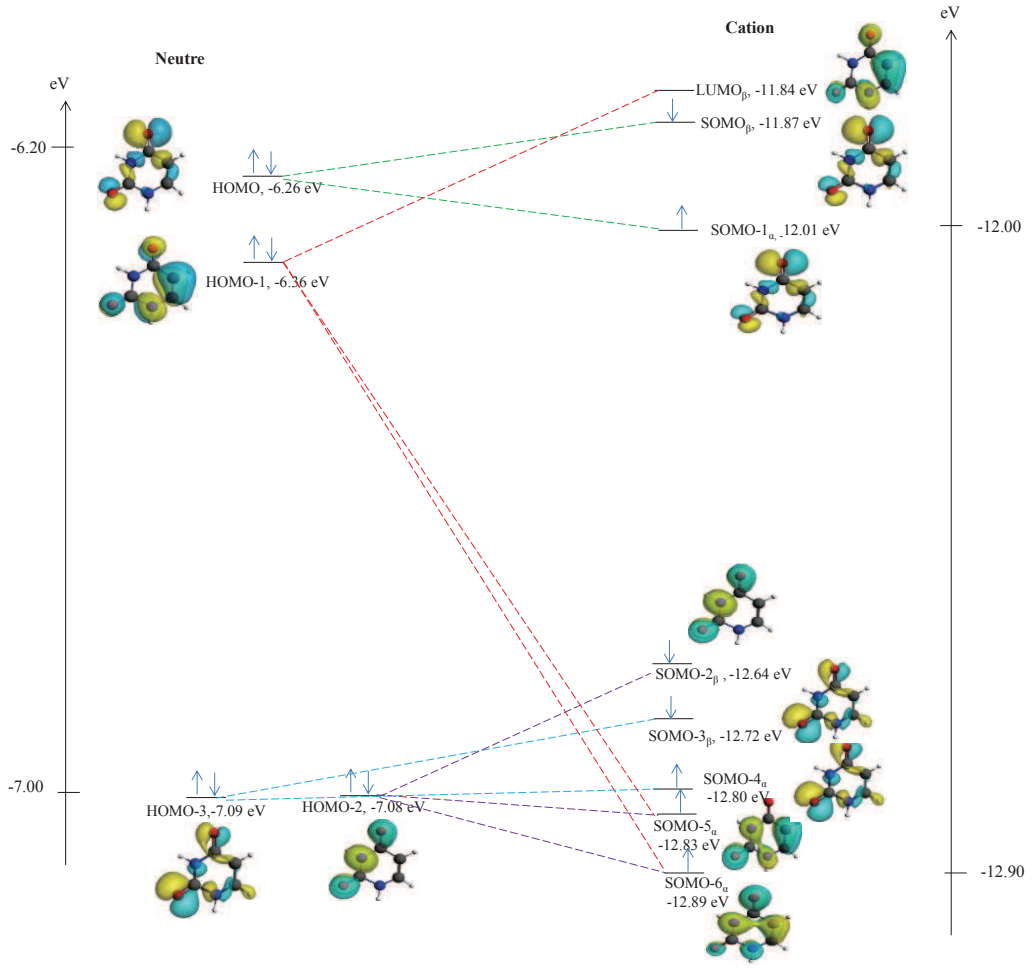
Tableau 3-2 : Paramètres structuraux des formes neutres et du cation de l'uracile, distances (Å) et ordres de liaison (a.u.). Δl et Δbo correspondent les variations de longueur de la liaison et de l'ordre de liaison du neutre au cation.

	Longueur de la liaison			Ordre de la liaison		
	Neutre	Cation	Δl	Neutre	Cation	Δbo
N1-C2	1.400	1.454	+0.054	1.073	0.944	-0.130
C2-N3	1.388	1.375	-0.013	1.131	1.164	+0.033
N3-C4	1.419	1.409	-0.010	1.065	1.080	+0.015
C4-C5	1.459	1.471	+0.012	1.092	1.073	-0.019
C5-C6	1.355	1.405	+0.050	1.669	1.367	-0.302
C6-N1	1.375	1.329	-0.047	1.203	1.495	+0.292
C2-O7	1.226	1.211	-0.015	1.705	1.794	+0.089
C4-O8	1.229	1.224	-0.005	1.731	1.746	+0.016

Les orbitales moléculaires (MO) de l'uracile neutre et cationique sont représentées dans la Figure 3-1. La perte d'un électron peut provenir de l'une des orbitales moléculaires HOMO et HOMO-1 de l'uracile neutre puisque les énergies de ces orbitales sont assez proches (ΔE=0.10 eV). Comme on pourrait l'attendre, la HOMO et HOMO-1 comprennent les orbitales atomiques 2p des atomes d'oxygène et d'azote et l'orbitale π de la double liaison C5-C6. On observe que la LUMO du cation correspond à l'orbitale HOMO-1 de l'uracile neutre. L'éjection d'un électron se produit donc sur l'orbitale HOMO-1 conduisant aux

affaiblissements des liaisons N1-C2 et C5-C6. Durant l'ionisation, les deux électrons situés sur l'orbitale HOMO de l'uracile neutre se déplacent sur les orbitales SOMO (β) et SOMO-1 (α) dans le cation uracile.

Figure 3-1 : Orbitales moléculaires (MOs) de l'uracile neutre et son cation.



La perte d'un électron induit des changements de charges atomiques (Tableau 3-3) sur les atomes N1, C5, C6, O8 et O7 (+0.086, +0.147, +0.095, +0.148 et +0.145 a.u., respectivement). Les charges atomiques sur les atomes de carbone du cycle sont q_{C2}=+0.627 a.u., q_{C4}=+0.551 a.u., q_{C5}=+0.200 a.u. et q_{C6}=+0.434 a.u.. La charge positive sur C2 et C4 est due aux atomes électronégatifs d'azote et d'oxygène. Pour le cation de l'uracile la densité de spin est située essentiellement sur l'atome C5 (0.572. a.u.). Il faut aussi remarquer que les réactions d'oxydation sur la thymine étudié par Cadet *et al.*[116] montrent que les attaques de OH^- ont lieu sur l'atome C6, suggérant que cet atome doit être chargé positivement pour le cation de l'uracile.

Tableau 3-3 : Changements des charges atomiques de Mulliken (MPA) pour chaque atome et les densités de spin des atomes pour le cation de l'uracile.

	Charge (MPA)			Densité du spin
	Neutre	Cation	Δq	Cation
N1	-0.085	0.001	+0.086	+0.281
C2	0.579	0.627	+0.048	-0.034
N3	-0.143	-0.117	+0.026	-0.010
C4	0517	0.551	+0.034	-0.070
C5	0.053	0.200	+0.147	+0.572
C6	0.338	0.434	+0.095	+0.016
O7	-0.547	-0.401	+0.145	+0.106
O8	-0.527	-0.379	+0.148	+0.186
H9	-0.122	-0.048	+0.074	-0.034
H11	0.045	0.096	+0.051	-0.001
H12	-0.123	-0.050	+0.073	-0.002
H10	0.015	0.087	+0.072	-0.010

3.2.2. Cytosine

L'ionisation de la cytosine conduit à certains changements structuraux que l'on peut apprécier dans le Tableau 3-4. Plusieurs changements sont observés pour les liaisons N3-C4, C5-C6, N1-C6, C2-N3 et C4-N8 avec des variations de distance de 0.02-0.03 Å. Les longueurs des liaisons N3-C4 et C5-C6 augmentent alors que les distances des liaisons N1-C6, C2-N3, et C4-N8 diminuent. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec la fonctionnelle B3LYP par Improta *et al.*[56] et Tehrani *et al.*[58] à l'exception d'une faible diminution de la longueur de la liaison N1-C2 (-0.003 Å[58],-0.014 Å[56]) et d'une augmentation significative de la longueur de la liaison C2-O7 (+0.03 Å)[56].

Ces changements sont associés à une augmentation ou une diminution des ordres des liaisons. On voit que l'ordre des liaisons C5-C6 et N3-C4 diminue assez fortement. Cela est dû au fait que les deux liaisons C5-C6 et N3-C4 initialement double pour la forme neutre sont affaiblies par perte d'un électron et donc qu'elles peuvent devenir des sites favorables pour la dissociation moléculaire.

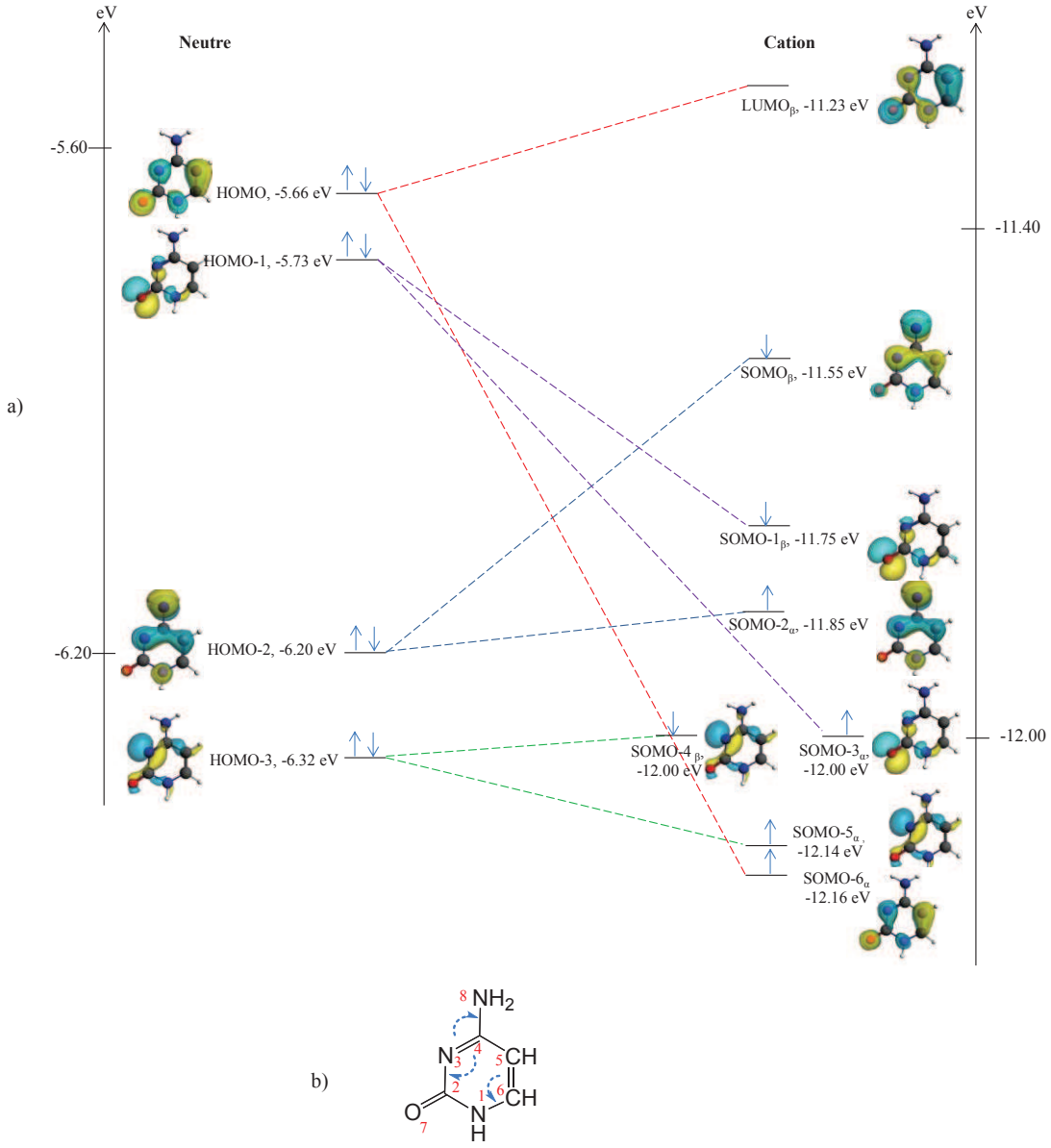
Tableau 3-4 : Paramètres structuraux des formes neutres et du cation de la cytosine, distances (Å) et ordres de liaison (a.u.). Δl et Δbo correspondent les variations de longueur de la liaison et de l'ordre de liaison du neutre au cation.

	Longueur de la liaison			Ordre de la liaison		
	Neutre	Cation	Δl	Neutre	Cation	Δbo
N1-C2	1.434	1.442	+0.008	1.002	0.973	-0.028
C2-N3	1.373	1.348	-0.025	1.212	1.292	+0.080
N3-C4	1.326	1.347	+0.021	1.458	1.339	-0.119
C4-C5	1.441	1.442	+0.001	1.155	1.163	+0.009
C5-C6	1.363	1.393	+0.030	1.591	1.405	-0.186
C6-N1	1.355	1.331	-0.024	1.285	1.433	+0.148
C2-O7	1.229	1.240	+0.011	1.690	1.618	-0.072
C4-N8	1.363	1.335	-0.028	1.253	1.378	+0.125
N1-H9	1.017	1.024	+0.007	0.852	0.825	-0.027
C5-H10	1.089	1.091	+0.002	0.926	0.908	-0.019
C6-H11	1.090	1.091	+0.001	0.917	0.898	-0.019
N8-H12	1.010	1.014	+0.004	0.883	0.861	-0.022
N8-H13	1.013	1.018	+0.005	0.863	0.843	-0.020

La Figure 3-2a le présente les orbitales frontières de la cytosine neutre et cationique. L'orbitale HOMO de la cytosine neutre est plutôt semblable à l'orbitale HOMO-1 de l'uracile[117]. Elle comprend des orbitales atomiques $2p_\pi$ des atomes d'oxygène et d'azote et de l'orbitale π de la double liaison C5-C6, mais avec une grande contribution remarquable des orbitales p_z des atomes O7 et N3. On voit aussi que la LUMO du cation correspond à l'orbitale HOMO de la cytosine neutre. La perte d'un électron (β) se produit à partir de cette dernière. Dans ce cas, le deuxième électron (α) se localisera alors sur l'orbitale SOMO-6 du cation. Donc, la perte d'un électron de l'orbitale HOMO de la cytosine affaiblit les deux doubles liaisons C5-C6 et N3-C4 conduisant à la formation d'une liaison renforcée entre l'atome C4 et le groupe amine (Figure3-2b). Ceci est en bon accord avec ce que nous venons de voir dans l'analyse de la structure électronique.

Les distributions des charges atomiques et de la densité de spin sont présentés dans le Tableau 3-5. Les changements de charge électronique les plus importants sont observés pour les atomes N1, N3, C5, C6, O7, N8 (respectivement +0.069, +0.099, +0.127, +0.066, -0.202 et +0.075 a.u.).

Figure 3-2 : a) Orbitales moléculaires (MOs) de la cytosine neutre et son cation. b) Transfert électronique durant l'ionisation de la cytosine (b).



La densité de spin dans le cation de la cytosine est principalement localisée sur O7 (0.411 a.u.), C5 (0.391. a.u.). La charge atomique sur les atomes de carbone C2, (0.585 a.u.) et C6 (0.421 a.u.) dues à des liaisons avec un ou à plusieurs atomes électronégatifs. La charge positive de C6 est en accord avec la réaction d'hydratation du radical cation de la cytosine conduisant à l'attaque OH^- sur l'atome C6 étudiée par Wagner *et al.*[118]. Il faut aussi remarquer que d'anciens calculs ab initio (1986)[119] ont montré que la réaction de $OH^\bullet$ avec la cytosine mène à l'addition préférentielle d'OH sur l'atome C6 alors que les résultats expérimentaux[118] dans une solution aqueuse indiquent une préférence pour la formation du produit C5-OH.

Tableau 3-5 : Changements des charges atomiques de Mulliken (MPA) pour chaque atome et les densités de spin des atomes pour le cation de la cytosine.

	charge(MPA)			Densité du spin
	Neutre	cation	Δq	Cation
N1	-0.093	-0.024	-0.069	+0.179
C2	0.531	0.585	-0.055	-0.078
N3	-0.360	-0.260	-0.099	+0.199
C4	0.323	0.347	-0.023	-0.055
C5	0.055	0.182	-0.127	+0.391
C6	0.355	0.421	-0.066	+0.004
O7	-0.546	-0.344	-0.202	+0.411
N8	0.055	0.130	-0.075	-0.020
H9	0.009	0.069	-0.060	-0.007
H10	-0.146	-0.078	-0.068	-0.023
H11	-0.133	-0.065	-0.068	-0.001
H12	-0.050	-0.010	-0.040	+0.001
H13	0.002	0.048	-0.046	+0.000

3.2.3. Adénine

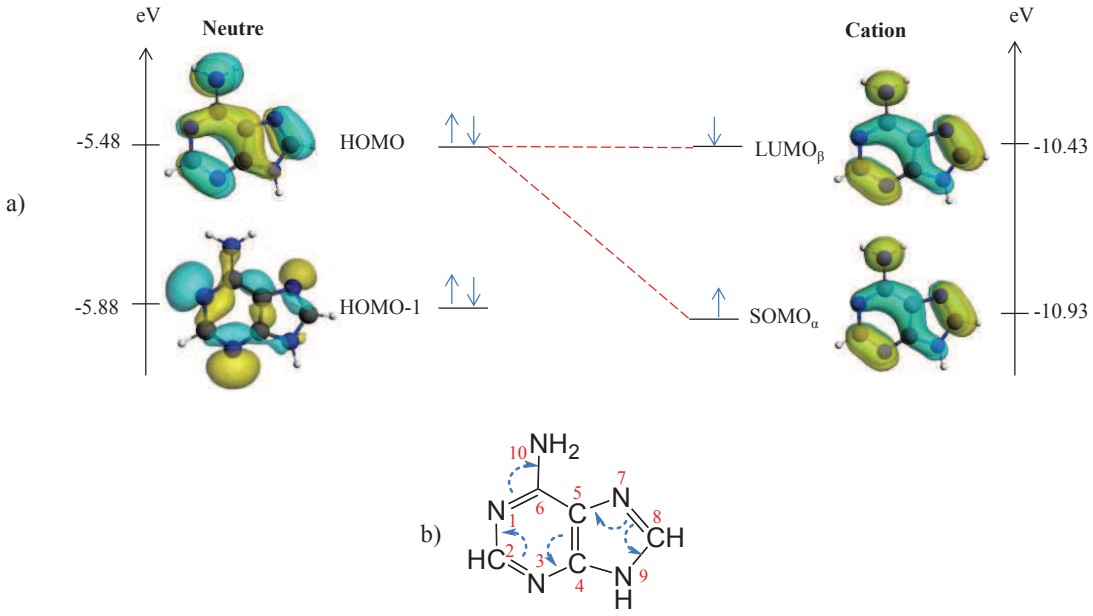
Les changements de distances des liaisons et les ordres de liaisons durant l'ionisation de l'adénine sont présentés dans le Tableau 3-6. Les longueurs des liaisons C2-N3, C4-C5, N7-C8, C5-C6, C4-N9, N1-C6 augmentent (respectivement, +0.04, +0.03, +0.04, +0.02, +0.01, +0.01Å), alors que celles des liaisons N3-C4, C5-N7, N1-C2, C8-N9 et C6-N10 diminuent (respectivement, -0.03, -0.04, -0.02, -0.03, -0.03 Å). On a ainsi un renforcement des liaisons N1-C2, N3-C4, C6-N10, C5-N7, C8-N9, C6-N10 et un affaiblissement concomitant des liaisons doubles N1-C6, C2-N3, C4-C5 et N7-C8. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Improta *et al.*[56] avec B3LYP.

La Figure 3-3 présente les orbitales frontières de l'adénine sous ses formes neutre et cationique (a) et également les transferts électroniques durant l'ionisation (b). L'ionisation affecte principalement l'orbitale HOMO par libération d'un électron d'une chaine composée des atomes N1=C6-C5=C4-N9 et également de l'orbitale π des liaisons doubles C2-N3 ou N7-C8. Donc, on voit que par ionisation un électron est retiré de l'ensemble des atomes de l'adénine neutre. Aussi la densité de spin est délocalisée sur tout le cation adénine (Tableau 3-7).

Tableau 3-6 : Paramètres structuraux des formes neutres et du cation de l'adénine, distances (Å) et ordres de liaison (a.u.). Δl et Δbo correspondent les variations de longueur de la liaison et de l'ordre de liaison du neutre au cation.

	Longueur de la liaison			Ordre de la liaison		
	Neutre	Cation	Δl	Neutre	Cation	Δbo
N1-C2	1.346	1.322	-0.024	1.426	1.561	+0.135
C2-N3	1.342	1.383	+0.042	1.459	1.260	-0.199
N3-C4	1.341	1.308	-0.033	1.332	1.516	+0.185
C4-C5	1.403	1.433	+0.030	1.249	1.118	-0.131
C5-C6	1.413	1.437	+0.024	1.201	1.116	-0.085
C6-N1	1.349	1.359	+0.010	1.352	1.284	-0.067
C4-N9	1.381	1.391	+0.010	1.167	1.128	-0.039
C5-N7	1.388	1.344	-0.043	1.226	1.420	+0.194
N7-C8	1.318	1.352	+0.035	1.613	1.405	-0.208
C8-N9	1.381	1.356	-0.026	1.215	1.341	+0.125
C6-N10	1.356	1.329	-0.027	1.261	1.428	+0.167
C2-H11	1.092	1.091	-0.001	0.906	0.891	-0.016
C8-H12	1.086	1.087	+0.001	0.917	0.901	-0.016

Figure 3-3 : a) Orbitales moléculaires frontières de l'adénine neutre et son cation. b) Transfert électronique durant l'ionisation de l'adénine.



Il faut aussi remarquer que la charge positive de C8 (+0.504 a.u., voir Tableau 3-7) est en accord avec la réaction d'oxydation sur l'adénine[116] montrent que les attaques de OH^- ont lieu sur l'atome C8. Ces résultats confirment que l'arrachement d'un électron de l'orbitale HOMO de l'adénine neutre affaiblit les deux doubles liaisons C2-N3 et N7-C8.

Tableau 3-7 : Changements des charges atomiques de Mulliken (MPA) pour chaque atome et les densités de spin des atomes pour le cation de l'adénine.

	charge(MPA)			Densité du spin
	Neutre	cation	Δq	Cation
N1	-0.373	-0.297	+0.076	+0.015
C2	0.405	0.464	+0.059	+0.078
N3	-0.374	-0.270	+0.103	+0.167
C4	0.292	0.332	+0.041	+0.033
C5	0.076	0.147	+0.071	+0.179
C6	0.333	0.365	+0.032	+0.046
N7	-0.371	-0.298	+0.074	+0.068
C8	0.418	0.504	+0.085	+0.182
N9	-0.040	0.005	+0.046	+0.001
N10	0.046	0.179	+0.134	+0.267
H11	-0.161	-0.102	+0.059	-0.007
H12	-0.165	-0.105	+0.060	-0.013
H13	-0.039	0.013	+0.052	0.000

3.2.4. Guanine

Durant l'ionisation de la guanine, les plus grands changements de longueurs de liaison concernent les liaisons C2-N3, C4-C5, C5-C6, N7-C8 qui augmentent (0.05, 0.04, 0.02, 0.03Å) et les liaisons N3-C4, C5-N7, C8-N9, C2-N11 qui diminuent (0.04, 0.04, 0.02, 0.05Å). En effet, pendant l'ionisation, les liaisons doubles C2-N3, C4-C5 et N7-C8 sont affaiblies et les liaisons simples N3-C4, C5-N7 et C2-N11 sont renforcés (Tableau 3-8). Cette tendance au renforcement de la liaison C2-N11 et un affaiblissement concomitant de la liaison double C2-N3 correspond à la réaction de rétro Diels-Alders. Ce dernier est un facteur important pour la fragmentation de la guanine comme les autres bases d'ADN.

La Figure 3-4 présente les orbitales frontières de la guanine sous ses formes neutre et cationique (a) et les transferts électroniques durant l'ionisation (b). La densité de spin et le changement de la charge positive sont représentées dans le Tableau 3-9. L'analyse de la structure électronique et de l'orbitale HOMO de la guanine neutre est très similaire à celle de l'adénine. Les conclusions sont donc similaires à celles observés par l'adénine.

Tableau 3-8 : Paramètres structuraux des formes neutres et du cation de la guanine, distances (Å) et ordres de liaison (a.u.). Δl et Δbo correspondent les variations de longueur de la liaison et de l'ordre de liaison du neutre au cation.

	Longueur de la liaison			Ordre de la liaison		
	Neutre	Cation	Δl	Neutre	Cation	Δbo
N1-C2	1.371	1.361	-0.010	1.203	1.247	+0.045
C2-N3	1.316	1.361	+0.045	1.473	1.259	-0.214
N3-C4	1.359	1.317	-0.042	1.244	1.463	+0.219
C4-C5	1.402	1.441	+0.039	1.295	1.121	-0.173
C5-C6	1.442	1.461	+0.019	1.104	1.042	-0.063
C6-N1	1.445	1.447	+0.002	1.012	1.002	-0.010
C4-N9	1.373	1.378	+0.005	1.195	1.170	-0.024
C5-N7	1.383	1.341	-0.042	1.242	1.434	+0.192
N7-C8	1.314	1.343	+0.029	1.628	1.436	-0.192
C8-N9	1.385	1.367	-0.018	1.194	1.276	+0.083
C6-O10	1.226	1.212	-0.014	1.729	1.821	+0.091
C2-N11	1.386	1.335	-0.051	1.178	1.363	+0.185
C8-H12	1.086	1.087	+0.001	0.917	0.901	-0.016
N9-H13	1.015	1.019	+0.004	0.855	0.835	-0.020
N11-H14	1.017	1.015	-0.002	0.869	0.841	-0.028
N11-H15	1.018	1.018	+0.000	0.884	0.858	-0.026
N1-H16	1.019	1.022	+0.003	0.853	0.838	-0.016

Figure 3-4 : a) Orbitales moléculaires (MOs) de la guanine neutre et son cation. b) Transfert électronique durant l'ionisation de la guanine.

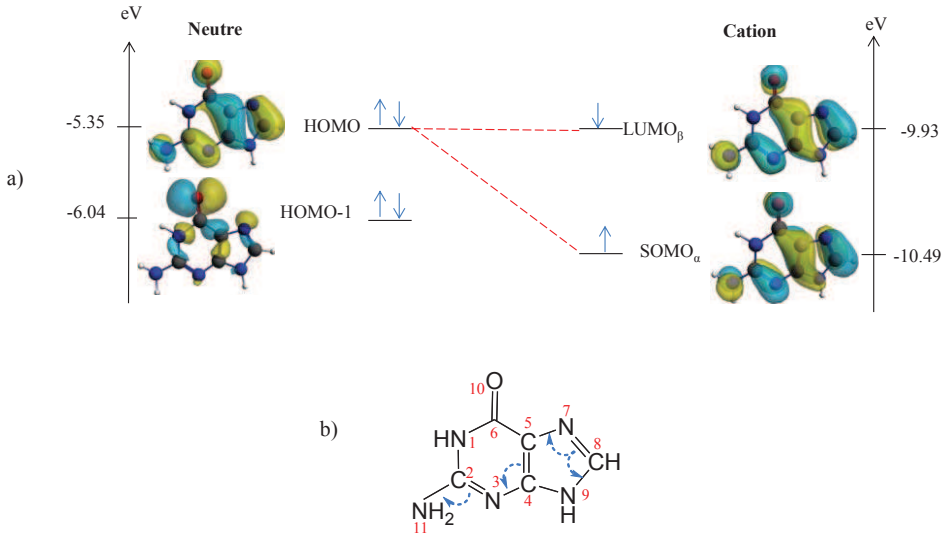


Tableau 3-9 : Les changements des charges atomiques de Mulliken (MPA) pour chaque atome et les densités de spin des atomes pour le cation de la guanine.

	charge(MPA)			Densité du spin
	Neutre	cation	Δq	Cation
N1	-0.166	-0.156	+0.011	-0.008
C2	0.513	0.514	+0.001	+0.027
N3	-0.401	-0.312	+0.089	+0.192
C4	0.251	0.306	+0.056	+0.077
C5	0.025	0.103	+0.078	+0.256
C6	0.520	0.564	+0.044	-0.025
N7	-0.322	-0.246	+0.076	+0.010
C8	0.394	0.488	+0.094	+0.270
N9	-0.034	-0.003	+0.031	-0.026
O10	-0.538	-0.411	+0.127	+0.136
N11	-0.108	0.120	+0.228	+0.117
H12	-0.150	-0.086	+0.064	-0.184
H13	-0.039	0.010	+0.049	+0.001
H14	0.028	0.043	+0.015	-0.004
H15	0.011	0.008	-0.003	-0.004
H16	0.016	0.056	+0.041	-0.000

Chapitre 4 : Fragmentation des bases de l'ADN et de l'ARN

Durant le processus de collision, une partie de l'énergie des particules est déposée sur les molécules. Cette énergie peut contribuer à ioniser la base, laissant ainsi la base ionisée dans des états excités dissociatifs (électroniques, cinétiques et/ou vibrationnels). Ces états sont responsables de la dissociation moléculaire. Les expériences indiquent que cette quantité d'énergie ne diffère pas significativement entre les différentes techniques d'ionisation (par protons ou faisceaux d'électrons ou des ions multi-chargés). De plus, cet excès d'énergie reste inférieur à la seconde énergie d'ionisation des bases, puisque aucun ion multi-chargés significatif n'est détecté. Cet excès d'énergie est toutefois suffisant pour permettre à la structure de franchir une barrière d'énergie entre deux fragments identifiés expérimentalement. Les chemins privilégiés seront ceux qui impliquent les plus faibles barrières d'énergie, alors que les plus hautes barrières mèneraient à des voies interdites si l'énergie déposée est insuffisante. Une analyse des mécanismes de fragmentation est donc d'un grand intérêt.

Les géométries des bases d'ARN, leurs radicaux cationiques et les fragments subséquents (radicaux et cations) ont été entièrement optimisées. Des calculs de fréquence ont été réalisés sur l'ensemble des structures optimisées et des états de transition identifiés par leur fréquence imaginaire unique. Il est également possible de calculer les diagrammes d'énergie libre, déduit des calculs de vibrations effectués pour chaque structure, donnant les énergies de point zéro et les valeurs d'entropie. Les ordres de liaison ont été calculés pour l'uracile neutre et ionisée avec le méthode Gopinathan-Jug[105] telle que transposée dans ADF10[93,95].

Cette même approche pourrait être appliquée à la thymine pour envisager toutes les bases de l'ADN, cependant les résultats escomptés sont sûrement très proches de l'uracile.

4.1. Uracile

L'uracile est l'une des quatre bases nucléiques canoniques de l'ARN pour lesquelles une très grande quantité de données expérimentales est maintenant disponible[20,25-29,32-36,42,44,48,109-112,120-124]. La fragmentation de l'uracile a été étudiée expérimentalement par spectroscopie de masse. Dans ces expériences, les ions ont été produits en phase gazeuse par impact de différents ions[20,25-28,32-36,42,112,122], par impact électronique [29,34,42-44] ou par impact de protons de différentes énergies[20,25-29,43,44,48]. La Figure 4-1 montre des spectres obtenus expérimentalement. Le spectre de masse de l'uracile est composé essentiellement de cinq pics importants qui sont plus ou moins attribués à des fragments excepté le pic à 42 Th pour lequel

plusieurs fragments possibles ont été proposés: NCO^+ (Denifl *et al.*)[42], $C_2H_4N^+$ (Imhoff *et al.*)[34] and $C_2H_2O^+$ (Jochims *et al.*)[47]. D'après les résultats expérimentaux, la principale voie de fragmentation du cation uracile correspond à l'extraction de l'acide isocyanique (HNCO, 43 Th) du cycle aromatique conduisant au fragment C_3H_3NO (69 Th) par le mécanisme de la réaction de rétro Diels-Alders[125,126] (Figure 4-2). Différents processus possibles ont été proposés concernant la formation du pic majeur observé à 42 Th et on peut ajouter que le mécanisme de la fragmentation de l'uracile n'est pas encore élucidé. L'étude théorique de la fragmentation de la thymine a été réalisée par Improta *et al.*[56] avec la fonctionnelle B3LYP.

Figure 4-1: Spectre de masse de l'uracile ($C_4H_4N_2O_2$, 112 Th).[20,28,29]

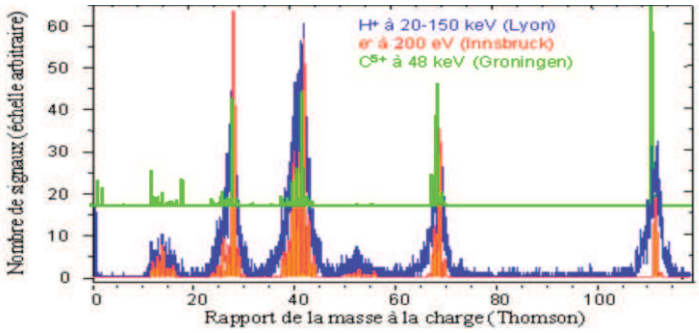
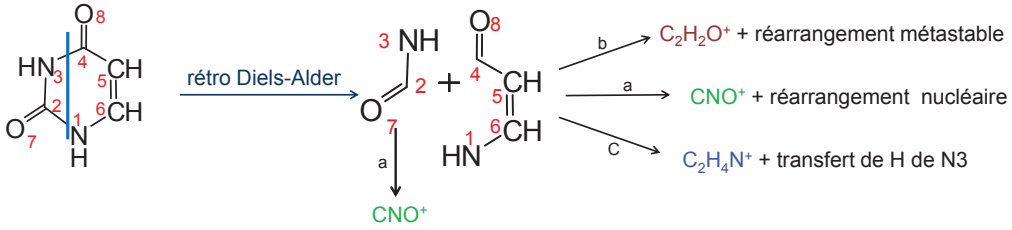


Figure 4-2: Mécanismes proposés pour le pic majeur à 42 Th : a correspond à ref [42], b correspond à ref [47] et c correspond à ref [34].



4.1.1. Fragmentation de l'uracile

Dans cette partie, notre attention est portée sur la structure électronique et les géométries du cation de l'uracile et de ses fragments. Les liaisons les plus prédisposées au clivage mises en évidence au chapitre 3 sont considérés ici, conduisant à des fragments d'ions et leurs homologues neutres associés.

Les schémas de fragmentation sont représentés sur les Figures 4-3 à 4-6, selon les ruptures des liaisons N1-C2, C5-C6, ou N3-C4, se produisant à la première étape de la fragmentation.

Les formes cationiques intermédiaires sont notées I1-n, I2-n, I3-n. Les structures impliquant des fragments faiblement couplés et parfois avec une liaison hydrogène sont décrites par F1-n, F2-n, F3-n, et les fragments finaux dissociés (isolés): DF1-n, DF2-n, DF3-n. L'option "-n" dénote le numéro de la voie de la dissociation. Enfin, les états de transition correspondants sont marqués TSi-j, selon la nature du fragment et son chemin de dissociation. ΔE et ΔG sont respectivement le minimum d'énergie électronique et d'énergie libre nécessaire à la formation d'un fragment. En général, cette énergie est exprimée par rapport à l'énergie libre de la base ionisée (cation), sinon, nous précisons par rapport à quel état.

4.1.1.1. Fragmentation initiale par rupture de N1-C2 (Figure 4-3)

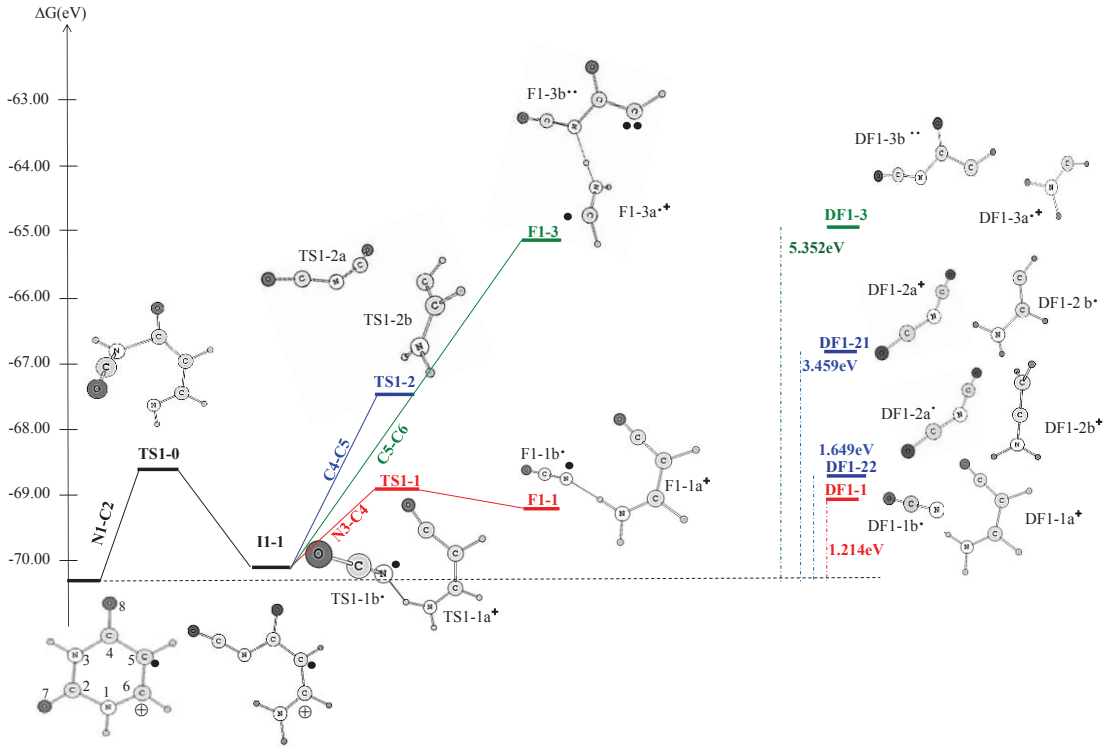
A partir du cation de l'uracile, la liaison N1-C2 est affaiblie, ce qui suggère d'étudier la rupture de cette liaison. Le cation d'uracile passe par un état de transition TS1-0 avec une énergie de ΔG =+1.710 eV et avec une longueur de liaison N1-C2 de 2.95 Å. Cet état n'est plus plan (C6C5C4N3=-11° et C5C4N3C2=86°). La longueur de la liaison N3-C4 a également augmenté significativement de 1.41 Å à 1.68 Å, tandis que celle de la C2-N3 diminué de 0.09 Å. De plus l'angle N3C2O7 devient presque plat (174°). Ces changements de géométrie indiquent que la liaison N3-C4 devient plus faible, tandis que la liaison C2-N3 est renforcée, en se rapprochant d'une double liaison.

Durant la relaxation de TS1-0 vers le premier intermédiaire (I1-1), la rupture de la liaison N1-C2 est concomitante au transfert d'un atome d'hydrogène à partir de N3 vers N1, conduisant à la formation d'un groupe amine. La structure produite est énergétiquement proche de celle du cation de l'uracile (ΔG=+0.228 eV). La distribution électronique montre que la charge positive est localisée sur les atomes C2, C4 et C6 (0.676, 0.508 et 0.434 a.u., respectivement). Les charges sur les atomes C2 et C4 sont principalement dues à la proximité des deux atomes électronégatifs. Au contraire, l'atome C6 est lié à un seul atome d'azote, et sa charge positive est principalement due à la charge globale du cation. La densité de spin est localisée sur l'atome C5 (0.570 a.u.). Ceci est attendu car la densité de spin du cation de l'uracile est déjà principalement située sur l'atome C5 (c.f. Tableau 3-2). A partir de ce premier état intermédiaire, trois chemins dissociatifs sont potentiellement accessibles pour le cation uracile tel que discutés ci-dessous.

4.1.1.1.1. Rupture de la liaison N3-C4 à partir d'I1-1(Figure 4-3)

Comme mentionné précédemment, la liaison N3-C4 est affaiblie et étirée jusqu'à 2.31 Å, de sorte qu'elle peut être facilement rompue conduisant à une réaction de rétro Diels-Alder (RDA). Cela conduit à TS1-1 (ΔG=+1.180eV au-dessus d'I1-1) avec deux fragments TS1-1b$^{\bullet}$ ($NCO^{\bullet}$) et le cation TS1-1a^{+} ($C_3H_4NO^{+}$) qui sont presque dissociés. En effet, le TS1-1b$^{\bullet}$ est impliqué dans une liaison hydrogène faible (d_{N3-H}=2.08 Å) avec le groupe amine de TS1-1a^{+}. La charge positive est entièrement localisée sur TS1-1a^{+} ($q_{TS1-1a^{+}}$=1.061a.u.) et la densité de spin est localisée sur l'atome N3 du fragment TS1-1b ($\sigma_{TS1-1b^{\bullet}(N3)}$=0.552 a.u.). Ceci est confirmé par la relaxation vers la structure F1-1 menant aux deux fragments : F1-1a^{+} ($q_{F1-1a^{+}}$=+0.942 a.u.) et F1-b$^{\bullet}$ ($\sigma_{F1-1b^{\bullet}(N3)}$=0.692a.u.). L'état F1-1a^{+} peut être décrit par deux formes conjuguées. Cet état final F1-1 est stabilisé avec ΔG=-0.274 eV par rapport à TS1-1 par une liaison hydrogène forte, N3-H=1.86 Å. Enfin, l'énergie des deux fragments isolés DF1-1a,b : $NCO^{\bullet}$ et $C_3H_4NO^{+}$ est seulement de ΔG=+1.214 eV. Ainsi, la fragmentation du cation DF1-1a^{+} peut s'effectuer par la rupture des liaisons C4-C5 ou C5-C6 ; c'est l'objet des paragraphes qui suivent.

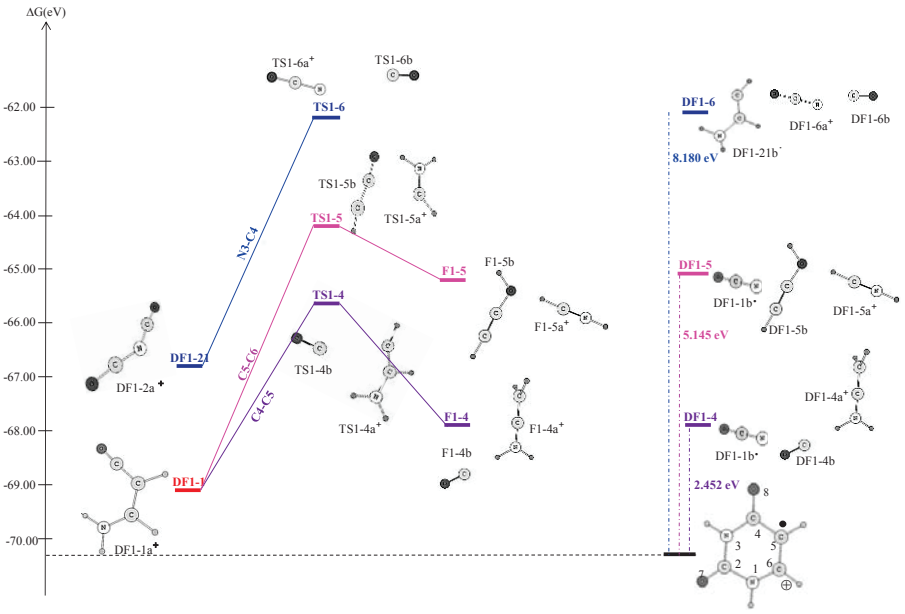
Figure 4-3 : Diagramme d'énergie libre (eV) qui correspond à la rupture de la liaison N1-C2 (noir) à partir du cation de l'uracile, suivie de celle de N3-C4 (rouge), C5-C6 (vert) ou C4-C5 (bleu). Les énergies et les structures à droite correspondent aux fragments isolés.



➢ ***Rupture de la liaison C4-C5 à partir du cation DF1-1a⁺(Figure 4-4)***

La rupture de la liaison C4-C5 conduit à deux fragments pratiquement formés dans le TS1-4 (ΔG=+4.848eV au-dessus de DF1-1) : TS1-4b (CO) et TS1-4a$^+$ ($C_2H_4N^+$, $q_{TS1\text{-}4a^+}$=+0.933 a.u.), comme illustré par la voie en violet dans les Figures 4-4. La relaxation de l'état de transition vers l'état final F1-4 montre une dissociation homolytique avec la formation du fragment chargé F1-4a$^+$ ($q_{F1\text{-}4a^+}$=0.875 a.u.). Cet état est stabilisé par un transfert de proton de C6 à l'atome C5. Alors que la liaison C4-C5 est rompue, la longueur des liaisons C5-C6 et C6-N1 diminue (-0.115 et -0.058 Å, respectivement) et l'angle C5C6N1 devient presque plat (178°). Ces changements de géométrie caractérisent la formation de doubles liaisons entre C5 et C6 et entre C6 et N1. Finalement, l'énergie de l'état DF1-4 formé de trois fragments DF1-1b$^•$, DF1-4b, DF1-4a$^+$ est de ΔG=+2.452 eV.

Figure 4-4 : Diagramme d'énergie libre (eV) correspondant à la rupture de la liaison C4-C5 de DF1-1a$^+$ (violet), de la liaison C5-C6 de DF1-1a$^+$ (rose), de la liaison N3-C4 de DF1-2a$^+$ (bleu).



➢ ***Rupture de la liaison C5-C6 à partir du cation DF1-1a⁺ (Figures4-4)***

La molécule dans l'état de DF1-1a peut également se dissocier en un second fragment nécessitant l'énergie de ΔG=+6.062 eV vie TS1-5. Cet état conduit à deux fragments presque dissociés: le neutre TS1-5b (C_2HO) et le cation TS1-5a$^+$ (CH_3N^+, $q_{TS1\text{-}5a^+}$= 0.772 a.u). La distance C5-C6 est 3.01 Å et une liaison hydrogène forte se trouve entre H-N1 et O8 ($d_{O\text{-}H}$ = 1.51 Å). Les modifications de géométrie indiquent que la double liaison C4-O8 initiale est convertie en une simple liaison, tandis que les liaisons C4-C5 et N1-C6 changent en doubles et triples liaisons, respectivement. Pendant la relaxation de TS1-5 à F1-5, la structure est

stabilisée (ΔG=-0.995 eV) par un transfert de proton de l'atome d'azote N1 à l'oxygène O8 et une liaison hydrogène forte entre le H-C6 et O8 (1.64 Å). En conséquence, cette voie de dissociation conduit à la production de deux fragments, F1-5b (C_2H_2O) et le cation F1-5a$^+$ (CH_2N^+; $q_{F1\text{-}5a^+}$=*0.879*a.u.). L'énergie des fragments isolés constituant les fragments DF1-1b$^\bullet$, DF1-5b et DF1-5a$^+$ est de ΔG=+5.145 eV.

4.1.1.1.2. Rupture de la liaison C4-C5 à partir d'I1-1 (Figure 4-3)

Dans l'état I1-1, la longueur de la liaison C4-C5 est 2.73 Å et la rupture de cette liaison conduit à un état de transition (TS1-2), située à ΔG=+2.583 eV au-dessus de l'intermédiaire I1-1, avec deux fragments TS1-2a (C_2NO_2) et TS1-2b (C_2H_4N). La charge positive est partagée presque symétriquement entre les deux fragments ($q_{TS1\text{-}1a}$:+0.594 a.u. et $q_{TS1\text{-}1b}$:+0.406 a.u.). Ces résultats suggèrent que les deux voies de fragmentation compétitives coexistent, la production de $C_2NO_2^+$ + C_2H_4N ou C_2NO_2 + $C_2H_4N^+$. En outre, il est également observé une augmentation de charge positive sur C4 à partir de I1-1 (Δq=+0.072 a.u.) alors qu'elle diminue sur l'atome C5 (Δq=-0.212 au). Ceci indique que la rupture de la liaison C4-C5 n'est pas homolytique, et une certaine densité électronique est transmise du fragment TS1-2a au fragment TS1-2b. La densité de spin est entièrement localisée sur C5 (0.972 a.u.), comme dans l'état d'I1-1. Ainsi, les deux distributions de charges possibles entre les fragments doivent être considérées. La relaxation de l'état de transition TS1-2 conduit à la reformation de la liaison C4-C5 et donc nous ne considérons pas cette partie. Au lieu de cela nous avons examiné directement les fragments dissociés dans DF1-21 ($C_2NO_2^+$ + C_2H_4N avec ΔG=+3.459eV) et DF1-22 (C_2NO_2 + $C_2H_4N^+$ avec ΔG=+1.649eV) pour lesquels la distribution de la charge est permutée. Le dernier (DF1-22) avec le fragment chargé $C_2H_4N^+$ (42 Th) est le plus stable, ce cation correspond au pic pas définitivement attribué lors des observations expérimentales[20,28,34,42,47]. Nous allons discuter la fragmentation de DF1-22 plus en détail ci-dessous.

- ***La rupture de la liaison N3-C4 à partir de DF1-21a$^+$ (Figure 4-4)***

Lorsque la liaison N3-C4 est étirée, la structure TS1-6 est obtenue à ΔG=+4.628 eV au-dessus DF1-21, la rupture de la liaison n'est pas homolytique et conduit aux fragments TS1-6a$^+$ (NCO^+, $q_{F1\text{-}6a^+}$=+0.638 a.u.) et TS1-6b (CO). Enfin, l'énergie des trois fragments dissociés dans l'état DF1-6 ($C_2H_4N^\bullet$, NCO^+ et CO) est de ΔG=+8.180 eV, soit environ +6 eV supérieure aux fragments DF1-1b$^\bullet$, DF1-4b and DF1-4a$^+$ dans DF1-4. En conséquence, la formation de cette dernière voie est énergétiquement favorable.

4.1.1.1.3. Rupture de la liaison C5-C6 à partir d'I1-1 (Figures 4-3)

Lorsque la liaison C5-C6 s'allonge, il n'y a pas d'état de transition. Nous observons un état final F1-3 (ΔG=+4.955eV au-dessus d'I1-1) comprenant les deux fragments obtenus F1-3a$^{\bullet+}$ ($NH_2CH^{\bullet+}$, $q_{F1\text{-}3a}{}^{\bullet+}$=+0.800a.u) et F1-3b$^{\bullet\bullet}$ ($C_3HNO_2{}^{\bullet\bullet}$) avec une liaison hydrogène entre deux fragments. Dans cet état, la distance de la liaison C5-C6 est 4.23 Å et l'atome d'hydrogène impliqué dans la liaison H se trouve plus proche de N1 de F1-3a$^{\bullet+}$ (1.12 Å) que de N3 de F1-3b$^{\bullet\bullet}$ (1.57 Å). La rupture de la liaison mène à une grande densité de spin α sur C5 de F1-3b$^{\bullet\bullet}$ (1.675 a.u.) et une faible densité de β sur C6 de F1-3a$^{\bullet+}$ (0.917 a.u.). On peut remarquer qu'avant la rupture de la liaison, un seul électron était situé sur C5. Les fragments dissociés (DF1-3) se trouvent à environ ΔG=+5.352 eV, soit une valeur sensiblement plus élevée que DF1-2 ou DF1-1. En conséquence, cette voie de dissociation peut être exclue.

4.1.1.2. Fragmentation initiale par la rupture C5-C6 (Figure 4-5)

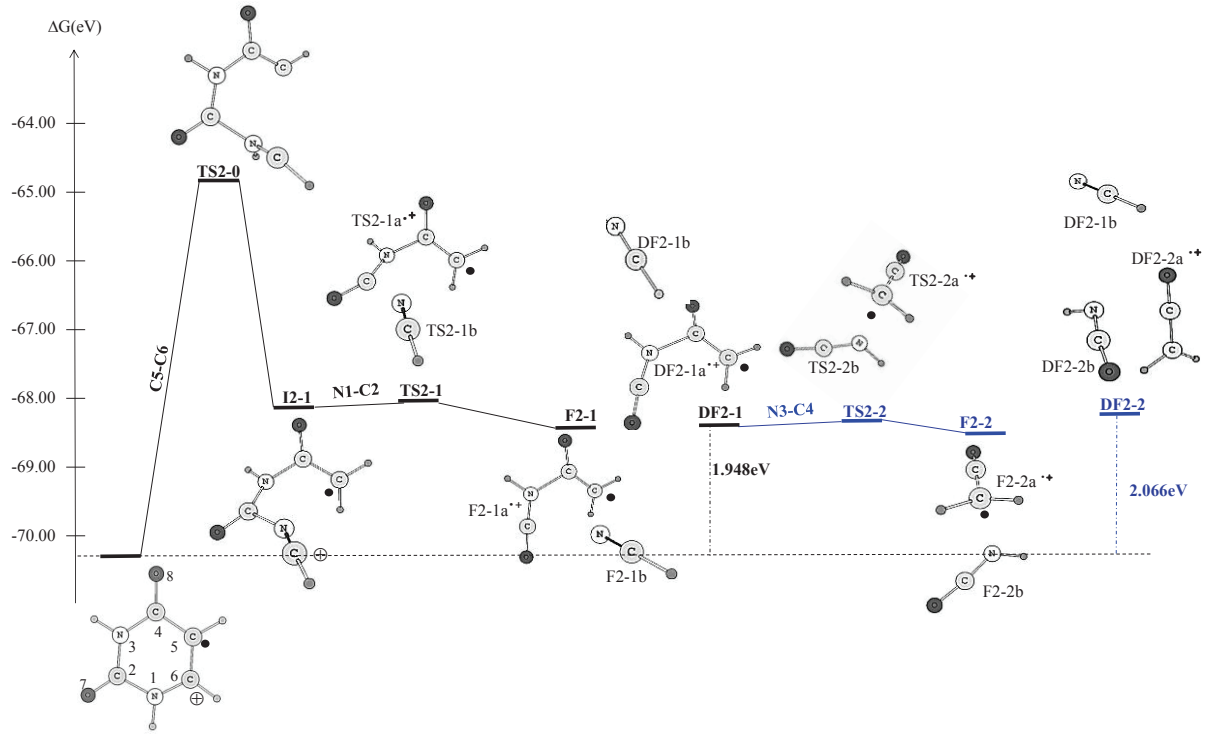
Nous avons montré que l'affaiblissement de la liaison C5-C6 est susceptible d'entraîner une dissociation de la molécule d'uracile ionisée par la rupture de cette liaison. Comme le montrent les Figures 4-5a,b, cette rupture conduit à un état de transition TS2-0 (ΔG=+5.459 eV) avec une longueur de la liaison C5-C6 de 3.48 Å. Le groupe de HN1C6H bascule vers l'extérieur par rapport au plan du cation uracile avec des angles dièdres N3C2N1C6 (118°) et C4N3C2N1 (8°) et la longueur de liaison N1-C2 augmente à partir de 1.45Å à 1.56Å. Une grande densité de spin α sur C5 (1.522 a.u.) est couplée à une densité de spin β sur C6 (-0.782 a.u.). Ceci n'est pas trop surprenant puisque le spin est déjà localisé sur l'atome C5 dans le cation de l'uracile, le clivage de la liaison C5-C6 est donc homolytique.

Au cours de la relaxation de l'état de transition TS2-0 à l'état intermédiaire I2-1 (ΔG=-3.208eV ci-dessous TS2-0) un atome d'hydrogène est transféré de N1 à C5. Alors que la liaison N1-C2 devient plus faible (la longueur de la liaison augmente jusqu'à 1.74 Å), la liaison initiale de N1-C6 devient plus forte et forme une double liaison. Dans cet état intermédiaire, la charge positive est délocalisée sur différents atomes : C2, C4 et C6 respectivement 0.670, 0.489 et 0.495 a.u.. En outre, la densité de spin est localisée sur C5 (0.830 a.u.).

L'état de transition TS2-1 (ΔG=+0.023 eV au-dessus d'I2-1) est atteint avec une augmentation simultanée des longueurs de liaison C5-C6 et N1-C2. Cela montre que la liaison N1-C2 subit une dissociation à un coût énergétique minimum menant à deux fragments TS2-1a$^{\bullet+}$

($C_3H_3NO_2^+$, $q_{TS2\text{-}1a\bullet+}$=+0.682 a.u.) et TS2-1b (HCN). La densité de spin est située sur l'atome C5 du fragment TS2-1a ($\sigma_{TS2\text{-}1a\bullet+(C5)}$=0.822 a.u.). Dans l'état F2-1, la distribution de charge est restée quasiment inchangée à la charge positive entièrement localisée sur le fragment F2-1a$^{\bullet+}$ ($q_{F2\text{-}1a\bullet+}$=+0.962 a.u.) et la plus forte densité de spin est localisé sur C5 ($\sigma_{F2\text{-}1a\bullet+(C5)}$=0.821 a.u.). En outre, alors que la longueur de la liaison N3-C4 augmente à 1.68 Å, C2-N3 acquiert un caractère de double liaison. Cette dernière conduit à une relaxation de la structure assez faible avec les fragments obtenus uniquement à ΔG=+1.922 eV. Enfin l'énergie des deux fragments isolés DF2-1a$^{\bullet+}$ et DF2-1b est légèrement plus élevée, soit ΔG=+1.948 eV.

Figure 4-5 : Diagramme d'énergie libre (eV) qui correspond à la rupture de la liaison C5-C6 (noir) à partir du cation de l'uracile, suivie de celle de N1-C2 (noir), et suivie de N3-C4 (bleu).



En raison de l'affaiblissement de la liaison N3-C4, nous nous sommes intéressé à la rupture de cette liaison. En TS2-2 (ΔG=+0.065 eV par rapport à DF2-1), la longueur de la N3-C4 augmente jusqu'à 2.26 Å, ce qui correspond à la distance entre les deux fragments presque dissociées : TS2-2a$^{\bullet+}$ ($C_2H_2O^+$, $q_{TS2\text{-}2a\bullet+}$=+0.788 a.u.) et TS2-2b (CHNO). La densité de spin reste localisée sur l'atome C5 de TS2-2a$^{\bullet+}$ ($\sigma_{TS2\text{-}2a\bullet+(C5)}$=0.789 a.u.). La relaxation confirme une rupture non homolytique de la liaison N3-C4 menant au fragment F2-2a$^{\bullet+}$ ($C_2H_2O^+$, $q_{F2\text{-}}$

$_{2a^{\bullet+}}$=+0.726 a.u., $\sigma_{F2\text{-}2a^{\bullet+}(C5)}$=0.531 a.u.). Dans l'état final de F2-2, les deux fragments F2-2a$^{\bullet+}$ et F2-2b sont stabilisés par une liaison hydrogène entre N3 et H-C5 (2.71 Å). L'énergie de l'état dissocié DF2-2 avec trois fragments DF2-1b, DF2-2a$^{\bullet+}$, DF2-2b est de ΔG=+2.066 eV.

4.1.1.3. Fragmentation initiale par la rupture N3-C4 (Figure 4-6)

La rupture de la liaison N3-C4 a été réalisée dans le but : ***i***. de déterminer la liaison la plus faible entre N1-C2 (Fig. 4-3) et N3-C4 (Fig. 4-6), ***ii***. d'examiner si la rupture de la liaison N3-C4 conduit aux mêmes produits que celle de la liaison N1-C2, et ***iii.*** de procéder à une réaction de rétro Diels-Alder du cation de l'uracile. L'allongement de la liaison N3-C4 conduit à l'état de transition (TS3-0) situé à ΔG=+1.627eV. Pour cet état, les atomes N3 et O7 sont extérieur au plan moléculaire (N3C2N1C6=-87°, O7C2N1C6=84°). De plus, la liaison C4-C5 devient plus forte (Δd=-0.08 Å) formant ainsi une double liaison. La densité de spin qui est localisée sur l'atome N3 ($\sigma_{TS3\text{-}0(N3)}$=0.672 a.u.) montre que la rupture de la liaison N3-C4 est homolytique.

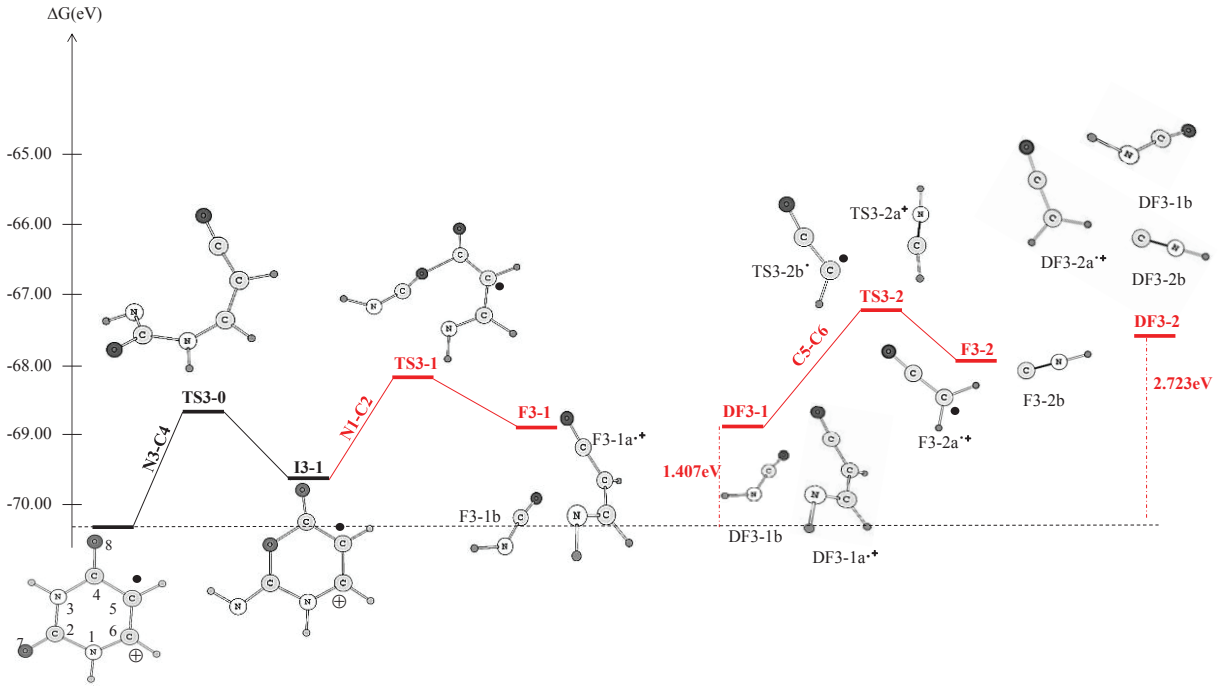
Un nouveau cycle hexagonal est formé dans l'état intermédiaire I3-1 avec la rotation autour de la liaison N1-C2. Dans cette structure, les longueurs de liaison C4-C5 et C2-O7 ont augmenté respectivement de +0.10 Å et +0.11 Å, et la longueur de la liaison C2-N3 diminue de -0.03 Å. Ces changements illustrent le fait que les liaisons C4-C5 et C2-O7 deviennent des liaisons simples alors que la liaison C2-N3 devient une double liaison. Dans I3-1 (ΔG=+0.901eV), la charge positive est délocalisée sur les atomes C2, C4, C6 respectivement 0.653, 0.633 et 0.405, et la densité de spin est localisée sur C5 (0.450 a.u.).

A partir de l'état I3-1, l'augmentation de la distance N1-C2 à 2.24 Å amène le système moléculaire dans l'état de transition TS3-1 (ΔG=+1.384eV au-dessus de I3-1) avec la densité de spin localisée sur C5 ($\sigma_{TS3\text{-}1(N3)}$=0.638 a.u.). Dans cet état de transition, la liaison C4-O7 est également rompue et la distance augmente à 1.71 Å. La relaxation vers F3-1 mène à deux fragments F3-1a$^{\bullet+}$ (C_3H_3NO, $q_{F3\text{-}1a^+}$=+0.725 a.u.) et F3-1b (CHNO). La densité de spin est délocalisée sur l'atome N1 (0.403 a.u.) et C5 (0.623 a.u.). L'énergie des deux fragments isolés DF3-1a$^{\bullet+}$ et DF3-1b par rapport au cation uracile est de ΔG=+1.407eV.

A partir de l'état de F3-1, la rupture de la liaison C5-C6 conduit à l'état de transition TS3-2 (ΔG=+1.690eV au-dessus DF3-1). Les deux fragments sont formés: TS3-2a$^+$ (CH_2N^+, $q_{TS3\text{-}2a^+}$=+0.887 a.u., $\sigma_{TS3\text{-}2b^{\bullet}(C5)}$=0.744 a.u.) et TS3-2b$^{\bullet}$($C_2HO$). La longueur de la liaison N1-C6

diminue de 0.17 Å indiquant la formation d'une double liaison en N1-C6 durant la relaxation vers F3-2, la structure est stabilisée par seulement ΔG=-0.728eV même si un proton est transféré à partir de C5 à C6, ce qui conduit à deux fragments: F3-2a$^{\bullet+}$ ($C_2H_2O^{\bullet+}$, $q_{F3\text{-}2a\bullet+}$=+0.820 a.u., $\sigma_{F3\text{-}2a\bullet+(C5)}$=0.791a.u.) et F3-2b (HNC). L'énergie des trois fragments dissociés, DF3-1b, DF3-2a$^{\bullet+}$, DF3-2b est de ΔG = 2.723 eV.

Figure 4-6 : Diagramme d'énergie libre (eV) qui correspond à la rupture de la liaison N3-C4 (noir) à partir du cation de l'uracile, suivie de celle de N1-C2 et C5-C6 (rouge).



Les énergies libres des ruptures de liaisons sont reportées dans le Tableau 4-1. Tous les énergies libres sont abaissés contrairement aux valeurs d'énergie électronique d'environ -0.1 à -0.3 eV pour la liaison N1-C2, -0.3 à -0.5 eV pour la liaison C5-C6, de -0.1 à -0.4 eV pour la liaison N3-C4, et réduit par de plus grandes valeurs absolues pour les ruptures des liaisons suivantes (Tableau 4-1). En effet, une diminution importante de l'énergie libre est obtenue pendant la dissociation en deux fragments, en raison de l'augmentation de l'entropie. Les énergies libres nécessaires à la formation d'un fragment donné peuvent être trouvées dans le Tableau 4-2 et sur la Figure 4-7.

Tableau 4-1: Changements de l'énergie électronique (ΔE), de l'enthalpie (ΔH) et de l'énergie libres (ΔG), en eV, pour tous les états par rapport au cation de l'uracile.

		ΔE	ΔH	ΔG	ΔG-ΔE
scan N1-C2 Fig. 4-3	U+	0.000	0.000	0.000	0.000
	TS1-0	1.945	1.817	1.710	-0.235
	I1-1	0.361	0.336	0.228	-0.134
	TS1-1	1.665	1.568	1.408	-0.258
	F1-1	1.453	1.386	1.134	-0.319
	DF1-1	1.935	1.805	1.214	-0.721
	TS1-2	3.198	3.063	2.811	-0.387
	DF1-22	2.501	2.306	1.649	-0.852
	DF1-21	4.286	4.111	3.459	-0.827
	F1-3	5.655	5.421	5.183	-0.472
	DF1-3	6.248	6.000	5.352	-0.896
scan DF1-1 Fig. 4-4	TS1-4	5.806	5.436	4.658	-1.148
	F1-4	3.420	3.174	2.453	-0.967
	DF1-4	3.816	3.510	2.452	-1.363
	TS1-5	7.059	6.679	6.062	-0.997
	F1-5	6.065	5.730	5.068	-0.997
	DF1-5	6.709	6.311	5.145	-1.564
scan DF1-21 Fig. 4-4	TS1-6	9.247	8.914	8.087	-1.160
	DF1-6	9.741	9.350	8.180	-1.562
scan C5-C6 Fig. 4-5	TS2-0	5.783	5.543	5.459	-0.324
	I2-1	2.585	2.434	2.251	-0.334
	TS2-1	2.611	2.429	2.275	-0.337
	F2-1	2.393	2.218	1.922	-0.470
	DF2-1	2.964	2.679	1.948	-1.016
	TS2-2	3.124	2.785	2.013	-1.110
	F2-2	2.923	2.591	1.843	-1.080
	DF2-2	3.670	3.265	2.066	-1.604
Scan N3-C4 Fig. 4-6	TS3-0	1.804	1.694	1.627	-0.177
	I3-1	0.797	0.747	0.726	-0.071
	TS3-1	2.369	2.208	2.111	-0.258
	F3-1	1.839	1.700	1.438	-0.401
	DF3-1	2.290	2.033	1.407	-0.883
	TS3-2	4.202	3.849	3.097	-1.105
	F3-2	3.451	3.117	2.370	-1.081
	DF3-2	4.328	3.927	2.723	-1.605

Figure 4-7 : Schéma de formation des fragments chargés sous forme Lewis, avec le rapport de *m/z* et l'énergie libre nécessaires à leur formation.

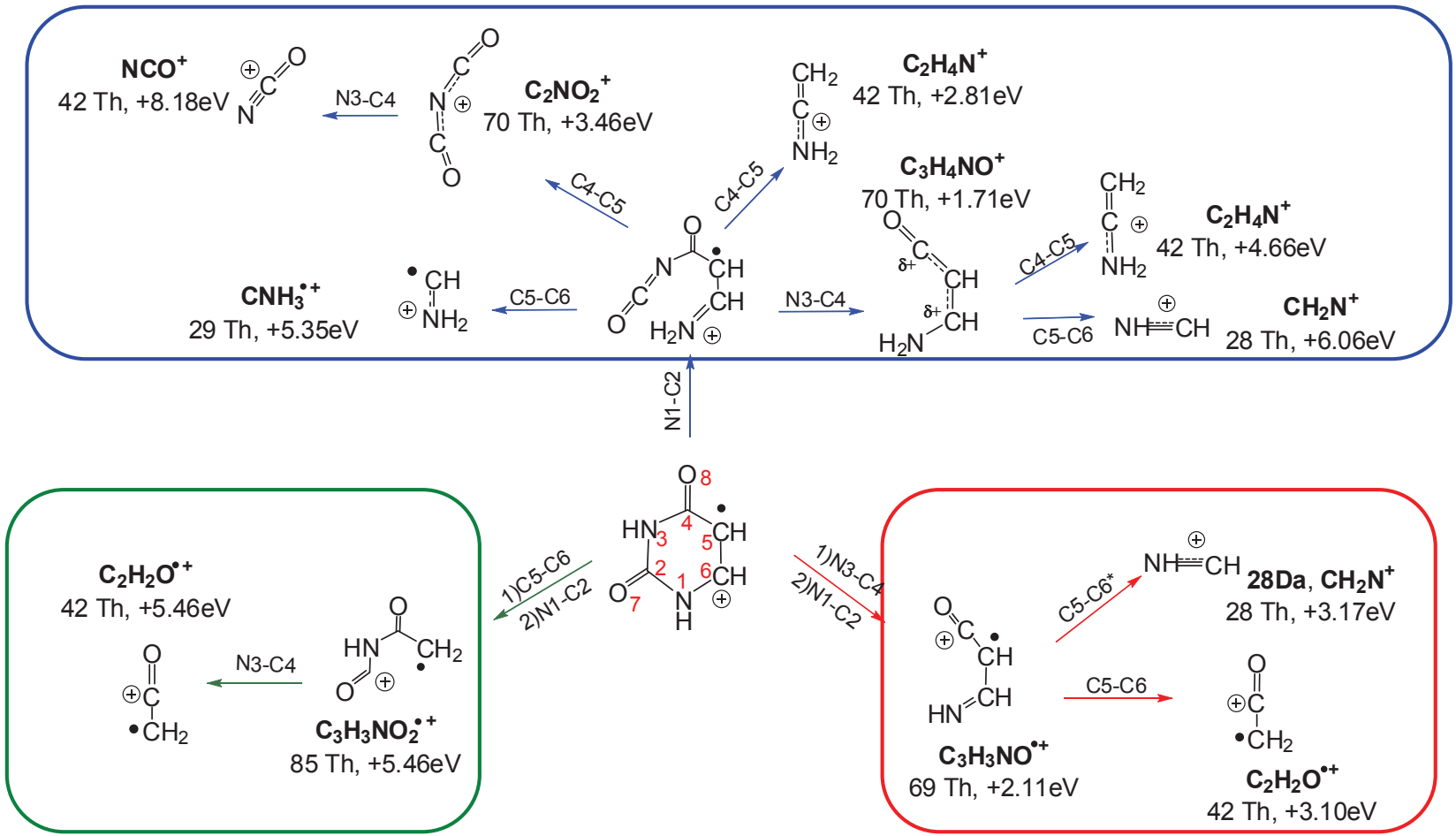


Tableau 4-2 : Fragments chargés obtenus à partir des différentes ruptures qui dans les fragments dissociés DFX-X. *m/z* (Th) est le rapport entre la masse sur la charge des fragments chargés, ΔE et ΔG (eV) sont les énergies électronique et libre nécessaires pour la formation des fragments chargés et neutres isolés. Les pics expérimentaux ont été obtenus (*m/z*: Th) par impact de protons par Tabet *et al.* [20,28](20-150 eV), par impact d'électrons par Denifl *et al.* (70 eV)[42] et par photo-ionisation 20 eV par Jochims *et al.*[47].

		Résultats théorique			Observations expérimentales		
m/z	Fragments dissociés	ΔE	ΔG	Fragments chargés	Tabet *et al.*[20,28]	Denifl *et al.*[42]	Jochims *et al.*[47].
					111-112 (U^+)	112 (U^+)	112 (U^+)
85	DF2-1	5.783	5.459	$C_3H_3NO_2^{\bullet+}$			
70	DF1-21	4.286	3.459	$C_2NO_2^+$	69($C_3H_3NO^+$) 68 ($C_3H_2NO^+$)	69($C_3H_3NO^+$) 68 ($C_3H_2NO^+$)	70($C_3H_4NO^+$) weak 69($C_3H_3NO^+$)
69	DF3-1	2.369	2.111	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	67 (C_3HNO^+)		68 ($C_3H_2NO^+$)
70	DF1-1	1.945	1.71	$C_3H_4NO^+$			
42	DF1-6	9.741	8.18	OCN^+	43($OCNH^+$) 42($C_2H_2O^+$, OCN^+)	43($OCNH^+$) 42(OCN^+)	44 weak 43($OCNH^+$)
42	DF2-2	5.783	5.459	$C_2H_2O^{\bullet+}$	41(C_2HO^+, $C_2H_3N^+$)	41(C_2HO^+, $C_2H_3N^+$)	42($C_2H_2O^+$)
42	DF1-4	5.806	4.658	$C_2H_4N^+$	40($C_2H_2N^+$)		41(C_2HO^+, $C_2H_3N^+$)
42	DF3-2	4.328	3.097	$C_2H_2O^{\bullet+}$	39 (C_2HN^+)		40(C_2H_2N+)
42	DF1-22	3.198	2.811	$C_2H_4N^+$			39 weak
28	DF3-3	4.781	3.166	CNH_2^+	28(CH_2N^+, CO^+) 27(CHN^+)	28(CH_2N^+, CO^+) 27(CHN^+)	29(NH_2CH+, HCO^+) 28(CH_2N^+)
28	DF1-5	7.059	6.062	CNH_2^+	26($C_2H_2^+$)		27(CHN^+)
29	DF1-3	6.248	5.352	$CNH_3^{\bullet+}$			26($C_2H_2^+$)

4.1.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux

Les cations issus de la fragmentation correspondant aux pics observés dans les spectres de masse (Figure 4-1) ont été présentés dans le Tableau 4-2 et la Figure 4-7. Le premier pic correspond au cation d'uracile à 112 Th. Le pic suivant autour de 68 Th a été attribué par tous les expérimentateurs à des dérivés de $C_3H_2NO^+$ [20,28,34,42,47]. Le pic à environ 42 Th a été attribué à différents fragments par les trois types d'impact : NCO^+, $C_2H_2O^+$ et $C_2H_4N^+$ (voir Figure 4-2). De même, le pic à 28 Th peut représenter des dérivés CH_2N^+, CO^+. Bien que des incertitudes demeurent concernant ces données, on peut remarquer que toutes les techniques expérimentales ne produisent pas des pics simples à une valeur *m/z* donnée, mais montrent des pics plus larges comprenant des valeurs consécutives. Étant donné que ces valeurs diffèrent de 1 Th, différents dérivés pour un fragment donné peuvent être facilement proposés dans un domaine du spectre de masse et correspondre à la perte d'un atome d'hydrogène, comme indiqué dans le Tableau 4-2 pour les fragments expérimentalement proposés. En effet, l'impact d'un électron ou un proton affecte à la fois le nuage électronique et les atomes légers de la molécule et l'énergie déposée peut provoquer la perte de quelques atomes d'hydrogène. Par conséquent, dans notre étude, les fragments obtenus théoriquement seront également pris en compte dans leurs formes dérivées possibles.

Nous discuterons des différents chemins de fragmentation en commençant par ceux produisant les fragments les plus lourds.

D'un point de vue théorique, les différents fragments chargés caractérisés dans la présente étude sont présentés dans le Tableau 4-2 et la Figure 4-7. Le plus lourd fragment, suite au cation d'uracile, est l'ion $C_3H_3NO_2^{\bullet+}$ avec *m/z*= 85 Th, toutefois cette espèce n'a pas été observée expérimentalement, comme représenté sur la Figure 4-1. Etant donné que la barrière d'énergie libre pour la formation de ce produit est relativement élevée, 5.46 eV (Tableau 4-2 et Figure 4-7), ces résultats suggèrent que ce fragment peut ne pas être formé. Une alternative serait que le cation $C_3H_3NO_2^{\bullet+}$ ait une durée de vie courte (plus court que le temps de détection, ~µsec) de sorte qu'il pourrait subir une dissociation rapide en fragments plus légers. Dans ce cas, la sous-espèce la plus raisonnable serait attribué à *m/z*=42 Th (i.e. $C_2H_2O^{\bullet+}$), comme illustré dans les Figure 4-4 et 4-7. En effet, de par l'existence d'une faible énergie libre entre le DF2-1 et l'état TS2-2 (ΔG=+0.065 eV), $C_3H_3NO_2^{\bullet+}$ peut immédiatement se dissocier en $C_2H_2O^+$ et son homologue neutre associé. Ce fragment a également été proposé par Jochims *et al.*[47] à partir de leurs expériences de photo-ionisation. Toutefois, ils ont proposé

une réaction de rétro Diels-Alder suivie d'un réarrangement nucléaire nécessaire à la formation de $C_2H_2O^+$. Dans notre résultat, $C_2H_2O^+$ n'implique pas un réarrangement mais trois ruptures de liaisons consécutives : C5-C6, N1-C2 et N3-C4. Ainsi, nous avons mis en évidence un nouveau mécanisme.

Les fragments suivants correspondent à *m/z*=68-70 Th avec seulement un pic très faible à 70 Th (voir Tableau 4-2). Le cation le plus lourd à 70 Th peut a priori être attribué au cation $C_2NO_2^+$ produit par rupture des liaisons N1-C2/C4-C5 ou au cation $C_3H_4NO^+$ par rupture des liaisons N1-C2/N3-C4 (voir Figure 4-3 et 4-7). Le premier nécessite une énergie libre plus élevée que le deuxième (1.7 eV), ce qui suggère que la formation du fragment $C_2NO_2^+$ est moins probable (ΔG=+3.5 eV). Il est également intéressant de noter que le fragment $C_2NO_2^+$ n'est pas signalé dans les études expérimentales par impact d'électrons , de protons ou d'ions lourds[20,28,42] (Tableau 4-2). Ainsi, le signal faible observé à *m/z*=70 Th dans les expériences de photo-ionisation[47] est susceptible d'être attribué au cation $C_3H_4NO^+$. En outre, on peut proposer qu'il peut facilement se dissocier en perdant un ou deux atomes d'hydrogène, conduisant à $C_3H_3NO^+$ et $C_3H_2NO^+$, respectivement, c'est-à-dire la production du pic à 69 Th et 68 Th. $C_3H_3NO^+$ peut aussi être formé à partir des ruptures de liaison N3-C4/N1-C2 correspondant également à la réaction de rétro Diels-Alder nécessitant relativement peu d'énergie libre (ΔG=+2.1 eV). Pour résumer, les pics à 68-70 Th peuvent représenter les dérivés $C_3H_4NO^+$ avec une probabilité plus grande que pour $C_2NO_2^+$.

Les fragments prédits à 42 Th peuvent être attribués à des fragments provenant de cinq ruptures différentes, et parmi elles, l'une menant au cation isocyanique NCO^+. Il peut être formé par la rupture de la liaison N3-C4 à partir du cation $C_2NO_2^+$. Cependant, comme discuté ci-dessus, la formation du fragment $C_2NO_2^+$ n'est pas très probable, et celle de la NCO^+ nécessite une énergie libre de plus de 8 eV. Une alternative serait que le pic à 42 Th soit attribué au fragment $C_2H_4N^+$ et/ou $C_2H_2O^{\bullet+}$, chacun pouvant être formé par deux voies différentes de fragmentation (Figure 4-7). Il faut signaler que Zhou *et al.*[57] n'ont pas trouvé le fragment $C_2H_4N^+$ par des calculs MP2. Le cation $C_2H_4N^+$ dans notre travail pourrait être formé par rupture des liaisons :

- N1-C2/C4-C5 (ΔG=+2.8 eV), et apparaît donc comme une voie facilement accessible de dissociation;
- N1-C2/N3-C4/C4-C5 qui est plus coûteuse en énergie (ΔG=+4.7 eV).

Au contraire, le radical cationique $C_2H_2O^{\bullet+}$ peut être formé par rupture des liaisons

- C5-C6/N1-C2/N3-C4, ce qui nécessite une énergie de 5.5 eV, cependant dans la première étape de ce chemin (discuté ci-dessus) le fragment intermédiaire n'est pas observé expérimentalement ;
- N3-C4/N1-C2/C5-C6 qui coûte 3.1 eV.

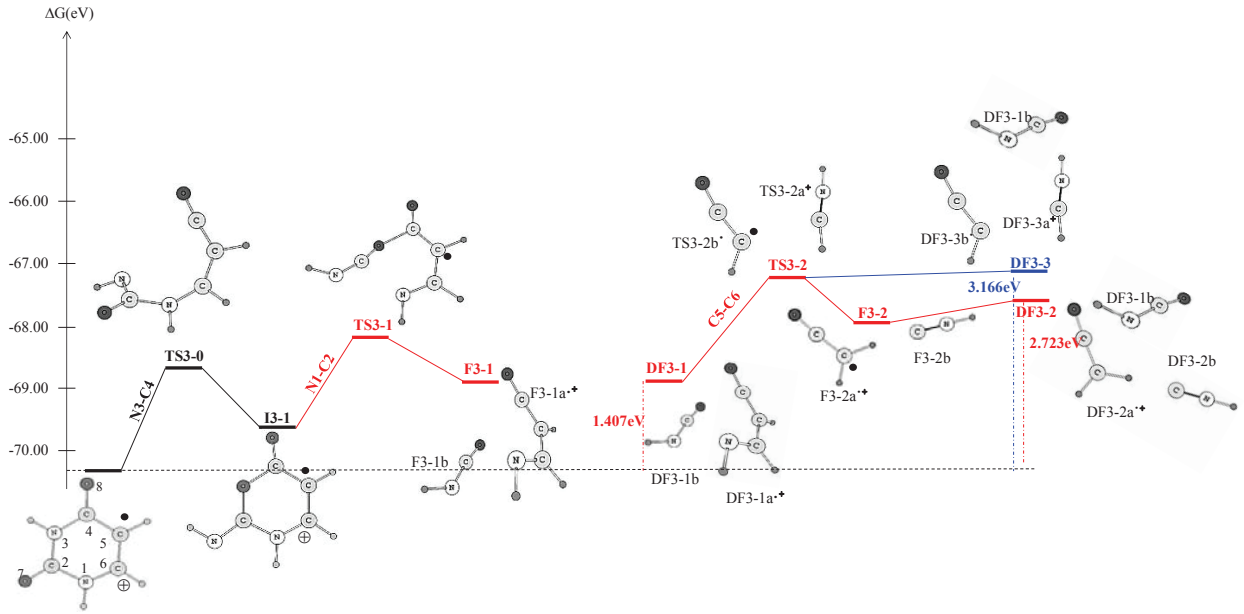
Dans toutes ces voies, les ruptures des liaisons sont les mêmes mais s'effectuent dans un ordre différent. La voie la plus plausible menant au cation $C_2H_4N^+$ n'est cependant pas le résultat d'une réaction de rétro Diels-Alder. La réaction de rétro Diels-Alder par rupture N1-C2/N3-C4 conduisant à $C_2H_4N^+$ nécessite 4.7 eV. Cependant le radical cationique $C_2H_2O^{\bullet+}$ peut être formé à partir de la réaction de rétro Diels-Alder (N3-C4 et N1-C2 suivies de C5-C6) avec une énergie de 3.1 eV. De plus, le fragment intermédiaire $C_3H_3NO^{\bullet+}$, a été prévu pour être un bon candidat pour le pic à 69 Th. En conséquence, la séquence ci-dessous résume les voies possibles pour la production des fragments à 42 Th selon les énergies : $C_2H_4N^+$ (N1-C2/C4-C5) > $C_2H_2O^{\bullet+}$ (N3-C4/N1-C2/C5-C6) > $C_2H_4N^+$ (N1-C2/N3-C4/C4-C5) > $C_2H_2O^{\bullet+}$ (C5-C6/N1-C2/N3-C4) > NCO^+ (N1-C2/C4-C5/N3-C4). Ainsi il est très probable que les fragments à 42 Th observés expérimentalement[20,28,34,42,47] sont un mélange des cations $C_2H_4N^+$ et $C_2H_2O^{\bullet+}$, et il est important de noter que l'ordre de rupture des liaisons ne conduit pas nécessairement aux mêmes fragments, comme indiqué par la formation de NCO^+ et $C_2H_4N^+$.

Le dernier pic que nous avons examiné est à 29 Th pour laquelle nous prévoyons les fragments CNH_3^+ (29 Th) et CNH_2^+ (28 Th). Ces deux fragments dérivés CNH_2^+ sont formés suivant un chemin différent. Le cation CNH_3^+ peut être formé par rupture des liaisons N1-C2 et C5-C6 nécessitant 5.4 eV, tandis que le cation CNH_2^+ est produit par rupture des liaisons N1-C2, N3-C4 et C5-C6 nécessitant 6.1 eV. Bien que les dérivés CNH_2^+ soient de bons candidats pour le pic à 28 Th, le premier chemin, C5-C6 est le plus plausible énergiquement. D'autre part, il faut noter que si la deuxième voie est suivie, cela confirmerait l'existence des dérivés $C_3H_3NO^+$ qui peuvent représenter le pic à 69 Th.

Bien que la plupart des expérimentateurs ont proposé les cations CH_3N^+ et HCO^+ pour le pic peu intense à 29 Th, la formation du cation $CH_3N^{\bullet+}$ (DF1-3, 29 Th) n'est pas très difficile avec une énergie de ΔG=+5.352 eV. Par contre, pour le pic très intense à 28 Th, on obtient le fragment CH_2N^+ par la fragmentation initiale (DF1-5) avec une énergie de ΔG=+6.062 eV un peu plus haute que pour $CH_3N^{\bullet+}$ (DF1-3, 29 Th). Les fragments HCO^+ [47] et CO^+ [20,28,34,42,48] ont été également proposés pour le pic à 29 Th et à 28 Th, mais nous n'avons obtenu que le

fragment CO neutre par notre calcul. Nos résultats ne peuvent donc pas prédire une relation claire entre les intensités des pics à 28-29 Th et les énergies calculées pour les fragments correspondants à ces pics. Ainsi, nous avons décidé d'explorer de nouveau l'analyse de la liaison C5-C6 à partir du fragment DF3-1 qui a été effectuée dans notre étude précédente. On voit qu'à partir de l'état de transition (TS3-2, Figure 4-5) le fragment CH_2N^+ est présent avec une distance de 2.80 Å à $C_2HO^\bullet$, et qu'un transfert de protons conduisant à HCN se produit au cours de la relaxation du complexe. Cependant, après le dépôt d'énergie où la liaison C5-C6 est rompue par l'impact, on peut supposer que les fragments s'éloignent et que le proton n'est pas transféré. De cette façon, les fragments CH_2N^+ et $C_2HO^\bullet$ sont formés dans DF3-3 et le cation à 28 Th est formé avec une énergie libre de +3.116 eV (voir la Figure 4-8). La formation du fragment à 28 Th est donc plus facile que celui à 29 Th, ce qui est en accord avec les intensités des pics. Cela montre qu'il faut être prudent avec la relaxation à la formation du complexe après une rupture de la liaison.

Figure 4-8 : Diagramme d'énergie libre (eV) qui correspond à la rupture de la liaison C5-C6 (noir) à partir du cation de l'uracile suivie de celle de N1-C2 et N3-C4 (rouge). Le chemin bleu correspond à élonger deux fragments obtenus à partir de l'état de transition TS3-2 conduisant au cation CH_2N^+ (28 Th).



4.2. Cytosine

La fragmentation de la cytosine a été étudiée expérimentalement en phase gazeuse par photoionisation[127,128], impact d'électrons[43,49,50] et impact de protons[20,26,48]. La Figure 4-9a montre le spectre obtenu par impact de protons[20,26]. Nous observons la présence du pic parent (111 Th) ainsi que sept pics à 93-95, 82-84, 67-70, 50-56, 40-43, 27-29, 12-18 Th. Les expérimentateurs ont suggéré trois voies principales de fragmentation du cation de la cytosine (Figure 4-9b) :

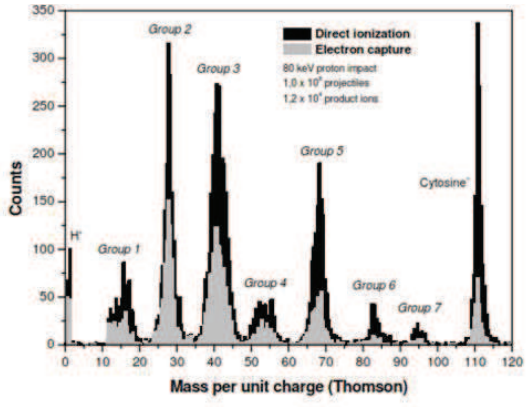
i. élimination du groupe amine (NH_2) conduisant au fragment $C_4H_3N_2O^+$ (95 Th),

ii. élimination du groupe carbonyle CO ou HNC[128] menant au cation $C_3H_5N_3^+$ (83 Th) ou $C_3H_4N_2O^+$ (84 Th)[128],

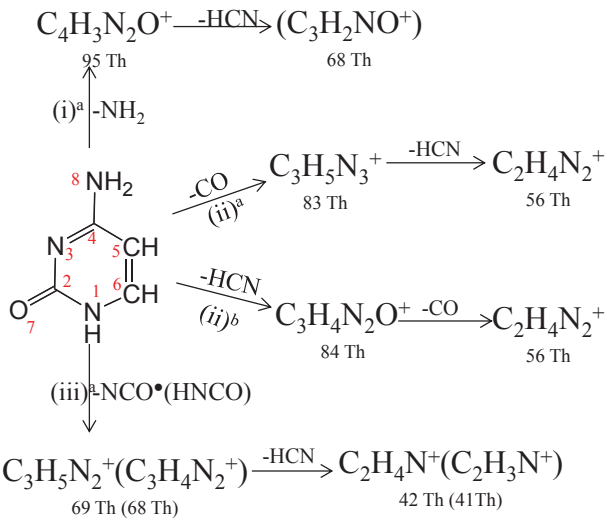
iii. élimination de $NCO^\bullet$ ou HNCO par la réaction de rétro Diels-Alder (RDA) conduisant aux $C_3H_5N_2^+$ (69 Th) ou $C_3H_4N_2^+$ (68 Th).

Les calculs des fragments possibles issus de la dissociation de la cytosine ont été effectués par Improta *et al.*[56], Tehrani *et al.*[58] en analysant la structure électronique et les géométries du cation cytosine. Ils ont également proposé deux voies importantes de fragmentation par élimination des molécules HNCO ($NCO^\bullet$)[56] et CO. En fait, la perte d'une molécule de CO neutre est une caractéristique assez courante dans la fragmentation des composés comportant groupe carbonyle dans un cycle aromatique[129].

Figure 4-9. (a) : Spectre de masse de cytosine obtenu par impact de protons[20,26]. (b) : Voies principales expérimentales de fragmentation du cation cytosine, [a] : la voie observée par impact d'électron[49], [b] : la voie observée par impact de photon[128].



(a)



(b)

4.2.1. Fragmentation de la cytosine

Nous nous sommes intéressés aux ruptures initiales des liaisons C5-C6, N3-C4, N1-C2 et C4-O8 car les distances de ces liaisons sont subi une augmentation durant l'ionisation de la cytosine. La rupture de la liaison C4-O8 a été également étudiée pour obtenir les fragments proposés par des expérimentateurs. La Figure 4-10 représente les fragmentations par les clivages initiaux de ces liaisons. Le minimum d'énergie libre nécessaire (ΔG) à la formation d'un cation par rapport à l'énergie libre du cation cytosine est présenté dans la Figure 4-10.

Durant les ruptures des deux liaisons N3-C4 et C5-C6, la liaison N1-C2 aussi est affaiblie et rompue. Aussi, parmi les différentes ruptures, la plus faible liaison est la liaison N1-C2 (ΔG=+0.783 eV) conduisant à un intermédiaire, énergétiquement proche du cation cytosine (ΔG=+0.201 eV). La molécule est plane après avoir subie une rotation autour de la liaison C4-C5.

4.2.1.1. Fragmentation initiale par la rupture C5-C6 (en bleu dans la Figure 4-10)

Etant donné que lors de l'ionisation de la cytosine, la liaison C5-C6 augmente de 0.03 Å, la liaison C5-C6 est donc affaiblie. Lorsque la distance de la liaison C5-C6 augmente jusqu'à 2.59 Å, le cation passe par un état de transition (ΔG=+3.428eV) menant aux deux fragments $C_3H_3N_2O^{\bullet}$ (σ_{C5}=0.891 a.u.) et CH_2N^+ (q=0.740 a.u.). Il faut noter que la distance de la liaison N1-C2 augmente significativement jusqu'à 3.5 Å, signifiant que cette liaison est assez faible. Aussi, les distances des liaisons C4-C5 et N1-C6 et C2-N3 diminuent (0.05, 0.17 et 0.12 Å respectivement), alors que la distance de la liaison N3-C4 augmente (0.04Å) et aussi l'angle d'O7C2N3 devient presque plat 173°. Ces changements de géométries montrent que deux liaisons C4-C5 et N1-C6 deviennent plus fortes pour aboutir à une double liaison et d'autre part, la liaison N3-C4 devient plus fragile pour obtenir une liaison simple. La relaxation conduit aux premiers fragments, on observe un transfert de proton de C6 à C5 menant aux deux fragments $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$ (q=0.819 a.u, $\sigma_{(C5)}$=0.602 a.u.) et HNC. Il faut noter qu'il est possible que les deux fragments s'éloignent sans laisser le temps pour que le transfert de proton se produise dans un état de transition (TS), conduisant ainsi aux fragments $C_3H_4N_2O^{\bullet}$ et CH_2N^+ avec une énergie de ΔG=+4.008 eV (voir la voie avec le symbole* dans la Figure 4-10).

La dissociation peut continuer à partir du cation $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$ (84Th) :

- la rupture homolytique de la liaison N3-C4 menant aux fragments $NCO^{\bullet}$ et $C_2H_4N^+$ (42 Th) avec une énergie de ΔG=+3.909 eV ;
- la rupture homolytique C4-N8 menant aux fragments $C_3H_2NO^+$ (68 Th) et $NH_2^{\bullet}$ avec une énergie de ΔG=+4.742 eV ;
- la rupture de la liaison C2-N3 en éliminant la molécule CO et conduisant au cation $C_2H_4N_2^{\bullet+}$ (56 Th) avec une énergie de ΔG=+4.868 eV.

4.2.1.2. Fragmentation initiale par la rupture N3-C4 (en vert dans la Figure 4-10)

Comme on l'a observé précédemment, la liaison N3-C4 durant l'ionisation devient fragile (Δd=+0.02Å), on a donc effectué le scan de cette liaison. Un état de transition est formé (ΔG=+3.114eV) avec une longueur de liaison de 2.45 Å. Durant l'élongation de la liaison N3-C4, la liaison N1-C2 est aussi rompue (2.01 Å) et mène donc à deux fragments $C_3H_5N_2^+$ (q=1.122 a.u.) et $NCO^{\bullet}$ ($\sigma_{(N3)}$= 0.545 a.u.). La liaison C4-C5 s'affaiblit en augmentant de 0.14 Å, alors que la distance de la liaison C2-N3 diminue (Δd=-0.11 Å). La relaxation mène aux deux fragments $C_3H_4N_2^{+\bullet}$ (q=0.926 a.u.,$\sigma_{(C5)}$= 0.557a.u.) et HNCO par un transfert d'hydrogène du groupe amine N8 à N3. À partir du cation $C_3H_4N_2^{+\bullet}$ (68 Th), on observe trois voies de dissociation possibles :

- la rupture C5-C6 passe par un état de transition (ΔG=+3.262 eV) où la longueur de la liaison C5-C6 est de 2.53 Å, menant aux fragments CH_2N^+ (q=0.610 a.u.) et $C_2H_2N^{\bullet}$ ($\sigma_{(C5)}$= 0.711 a.u.). La structure du TS caractérise par un transfert du proton entre N1 et N8, conduisant aux fragments $C_2H_3N^{\bullet+}$ (q=0.860 a.u., $\sigma_{(C5)}$=0.665a.u.) et HCN neutre ;
- si on considère qu'il n'y a pas de transfert du proton, on obtient les deux fragments CH_2N^+ et $C_2H_2N^{\bullet}$ avec une énergie de ΔG=+3.708 eV (voir le chemin avec le symbole * sur la Figure 4-10) ;
- la rupture C4-C5 non-homolytique conduit à deux fragments dans l'état de transition (ΔG=+4.910 eV), $C_2H_3N^{\bullet+}$ (q=0.828 a.u., $\sigma_{(C5,N1)}$=0.644, 0.563 a.u.) et HNC. La relaxation mène à un transfert d'hydrogène de C6 à C5 avec deux fragments $C_2H_3N^{\bullet+}$ (q=0.773 a.u., $\sigma_{(C5)}$=0.548a.u.) et HNC.

4.2.1.3. Fragmentation initiale par la rupture N1-C2 (en rouge dans la Figure 4-10)

Bien que durant l'ionisation de la cytosine, la longueur de la liaison N1-C2 augmente seulement de +0.01 Å, lors de la rupture des deux liaisons N3-C4 et C5-C6 cités plus haut, la liaison N1-C2 est rompue aussi. On a donc étudié la rupture de cette liaison. Lorsque la longueur de la liaison N1-C2 augmente, le cation passe par un état de transition avec une énergie libre de ΔG=+0.783 eV. On observe que la molécule n'est plus plane (N8C4C5C6=92°, N3C4C5C6=-90°) et l'angle N3C2O7 devient presque plat (172°), aussi la distance de la liaison C2-N3 devient plus forte (Δd=-0.10Å). Dans cet état, la charge positive est sur les atomes C2 et C4 et C6 (0.666, 0.383 et 0.389 a.u.) et la densité du spin est localisée sur C5 (0.736 a.u.). La relaxation mène à un intermédiaire qui est énergétiquement proche du cation de la cytosine (ΔG=+0.201 eV), la molécule étant revenue plane par une rotation autour de la liaison C4-C5. Aussi l'analyse de la distribution électronique montre que la charge positive dans le premier intermédiaire est localisée sur les atomes C2, C4 et C6 (0.631, 0.336 et 0.443 a.u respectivement).

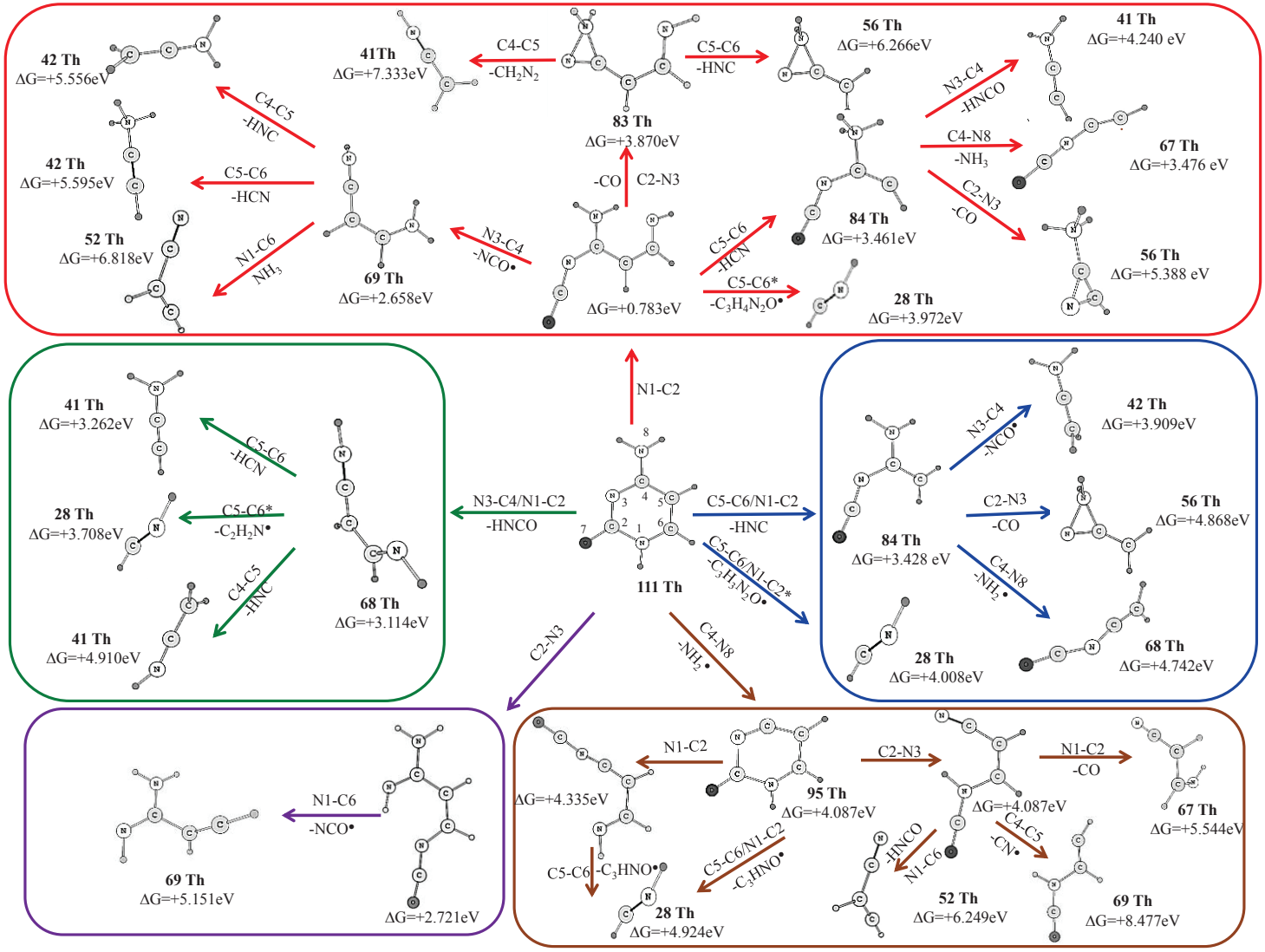
La densité du spin est localisée sur C5 (0.647 a.u.). Pour trouver les petits fragments, on a étudié les ruptures des liaisons à partir de l'intermédiaire obtenu par la rupture initiale N1-C2 :

4.2.1.3.1. Rupture de la liaison N3-C4 après N1-C2

Cette rupture homolytique en passant par un état de transition (ΔG=+2.658 eV) mène à deux fragments $C_3H_5N_2^+$ et $NCO^{\bullet}$ et un transfert du proton du groupe amine N8 vers l'atome N1. La rupture de la liaison N3-C4 après N1-C2 correspond à une réaction favorable de rétro Diels-Alder. À partir du cation $C_3H_5N_2^+$ (69 Th), la fragmentation peut continuer soit :

- par rupture de la liaison C4-C5 menant à deux fragments $C_2H_4N^+$ et HNC avec un transfert de l'hydrogène de C6 à C5 (ΔG=5.556 eV),
- par rupture de la liaison C5-C6 conduisant aux fragments $C_2H_4N^+$ et HCN par le transfert de deux hydrogènes de groupe amine N1 à l'atome N8, formant un autre groupe amine N8 (ΔG=5.595 eV),
- par rupture de la liaison N1-C6 dans laquelle il y a un transfert de proton de N8 à N1 en formant un groupe NH_3 conduisant au cation $C_3H_2N^+$ (ΔG=+6.818 eV).

Figure 4-10. Mécanismes de fragmentation du cation cytosine par rupture des différentes liaisons N1-C2 (rouge), C5-C6 (bleu), N3-C4 (vert), C4-N8 (marron) et N1-C6 (violet). ΔG (eV) est le minimum d'énergie nécessaire à la formation de chaque cation par rapport au cation cytosine.



4.2.1.3.2. Rupture de la liaison C5-C6 après N1-C2

Cette rupture conduit à un état de transition (ΔG=+3.411 eV) avec deux fragments CH_2N^+ (q=0.734 a.u.) et $C_3H_3N_2O^\bullet$ ($\sigma_{(C5)}$=0.927 a.u.) avec une distance de 2.57 Å pour la liaison C5-C6. Les longueurs des liaisons N1-C6 et C4-C5 deviennent plus courtes (Δd=-0.16 et -0.09 Å, respectivement), alors que la liaison C4-N8 s'allonge (Δd=+ 0.06Å). La stabilisation de la structure à partir de l'état de transition mène à $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$ (q= 0.927a.u., $\sigma_{(C5)}$=1.030 a.u.) et HCN par un transfert de proton entre N1 et N8. Comme on a déjà expliqué il est possible qu'il n'y ait pas de transfert de proton, ce qui conduirait aux fragments $C_3H_3N_2O^\bullet$et CH_2N^+ avec une énergie de ΔG=+3.972 eV (avec le symbole * dans la Figure 4-10).

A partir du cation $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$, les trois voies de dissociation ont été étudiées :

- la rupture de la liaison C4-N8 mène au fragment $C_3HNO^{\bullet+}$ (67 Th) avec élimination de la molécule NH_3 (ΔG=+3.476 eV) ;
- la rupture de la liaison N3-C4 élimine la molécule HNCO conduisant au cation $C_2H_3N^{\bullet+}$ (41 Th) en passant par un état de transition (ΔG=+4.240 eV) avec un transfert d'hydrogène du groupe amine N8 à N3;
- la rupture de la liaison C2-N3 passe par un état de transition (ΔG= +5.388 eV) menant aux fragments CO et $C_2H_4N_2^{\bullet+}$ (56 Th).

4.2.1.3.3. Rupture de la liaison C2-N3 après N1-C2

Cette rupture passe par un état de transition (ΔG=+3.870 eV) conduisant aux fragments $C_3H_5N_3^{\bullet+}$ ($\sigma_{(C5)}$=0.564 a.u., q=0.815 a.u.) et CO. À partir du cation $C_3H_5N_3^{\bullet+}$ (83 Th), nous avons étudié deux ruptures :

- la rupture de la liaison C4-C5 qui passe par un état de transition (ΔG=+7.333 eV) et conduisant à $C_2H_3N_2^{\bullet+}$ ($\sigma_{(C5)}$=0.807 a.u., q=0.584 a.u.) et CH_2N_2. La relaxation de l'état de transition conduit à un transfert d'hydrogène de l'atome C6 à l'atome C5 dans le cation $C_2H_3N_2^{\bullet+}$;
- la rupture de la liaison C5-C6 conduit au cation fragment $C_2H_4N_2^{\bullet+}$ (56 Th) avec élimination de la molécule HNC (ΔG=+6.266 eV).

4.2.1.4. Fragmentation initiale par la rupture C4-O8 (en marron dans la Figure 4-10)

Les expérimentateurs ont également proposé la rupture C4-N8. Lorsque la distance de la liaison C4-N8 augmente (3.46 Å), le cation passe par un état de transition (ΔG=+3.260 eV). Les distances des liaisons C4-C5 et N3-C4 diminuent (Δd=0.07 et 0.15 Å respectivement), alors que la distance de la liaison C2-N3 augmente (Δd=+0.14Å). Cette rupture est homolytique et mène donc à deux fragments $C_4H_3N_2O^+$ (q=0.974 a.u.) et $NH_2^\bullet$ ($\sigma_{(N8)}$=1.038 a.u.). Il y a trois voies de dissociation à partir du cation $C_4H_3N_2O^+$ (95 Th) :

- la rupture de la liaison C5-C6 entraîne la cassure de la liaison N1-C2 et conduit aux fragments CH_2N^+ et C_3HNO (ΔG=+4.924 eV) ;
- la rupture de la liaison N1-C2 mène à un intermédiaire (ΔG=+4.335 eV) et est suivie de la rupture de la liaison C5-C6 conduisant au cation CH_2N^+ (ΔG=+4.924 eV) ;
- la rupture de la liaison C2-N3, qui augmente durant la première rupture (Δd=0.13 Å), menant à un intermédiaire avec une énergie libre de ΔG=+4.087 eV. Cet intermédiaire peut se dissocier soit par rupture N1-C2 conduisant au cation $C_3H_3N_2^+$ (67 Th, ΔG=+5.544 eV) avec une élimination de CO, soit par rupture N1-C6 conduisant au cation $C_3H_2N^+$ (52 Th, ΔG=+6.249 eV) avec une élimination de HNCO, soit par rupture C4-C5 conduisant au cation $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th, ΔG=+8.477eV) avec une élimination d'un radical $CN^\bullet$.

4.2.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux

Le pic correspondant au cation parent de la cytosine est le plus intense dans tous les spectres de masse obtenus par les différentes méthodes. La présence du pic à 110 Th dans le spectre de masse obtenu par photoionisation[128] confirme la possibilité de la perte d'un atome d'hydrogène[130] à partir du cation cytosine. Dans le spectre de masse obtenu par Kim *et al.*[131], il y a aussi un pic intense à 109 Th correspondant aux éliminations de deux atomes d'hydrogène. Pour les résultats expérimentaux selon les trois voies représentées dans la Figure 4-9b, nous proposons différents mécanismes:

- Pour le premier fragment ayant un pic à 95 Th, qui est un des moins intenses dans les spectres de masse[20,26,43,48,49,128], les expérimentateurs ont proposé la première voie de dissociation (***i*** dans la Figure 4-9b). Cette voie correspond à l'élimination de NH_2 menant au cation $C_4H_3N_2O^+$. Même si ce cation peut être obtenu par la seule rupture de la liaison C4-N8, c'est une des liaisons les plus difficiles à rompre avec une énergie

de ΔG=+4.087 eV. D'autre part, le fragment obtenu $C_4H_3N_2O^+$ (95 Th) peut se dissocier facilement avec une énergie supplémentaire de +0.837 eV conduisant au cation CH_2N^+ (28 Th), ayant un pic très intense. L'énergie élevée nécessaire pour rompre la liaison C4-N8 est bien corrélée avec l'intensité très faible du pic à 95 Th dans le spectre de masse. D'autant plus que la dissociation menant à CH_2N^+ (28 Th) est très facile.

- Les fragments $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$ (84 Th) et $C_3H_5N_3^{\bullet+}$ (83 Th) sont obtenus par la deuxième voie : ***ii*** dans la Figure 4-9b, résultant d'une élimination des molécules HNC (ou de HCN) et CO. Expérimentalement, les études par impact de proton[20,26,48] et par impact d'électron[49] ont montré un pic intense à 83 Th indiquant que la perte de CO conduisant au fragment à 83 Th est un mécanisme relativement probable de fragmentation. Aussi, la perte de HCN menant au fragment à 84 Th est favorisée avec une énergie suffisamment faible par photoionisation d'Xe (8.43 eV)[128] et son pic est plus intense que celui de 83 Th dans son spectre de masse (Figure 4-9a). Energétiquement, le cation $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$ (84 Th) est obtenu par la rupture des deux liaisons C5-C6/N1-C2 (ΔG=+3.428 eV) ou N1-C2/C5-C6 (ΔG=+3.461 eV). Le cation $C_3H_5N_3^{\bullet+}$ (83 Th, ΔG=+3.870 eV) est obtenu par la rupture des liaisons N1-C2/C2N3. La formation du cation à 84 Th (-HCN) est un peu plus facile que celle du cation à 83 Th (-CO). Ceci est en accord avec les intensités similaires observées pour les deux pics. Le fragment $C_3H_4N_2O^{\bullet+}$ (84 Th) peut se dissocier très facilement en cation C_3HNO^+ (67 Th) avec seulement une différence d'énergie de 0.015 eV par expulsion de NH_3 (N1-C2/C5-C6/C4-N8) ou en cation $C_2H_4N^{\bullet+}$ (42 Th) avec un supplément d'énergie de 0.481 eV (C5-C6/N1-C2/N3-C4). Le pic à 83 Th est donc plus important que celui à 84 Th. Ainsi la bande à 83-84 Th correspond essentiellement à la perte de CO.
- La troisième voie : ***iii*** dans la Figure 4-9b, correspondant à la réaction de rétro Diels-Alder, qui a été proposée comme l'une des voies principales, met en jeu l'élimination de NCO ou HCNO avec un réarrangement de géométrie[26,49] conduisant à des pics intenses à 68-69 Th. On observe que le cation $C_3H_5N_2^+$ (69 Th) peut être obtenu par élimination du radical $NCO^{\bullet}$ (N1-C2/N3-C4, ΔG=+2.658 eV) et le fragment $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th) par une élimination de la molécule HNCO (N3-C4/N1C2, ΔG=+3.114 eV). La formation de ce dernier est un peu plus facile (ΔΔG≈0.45 eV), en assez bon accord avec la plus forte intensité du pic de 69 Th, comme indiqué dans les différents spectres de masse[20,26,48-50]. La formation du cation $C_3H_5N_2^+$ (69 Th) est plus facile que celle du cation $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th), ce qui est en accord avec l'intensité forte du pic à 69 Th en

comparaison avec celle du pic à 68 Th dans les différents spectres de masse. De plus, le cation $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th) peut facilement se fragmenter en cation $C_2H_3N^{\bullet+}$ (41 Th), ayant un pic plus intense que 68 Th, nécessitant seulement un supplément d'énergie de +0.148 eV. Tabet *et al.*[20,26] ont proposé d'autres cassures des liaisons : C2-N3/N1-C6, conduisant à la réaction de rétro Diels-Alder. Cependant, cette voie coute deux fois plus d'énergie (ΔG=+5.151 eV) que la rupture des liaisons N1-C2/N3-C4 prise en compte dans notre travail (Figure 4-10).

Aussi, un autre fragment $C_3H_2NO^+$ correspondant au pic à 68 Th peut se former en expulsant des molécules NH_2 et HCN (ou HNC) et nécessitant une énergie de ΔG=+4.742 eV par les ruptures C5-C6/C4-N8, et de ΔG=+4.904 eV pour les ruptures C4-N8/C5-C6. Ces derniers chemins qui correspondent à la suite de la voie principale ***i*** dans la Figure 4-9b sont moins favorables que celui de $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th) correspondant au mécanisme de rétro Diels-Alder.

Pour les pics peu intenses à 52-56 Th, la formation du fragment $C_2H_4N_2^+$ (56 Th) issu de la perte des molécules CO/HCN[49] ou HCN/CO[128] est une voie proposée par impact d'électrons ou de photons (***ii*** dans la Figure 4-9b). Energétiquement, le chemin correspondant à la perte successive de HCN et CO, soit par la rupture des liaisons C5-C6/N1-C2/C2-N3 (ΔG=+4.868 eV) soit par la rupture des liaisons N1-C2/C5-C6/C2-N3 (ΔG=+5.388 eV) est plus facile que le chemin correspondant à la perte de CO/HCN par la rupture des liaisons N1-C2/C2-N3/C5-C6 (ΔG=+6.266 eV). Ces résultats ont été confirmés par l'étude de photoionisation[128], ce qui montre que l'élimination successive des HCN/CO est plus probable que celle de CO/HCN.

Parmi les pics à 40-44 Th, le plus intense est celui à 41 Th. Le fragment $C_2H_3N^{\bullet+}$ (41 Th) se forme soit par rupture des liaisons N3-C4/N1-C2/C5-C6 (ΔG=+3.262 eV), soit par rupture des liaisons N1-C2/C5-C6/N3-C4 (ΔG=+4.240 eV), soit encore par rupture des liaisons N3-C4/N1-C2/C4-C5 (ΔG=+4.910 eV) en expulsant des molécules HNCO et HCN (ou HNC). Les trois voies sont autant envisageables les unes que les autres.

Le dernier pic à 28-29 Th est un pic très intense (Figure 4-9a). Notre résultat montre que le fragment CH_2N^+ (28 Th) peut être obtenu par les ruptures C4-N8/C5-C6/N1-C2 avec une énergie relativement accessible de ΔG=+4.924 eV et aussi par différents chemins ne mettant pas en jeu un transfert du proton comme pour l'uracile (notés avec le symbole * sur la Figure 4-10): soit par la rupture des liaisons N3-C4/N1-C2/C5-C6* (ΔG=+3.708 eV), soit par la rupture des liaisons N1-C2/C5-C6* (ΔG=+3.972 eV), soit par la rupture des liaisons C5-

C6/N1-C2* (ΔG=+4.008 eV). Ces énergies favorables sont en bon accord avec l'intensité de ce pic dans le spectre de masse.

4.3. Adénine

La Figure 4-11a montre le spectre de masse obtenu par impact de protons[20,26]. Nous observons la présence du pic parent (135 Th) ainsi que plusieurs groupes de pics analysés en phase gazeuse par photoionisation[47,127], impact d'électrons[51,53-55], impact de protons[20,26] et impact d'ions[39,112]. Trois voies principales de dissociation du cation de l'adénine ont été proposées à partir de résultats expérimentaux et sont représentés dans la Figure 4-11b :

i. pertes successives de groupes d'HCN ou d'HNC conduisant aux pics à 108, 81 et 54 Th ; la première perte d' HCN[54,55] est dominée par celle des atomes N1 et C2, environ la moitié de la perte du second HCN est due à l'atome N9[54], alors que la perte du troisième HCN[54] implique les atomes N3, N7 ou N6.

ii. élimination des molécules HCN et CH_2N_2 conduisant au fragment $C_2H_3N_3^+$ (66 Th) ;

iii. élimination du groupe NH_2 ou NH_3 conduisant aux dérivés du fragment $C_5H_3N_3^+$ (118-119 Th).

D'autres fragments correspondants aux pics à 39 Th et à 28 Th sont aussi observés durant la dissociation (voir les Figures 4-12 et 4-13).

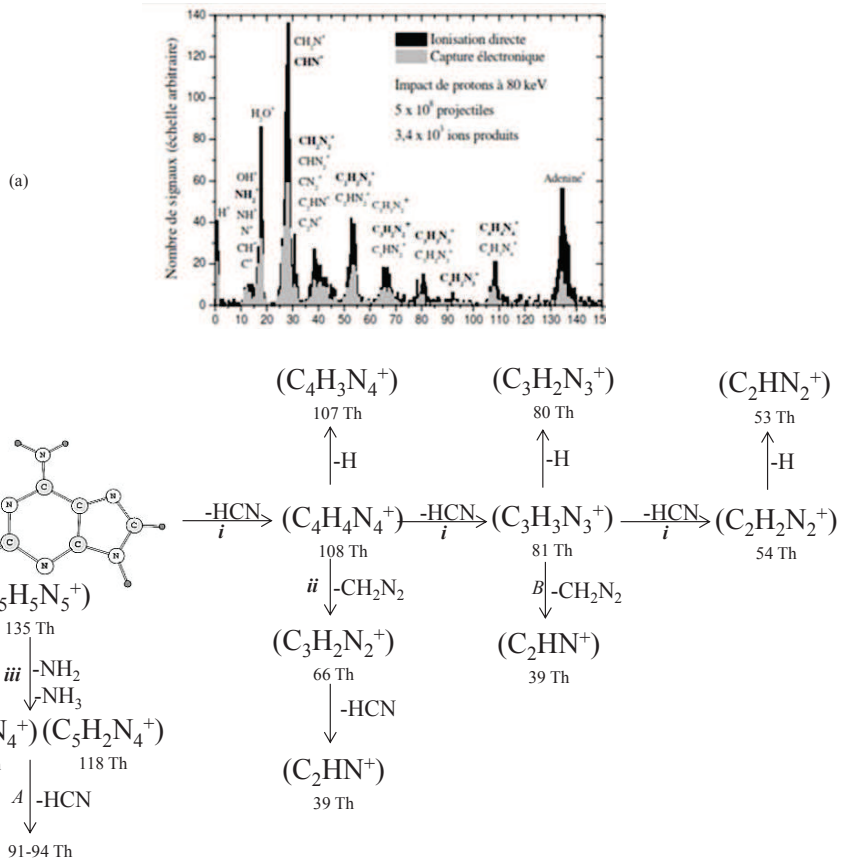
L'étude théorique par Improta *et al.*[56] a confirmé que l'expulsion des molécules HCN est une voie principale de fragmentation et que le groupe de HCN (N1, C2) est le meilleur groupe partant. Cela est dû au renforcement des liaisons C6-N10, N1-C2 et N3-C4 dans la structure aromatique du cycle pyrimidine durant le processus d'ionisation. Cette analyse théorique[56] suggère, même si des calculs n'ont pas été effectués, l'existence d'autres fragments HCN comme HC8N7.

4.3.1. Fragmentation de l'adénine

Nous nous sommes intéressés aux ruptures initiales des liaisons C2-N3, N7-C8, C5-C6, C4-N9, N1-C6 dont la longueur augmente durant l'ionisation. La rupture de la liaison C6-N10 a été également étudiée pour obtenir le fragment possible à 118-119 Th proposé par les expérimentateurs. Les Figures 4-12 et 4-13 représentent les fragmentations selon les ruptures

initiales de ces liaisons. On voit que la liaison N1-C2 est la plus facile à rompre (ΔG=+2.871 eV, Figure 4-13). Les différentes ruptures initiales conduisent dans un premier temps à des structures intermédiaires sauf dans le cas de la rupture de liaison C6-N10 qui conduit directement à l'élimination de $NH_2^{\bullet}$.

Figure 4-11 : (a) : Spectre de masse du cation adénine obtenu par impact de protons[20,26]. (b) : Voies principales expérimentales de fragmentation du cation adénine[20,26,47,51,55,127] (A : par impact d'électron[55] et B : par photoioisation[47]).



4.3.1.1. Rupture initiale C2-N3 (en bleu dans la Figure 4-12)

La rupture de la liaison C2-N3 passe par un état de transition (ΔG=+4.123 eV) dans lequel la charge positive est délocalisée et la densité spin est localisée sur les atomes N_3 (σ=1.386 a.u.) et C_2 (σ=-0.566 a.u). La relaxation conduit à un intermédiaire avec une rotation de NH_2 autour de la liaison C5-C6 et aussi avec une liaison hydrogène entre N10-H et N3 de 2.07Å. La dissociation à partir de cet intermédiaire peut continuer par deux chemins différents:

- la rupture de la liaison N1-C6 conduit spontanément au cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th) par une élimination de la molécule HCN (N1, C2) avec une énergie de ΔG=+4.123 eV. La

rupture suivant la liaison C5-C6 nécessite une énergie de ΔG=+7.259 eV et mène à $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th) par perte d'une deuxième molécule de HNC (C6, N10). A partir du cation à 81 Th, la perte de troisième molécule de HCN (ou de HNC) est probable et nécessite au moins deux ruptures des liaisons : soit C4-N9/C8-N9 (ΔG=+7.259 eV), soit C4-C5/N7-C8 (ΔG=+7.660 eV). Le cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th) peut ouvrir son cycle à 5-membres en formant un intermédiaire spontanément par la rupture de liaison C4-C5 ou avec une énergie 0.8 eV supplémentaire par la rupture de la liaison C4-N9. A partir de ces derniers intermédiaires respectivement, la rupture des liaisons C8-N9 et N7-C8 conduit au cation $C_3H_3N_2^+$ (67 Th, ΔG=+4.926 eV) ou CH_2N^+ (28 Th, ΔG=+6.459 eV), respectivement.

- la rupture de la liaison C5-C6 conduit aux deux fragments $C_2H_3N_2^{\bullet+}$ (55 Th) et $C_3H_2N_3^{\bullet}$ nécessitant une énergie de (ΔG=+7.474 eV). L'élimination des molécules HNC et $NH_2^{\bullet}$ du cation $C_2H_3N_2^{\bullet+}$ (55 Th) conduit respectivement aux cations CH_2N^+ (28 Th, ΔG=+8.787 eV) et C_2HN^+ (39 Th, ΔG=+13.072 eV).

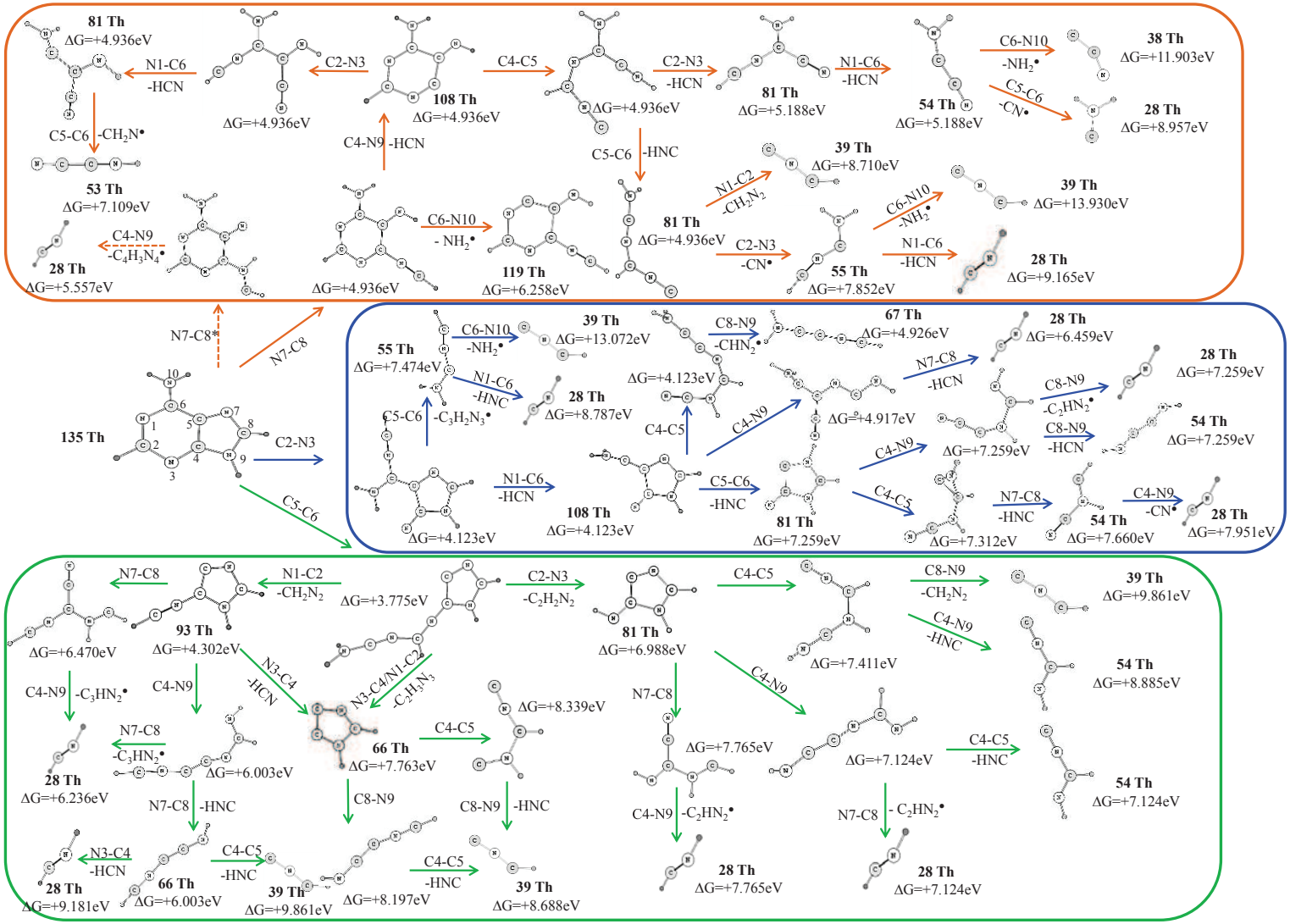
Énergétiquement, la deuxième voie semble très difficile, il apparait donc que la fragmentation du cation de l'adénine par rupture initiale C2-N3 se poursuit par une élimination de la molécule HCN formant le cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th) et que ce cation peut probablement s'ouvrir avant la deuxième perte de HCN (ou de HNC).

4.3.1.2. Rupture initiale N7-C8 (en orange dans la Figure 4-12)

La rupture de la liaison N7-C8 passe par un état de transition (ΔG=+4.936 eV) dans lequel la charge est délocalisée et la densité de spin est localisée sur N7 (0.600 a.u.). La relaxation de la molécule conduit à un intermédiaire (ΔG=+1.984 eV) avec un transfert d'hydrogène de l'atome N9 à l'atome N7. La rupture de la liaison C6-N10 conduit à une élimination de $NH_2^{\bullet}$ formant le cation $C_5H_3N_4^+$ (119 Th, ΔG=+6.258 eV). Par contre la liaison C4-N9 dans l'intermédiaire peut spontanément être rompue en expulsant une molécule de HCN (C8, N9) qui conduit au cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th, ΔG=+4.936 eV). Ce cation comprenant un cycle hexagonal peut spontanément s'ouvrir par la rupture soit de la liaison C2-N3 soit de la liaison C4-C5. La première mène au cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+4.936 eV), la deuxième mène à deux voies différentes :

- la rupture de la liaison C5-C6 conduit au cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+4.936 eV) par perte de HNC (C5, N7). La dissociation de ce cation n'est pas facile et nécessite une énergie au moins de 8 eV.

Figure 4-12. Mécanismes de fragmentation du cation adénine par rupture des différentes liaisons N7-C8 (orange), C2-N3 (bleu), C5-C6 (vert). ΔG (eV) est le minimum d'énergie nécessaire à la formation de chaque cation par rapport au cation adénine.



- la rupture de la liaison C2-N3 mène à une élimination de HCN (N3, C4) en cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+5.188 eV), qui peut à son tour éliminer spontanément une autre molécule de HCN (N1, C2) conduisant au cation $C_2H_2N_2^{\bullet+}$ (54 Th, ΔG=+5.188 eV).

Le chemin avec le symbole * est une autre possibilité durant la rupture de la liaison N7-C8, pour laquelle le transfert d'hydrogène ne se produit pas mène au cation à 28 Th avec une énergie de ΔG=+5.557 eV.

4.3.1.3. Rupture initiale C5-C6 (en vert dans la Figure 4-12)

La rupture de la liaison C5-C6 passe par un état de transition (ΔG=3.775 eV) où la charge positive est délocalisée et la densité du spin est localisée sur l'atome C5 (σ=0.854 a.u.). A partir de l'intermédiaire, on a considéré deux ruptures de liaison :

- la rupture de la liaison N1- C2 passe par un état de transition (ΔG=+4.302 eV) menant à deux fragments $C_4H_3N_3^{\bullet+}$ (93 Th) et CH_2N_2. La dissociation de ce dernier cation en $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (66 Th) par une élimination de HCN ou de HNC est obtenue soit par rupture de la liaison N3-C4 nécessitant une énergie de ΔG=+7.763 eV (lequel peut être produit également par la rupture N3-C4/N1-C2 à partir du premier intermédiaire issu de la rupture initiale C5-C6), soit par la rupture des liaisons C4-N9/N7-C8 avec une énergie de ΔG=+6.003 eV. On voit que la deuxième voie est plus facile que la première et que la rupture de la liaison C4-N9 ouvre le cycle avec la formation d'un intermédiaire (ΔG=+6.003 eV). Cet intermédiaire peut également se fragmenter en cation CH_2N^+ (28 Th, ΔG=+6.236 eV) par la rupture de la liaison N7-C8.
- la rupture de la liaison C2-N3 passe par un état de transition (ΔG=+6.988 eV) menant aux deux fragments $C_3H_2N_3^{\bullet}$ ($\sigma_{(C5)}$=0.685 a.u.) et $C_2H_3N_2^{+}$ (q=0.771a.u). La relaxation conduit à un transfert de proton de l'atome C2 à N3 formant deux fragments $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (q=0.711 a.u., $\sigma_{(C5)}$= 0.868 a.u.) et $C_2H_2N_2$. A partir de ce cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th), les différentes ruptures des liaisons provoquent l'ouverture du cycle pentagonal qui coûte 7-8 eV.

4.3.1.4. Rupture initiale N1-C6 (en rouge dans la Figure 4-13)

Cette rupture passe par un état de transition (ΔG=+3.799 eV) conduisant à un intermédiaire dans lequel il y a un transfert d'hydrogène de l'atome C2 à l'atome C6. À partir de cet intermédiaire, on a étudié trois possibilités :

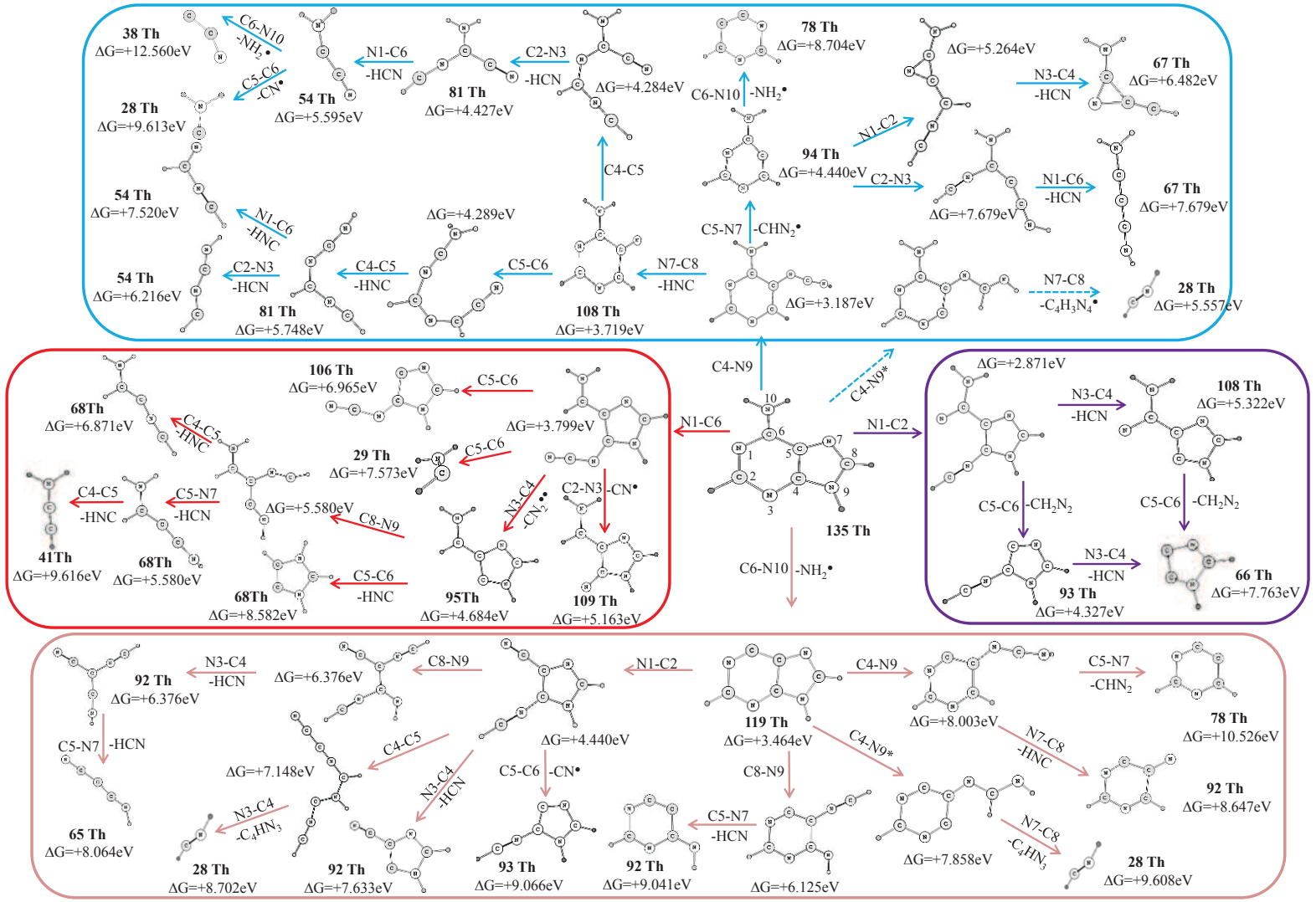
- la rupture de la liaison N3-C4 conduit à deux fragments $C_4H_5N_3^{\bullet+}$ et $CN_2^{\bullet\bullet}$. Le cation $C_4H_5N_3^{\bullet+}$ (95 Th) peut également se dissocier en éliminant une molécule de HCN ou de HNC par la rupture soit de C5-C6 (ΔG=+8.582 eV), soit de C8-N9/C5-N7 (ΔG=+5.580 eV), soit de C8-N9/C4-C5 (ΔG=+6.871 eV) ;
- la rupture de la liaison C2-N3 conduit à $C_4H_5N_4^+$ (109 Th) par une élimination de $CN^{\bullet}$ (ΔG=+5.163eV) ;
- la rupture de la liaison C5-C6 conduit soit au cation $C_4H_2N_4^{\bullet+}$ (106 Th, ΔG=+6.965 eV) soit au cation CH_3N^+ (ΔG=+7.573 eV).

4.3.1.5. Rupture initiale C4-N9 (en bleu dans la Figure 4-13)

Durant de l'ionisation de l'adénine cette liaison augmente de +0.01 Å. La rupture de la liaison C4-N9 conduit à un intermédiaire (ΔG=+3.187) avec un transfert d'hydrogène de l'atome C4 à l'atome C8. Si on ne considère pas ce transfert on obtient le cation CH_2N^+ (ΔG=+5.557 eV) par la rupture de la liaison N7-C8 (voir le chemin avec le symbole *). À partir de l'intermédiaire, la fragmentation peut continuer suivant deux voies :

- la rupture de la liaison N7-C8 qui mène à l'élimination de la première molécule de HNC (C8, N9) conduisant au cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th) avec une énergie de ΔG=+3.719 eV. Pour que ce cation puisse continuer à se fragmenter, il nécessite au moins deux ruptures des liaisons : *i.* C4-C5/C2-N3 élimine une molécule de HCN (N3, C4) conduisant au cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+4.427 eV), qui peut se dissocier par la perte d'une autre molécule de HCN (N1, C2) et mène à un cation $C_2H_2N_2^{\bullet+}$ (54 Th, ΔG=+5.595 eV), *ii.* C5-C6/C4-C5 élimine un HNC (C5, N7) conduisant au cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+5.748 eV), qui peut se dissocier en un cation $C_2H_2N_2^{\bullet+}$ (54 Th) par la perte d'une autre molécule soit de HCN (N3, C4) avec une énergie de ΔG=+6.216 eV, soit de HNC (C6, N10) avec une énergie de ΔG=+7.520 eV
- la rupture de la liaison C5-N7 qui élimine un radical $CHN_2^{\bullet}$ menant au cation $C_4H_4N_3^+$ (94 Th, ΔG=+4.440 eV). Ce cation peut perdre une molécule de HCN et mène au cation à 67 Th par deux ruptures successives de liaisons soit N1-C2/N3-C4 (ΔG=+6.482 eV) soit C2-N3/N1-C6 (ΔG=+7.679 eV).

Figure 4-13. Mécanismes de fragmentation du cation adénine par rupture des différentes liaisons N1-C6 (rouge), C4-N9 (bleu), N1-C2 (violet) et C6-N10 (rose). ΔG (eV) est le minimum d'énergie nécessaire à la formation de chaque cation par rapport au cation adénine.



4.3.1.6. Rupture initiale C6-N10 (en rose dans la Figure 4-13)

La rupture de la liaison C6-N10 conduit au cation $C_5H_3N_4^+$ (119 Th, ΔG=+3.646 eV) en éliminant $NH_2^\bullet$. A partir de ce cation, on a étudié trois possibilités de fragmentation :

- la rupture de la liaison C4-N9 conduisant à un intermédiaire qui semble être très difficile à former avec une énergie libre d'environ +8 eV ;
- la rupture de la liaison C8-N9 menant à un intermédiaire avec une énergie de 6 eV, qui peut difficilement perdre une molécule de HCN par la rupture de la liaison C5-N7 (ΔG=+9.041 eV) ;
- la rupture de la liaison N1-C2 nécessitant une énergie de ΔG=+4.440 eV conduit à un intermédiaire qui peut se dissocier en petits fragments par les différentes ruptures de liaisons : soit C8-N/N3-C4 en cation $C_4H_2N_3^+$ (92 Th, ΔG=+6.376 eV), soit N3-C4 en cation $C_4H_2N_3^+$ (92 Th, ΔG=+7.633 eV), soit C4-C5/N3-C4 en cation CH_2N^+ (28 Th, ΔG=+8.702 eV), soit C5-C6 en cation $C_4H_2N_3^+$ (92 Th, ΔG=+9.066eV) .

Il faut noter que les deux premières possibilités impliquent une rupture dans le cycle pentagonal, alors que la troisième ouvre le cycle hexagonal, cette dernière étant la plus facile que les deux autres voies.

4.3.1.7. Rupture initiale N1-C2 (en violet dans la Figure 4-13)

La rupture de la liaison N1-C2 conduit à un intermédiaire (ΔG=+2.871 eV) où la charge positive est délocalisée (mais plus importante sur $q_{(C2)}$=0.442a.u.) et la densité de spin est localisée sur l'atome N1 (σ=1.005a.u.). Aussi, la longueur des liaisons C5-C6 et N3-C4 augmentent (+0.05 et +0.03 Å). On a donc étudié :

- la rupture de la liaison C5-C6 menant au cation $C_4H_3N_3^{\bullet+}$ (93 Th, ΔG=+4.327 eV) par une élimination de la molécule CH_2N_2. La rupture suivante de la liaison N3-C4 à partir de ce cation conduit au cation $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (66 Th) par perte d'une molécule de HCN nécessitant une énergie de ΔG=+7.763 eV ;
- la rupture de la liaison N3-C4 éliminant une molécule de HCN conduisant au cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th, ΔG=+5.322 eV). La rupture C5-C6 à partir de ce cation mène à deux fragments $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (66 Th, ΔG=+7.763 eV) et CH_2N_2.

4.3.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux

Le pic parent à 135 Th dans la Figure 4-11a correspond au cation $C_5H_5N_5^{\bullet+}$. La présence du pic faible à 134 Th (M-1)[20,28] suggère que les fragments correspondant à ces pics peuvent être obtenus par la perte d'un atome hydrogène[130].

L'élimination d'une molécule $NH_2^{\bullet}$ à partir du cation adénine conduit au cation $C_5H_3N_4^+$ ayant un pic à 119 Th (voir ***iii*** dans la Figure 4-11b). Les pics très faibles à 118[43], 119[20,26,43,47] et 120[20,26,47,51] ont été observés par des différents techniques. Rice *et al.*[51] ont suggéré que la perte du groupe amine du cation adénine est un processus extrêmement peu probable. Cependant, dans notre travail, l'énergie de formation du cation $C_5H_3N_4^+$ (119 Th) est seulement de ΔG=+3.464 eV par la rupture de la liaison C6-N10 (voir la Figure 4-13). Cette faible énergie n'est pas en accord avec l'intensité faible de ce pic dans le spectre de masse. Cela s'explique par le fait qu'il y a d'autres ruptures plus faciles à partir de l'adénine, à savoir la rupture des liaisons N1-C2 (ΔG=+2.871) ou C4-N9 (ΔG=+3.187 eV). D'autre part, le cation $C_5H_3N_4^+$ (119 Th) peut aussi se dissocier en petits fragments, comme le cation $C_4H_2N_3^+$, ayant un pic relativement intense à 92 Th dans le spectre de masse par impact de C^{5+} [112], qui nécessite cependant une énergie supplémentaire de 3 eV.

Le pic à 108 Th a été expérimentalement proposé avec la première perte d'une molécule HCN (***i*** dans la Figure 4-11b). Les mécanismes de perte pourront être assez complexes et peuvent impliquer la perte d'un fragment HNC ainsi que d'un fragment HCN. Occolowitz *et al.*[53] par marquage isotopique ont montré que 55% du premier HCN provient des atomes C6, N10 et 45% des atomes C2, N1 ou N3. Quelques années plus tard, d'autres expérimentateurs ont montré que l'élimination de la première molécule de HCN à partir du cation adénine implique principalement N1, C2 et H-C2 tandis que N7, N9 et C8 sont entièrement conservés.[54,55] La réaction principale pour la première perte de HCN peut donc se produire par la rupture des liaisons C2-N3 et N1-C6. Ces dernières sont les plus faibles dans le cation par rapport à l'adénine neutre, tandis que les liaisons N1-C2 et N3-C4 sont les plus fortes dans le cation (voir Figure 4-12), ce qui confirme l'étude réalisée par Improta *et al.*[56]. Notre étude montre que deux cations $C_4H_5N_4^{\bullet+}$ (109 Th, ΔG=+5.163 eV) et $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th, ΔG=+4.123 eV) sont respectivement obtenus par élimination d'un radical $CN^{\bullet}$ (N1, C2) et de HCN (N1, C2). Nous avons également trouvé qu'il existe une autre possibilité par perte des atomes HC8N9 qui n'est pas envisagée par les expérimentateurs[54,55]. Ce cation peut se former par la rupture des liaisons C4-N9/N7-C8 (ΔG=+3.719 eV) ou par la rupture des liaisons N7-C8/C4-N9

(ΔG=+4.936 eV). Le fragment HC6N10 n'a pas pu être obtenu. Bien que la dissociation du cation adénine par ces deux dernières ruptures soit énergétiquement plus facile, ce cation peut se dissocier spontanément, seulement dans le dernier cas, et donner un cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th) par élimination d'une deuxième molécule HCN. On peut donc conclure que le cation correspondant au pic à 108 Th, correspond à l'élimination de la molécule HC2N1 plutôt que HC8N9, ce qui est en accord avec les résultats expérimentaux[54,55].

Le groupe de pics à 92-95 Th est très faible (presque négligeable) dans les spectres de masse obtenuspar photoionisation[47,127] et par impact de protons[20,26]. Sethi *et al.*[55] ont proposé une élimination de la molécule HCN à partir du fragment à 119 Th (*A* dans la Figure 4-11b). Par cette voie, nous avons observé les cations correspondants à ces pics avec une énergie variant de 6.4 à 9.1 eV par rupture de la liaison C6-N10, ce qui est en accord avec l'intensité faible de ces pics. Par contre, il y a d'autres cations obtenus par élimination des dérivés CH_2N_2 nécessitant une énergie libre comprise entre +4.3 et 4.7 eV : $C_4H_3N_3^{\bullet+}$ (93 Th, N1-C2/C5-C6 ou C5-C6/N1-C2), $C_4H_4N_3^{+}$ (94 Th, C4-N9/C5-N7) et $C_4H_5N_3^{\bullet+}$ (95 Th, N1-C6/N3-C4). Cela montre que ces cations peuvent se dissocier en petits fragments : soit le cation $C_4H_3N_3^{\bullet+}$ (93 Th) peut se fragmenter par élimination d'une molécule HNC ou de $C_3HN_2^{\bullet}$ conduisant aux fragments $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (66 Th, ΔG=+6.003 eV) et CH_2N^{+} (28 Th, ΔG=+6.236 eV), soit le cation $C_4H_4N_3^{+}$ (94 Th) peut perdre un HCN menant au cation $C_3H_3N_2^{+}$ (67 Th, ΔG=+6.482 eV), soit le cation $C_4H_5N_3^{\bullet+}$ (95 Th) peut se dissocier en fragment $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th, ΔG=+5.580 eV).

L'élimination de deux molécules HC8N9 et HN1C2 par la rupture des liaisons C4-N9/N7-C8 ou N7-C8/C4-N9 conduit au cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th) nécessitant respectivement des énergies de ΔG=+4.427 eV et de ΔG=+4.936 eV. D'autres isomères du cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th) peuvent être aussi obtenus mais nécessitent deux ou trois ruptures successives des liaisons avec une énergie libre d'environ +7 eV. Donc, le cation correspondant au pic à 81 Th, est obtenu par élimination des molécules HC8N9 et HC2N1.

La perte consécutive des molécules HCN et NH_2CN à partir du cation adénine conduit au fragment $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (voir ***ii*** dans la Figure 4-11b), ayant un pic à 66 Th, pour lequel Jochims *et al.*[47] ont proposé un mécanisme impliquant les ruptures C5-C6/N3-C4. Nos calculs montrent que la rupture des liaisons C5-C6/N3-C4/N1-C2 ou N1-C2/C5-C6/N3-C4 nécessite une énergie de ΔG=+7.763 eV conduisant à un cation comportant un cycle pentagonal. Cependant, l'isomère ouvert de ce cation est facilement obtenu par la rupture des liaisons C5-C6/N1-C2/C4-N9/N7-C8 avec une énergie de ΔG=+6.003 eV. Cette énergie confirme l'ordre

d'intensité des pics 81 Th > 66 Th observé par différentes études [20,26,47,51,128]. Pour les pics à 67 Th, le cation $C_3H_3N_2^{\bullet+}$ peut être obtenu par élimination des molécules HCN/NHCN par les ruptures des liaisons C2-N3/N1-C6/C4-C5/C8-N9 (Figure 4-12) avec une énergie de ΔG=+4.926 eV. Le cation $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th) est observé par rupture des liaisons N1-C6/N3-C4/C8N9/C5-N7 avec une énergie de ΔG=+5.580 eV (Figure 4-13), due à la perte des molécules NCN/HCN. Il est important de noter que les pics à 67-68 Th n'ont pas été attribués expérimentalement. Cependant, ils semblent être aussi importants que le pic à 66 Th selon des énergies obtenues par nos calculs. En effet les fragments à 67-68 Th sont formés avec 4.9 et 5.6 eV alors que le fragment de 66 Th nécessite 6 eV.

Pour le pic à 54 Th, nous avons obtenu très facilement un cation $C_2H_2N_2^{\bullet+}$ (54 Th) soit par la rupture initiale N7-C8 avec une énergie de ΔG=+5.188 eV soit par la rupture initiale C4-N9 (ΔG=+5.595 eV) avec l'élimination de trois molécules HC8N9, HN3C4 et HN1C2. L'intensité importante du pic peut être expliquée par le grand nombre de voies possibles qui pourraient conduire à ce fragment.

Pour le pic peu intense à 39 Th, nous avons trouvé le cation $C_2HN^{\bullet+}$ (ΔG=+8.688 eV) avec une élimination de HCN à partir du cation $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (66 Th) qui correspond au mécanisme de fragmentation expérimentale (***ii*** voir la Figure 4-11b). Jochims *et al*.[47] ont proposé une autre voie avec une élimination de la molécule CH_2N_2 à partir du cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th) pour lequel nos calculs donnent une énergie de ΔG=+8.710 eV par la rupture initial N7-C8. Les énergies obtenues pour ce cation en accord avec l'intensité des pics à 39 Th, à 66 Th et à 81 Th (81 > 66 > 39)[51].

Dans le domaine de pics à 28-29 Th observé expérimentalement (Figure 4-11), le plus intense est le pic à 28 Th. Notre résultat montre que le fragment CH_2N^+ (28 Th) peut être obtenu par toutes les ruptures initiales. Les chemins les plus faciles sont les ruptures initiales C5-C6 et C2-N3 qui nécessitent des énergies de ΔG=+6.236 eV et ΔG=+6.459 eV, respectivement. Bien que le pic à 28 Th soit le plus intense dans le spectre de masse, la formation de ce cation est énergétiquement moins favorable que d'autres cations comme celui à 119, 108, 81 ou 54 Th. Ceci est dû, d'une part à la présence de nombreuses étapes de fragmentation pour la formation de ce cation (28 Th), d'autre part, si l'on exclut le transfert de proton durant la rupture initiale C4N9 ou N7-C8, le cation CH_2N^+ (28 Th) peut se former avec une énergie de ΔG=+5.557 eV (voir les chemins avec le symbole * dans la Figures 4-12 et 4-13).

4.4. Guanine

À ce jour, les informations sur des études similaires de la guanine sont beaucoup moins nombreuses dans la littérature en raison de la difficulté à évaporer cette molécule sans décomposition. Parmi toutes les bases de l'ADN, la guanine a le potentiel d'oxydation le plus bas[132] et donc est considérée comme la principale cible de nombreux agents oxydants cancérigènes établis.

Les résultats expérimentaux obtenus par impact d'électrons[51,52] indiquent que la désamination et l'expulsion de HNCO (Figure 4-14), conduisant au cation à 108 Th, peut correspondre au processus principales de fragmentation. Cette voie est en compétition avec la perte de cyanamide (HnNCN, n=1,2) menant aux cations à 109-110 Th. Aussi, les ions à 109-110 Th peuvent par la perte des molécules CO et HCN conduire aux cations à 81-83 Th ou 54-55 Th. En 2010, une étude à la fois théorique et expérimentale[59] basée sur l'ionisation par électrospray (ESI) montre que la dissociation (CID) du radical cationique de la guanine conduit à cinq voies principales de dissociation (Figure 4-14):

- ***i.*** élimination de NH_3 conduisant au pic à 134 Th avec une énergie de 4.115 eV;
- ***ii.*** élimination de HCN conduisant au pic à 124 Th avec une énergie de 4.964 eV;
- ***iii.*** élimination de HNCO conduisant au pic à 108 Th avec une énergie de 3.171 eV;
- ***iv.*** élimination de H_2NCN (HNCNH) conduisant au pic à 109 Th avec une énergie de 3.047 eV (3.089 eV);
- ***v.*** élimination de $NHCN^{\bullet}$ conduisant au pic à 110 Th avec une énergie de 2.850 eV

Ces énergies déterminées par Cheng *et al.*[59] ont été calculées par la méthode B3LYP/6-31+G (d,p) et on voit que l'élimination de NH_3 et de HCN sont des processus plus difficiles que ceux des autres voies.

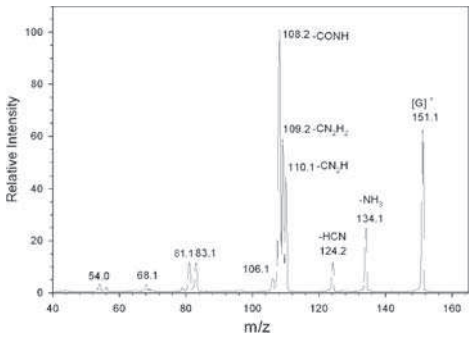
4.4.1. Fragmentation de la Guanine

Les Figures 4-15, 4-16 et 4-17 représentent les mécanismes de fragmentation selon les ruptures initiales des liaisons C2-N3, N7-C8, N1-C2 et C5-C6, N1-C6, C2-N11. Pour la rupture initiale du processus de fragmentation, les liaisons N1-C6 et N1-C2 sont les plus faibles avec des énergies de ΔG=+2.254 eV et ΔG=+2.825eV conduisant à un intermédiaire. Il est remarquable que l'on observe des intermédiaires pour toutes les ruptures initiales de

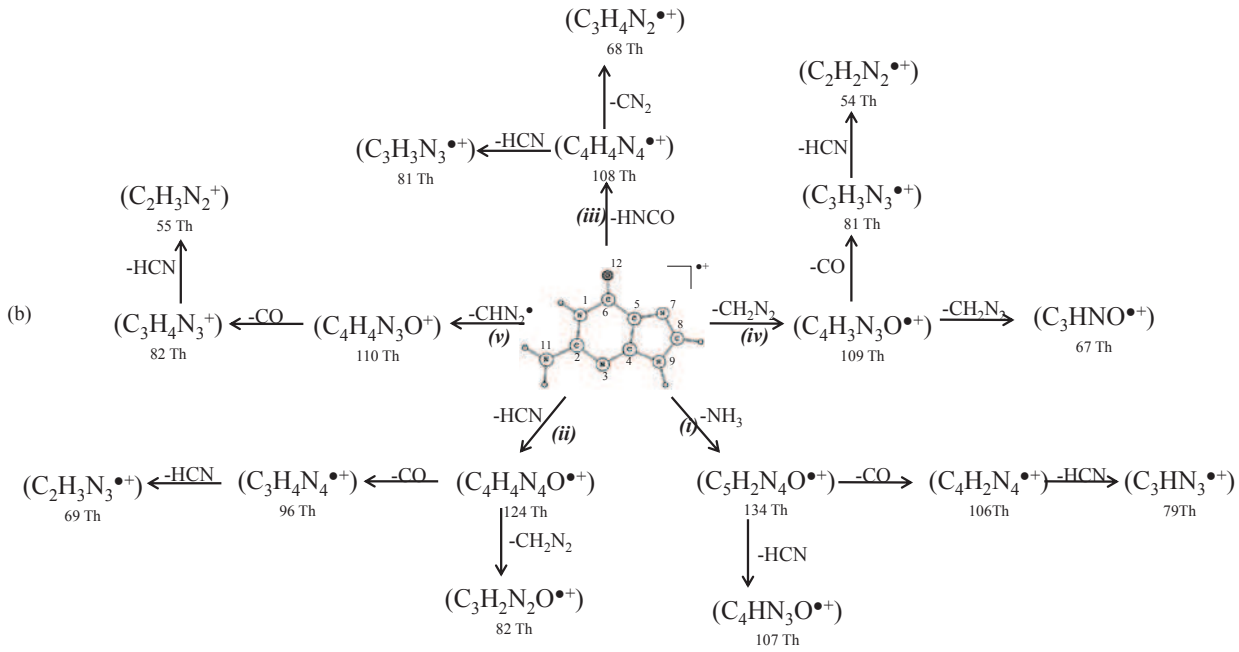
liaisons à l'exception de celles des liaisons C5-C6 et C2-N11 pour lesquelles d'autres liaisons N1-C2 et N1-C6 sont rompues, respectivement, qui conduisent spontanément à des fragments.

Figure 4-14. a) : Spectre de masse de la guanine obtenu par l'ionisation électrospray (ESI)[59]. b) : Voies principales de fragmentation du cation guanine obtenues par l'étude CID.[59]

(a)



(b)



4.4.1.1. Rupture initiale C2-N3 (en bleu dans la Figure 4-15)

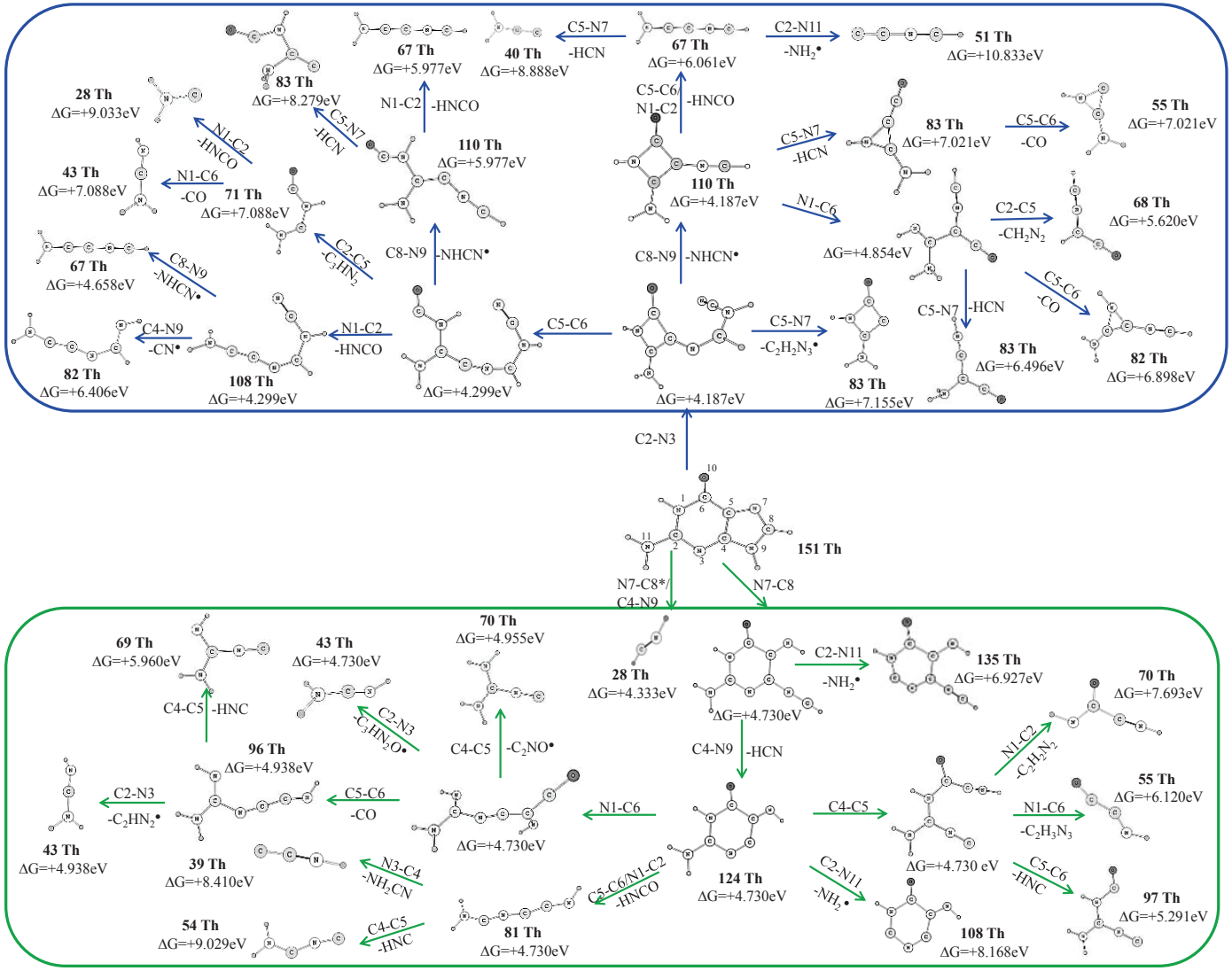
Cette rupture mène à un intermédiaire avec la formation de la liaison C2-C5 menant un cycle à 4-membres (ΔG=+4.187 eV) et aussi à la rupture de la liaison C4-C5. La densité de spin est localisée sur l'atome C5 (σ=0.401 a.u.) et les charges positives sont sur les atomes C2, C6 et C8 (respectivement 0.404, 0.553 et 0.481 a.u.). Cette structure peut se fragmenter par différentes voies :

- la rupture spontanée de liaison C8-N9 conduit au cation $C_4H_4N_3O^+$ (110 Th, ΔG=+4.187 eV) avec élimination du radical $NHCN^\bullet$. Ce cation avec des énergies de 2-3 eV supplémentaire peut se dissocier en petits cations $C_3H_3N_2^+$ (67 Th, ΔG=+6.061 eV) ou à cation $C_3H_3N_2O^+$ (83 Th, ΔG=+7.021 eV) respectivement par la perte des molécules HNCO ou HCN. D'autre part, il y a un autre chemin plus facile nécessitant seulement 0.7 eV de plus, dans lequel le cycle s'ouvre par la rupture de liaison N1-C6. Ceci est suivi d'une élimination des molécules NH_2CN, HCN ou CO conduisant aux cations $C_3H_2NO^+$ (68 Th, ΔG=+6.620 eV), $C_3H_3N_2O^+$ (83 Th (ΔG=+6.496 eV) ou $C_3H_4N_3^+$ (82 Th, ΔG=+6.898 eV).
- la rupture de la liaison C5-C6, conduit facilement (seulement 0.1 eV de plus que pour le premier intermédiaire) à un autre intermédiaire (ΔG=+4.299 eV). Cette molécule à son tour peut se dissocier en petits cations, soit spontanément par perte d'une molécule de HNCO menant au cation à 108 Th (ΔG=+4.299 eV), qui peut perdre facilement un radical $NHCN^\bullet$ conduisant au cation à 67 Th (ΔG=+4.658 eV), soit avec une énergie de 0.7eV supplémentaire par élimination d'un radical $NHCN^\bullet$ menant au cation à 110 Th (ΔG=+5.977 eV), qui peut spontanément éliminer HNCO conduisant au cation à 67 Th (ΔG=+5.977 eV), soit un peu plus difficilement par perte de la molécule C_3HN_2 menant au cation à 71 Th (ΔG=+7.088 eV) qui peut facilement éliminer la molécule CO menant au cation à 43 Th (ΔG=+7.088 eV).
- la rupture de la liaison C5-N7 nécessitant plus d'énergie que les deux autres ruptures (ΔG=+7.155 eV) conduit au cation $C_3H_3N_2O^+$ (83 Th).

4.4.1.2. Rupture initiale N7-C8 (en vert dans la Figure 4-15)

La rupture de N7-C8 du cation guanine passe par un état de transition (ΔG=+4.730 eV) où la charge positive est située sur les atomes C2 et C6 (respectivement 0.515, 0.572 a.u.) et la densité du spin est localisée sur N7 (0.939 a.u.). La relaxation mène à un intermédiaire avec un transfert d'hydrogène entre N9 et N7. Dans cet état, la densité du spin est délocalisée mais la charge positive est toujours sur les atomes C2 et C6 (respectivement 0.509, 0.579 a.u.). Comme on a expliqué pour la cytosine et l'adénine, il est possible que ce transfert ne se produise pas et avec une deuxième rupture de C4-N9, le cation se fragmente en cation à 28 Th (ΔG=+4.333 eV).

Figure 4-15 : Mécanismes de fragmentation du cation guanine par rupture des différentes liaisons C2-N3 (bleu) et N7-C8 (vert). ΔG (eV) est le minimum d'énergie nécessaire à la formation de chaque cation par rapport au cation guanine.



Pour obtenir des fragments plus petits à partir de l'intermédiaire obtenu par rupture initiale N7-C8, on a étudié les deux ruptures de liaisons C2-N11 et C4-N9. La première élimine un radical $NH_2^{\bullet}$ conduisant au cation $C_5H_3N_4O^{\bullet\bullet+}$ (135 Th, ΔG=+6.927 eV) et la deuxième élimine spontanément une molécule HCN menant au cation $C_4H_4N_4O^{\bullet+}$ (124 Th, ΔG=+4.730 eV). La dissociation de ce dernier cation peut être automatiquement suivie par les trois ruptures des liaisons qui ouvrent son cycle hexagonal:

- la rupture de la liaison C5-C6 conduit à une autre rupture de la liaison N1-C2 en menant au cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+4.730 eV) par une élimination de la molécule HNCO. Ce cation à 81 Th peut difficilement perdre les molécules NH2CN ou HNC avec des énergies environ 8-9 eV.
- la rupture de la liaison C4-C5 mène à un intermédiaire qui subit ensuite trois ruptures nécessitant des énergies entre 5 et 7 eV. La plus facile est celle de la liaison C5-C6 en éliminant une molécule HNC (ΔG=+5.291 eV).
- la rupture de la liaison N1-C6 conduit comme les deux ruptures précédentes à un intermédiaire. A partir de cet intermédiaire, les différents cations peuvent être produits : CH_3N^+ (43 Th, ΔG=+4.730 eV) par la rupture de la liaison C2-N3, $C_2H_4N_3^+$ (70 Th, ΔG=+4.955 eV) par la rupture de la liaison C4-C5 ou $C_3H_4N_4^{\bullet+}$ (96 Th, ΔG=+4.938 eV) par la rupture de la liaison C5-C6. Ce dernier cation peut se fragmenter spontanément en cation à 43 Th par perte d'un radical $C_2HN_2^{\bullet}$.

On voit que la dissociation à partir du cation à 124 Th obtenu par la rupture de la liaison N7-C8/C4-N9 peut être suivie spontanément par les trois ruptures C4-C5, C5-C6 ou N1-C6. La rupture de la liaison C5-C6 conduit au cation à 81 Th, alors que les deux autres mènent à un intermédiaire qui peut ensuite facilement se fragmenter.

4.4.1.3. Rupture initiale C5-C6 (en rouge dans la Figure 4-16)

Cette rupture conduit à un état de transition (ΔG=+3.884 eV) dans lequel les charges positives les plus importantes sont localisées sur les atomes C2, C6 et C8 (respectivement 0.435, 0.682 et 0.399 a.u.) et la densité du spin est localisée sur l'atome C5 (σ=0.797 a.u.). Au cours de la relaxation de l'état de transition la liaison N1-C2 est aussi rompue en formant deux fragments $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (q=0.908a.u., $\sigma_{(C5)}$=0.859 a.u.) et HNCO. A partir du cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th), nous avons étudié la rupture de la liaison N3-C4 qui conduit au cation $C_3H_2N_2^{\bullet+}$ (66 Th, ΔG=+7.347 eV) par perte d'une molécule NH_2CN. Les trois autres ruptures des liaisons qui impliquent l'ouverture du cycle à pentagonal ont été analysées :

- la rupture de la liaison C4-N9 conduisant à un intermédiaire (ΔG=+4.604 eV), peut spontanément se dissocier en cation $C_3H_3N_3O^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+4.604 eV) par la perte d'une molécule HNC. Ce dernier cation peut éliminer soit une autre molécule HNC avec une énergie de +1.4 eV supplémentaire et former un cation $C_2H_2N_2O^{\bullet+}$ (54 Th, ΔG=+5.996 eV) soit très difficilement une molécule NH_2CN conduisant au cation $C_2HN^{\bullet+}$ (39 Th, ΔG=+9.068 eV).
- la rupture de la liaison C4-C5 nécessite une énergie de ΔG=+4.927 eV, dans laquelle le cation peut subir trois ruptures de liaisons C4-N9, C8-N9 ou N7-C8 conduisant respectivement aux cations $C_2H_2N_2^{\bullet+}$ (54 Th, ΔG=+6.270 eV), $C_2H_3N_3^{\bullet+}$ (69 Th, ΔG=+6.627 eV) ou $C_3H_4N_3^{\bullet+}$ (82 Th, ΔG=+8.893 eV), respectivement.
- la rupture de la liaison N7-C8 conduit au cation intermédiaire (ΔG=+5.184 eV), qui peut se fragmenter très facilement en cation à 28 Th en éliminant un radical $C_3H_2N_3^{\bullet}$ avec une énergie de ΔG=+5.438 eV. Il existe un autre chemin plus difficile conduisant au cation à 82 Th (ΔG=+8.893 eV) par perte d'un $CN^{\bullet}$.

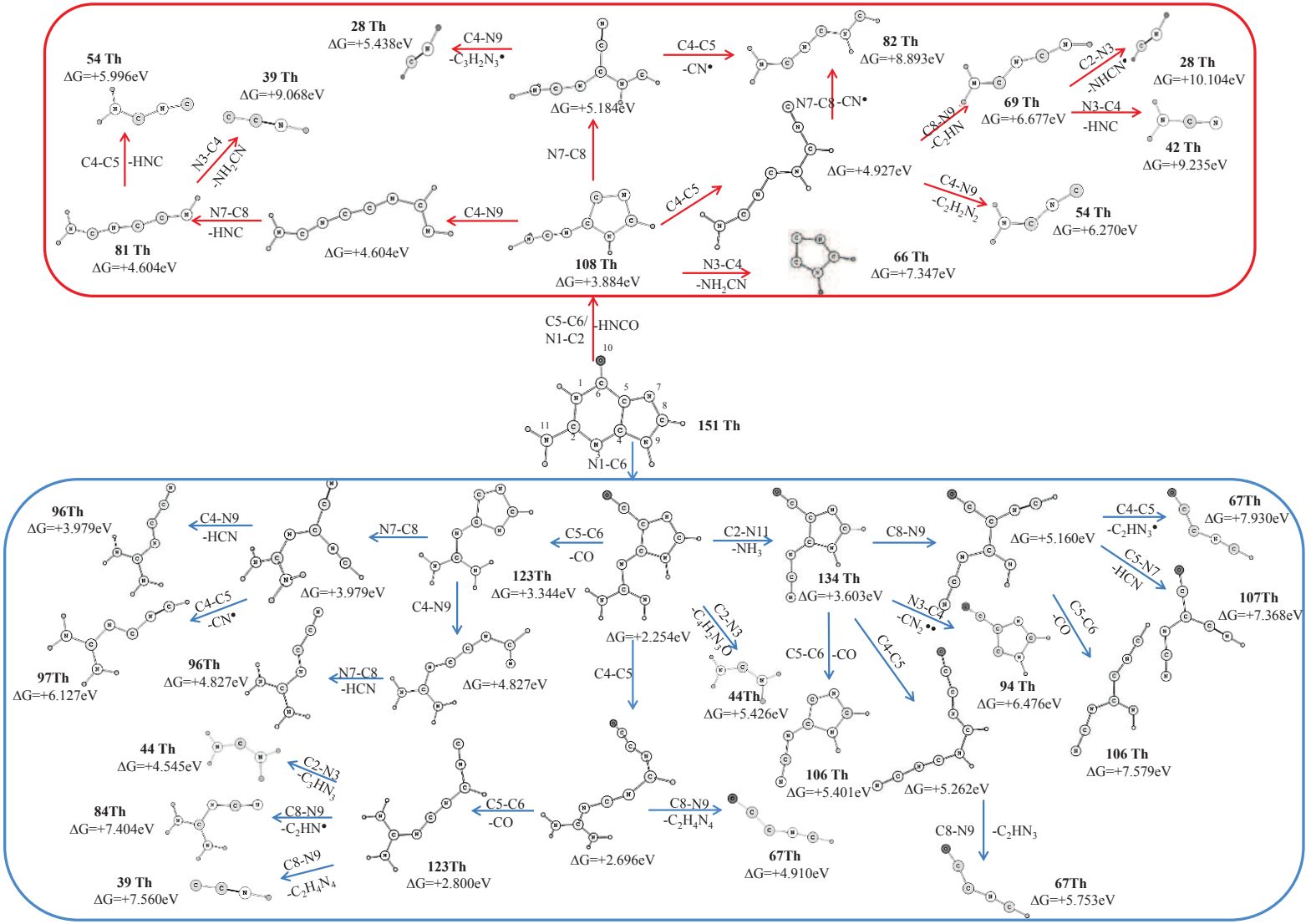
On observe que la fragmentation à partir du cation ouvert est plus facile que la rupture de la liaison N3-C4.

4.4.1.4. Rupture initiale N1-C6 (en bleu dans la Figure 4-16)

La rupture de la liaison N1-C6 mène à un intermédiaire (ΔG=+2.254 eV) avec une rotation autour de la liaison N3-C4. Cet intermédiaire peut se fragmenter par différentes ruptures :

- la rupture de la liaison C5-C6 conduit au cation $C_4H_5N_5^{\bullet+}$ (123 Th, ΔG=+3.344 eV) par élimination de CO. Ce cation peut se dissocier soit facilement en $C_3H_4N_4^{\bullet+}$ (96 Th, ΔG=+3.979 eV) par les ruptures de liaisons N7-C8/C4-N9 en éliminant une molécule HCN, soit un peu plus difficilement par la rupture des liaisons N7-C8/C4-C5 formant le cation $C_2H_4N_3^{+}$ (97 Th, ΔG=+6.127 eV), soit en cation $C_3H_4N_4^{\bullet+}$ (96 Th, ΔG=+4.827 eV) par les ruptures C4-N9/N7-C8.
- la rupture de la liaison C4-C5 mène à un autre intermédiaire avec une énergie supplémentaire de +0.4 eV (ΔG=+2.696 eV). Ce cation peut éliminer soit une molécule $C_2H_4N_4$ conduisant au cation $C_3HNO^{\bullet+}$ (67 Th, ΔG=+4.910 eV), soit spontanément une molécule CO conduisant au cation $C_4H_5N_5^{\bullet+}$ (123 Th, ΔG=+2.800 eV), qui à son tour se fragmente en cations à 44 Th (ΔG=+4.545 eV), 84 Th (ΔG=+7.404 eV) et 39 Th (ΔG=+7.560 eV).

Figure 4-16 : Mécanismes de fragmentation du cation guanine par rupture des différentes liaisons C5-C6 (rouge) et N1-C6 (bleu). ΔG (eV) est le minimum d'énergie nécessaire à la formation de chaque cation par rapport au cation guanine.



- la rupture de la liaison C2-N11 mène au cation $C_5H_2N_4^{\bullet+}$ (134 Th, ΔG=+3.603 eV) en éliminant une molécule NH_3. Ce cation peut se dissocier en cation $C_4H_2N_4^{\bullet+}$ (106 Th, ΔG=+5.401 eV) ou en $C_4H_2N_2O^{\bullet+}$ (94 Th, ΔG=+6.476 eV) par élimination d'une molécule CO ou $CN_2^{\bullet\bullet}$. Il peut également ouvrir son cycle et ensuite se fragmenter par les ruptures de liaisons : soit C4-C5 (ΔG=+5.262 eV) suivie de C8-N9 menant au cation $C_3HNO^{\bullet+}$ (67 Th, ΔG=+5.753 eV), soit C8-N9 (ΔG=+5.160 eV) suivie des trois ruptures de liaisons C4-C5, C5-C6 ou C5-N7 formant des cations à 67 Th, 106 Th, 107 Th, respectivement.
- la rupture de la liaison C2-N3 mène au cation $CH_4N_2^{\bullet+}$ (44 Th, ΔG=+5.426 eV) par une élimination de la molécule $C_4H_2N_3O$.

4.4.1.5. Rupture initiale N1-C2 (en marron dans la Figure 4-17)

La rupture de la liaison N1-C2 mène à un intermédiaire (ΔG=+2.825 eV). À partir de celui-ci plusieurs ruptures sont envisageables :

- la rupture de la liaison C5-C6 élimine une molécule de HNCO conduisant au cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th, ΔG=+3.542 eV) ;
- la rupture de la liaison N3-C4 menant au cation $C_4H_3N_3O^{\bullet+}$ (109 Th, ΔG=+6.655 eV) par une élimination de NH_2CN.

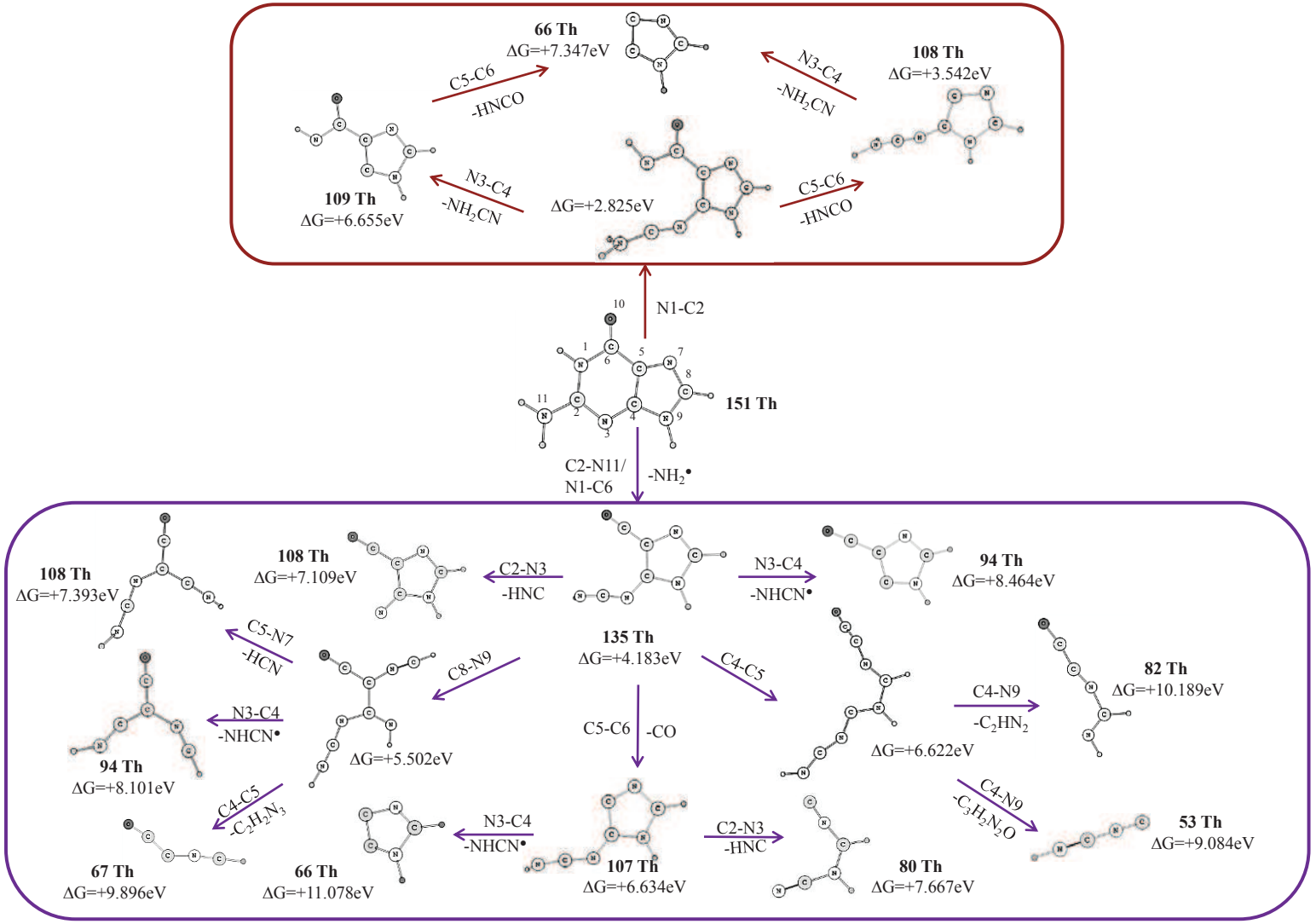
Ces deux cations peuvent également se fragmenter en cation à 66 Th (ΔG=+7.347 eV).

4.4.1.6. Rupture initiale C2-N11 (en violet dans la Figure 4-17)

Cette rupture se fait simultanément avec celle de la liaison N1-C6 qui conduit aux fragments $NH_2^{\bullet}$ et $C_5H_3N_4O^+$ (135 Th, ΔG=+4.183 eV). Nous avons étudié la fragmentation de ce cation par cinq possibilités de ruptures de liaisons dont deux conduisent à l'ouverture du cycle pentagonal :

- la rupture de la liaison C5-C6 élimine une molécule CO conduisant au cation $C_4H_3N_4^+$ (107 Th, ΔG=+6.634 eV), qui peut se dissocier difficilement, par les ruptures des liaisons C2-N3 ou N3-C4 en cations $C_3H_2N_3^+$ (80 Th, ΔG=+7.667 eV) ou $C_3H_2N_2O^{\bullet+}$ (66 Th, ΔG=+11.078 eV).
- la rupture de la liaison C2-N3 conduit au cation $C_4H_2N_3O^+$ (108 Th, ΔG=+7.109 eV), en éliminant une molécule HNC.

Figure 4-17 : Mécanismes de fragmentation du cation guanine par rupture des différentes liaisons N1-C2 (marron) et C2-N11 (violet). ΔG (eV) est le minimum d'énergie nécessaire à la formation de chaque cation par rapport au cation guanine.



- la rupture de la liaison N3-C4 conduit au cation $C_4H_2N_2O^{\bullet+}$ (94 Th, ΔG=+8.464 eV), en éliminant un radical $NHCN^{\bullet}$.
- celle de C8-N9 qui nécessite une énergie ΔG=+5.502 eV conduisant à l'ouverture du cycle, génère le cation $C_4H_2N_3O^+$ 108 Th (ΔG=+7.393 eV) par une élimination de HCN.
- celle de C4-C5 nécessitant une énergie ΔG=+6.622 eV conduit à un intermédiaire qui peut difficilement se fragmenter en cations $C_2HN_2^+$ (53 Th, ΔG=+9.084 eV) et $C_3H_2N_2O^+$ (82 Th, ΔG=+10.189 eV).

Dans cette rupture initiale de C2-N11, la dissociation à partir de l'ouverture du cycle est plus difficile que les autres.

4.4.2. Comparaison de nos résultats avec les résultats expérimentaux

L'ion parent apparaît à une masse de 151 Th avec la plus grande abondance dans tous les spectres de masse[51,52,128] sauf dans l'étude par CID[59], dans laquelle le pic à 108 Th est le plus intense (Figure 4-14a).

Pour les pics à 134-135 Th, l'étude par impact d'électrons[51,52] a montré qu'ils peuvent correspondre à l'élimination de $NH_2^{\bullet}$ ou NH_3. Cheng *et al.*[59] n'ont envisagé que la seule perte de NH_3 conduisant au cation à 134 Th (Figure 4-14b) par élimination de N1 ou N10 qui implique l'ouverture du cycle de la pyrimidine par rupture de N1-C6 et de multiples transferts d'hydrogène avec une énergie de 4.115 eV. Cette élimination est un des chemins les plus difficiles de ***i*** à ***v*** (Figure 4-14b). Nous avons obtenu d'une part une élimination de radical $NH_2^{\bullet}$ par la rupture C2-N11 conduisant au cation $C_5H_3N_4O^+$ (135 Th, ΔG=+4.183 eV) dans lequel la liaison N1-C6 est aussi rompue (voir la Figure 4-17). Cette voie, relativement favorable, de fragmentation n'a pas été envisagée par Cheng *et al.*[59]. D'autre part, il existe une élimination d'une molécule NH_3 par la rupture des liaisons N1-C6/C2-N11 conduisant au cation $C_5H_2N_4O^{\bullet+}$ (134 Th, ΔG=+3.603 eV). Cette dernière voie est énergétiquement plus facile (Figure 4-19).

Le pic à 124 Th qui n'a pas été observé par impact d'électrons[51,52], ni par photoionisation[128], est un pic moins intense dans le spectre de masse de (CID)[59]. Les auteurs de ce dernier travail ont proposé que la formation du fragment $C_4H_4N_4O^{\bullet+}$ (124 Th) est obtenue par les ruptures des liaisons C8-N9/C5-N7 avec perte de la molécule HC7N8. Cependant par nos calculs, ces deux liaisons se renforcent durant l'ionisation de la guanine. Nous avons donc étudié d'autres ruptures de liaison : N7-C8 (Figure 4-15) menant à un intermédiaire (ΔG=+4.730 eV) qui peut

spontanément se dissocier par une deuxième rupture de liaison C4-N9 donnant le cation $C_4H_4N_4O^{\bullet+}$ (124 Th) par une élimination de la molécule HC8N9. Il faut remarquer que ce pic n'apparait pas dans la plupart des spectres de masse, car d'une part, la formation de ce cation à 124 Th est plus difficile que celle des autres cations, ce qui est en accord avec les résultats de B3LYP de Cheng *et al.*[59] et d'autre part, ce cation peut se dissocier spontanément en ouvrant le cycle imidazole. Nous avons également observé un cation $C_4H_5N_5^{\bullet+}$ (123 Th) par perte d'une molécule CO avec une énergie comprise entre +3 eV et 4 eV (voir la rupture initiale N1-C6 dans la Figure 4-16) et qui peut spontanément se fragmenter en cation à 96 Th (ΔG=+3.979 eV) ou en cation à 44 Th (ΔG=+4.545 eV).

Les pics à 109 et 110 Th correspondent à la perte de fragments de cyanamide (HnNCN, n=1,2), qui implique l'élimination de l'azote et du carbone à partir du cycle pyrimidique[51,52]. Cheng *et al.*[59] ont proposé les cations $C_4H_3N_3O^{\bullet}$ (109 Th) et $C_4H_4N_3O^{+}$ (109 Th) qui peuvent être obtenus par la rupture initiale C2-N3 à partir de deux différents tautomères. Alors que la perte HNCN (cyanamide) étudiée par Plekan *et al.*[128] correspond à plusieurs ruptures de liaisons dans différents tautomères. La formation de deux cations à 109 Th et 110 Th obtenus dans l'étude de Cheng *et al.*[59] est énergétiquement plus facile que celle des autres cations (de ***i*** à ***v*** dans la Figure 4-14b). En revanche, dans notre travail, nous avons obtenu le cation $C_4H_3N_3O^{\bullet+}$ (109 Th, ΔG=+6.655 eV) par la rupture des liaisons N1-C2/N3-C4 (Figure 4-17) et le cation $C_4H_4N_3O^{+}$ (110 Th, ΔG=+4.187 eV) par la rupture des liaisons C2-N3/C8-N9 (Figure 4-15). Même si ces énergies sont relativement très hautes par rapport à celles de l'étude de B3LYP[59], l'ordre relatif des énergies de formation de ces cations en comparaison avec celle correspondant au cation $C_4H_4N_4O^{\bullet+}$ (108 Th) est totalement compatible avec les intensités de leurs pics dans l'étude expérimentale CID[59]. Aussi il faut rappeler que, les énergies de dissociation sont toutes calculées à partir de la structure la plus stable de la guanine, mais pas à partir des différents formes tautomères de la guanine comme proposé par Cheng *et al.*[59].

Le pic à 108 Th correspond à la perte d'une molécule HNCO, il s'agit de la rupture des liaisons C5-C6/N1-C2 dans tous les tautomères[128] avec une énergie de 3.171 eV calculée par Cheng *et al.*[59] avec la fonctionnelle B3LYP. Nos calculs avec la fonctionnelle PBE indiquent que l'énergie nécessaire à formation du cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ obtenu par perte de HNCO est soit ΔG=+3.884 eV par la rupture des liaisons C5-C6/N1-C2 (Figure 4-15), soit ΔG=+3.542 eV par la rupture des liaisons N1-C2/C5-C6 (Figure 4-17). Ce cation à 108 Th est plus facilement obtenu que les autres cations comme on le voit sur les Figures 4-15, 4-16 et 4-17. La

formation du cation à 108 Th obtenu par des calculs B3LYP de Cheng *et al.*[59] est moins facile que celle des cations à 109 Th ou à 110 Th. Cependant dans son spectre de masse, le pic le plus intense correspond à 108 Th. Dans notre étude, les cations à 108, 109 et 110 Th nécessitent des énergies ΔG=+3.542 eV ΔG=+6.655 eV et ΔG=+4.187 eV, respectivement, cela montre que l'énergie d'élimination de la molécule HNCO correspond bien au pic de plus haute[59].

Pour les pics à 81-83 Th, à partir des cations à 108-110 Th, les expérimentateurs[52,59] ont proposé que CO ou HCN peuvent être directement éliminés par clivage du cycle imidazole menant au cation à 81-83 Th. Nous avons obtenu les cations $C_3H_3N_2O^{\bullet+}$ (83 Th, ΔG=+6.496 eV) et $C_3H_4N_3^{\bullet+}$ (82 Th, ΔG=+6.898 eV) à partir du cation à 110 Th (C2-N3/C8-N9) par élimination des molécules CO et HCN (Figure 4-15). Le cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th) peut aussi se former soit à partir du cation $C_4H_4N_4^{\bullet+}$ (108 Th, C5-C6/N1-C2) avec une élimination des molécules HNC (ΔG=+4.604 eV, Figure.4-17), soit à partir le cation à 124 Th (N7-C8/C4-N9) par une élimination de HNCO conduisant au cation $C_3H_3N_3^{\bullet+}$ (81 Th, ΔG=+4.730 eV, Figure 4-15).

Les cations correspondant aux pics à 67-70 Th et 53-55 Th sont observés par toutes les ruptures initiales dans les Figures de 4-15 à 4-17 avec des énergies de ΔG=+4.654 eV et ΔG=+5.996 eV, respectivement.

4.5. Conclusion

Pour les premières ruptures de liaisons envisagées dans la fragmentation des bases de l'ADN/ARN, la liaison N1-C2 est une des plus faibles. L'élimination de la molécule HNCO ou $NCO^{\bullet}$ est la voie la plus facile de dissociation de toutes les bases de l'ADN/ARN (sauf l'adénine), qui correspond à la réaction de rétro Diels-Alder. Le mécanisme le plus important pour les bases pyrimidique (uracile et cytosine) implique des ruptures successives des liaisons N1-C2/N3-C4 et pour les purines des ruptures des liaisons C2-N3/N1-C6 (adénine et guanine) ou N1-C2/C5-C6 (guanine). Pour les bases qui contiennent les groupes amine ou cétone, l'élimination d'une molécule NH_3 ($NH_2^{\bullet}$) ou CO est un autre chemin de fragmentation. Nous observons aussi les fragments à 68-70, 54-56, 39-44 et à 28-29 Th dans tous les mécanismes de dissociation qui correspondent aux pertes des molécules de HCN (HNC) ou de CO à partir directement des bases cationiques ou à partir du cation primaire/secondaire.

Nos calculs permettent d'attribuer différents fragments à des pics donnés, ou de réfuter d'autres fragments expérimentalement proposées, par exemple:

- pour le pic à 42 Th dans le spectre de masse de l'uracile, nous avons montré que deux fragments $C_2H_4N^+$ et $C_2H_2O^{\bullet+}$ peuvent être formés avec une préférence pour $C_2H_4N^+$,
- pour les pics à 83-84 Th du cation cytosine, on peut proposer la perte de CO menant au fragment à $C_3H_5N_3^{\bullet+}$ (83 Th).
- pour le pic peu intense à 56 Th du cation cytosine, le chemin correspondant à la perte successive de HCN/CO est plus facile que celui de la perte de CO/HCN.
- pour l'adénine, nous avons montré que les fragments $C_3H_3N_2^{\bullet+}$ (67 Th) et $C_3H_4N_2^{\bullet+}$ (68 Th) sont bien formés et qu'ils sont aussi importants que le pic à 66 Th

Aussi, il faut noter que dans les mécanismes de dissociation pour toutes les bases, il est possible que les chemins ne mettent pas en jeu un transfert du proton.

Chapitre 5 :
La fragmentation de l'uracile déshydrogéné et de ses fragments déshydrogénés

Rappelons-nous dans la partie 4-1, le spectre de masse de l'uracile est composé essentiellement de pics à 111-112, 67-70, 40-42, 27-29 Th (voir la Figure 4-1). D'après les résultats expérimentaux, la principale voie de fragmentation du cation uracile correspond à la réaction de rétro Diels-Alders[125,126] qui consiste en une élimination de l'acide isocyanique (HNCO) du cycle aromatique conduisant au fragment C_3H_3NO (69 Th). Cette réaction dans notre travail conduit soit au cation $C_3H_4NO^+$ (70 Th, ΔG=1.710 eV) par les ruptures N1-C2/N3-C4, soit au cation $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69Th, ΔG=2.111 eV) par les ruptures N3-C4/N1-C2.

Bien que les différentes méthodes d'ionisation conduisent aux mêmes pics dans le spectre, quelle que soit la nature de la particule incidente, on peut remarquer que ces pics sont présentés par des bandes relativement larges comprenant plusieurs valeurs consécutives. Les fragments sont formés à partir d'un dépôt d'énergie de quelques keV ou quelques centaines d'eV. Ces énergies proviennent d'impacts d'électron ou de proton pouvant affecter les atomes légers comme l'hydrogène et induire son départ de la molécule. Il faut noter que la perte de l'atome d'hydrogène mène aux cations à M-1 Th alors que celle du proton conduit aux fragments neutres ou radicalaires qui ne sont pas visibles dans le spectre de masse. Donc, la différence entre les pics de 1 ou 2 Th pourrait être facilement expliquée par la perte d'un ou deux atomes d'hydrogène. Le but de cette partie est d'étudier la perte d'un hydrogène à partir des fragments issus du cation uracile (fragmentation-déshydrogénation) et d'étudier la dissociation des cations déshydrogénés obtenus (déshydrogénation-fragmentation).

Nous chercherons à comprendre si la perte d'un hydrogène à partir des fragments obtenus dans la partie 4-1 est possible. D'abord, nous étudierons la formation des produits dérivés d'un fragment donné, formé par la perte d'un ou deux atomes d'hydrogène selon la rupture des liaisons H-C ou H-N des fragments chargés déjà obtenus. Puis, nous évaluerons les fragmentations des cations issus de cette déshydrogénation en comparant les énergies obtenues par les deux voies : fragmentation-déshydrogénation et déshydrogénation-fragmentation. Enfin, nous présenterons les fragments en considérant les énergies nécessaires à leur formation en comparant avec les résultats expérimentaux.

Nous avons calculé l'énergie nécessaire pour extraire un hydrogène des fragments chargés obtenus dans la partie 4.1.1 correspondants aux différents pics 111-112, 67-70, 50-56, 40-42 et 27-29 Th. Ces pics ont des intensités relatives différentes selon les différents méthodes d'ionisation (Tableau 5-1). Les fragments chargés déshydrogénés sont ensuite dissociés en rompant les liaisons les plus faibles (jugées par la longueur de la liaison voire *post-*

fragmentation dans le Tableau 5-2). Ainsi nous pourrons comparer l'énergie nécessaire pour obtenir des fragments déshydrogénés pour les pics 67-70, 40-42 et 27-29 Th par voie de fragmentation-déshydrogénation ou par voie de déshydrogénation-fragmentation (Figure 5-1). Les ruptures de liaisons nécessitant une contribution énergétique importante ne seront pas commentées en détail. DFX-X est la dénomination des fragments dissociés obtenus par les fragmentations initiales dans la partie 4.1. ΔG est l'énergie libre nécessaire à la formation d'un fragment par rapport à l'énergie libre du cation uracile.

Tableau 5-1: Intensités relatives des *m/z* des pics dans les spectres de masse par impact d'électrons (20 eV[133] et 70 eV[49]) et de photons (20 eV)[47] pour l'uracile ($C_4H_4N_2O_2^+$, 112 Th).

m/z	Electron impact		Photon impact
	20 eV	70 eV	20 eV
112	100	78	63
70	5	7	4
69	69	63	52
68	15	33	33
67	<1	1	0
42	59	100	100
41	21	48	50
40	21	57	25
29	2	1	3
28	74	78	86
27	3	2	4

5.1. Fragments à 111-112 Th

La perte d'un atome d'hydrogène à partir du cation uracile mène au fragment $C_4H_3N_2O_2^+$ (111 Th), sauf en N3 où le fragment obtenu est bi-radicalaire $C_4H_3N_2O_2^{\bullet\bullet+}$. Parmi les différentes pertes d'hydrogène, la rupture de la liaison H-C6 est la plus favorable avec une énergie libre de ΔG=+4.169 eV. D'une part, on obtient les isomères de $C_3H_2NO^+$ (68 Th) issus des fragmentations des cations 112-H6 et 112-H1 par deux ruptures de liaisons successives (voir le tableau 5-2), avec une préférence pour 112-H6 et une énergie de ΔG=+4.237 eV. D'autre part, le cation bi-radicalaire $C_4H_3N_2O_2^{\bullet\bullet+}$ (111 Th) peut se dissocier, menant soit au fragment $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th, ΔG=+6.122 eV), soit au fragment $C_2NO_2^+$ (70 Th, ΔG=+7.076 eV). Les fragmentations du cation 111-H5 mènent à la reformation d'un cycle à pentagonal avec une

énergie de ΔG≈+8 eV. Ainsi, pour avoir des fragments plus petits, au moins deux autres ruptures de liaisons, dont on ne donne pas les détails, seraient nécessaires à leur formation. On peut donc noter que pour le pic à 111 Th, la formation du cation $C_4H_3N_2O_2^+$ est probable et que l'énergie de ΔG=+4.169 eV est accessible. D'après les énergies figurant dans le Tableau 5-2 et la Figure 5-1, les fragmentations initiales du cation uracile (la partie 4.1) sont plus faciles que les dissociations de l'uracile déshydrogéné.

5.2. Fragments à 67-70 Th

5.2.1. À partir du fragment $C_3H_4NO^+$ (DF1-1; 70 Th)

La formation du cation $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th) par la perte d'un hydrogène en C5, C6, N1 requiert entre ΔG=+5.618 eV et ΔG=+6.318 eV, le cation 70-H5 étant le plus favorable (Tableau 5-21). La dissociation de $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (70-H) conduit soit à C_3HO^+ (53 Th) par la rupture de la liaison N1-C6 à partir de 70-H5, soit à $C_2H_3N^{+\bullet}$ (41 Th) par la rupture de la C4-C5 à partir de 70-H6 et 70-H1 ou soit à $C_2H_2O^{\bullet+}$ (41 Th) par la rupture de la liaison C5-C6 à partir de 70-H1 en transférant un proton de C6 à C5. On remarque que la formation de ces fragments n'est pas favorable avec des valeurs comprises entre ΔG=+6.822 eV et ΔG=+8.928 eV.

5.2.2. À partir du fragment $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (DF3-1; 69 Th)

La perte d'un atome d'hydrogène en C6 et N1 mène au cation $C_3H_2NO^+$ alors que celle en C5 conduit au fragment bi-radicalaire $C_3H_2NO^{\bullet\bullet+}$ (σ_{C5}=1.139 a.u. et σ_{N1}=0.559 a.u.). La perte d'un hydrogène en C6 (69-H6) est clairement plus favorable que les deux autres ruptures (H-C5 et H-N1) avec une énergie de ΔG=+2.958 eV, même si cette rupture passe par un état de transition dû à un changement d'hybridation de l'atome C6 (de sp^2 à sp). À partir des fragments 69-H1, 69-H6, deux voies de dissociation sont possibles : la rupture de la liaison C4-C5 menant aux isomères $C_2H_2N^+$ et la rupture de la liaison C5-C6 conduisant au fragment C_2HO^+. À partir du fragment 69-H5, les ruptures de C4-C5 ou de C5-C6 mènent aux bi-radicaux $C_2H_2N^{\bullet\bullet+}$ ou $C_2HO^{\bullet\bullet+}$, respectivement. Parmi ces post-fragmentations, $C_2H_2N^+$ (formé d'un cycle à 3-membres) est le seul fragment obtenu favorablement par la rupture de C4-C5 à partir de 69-H1 avec l'énergie de ΔG=+5.440 eV. La formation des autres fragments nécessite au moins +6.8 eV. À partir du fragment 69-H6, le plus stable, un fragment $C_3HNO^{\bullet+}$ correspondant au pic à 67 Th peut être obtenu par la perte d'un deuxième hydrogène en C5 ou en N1 avec des énergies relativement importantes : ΔG=+7.162 eV et ΔG=+7.378 eV, respectivement. Cette deuxième perte d'hydrogène est donc peu

envisageable, nous n'avons donc pas continué la dissociation à partir du fragment obtenu $C_3HNO^{\bullet+}$ (67 Th).

En résumé, bien que le pic à 70 Th apparaisse faiblement dans les spectres de masse obtenus (Figure 4-1), ce pic peut correspondre plus vraisemblablement au cation $C_3H_4NO^+$ issu de la fragmentation initiale (réaction de rétro Diels-Alders) avec l'énergie nécessaire de ΔG=+1.710 eV. Malgré cette énergie importante, l'intensité du pic à 70 Th est très petite, ce cation peut probablement se dissocier très vite en petits fragments plus favorables comme $C_2H_4N^+$. Aussi, la formation du fragment $C_2NO_2^+$ (70 Th) issu de la déshydrogénation-fragmentation du cation uracile est un chemin très difficile (ΔG=+7.076 eV). Pour le pic à 69 Th ayant une forte intensité, observé dans tous les spectres de masse, la formation du fragment $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th, ΔG=+2.111 eV) issu de la fragmentation initiale (réaction de rétro Diels-Alders) est plus facile que par la perte d'un hydrogène en C6 du fragment $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (DF1-1) avec une énergie minimale de ΔG=+5.618 eV ou par la post-fragmentation du cation uracile (ΔG=+6.122 eV). Cependant ces dernières possibilités restent envisageables. Le pic à 68 Th est moins intense que celui à 69 Th et l'énergie de la formation du cation $C_3H_2NO^+$ (69-H6, ΔG=+2.958 eV) est un peu plus haute que le cation $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th, DF3-1). Il y a un autre chemin possible et moins favorable pour ce pic à 68 Th par la dissociation du cation 112-H avec une énergie de ΔG=+4.237 eV ou ΔG=+4.954 eV. Le pic à 67 Th peut représenter le fragment $C_3HNO^{\bullet+}$ obtenu par la perte de deux atomes d'hydrogène du cation $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69-2H, ΔG=+7.162 eV). Cette énergie élevée est en accord avec les résultats expérimentaux qui présentent un pic négligeable à 67 Th. Ainsi, d'après ces résultats, les pics à 67-70 Th peuvent représenter les dérivés de $C_3H_4NO^+$ avec une grande probabilité.

5.3. Fragments à 50-56 Th

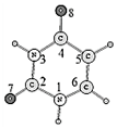
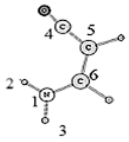
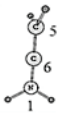
Les pics à 50-56 Th ont été très faiblement observés[20,28,34,42,47,48] dans les spectres de masse. Cela confirme l'énergie assez importante obtenue pour le fragment C_3HO^+ (53 Th) issu de la fragmentation du cation 70-H5 (ΔG=+8.665 eV). Sa formation ne peut être obtenue par la fragmentation initiale sans perte d'hydrogène, comme indiqué dans la partie 4.1.

5.4. Fragments à 40-42 Th

5.4.1. À partir du fragment $C_2H_4N^+$ (DF1-22; 42 Th)

La perte d'un hydrogène en N1 menant au fragment $C_2H_3N^{\bullet+}$ (41 Th, ΔG=+5.287eV) est plus favorable que celle en C5 (ΔG=+5.993 eV). Les ruptures des liaisons à partir du cation 42-H,

Figure 5-1 : Cations et fragments issus de la déshydrogénation. (a) : certains fragments chargés obtenus dans la partie 4.1. (b) : fragments issus de la perte d'hydrogène. (c) : fragments obtenu par la fragmentation des cations issus de la perte d'hydrogène. TS et DF respectivement sont l'état de transition et les fragments dissociés pour une rupture.

Fragment Initial (a)				Perte d'hydrogène (b)					Post-Fragmentation (c)				
Molecule *m/z*	Fragment	Fragment (DF1)	ΔG	Perte-H	Fragment (DF2)	*m/z*	ΔG		Rupture de liaison 1ere	Rupture de liaison 2eme	Fragment (DF3)	*m/z*	ΔG
 112	$U^{\bullet+}$	$C_4H_4N_2O_2^{\bullet+}$	0	112-H6	$C_4H_3N_2O_2^+$	111	4.169	→	N1-C2	N3-C4	$C_3H_2NO^+$	68	4.237
									C4-C5	C2-N3	$C_3H_2NO^+$	68	4.954
				112-H1	$C_4H_3N_2O_2^+$	111	4.749	→	C2-N3	C4-C5	$C_3H_2NO^+$	68	5.380
									C5-C6	N1-C2	$C_3H_2NO^+$	68	7.181
				112-H3	$C_4H_3N_2O_2^{\bullet\bullet+}$	111	4.989	→	N1-C2	N3-C4	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	69	6.122
									C4-C5	N1-C2	$C_2NO_2^+$	70	7.076
				112-H5	$C_4H_3N_2O_2^+$	111	5.181	-					
 70	DF1-1	$C_3H_4NO^+$	1.710	70-H5	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	69	5.618	→	N1-C6		C_3HO^+	53	8.665
				70-H6	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	69	5.917	→	C4-C5		$C_2H_3N^{\bullet+}$	41	6.822
				70-H12	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	69	6.114	→	C5-C6		$C_2H_2O^{\bullet+}$	42	7.812
				70-H13	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	69	6.318	→	C4-C5		$C_2H_3N^{\bullet+}$	41	8.928
									C5-C6		$C_2H_2O^{\bullet+}$	42	7.824
69	DF3-1	$C_3H_3NO^{\bullet+}$	2.111	69-H6	$C_3H_2NO^+$	68	2.817 (TS:2.958)	→	C4-C5		$C_2H_2N^+$	40	6.797
									C5-C6		C_2HO^+	41	7.949
				69-H1	$C_3H_2NO^+$	68	4.519	→	C4-C5		$C_2H_2N^+$	40	5.440
									C5-C6		C_2HO^+	41	7.292
				69-H5	$C_3H_2NO^{\bullet\bullet+}$	68	5.971	→	C4-C5		$C_2H_2N^{\bullet\bullet+}$	40	9.288
									C5-C6		$C_2HO^{\bullet\bullet+}$	41	7.480
				69-H6-H5	$C_3HNO^{\bullet+}$	67	7.162	-					
				69-H6-H1	$C_3HNO^{\bullet+}$	67	7.378	-					
 42	DF1-22	$C_2H_4N^+$	2.811	42-H1	$C_2H_3N^{\bullet+}$	41	5.287	→	C5-C6		$CH_2^{\bullet+}$	14	11.049
				42-H5	$C_2H_3N^{\bullet+}$	41	5.993	→	C5-C6		CH_2N^+	28	13.068
				42-H1-H1	$C_2H_2N^+$	40	9.749	-					
				42-H1-H5	$C_2H_2N^{\bullet\bullet+}$	40	9.845	-					
42	DF3-2	$C_2H_2O^{\bullet+}$	3.097	42-H5	$C_2HO^{\bullet\bullet+}$	41	7.518	-					
				42-H5-H5	$C_2O^{\bullet+}$	40	13.181	-					
29	DF1-3	$CH_3N^{\bullet+}$	5.352	29-H1	CH_2N^+	28	6.950 (TS:7.060)	-					
				29-H6	CH_2N^+	28	9.133	-					
28	DF1-5	CH_2N^+	6.062	28-H6	$CHN^{\bullet+}$	27	11.487	-					
				28-H1	$CHN^{\bullet+}$	27	12.330	-					
28	DF3-3	CH_2N^+	3.166	28-H6	$CHN^{\bullet+}$	27	9.457	-					
				28-H1	$CHN^{\bullet+}$	27	10.300	-					

ont également été étudiées. Cependant, l'énergie nécessaire libre est supérieure à 11 eV et cette fragmentation est peu envisageable. De même, une deuxième perte d'hydrogène à partir de $C_2H_4N^+$ coûte plus de 9 eV, soit par perte d'hydrogène en N1 conduisant au fragment $C_2H_2N^+$ (40 Th, ΔG=+9.749 eV), soit celle en C5 menant au fragment $C_2H_2N^{\bullet\bullet+}$ (40 Th, ΔG=+9.845 eV).

5.4.2. À partir du fragment $C_2H_2O^{\bullet+}$ (DF1-22; 42 Th)

La formation du cation $C_2HO^{\bullet\bullet+}$ (41 Th) en perdant un atome d'hydrogène en C5 nécessite une énergie de ΔG=+6.861 eV. La formation de $C_2O^{\bullet+}$ (40 Th) en perdant un second atome d'hydrogène est peu probable puisque l'énergie nécessaire à sa formation est de ΔG=+12.524 eV.

Les pics à 40-42 Th ont été observés avec une intensité forte par différentes méthodes avec plusieurs fragments proposés (Figure 4-1, 4-2) : CNO^+, $C_2H_4N^+$ et $C_2H_2O^+$ et leurs dérivés possibles. Pour le pic à 42 Th, nos résultats de fragmentation initiale (dans la partie 4.1) ont montré que le cation CNO^+ peut être obtenu difficilement (ΔG=+8.180 eV) et que la formation du fragment $C_2H_4N^+$ (DF1-22, ΔG=+2.811 eV) est plus facile que celle du fragment $C_2H_2O^{\bullet+}$ (DF2-2, ΔG=+5.459 eV). Il faut souligner que le cation $C_2H_2O^{\bullet+}$ peut aussi se former difficilement par la fragmentation de 70-H1 (ΔG=+7.8 eV). Pour le pic à 41 Th, qui est moins intense que le pic à 42 Th (Tableau 5-1), la formation des deux fragments est possible :

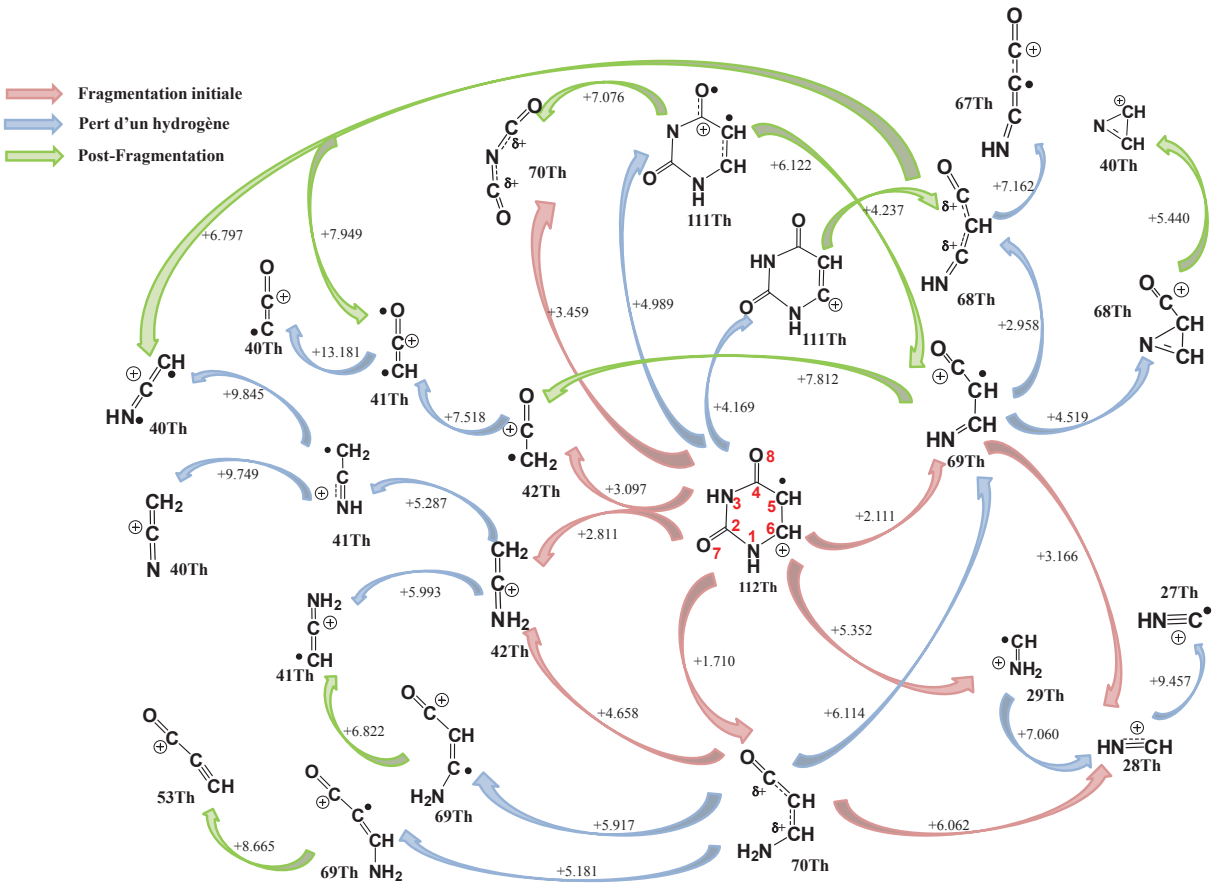
1) $C_2H_3N^{\bullet+}$ soit par la perte d'un hydrogène du fragment DF1-22 (ΔG=+5.287 eV ou ΔG=+5.993 eV) soit par la fragmentation de 70-H (ΔG=+6.822 eV ou ΔG=+8.928 eV)

2) C_2HO^+ soit par la perte d'un hydrogène du fragment DF2-2 (ΔG=+6.861eV) soit par la fragmentation de 69-H (ΔG=+7.2-7.9 eV).

Étant donné les différences d'énergies entre les fragments, on peut conclure que le pic à 41 Th est représenté par le cation 42-H1 ($C_2H_3N^{\bullet+}$) et que la formation de ce cation nécessite une énergie plus haute que celle du cation $C_2H_4N^+$ (42 Th), correspondant aux intensités de ces pics à 41-42 Th. Le pic à 40 Th ayant la même intensité que le pic à 41 Th peut correspondre au fragment $C_2H_2N^+$ (formé d'un cycle à 3-membres) obtenu par la fragmentation du cation 69-H1 avec ΔG=+5.440 eV. Par contre, la formation des deux fragments $C_2H_2N^+$ (40 Th) et $C_2O^{\bullet+}$ (40 Th) obtenus par la perte du deuxième hydrogène des cations DF1-22 ou DF2-2 avec des énergies ΔG≈+10 eV et ΔG=+12.524 eV, respectivement, est peu probable. Ce

résultat est d'ailleurs en accord avec les résultats expérimentaux[20,28,34,47,48], qui présentent le fragment $C_2H_2N^+$ comme le seul fragment correspondant au pic à 40 Th. Nos résultats montrent que la perte d'hydrogène à partir du fragment $C_2H_4N^+$ est plus probable que celle du fragment $C_2H_2O^{\bullet+}$ et que les pics à 40-42 Th peuvent représenter plutôt les dérivés du fragment $C_2H_4N^+$.

Figure 5-1: Différentes voies de la fragmentation initiale et de la perte d'atome d'hydrogène et de la post-fragmentation à partir du cation de l'uracile.



5.5. Fragments à 27-29 Th

5.5.1. À partir du fragment $CH_3N^{\bullet+}$ (DF1-3; 29 Th)

La perte d'un hydrogène en N1 nécessitant une énergie de ΔG=+7.060 eV est plus favorable que celle en C6 (ΔG=+9.133 eV). On remarque également un état de transition dû à un changement d'hybridation de sp^2 à sp durant la perte d'un atome d'hydrogène en N1.

5.5.2. À partir du fragment CH_2N^+ (DF1-3; 28 Th)

La perte d'un hydrogène en C6 nécessite une énergie de ΔG=+11.487 eV, alors que celle en N1 menant au cation $CHN^{\bullet+}$ (27 Th) nécessite une énergie de ΔG=+12.330 eV. Il apparaît donc, comme on pouvait s'y attendre, que l'énergie de la perte d'un atome d'hydrogène est plus grande pour des petits fragments.

La plupart des groupes expérimentaux ont proposé les cations CH_3N^+ et HCO^+ (Figure 4-1) pour le pic peu intense à 29 Th, la formation du cation $CH_3N^{\bullet+}$ (DF1-3, 29 Th) par la fragmentation initiale coûte une énergie de ΔG=+5.352 eV. Pour le pic très intense à 28 Th, on obtient le fragment CH_2N^+ (DF3-3, Figure 4-5) par la fragmentation initiale avec une énergie (ΔG=+3.166 eV). Nos résultats peuvent donc prédire des rapports entre les intensités des pics à 28-29 Th et les énergies calculées pour les fragments correspondants à ces pics. Le cation à 28 Th peut aussi se former plus difficilement par la perte d'un hydrogène du fragment DF1-3 (ΔG=+7.060 eV). Les fragments HCO^+ [47] et CO^+ [20,28,34,42,48] ont été également proposés pour le pic à 29 Th et à 28 Th, mais nous n'avons observé que le fragment CO neutre à partir de nos calculs. On peut noter que la formation de dérivés de petite masse requiert beaucoup d'énergie et que leur formation n'est donc possible qu'à partir d'un fort impact.

5.6. Conclusion

Dans cette partie, nous avons détaillé les fragments possibles qui seraient obtenus par une perte d'hydrogène à partir des cations issus de la fragmentation initiale du cation uracile. La post-fragmentation à partir de l'uracile déshydrogénée est moins facile que la déshydrogénation du cation obtenu issu de la fragmentation initiale du cation uracile. Cependant, nos calculs indiquent que la première n'est pas énergétiquement difficile et peut faire partie du processus de fragmentation. En effet, nous avons observé que les différents pics sont dus à des fragments qui peuvent être obtenus par la fragmentation initiale et/ou par perte d'un atome d'hydrogène suivie dans certains cas par une post-fragmentation. Parmi les déshydrogénations à partir des cations issus de la fragmentation initiale, les cations $C_3H_4NO^+$ (70 Th), $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th) et $C_2H_4N^+$ (42 Th) peuvent perdre relativement facilement un hydrogène avec des énergies accessibles. La post-fragmentation à partir de ces cations déshydrogénés n'est, elle, pas très facile sauf pour le cation 69-H1. Il faut remarquer que, bien que la perte de H et la post-fragmentation doivent être pris en compte, elle devient énergiquement prohibée pour les petits fragments.

Chapitre 6 :
La fragmentation de l'uracile protonée

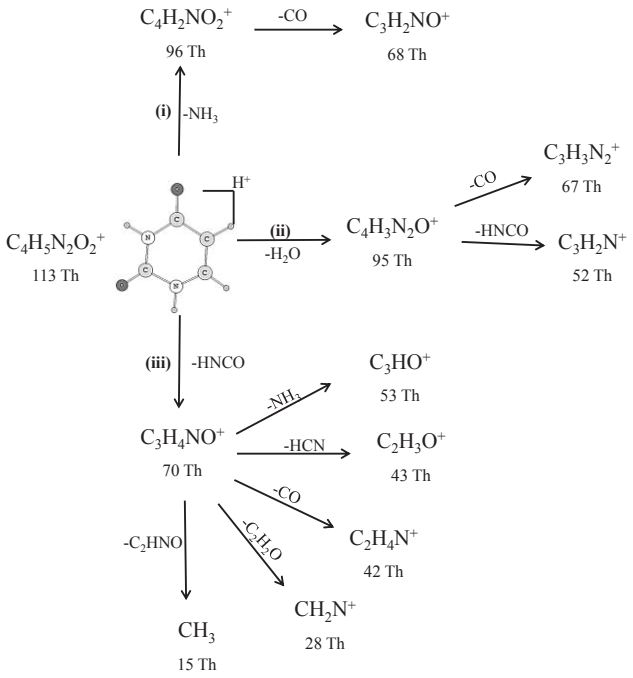
La formation des bases protonées d'acides nucléiques peut provoquer des processus mutagènes par l'intermédiaire de mauvaises paires de bases complémentaires.[134,135] Différents travaux expérimentaux ont été publiés sur la dissociation des bases protonées par des études d'IRMPD[136-138] (InfraRed Multiple Photon Dissociation Spectroscopy) et de CID[139-148] (Collision Induced Dissociation). Les trois voies principales de dissociation de l'uracile protonée par l'étude de CID[140,147] (Figure 6-1) sont:

- L'élimination de NH_3, presque exclusivement à partir de la position N3 (~90%) ;
- L'élimination d'une molécule de H_2O, en égale proportion pour les positions O7 et O8 ;
- L'élimination de la molécule HNCO (ou NCOH), principalement (90%) avec les atomes N3, C2 et 10% avec les atomes N1 et C2.

Ces chemins de fragmentation mènent respectivement à la formation des cations correspondant aux pics abondants à 96 Th, 95 Th et 70 Th (Figure 6-1). A partir de ces cations primaires, les fragmentations suivantes sont dues à l'élimination des molécules comme CO, NH_3, HCN, C_2H_2O ou H_2O conduisant aux cations à 67-68 Th, 52-53 Th, 42-43 Th et 28 Th.[140,147] L'élimination de NH_3, la première voie de fragmentation expérimentale (***i*** dans la Figure 6-1), a été étudiée par DFT[140,147] pour trois bases protonées : l'adénine, la guanine et la cytosine. Ces travaux ont porté sur le calcul de l'énergie d'expulsion de NH_3 à partir des différents tautomères de bases protonées. Ils ont également proposé des mécanismes de dissociation à partir du cation obtenu (BH^+-NH_3). Mais les auteurs de ces travaux n'ont pas cherché d'autres chemins de dissociation à partir des bases protonées. L'étude de la fragmentation de $[Li(uracile)]^+$ et de $[Ca(uracile)]^{2+}$ respectivement par les méthodes MP2[148] et B3LYP[149] ont indiqué une étape initiale d'élimination de HNCO (rétro Diels-Alder), mais aucun résultat théorique n'a jusqu'ici décrit un mécanisme de fragmentation de l'uracile protonée seule.

Les différents chemins proposés par les travaux théoriques et expérimentaux mettent en jeu les différentes formes tautomères de précurseurs et des ions produits. En effet, différentes études de la protonation des bases[150-160] ont montré que la protonation des deux atomes d'oxygène O7 et O8 dans l'uracile, qui est suivie d'une décarboxylation (Figure 6-2, formes **I-IV**), est énergétiquement préférée à la protonation des atomes d'azote, avec une préférence pour l'atome O8. Certaines études[152,155,161,162] ont également montré que la forme *anti*-N3 (**I**) est plus stable que la forme *syn*-N3 (**II**). Une autre forme (**V**)[152-154,156,160,162], un peu plus

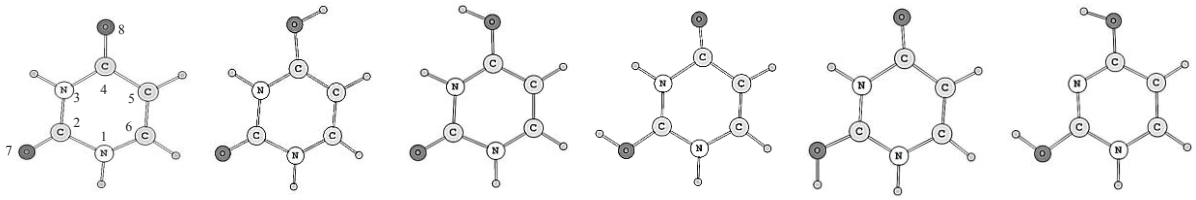
Figure 6-1: Voies principales de fragmentation de l'uracile protonée par la méthode CID[140,147].



stable que les formes **I** et **II** peut coexister, mais elle ne peut pas provenir directement de la protonation de l'uracile neutre en phase gazeuse dans sa forme la plus stable.

Dans cette partie, à la fois théorique et expérimentale, nous étudierons d'abord les structures concernant la protonation de l'uracile. Puis, nous analyserons les mécanismes de fragmentation de l'uracile protonée par rupture des liaisons les plus faibles. Nous discuterons également les fragments obtenus qui peuvent éventuellement correspondre aux pics des spectres de masse.

Figure 6-2 : Forme la plus stable de l'uracile neutre et les cinq formes de l'uracile protonée. L'énergie calculée est la différence d'énergie par rapport à l'énergie de la forme V dans ce travail.



6.1. Protonation de l'uracile

La protonation des tautomères de l'uracile associés aux sites accepteurs de proton conduit à une multitude d'ions isomères. Dans notre étude, les énergies des cinq différents tautomères de l'uracile protonée (formes **I-V**) ont été calculées et reportées sur la Figure 6-1. Bien que d'après les énergies obtenues, la forme **V** soit la plus stable, cette forme provient des tautomères énol d'uracile neutre. Ce travail portant essentiellement sur l'uracile protonée, nous n'envisagerons pas les mécanismes de fragmentation de ce tautomère. Les énergies des autres formes de l'uracile protonée montrent que la protonation de l'atome O8 (**I** et **II**) est plus favorable que celle de l'atome O7 (**III** et **IV**). La différence d'énergie libre entre la forme la plus stable (**V**) et les deux formes O8-H est respectivement de +0.02 eV et +0.13 eV pour les formes *anti* et *syn*, alors que cette différence pour deux formes O7-H est de +0.42 eV et +0.47 eV pour les formes *syn* et *anti*. Nous avons donc étudié la structure électronique et la fragmentation à partir des formes *anti*/*syn* pour la position O8 (**I**, **II**) et les différences de mécanismes de fragmentation entre les deux formes. On rappelle que la forme *anti-O8* (**I**) est énergétiquement un peu plus stable que la forme *syn-O8* (**II**) (ΔG=+0.107 eV).

6.2. Fragmentation à partir de la forme anti-O8 (Figure 6-3)

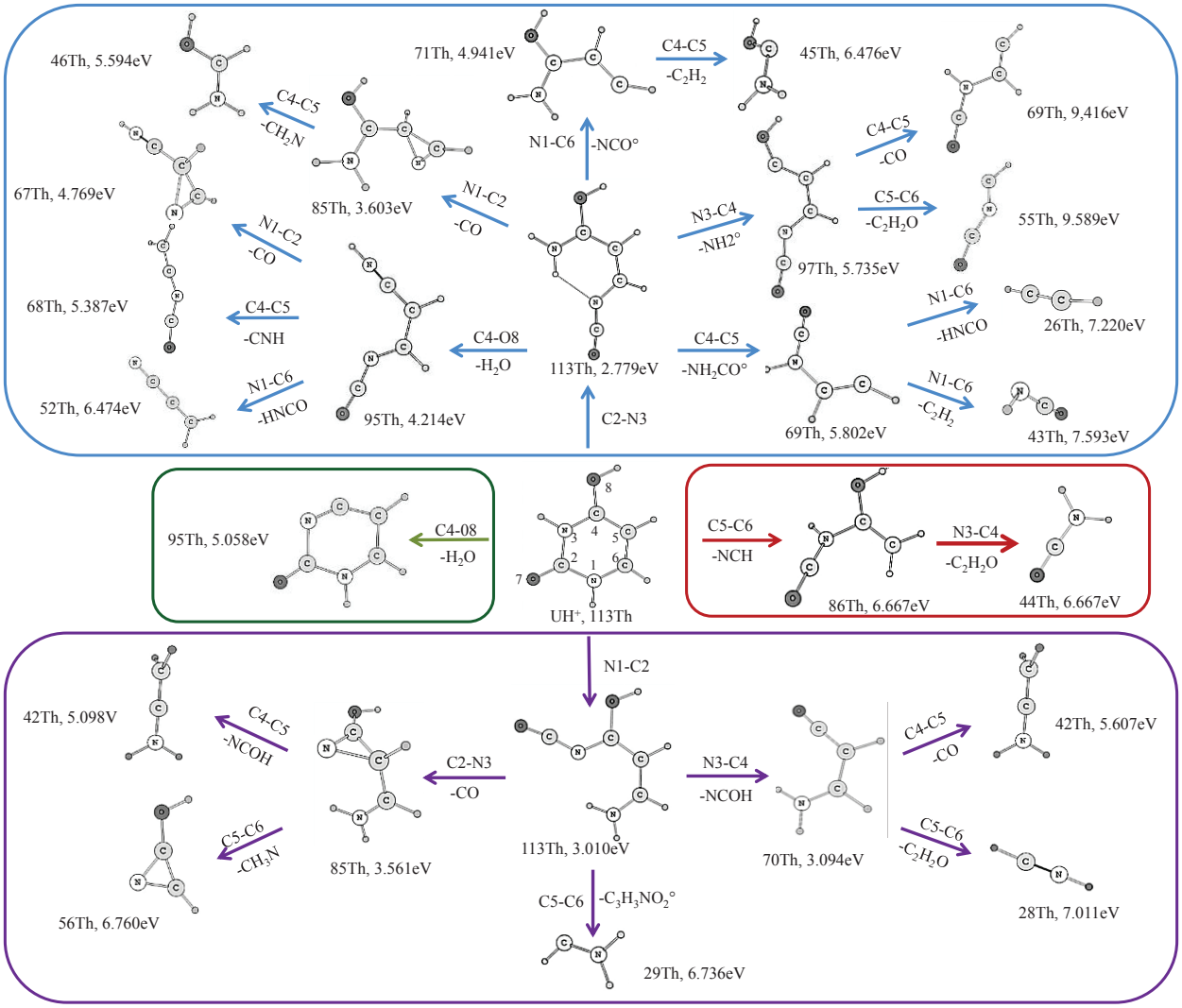
Nous nous sommes intéressés aux ruptures initiales des liaisons C4-O8, C2-N3 et C5-C6 car les longueurs de ces liaisons augmentent après protonation de l'uracile (0.09, 0.03 et 0.02 Å, respectivement). La rupture de la liaison N1-C2 a été également étudiée car elle correspond à la réaction de rétro Diels-Alder. La Figure 6-3 représente les fragmentations par les clivages initiaux de ces liaisons. Le minimum d'énergie libre nécessaire à la formation d'un cation par rapport à l'énergie libre du cation UH^+ est représenté en Figure 6-3.

6.2.1. Rupture de la liaison C4-O8 (en vert dans la Figure 6-3)

Cette rupture passe par un état de transition avec une énergie libre de ΔG=+5.058 eV menant aux deux fragments $OH^\bullet$ et $C_4H_4N_2O^{\bullet+}$. La relaxation de ces fragments conduit au fragment $C_4H_3N_2O^+$ (95 Th), par un transfert du proton de H-N3 à $OH^\bullet$, *i.e.* une élimination d'une molécule de H_2O à partir de l'uracile protonée.

Figure 6-3 : Fragmentation de l'uracile protonée (*anti*) par les ruptures initiales des liaisons C2-N3 (en bleu), C5-C6 (en rouge), C4-O8 (en vert) et N1-C2 (en violet). Toutes les énergies correspondent

au minimum d'énergie libre nécessaire à la formation d'un cation exprimé par rapport à l'énergie libre du cation uracile protonée (*anti*).



6.2.2. Rupture de la liaison C2-N3 (en bleu dans la Figure 6-3)

Cette rupture conduit à un intermédiaire en passant par un état de transition (ΔG=+2.779 eV) avec un transfert de proton de l'atome N1 à l'atome N3. Cet intermédiaire peut se dissocier selon différentes ruptures, conduisant aux cations :

- $C_3H_5N_2O^+$ (85 Th, ΔG=+3.603), par élimination de la molécule CO, suivie de l'expulsion de la molécule CH_2N conduisant au cation CH_4NO^+ (46 Th, ΔG=+5.594 eV) ;
- $C_4H_3N_2O^+$ (95 Th, ΔG=+4.214 eV) par élimination de H_2O via un transfert de proton de l'atome N3 au groupe (O8-H)$^\bullet$, suivi des cations $C_3H_3N_2^+$ (67 Th, ΔG=+4.769 eV),

$C_3H_2NO^+$ (68 Th, ΔG=+5.387 eV) et $C_3H_2N^+$ (52 Th, ΔG=+6.474 eV) par l'expulsion des molécules CO, CNH et HNCO, respectivement ;

- $C_3H_5NO^{\bullet+}$ (71 Th, ΔG=+4.941 eV) par élimination du radical $NCO^{\bullet}$, suivi de l'éjection de C_2H_2 menant à $CH_3NO^{\bullet+}$ (43 Th, ΔG=+6.476 eV),
- $C_4H_3NO_2^{\bullet+}$ (97 Th, ΔG=+5.735 eV) par élimination de la molécule radicalaire $NH_2^{\bullet}$, suivi des cations $C_3H_3NO_2^+$ (69 Th, ΔG=+9.416 eV) et $C_2HNO^{\bullet+}$ (55 Th, ΔG=+9.589eV) avec les éliminations des molécules CO et C_2H_2O, respectivement ;
- $C_3H_3NO^{\bullet+}$ (69 Th, ΔG=+5.802 eV) par expulsion du radical $NH_2CO^{\bullet}$, impliquant un transfert d'un proton de O7 à N1, suivi de la rupture de la liaison N1-C6 conduisant soit à $C_2H_2^{\bullet+}$ (26 Th, ΔG=+7.220 eV), soit à $HNCO^{\bullet+}$ (43 Th, ΔG=+7.593eV) où la densité du spin et la charge positive sont partagées symétriquement entre les deux fragments C_2H_2 et HNCO.

6.2.3. Rupture de la liaison C5-C6 (en rouge dans la Figure 6-3)

La rupture homolytique de la liaison C5-C6 nécessite une énergie ΔG=+6.667 eV. La relaxation mène au transfert d'un hydrogène de l'atome N1 à l'atome C5. Durant cette rupture, la liaison N1-C2 est affaiblie (+0.17 Å) et peut être rompue, conduisant aux cations NCH et $C_3H_4NO_2^+$ dans lesquels la distance entre les deux fragments est de 1.64 Å par la liaison hydrogène entre les atomes N1 et H-C5. La rupture suivante de la liaison N3-C4, passe par un état de transition avec transfert de proton de l'atome O7 à l'atome N3, conduisant aux fragments C_2H_2O et CH_2NO^+ qui interagissent par liaison hydrogène (d_{N3H-O8}=1.47 Å).

6.2.4. Rupture de la liaison N1-C2 (en violet dans la Figure 6-3)

La rupture de N1-C2 passe par un état de transition (ΔG=+3.010 eV) menant au transfert de proton de l'atome N3 à l'atome N1. La fragmentation se poursuit et à partir de cet intermédiaire, il y a trois possibilités pour les ruptures secondaires:

- l'élimination de la molécule NCOH, correspondant à la réaction de rétro Diels-Alder, menant au fragment $C_3H_4NO^+$ (70 Th, ΔG=+3.094eV) avec une rotation du groupe OH autour de la liaison C4-O8 et aussi un transfert de proton de l'atome O8 à l'atome O7. A partir de ce cation ($C_3H_4NO^+$), l'élimination des molécules CO et C_2H_2O mène respectivement aux cations $C_2H_4N^+$ (42 Th, ΔG=+5.607eV) et CH_2N^+ (28 Th, ΔG=+7.011eV) ;

- l'élimination de CO en passant par un état de transition (ΔG=+3.561 eV) conduisant au cation $C_3H_5N_2O^+$ (85 Th). Ce cation peut se dissocier par deux ruptures de liaisons suivies par **l'**expulsion des molécules NCOH et CH_3N conduisant respectivement aux cations $C_2H_4N^+$ (42 Th, ΔG=+5.098 eV) et $C_2H_2NO^+$ (56 Th, ΔG=+6.760 eV) ;
- l'élimination du radical $C_3H_3NO_2^\bullet$ conduisant au cation CH_3N^+ (29 Th, ΔG=+6.736 eV).

6.3. Fragmentation à partir de la forme syn-O8 (Figure 6-4)

Nous avons également étudié la fragmentation de l'UH^+ en forme *syn*. Cette forme est un peu moins stable (ΔG=+0.107 eV) que la forme *anti*. Les mécanismes de fragmentation à partir de la forme *syn* sont représentés dans la Figure 6-4. La seule différence intéressante dans la dissociation des deux formes *anti* et *syn* est la rupture initiale de la liaison C2-N3 suivie des ruptures des liaisons N3-C4 et N1-C6. Ces ruptures pour la forme *anti* (en bleu dans la Figure 6-4) conduisent aux deux fragments $C_4H_3NO_2^{\bullet+}$ (97 Th) et $C_3H_5NO^+$ (71 Th) avec expulsion des molécules radicalaire $NH_2^\bullet$ et $NCO^\bullet$, alors que pour la forme *syn* (en bleu dans la Figure 6-4) elles mènent respectivement à $C_4H_2NO_2^+$ (96 Th) et à $C_3H_4NO^+$ (70 Th) par la perte des molécules NH_3 et HNCO. En effet, à partir de la forme *syn*, après la rupture de la liaison C2-N3, deux chemins différents de ceux de la forme *anti* sont possibles :

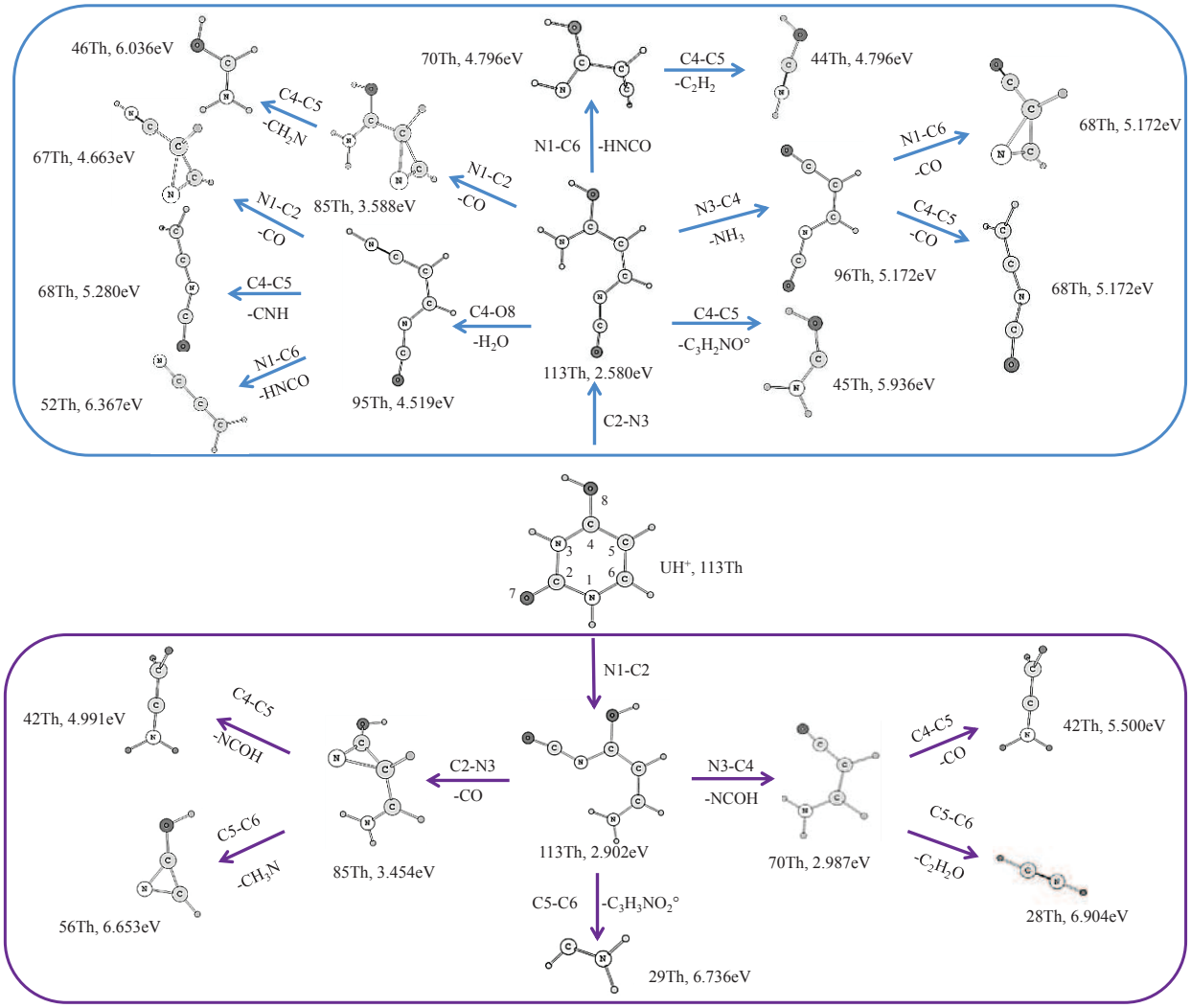
- la rupture de la liaison N3-C4 conduit à l'élimination de la molécule NH_3 avec un transfert de proton de l'atome O8 à N3, menant au cation $C_4H_2NO_2^+$ (96 Th, ΔG=+5.172 eV). À partir de ce fragment, la perte d'une molécule CO conduit aux isomères $C_3H_2NO^+$ (68 Th, ΔG=+5.172 eV) ;
- la rupture de la liaison N1-C6 mène au cation $C_3H_4NO^+$ (70 Th, ΔG=+4.796 eV) avec un transfert de proton de N3 à N1 et l'expulsion de l'acide isocyanique (HNCO), suivi du cation CH_2NO^+ (44 Th, ΔG=+4.796 eV) par élimination d'une molécule C_2H_2.

La rupture de la liaison N1-C2 à partir de la forme *syn* (en violet dans la Figure 6-4) mène au même intermédiaire que la forme *anti*. Durant cette rupture, il y a une rotation de OH autour de la liaison C4-O8, et donc formation de la même structure que dans la forme *anti*. Les commentaires donnés pour la forme *anti* s'appliquent donc ici.

Bien que nos calculs indiquent que la liaison C2-N3 est la plus faible pour la première rupture, nécessitant seulement une énergie de 2.6-2.8 eV, la voie la plus favorable est la

réaction de rétro Diels-Alder, *i.e.* par rupture de N1-C2/N3-C4 avec une énergie de ΔG=+3.1 eV.

Figure 6-4 : Fragmentation de l'uracile protonée (*syn*) par les ruptures initiales des liaisons C2-N3 (en bleu), et N1-C2 (en violet). Toutes les énergies sont le minimum d'énergie libre nécessaire à la formation d'un cation par rapport à l'énergie libre du cation uracile protonée (syn).



Les quatre voies principales de fragmentation ont été proposées dont trois voies conformes aux résultats expérimentaux (CID) : les éliminations des molécules NH_3, H_2O et HNCO (NCOH) correspondant aux pics à 96 Th, à 95 Th, à 70 Th. La perte du groupe carbonyle (CO) observée seulement dans les spectres de masse (ESI) nécessite une énergie ΔG=+3.6 eV, obtenue par rupture des deux liaisons N1-C2/C2-N3 (ou l'inverse). Bien que le pic à 85 Th correspondant à la perte d'un CO apparaisse dans le spectre d'ESI avec une énergie très faible, il n'est pas détecté par d'autres méthodes. Les cations initiaux obtenus par la fragmentation de l'uracile protonée peuvent se dissocier en petits fragments avec une énergie

aussi élevée que celle des cations correspondant à 68 Th et à 40-44 Th avec au moins une rupture de liaison de plus. Nous n'avons trouvé aucun cation correspondant au pic à 96 Th par fragmentation de la forme *anti*, mais seulement à partir de la forme *syn*, ce qui prouve que les fragments peuvent provenir de la fragmentation de tautomères définis.

6.4. Comparaison de nos résultat avec les résultats expérimentaux

Les spectres de masse obtenus par ionisation "électrospray" (ESI) de l'uracile protonée sont représentés à la Figure 6-5(a-d). Une caractéristique de ces spectres est qu'ils sont obtenus avec différentes énergies 10, 20, 25, 35 eV de collision sur la molécule, ce qui permet d'observer l'énergie nécessaire à la formation de certains fragments. On voit deux pics à 113 Th et 85 Th à basse énergie (10 eV, Figure 6-5a). Le pic à 113 Th correspond à l'uracile protonée, mais la surprise est la présence du pic à 85 Th pour cette faible énergie de collision, alors qu'il n'est pas observé avec les autres méthodes expérimentales. Ce pic à 85 Th apparait avant les trois pics principaux observés par la méthode CID par Nelson *et al.*[140] et Beach *et al.*[147] à 96 Th, 95 Th et 70 Th. Ces pics ne sont détectés seulement à partir d'une énergie de collision deux fois plus grande (20 eV, Figure 6-5b) et sont toujours plus intenses que le pic à 85 Th. Avec l'augmentation de l'énergie incidente (Figure 6-5c-d), de nouveaux pics apparaissent à 68 Th et à 40-44 Th, cela indique que les cations primaires produits peuvent alors se dissocier en fragments plus petits. L'évolution de ces spectres de fragmentation obtenus en fonction de l'énergie disposée sur uracile protonée (Figure 6-5e) présente trois comportements différents. Nous observons une diminution pour le fragment de masse à 113 Th. Au contraire, on note une augmentation pour les masses à 70 Th et 96 Th. Le rendement de formation du fragment correspondant à 85 Th est relativement constant quelle que soit la quantité d'énergie déposée.

Le pic à 85 Th, observé à partir d'une énergie de collision de 10 eV dans le spectre de masse d'ESI, peut correspondre au fragment $C_3H_5N_2O^+$ issu de la perte du groupe carbonyle. L'élimination de CO exclut la forme **V** dans la Figure 6-2, et de plus, on observe par les calculs que le cation $C_3H_5N_2O^+$ (85 Th) est formé facilement avec une énergie de +3.6 eV par deux ruptures successives des liaisons N1-C2/C2-N3 (ou C2-N3/N1-C2). Expérimentalement, l'énergie de collision nécessaire pour obtenir le pic à 85 Th est seulement de 10 eV. Cela montre une cohérence entre les résultats expérimentaux et théoriques. Les calculs indiquent aussi que l'énergie du fragment à 85 Th obtenu par la rupture initiale C2-N3, la liaison la plus faible (+2.8 eV pour *anti*, +2.6 eV pour *syn*), est inférieure à celle des fragments à 96 et 95 Th

dans les formes *syn*/*anti* et à celle du fragment à 70 Th dans la forme *syn*. En revanche, l'énergie des fragments à 85 Th dans le cas de la rupture initiale de la liaison N1-C2 est supérieure à celle du fragment à 70 Th pour les formes *syn*/*anti*. De plus, expérimentalement le pic peu intense à 85 Th apparait avant la formation du pic intense à 70 Th en termes d'énergie de collision. Ceci peut être expliqué par le fait que le cation $C_3H_5N_2O^+$ (85 Th, N1-C2/N3-C4) est obtenu par la formation rapide de la liaison N3 à C5 menant à un cycle composé de 3 atomes. Alors que pour le cation $C_3H_4NO^+$ (70 Th), la deuxième rupture (N3-C4) nécessite une rotation de la liaison O-H autour de la liaison C4-O8 et également un transfert de proton de l'atome O8 à O7. Ce réarrangement géométrique serait plus long à se produire.

Pour le pic intense à 96 Th, observé à partir d'une énergie de collision de 20 eV, on peut proposer le fragment $C_4H_2NO_2^{\bullet+}$ (96 Th, ΔG=+5.172eV) par les ruptures des liaisons C2-N3/N3-C4 à partir seulement de la forme *syn*. Notre travail montre donc que les deux formes tautomères sont actives. L'uracile protonée *syn* élimine une molécule d'ammoniac incluant l'atome N3 formant le cation $C_4H_2NO_2^+$ (96 Th). Ceci est en accord avec la voie *i* dans la Figure 6-2 avec un degré élevé de sélectivité de la position N3 (93%)[140] et aussi avec la nature du cation $C_4H_2NO_2^+$ (96 Th) obtenu par Beach *et al.*[147]. Nelson *et al.*[140] ont également montré que le pic à 96 Th correspond à la perte de la molécule NH_3.

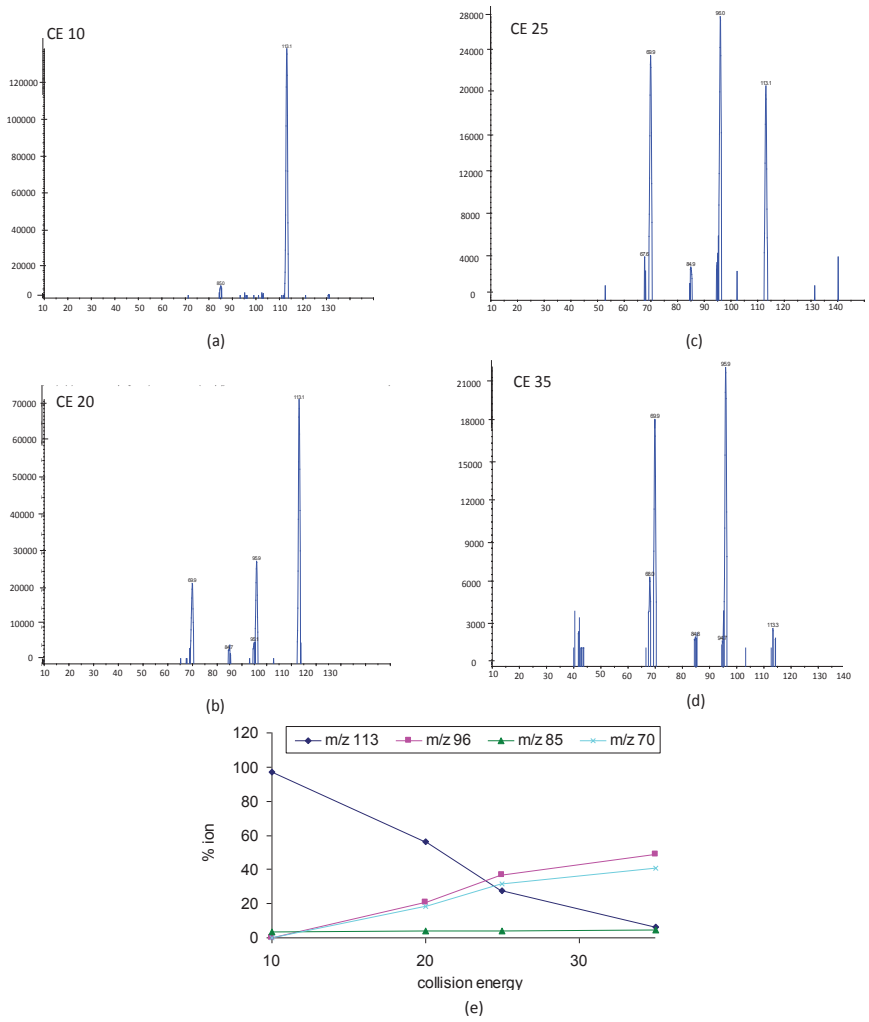
Pour le pic à 95 Th, le cation $C_4H_3N_2O^+$ peut se former par la perte d'une molécule de H_2O, qui correspond à la voie ***ii*** dans la Figure 6-1[140,147]. Ce cation est théoriquement observé soit par la seule rupture de la liaison C4-O8 (ΔG=+5.058eV), soit par la rupture des deux liaisons C2-N3 et C4-O8 (ΔG=+4.214eV). Donc, énergétiquement, le deuxième chemin est plus favorable que le premier bien que deux ruptures soient nécessaires.

Pour le pic à 70 Th, nos résultats suggèrent la formation des isomères $C_3H_4NO^+$ (70 Th). Ce cation peut être formé soit par les ruptures N1-C2/N3-C4 (rétro Diels-Alder, ΔG=+3 eV), qui correspond à une expulsion de l'acide cyanique (NCOH), soit par les deux ruptures C2-N3/N1-C6 (ΔG=+4.796 eV) avec la perte d'acide isocyanique (HNCO) seulement à partir de la forme *syn* (Figure 6-4). Nous avons vu que la liaison C2-N3 est la liaison la plus faible dans la première étape de fragmentation avec une énergie de +2.8 eV pour la forme *anti* et de +2.6 eV pour le tautomère *syn*. Mais en considérant la deuxième rupture, la réaction de rétro Diels-Alder (N1-C2/N3-C4) est toujours la plus favorable dans le mécanisme de fragmentation de l'uracile protonée. Des expérimentateurs[140,147] ont exposé que le mécanisme de la réaction de

rétro Diels-Alder, la voie *iii* dans la Figure 6-2, peut représenter 90% des pertes HNCO à partir des positions C2 et N3 et 10% de l'élimination de HNCO[140] ou de NCOH[147] à partir de N1 et C2. En comparant les énergies obtenues pour ces deux voies différentes, on observe que la perte de NCOH (N3, C2) par rupture des liaisons N1-C2/N3-C4 est énergétiquement la plus favorable (ΔG=+3.1 eV), ce qui est en accord avec les proportions observées expérimentalement[140,147]. L'élimination de deux isomères HNCO et NCOH à partir des tautomères *anti*/*syn* est en accord avec le mécanisme proposé par Nelson *et al*.[140]. Toutefois, Beach *et al*.[147] ont observé ce cation $C_3H_4NO^+$ (70 Th) à partir des autres tautomères mais pas à partir des formes *syn*/*anti*-O8. Une question se pose : bien que l'énergie de formation du cation $C_3H_4NO^+$ (70 Th, ΔG=+3.1 eV) soit très proche de celle du cation $C_3H_5N_2O^+$ (85 Th, ΔG=+3.6 eV), les intensités de ces pics sont très différentes et le pic à 70 Th est plus intense que celui à 85 Th (Figure 6-5b-d). Il faut indiquer que d'une part, la réaction de rétro Diels-Alder (N1-C2/N3-C4) est le chemin le plus facile et une des voies principales de fragmentation. D'autre part, le cation produit $C_3H_5N_2O^+$ (85 Th) peut être dissocié rapidement en fragments plus petits $C_2H_4N^+$ (42 Th) par perte de la molécule NCOH, avec une différence d'énergie de 1.5 eV, alors que le cation $C_3H_4NO^+$ (70 Th), se fragmente en $C_2H_4N^+$ (42 Th) avec la différence d'énergie de 2.4 eV.

Pour le pic à 68 Th qui apparait à partir d'une énergie de collision de 25 eV, nous avons obtenu le fragment $C_3H_2NO^+$ (68 Th, ΔG=+5.4 eV) à partir des deux formes *syn* et *anti* par les trois ruptures C2-N3/C4-O8/C4-C5, suivies de l'élimination de H_2O (O7) et HNC (C2, N3). Les isomères $C_3H_2NO^+$ peuvent également se former un peu plus facilement (ΔG=+5.2 eV) à partir seulement de la forme *syn* par élimination des molécules NH_3 et CO. Ces dernières molécules peuvent être éliminées soit par les ruptures des liaisons N3-C4/C4-C5, soit par les ruptures des liaisons N3-C4/N1-C6 mettant en jeu les atomes (N3, C4 et O8) et (N3, C2 et O7), respectivement. La formation du cation $C_3H_2NO^+$ (68 Th) par élimination d'atomes différents est donc possible avec des énergies très proches. Alors qu'expérimentalement[140] 10% de ce cation est produit par éjection des atomes N3, C2 et O7 et 90% des cations $C_3H_2NO^+$ (68 Th) sont issus de l'élimination des atomes N3, C4 et O8. Pour les pics à 40-44 Th apparaissant à l'énergie de collision de 35 eV, les trois différents cations obtenus peuvent correspondre à:

Figure 6-5 : Spectres de masse obtenus par ESI de l'uracile avec différentes énergies de collision (a, b, c, d). e : La variation de la proportion de chaque fragment en fonction de l'énergie de collision.



- $C_2H_4N^+$ (42 Th) à partir de la rupture initiale N1-C2 avec une élimination des molécules CO et NCOH (ΔG=+5.1 eV) ou l'inverse (ΔG=+5.6 eV) ;
- $HNCO^{\bullet+}$ (43 Th, ΔG=+7.6 eV) à partir de la rupture initiale C2-N3 avec les pertes des molécules $NH_2CO^{\bullet}$ et C_2H_2 ;
- NH_2CO^+ (44 Th) obtenu soit à partir de la rupture initiale C5-C6 (ΔG=+6.7 eV) soit à partir de la rupture initiale C2-N3 de la forme *syn* (ΔG=+4.8 eV). Bien que ces énergies soient parfois très proches de l'énergie de formation des cations à 70 ou 96 Th, leurs pics sont très peu intenses dans le spectre expérimental. La seule explication vraisemblable peut être le nombre de ruptures de liaisons nécessaires à la formation de ces cations. Tous les fragments correspondant aux pics à 40-44 Th sont consécutifs à trois ruptures de liaisons, alors que les formations des cations à 70 Th ou à 96 Th ne nécessitent que deux ruptures.

6.5. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons représenté les différents mécanismes de fragmentation possibles pour l'uracile protonée à partir des formes *anti* et *syn* en position O8. Bien que nos calculs indiquent que la liaison C2-N3 soit la plus faible pour la rupture initiale, nécessitant seulement une énergie de 2.6-2.8 eV, la voie la plus favorable est la réaction de rétro Diels-Alder, *i.e.* les ruptures N1-C2/N3-C4. En effet, cette voie permet d'obtenir des fragments avec une énergie de ΔG=+3.1 eV. Quatre voies principales de fragmentation ont été proposées dont trois voies conformes aux résultats expérimentaux (CID) : les éliminations des molécules NH_3, H_2O et HNCO (NCOH) correspondant aux pics à 96 Th, à 95 Th, à 70 Th. L'expulsion du groupe carbonyle (CO) observée seulement dans les spectres de masse (ESI) nécessite une énergie ΔG=+3.6 eV, obtenue par rupture des deux liaisons N1-C2/C2-N3 (ou l'inverse). Le pic à 85 Th n'est observé que dans les spectres issus de l'ESI, même si nous trouvons un fragment correspondant avec une énergie très faible. Les cations initiaux obtenus par la fragmentation de l'uracile protonée peuvent se dissocier en petits fragments avec une énergie aussi élevée que les cations correspondant à 68 Th et à 40-44 Th avec au moins une rupture de liaison de plus. Nous n'avons trouvé aucun cation correspondant au pic à 96 Th par fragmentation de la forme *anti*, mais seulement à partir de la forme *syn*, ce qui prouve que les fragments peuvent provenir de la fragmentation de tautomères définis.

Chapitre 7 :
Conclusion Générale

La structure électronique des bases, de leurs cations, et des fragments obtenus par ruptures des liaisons fournit une meilleure connaissance des processus de fragmentation, et permet de prédire quels fragments sont les plus probables.

Toutefois la spectrométrie de masse n'apporte que peu de données mécanistiques sur les modes de fragmentation; ce déficit d'information peut être comblé par des études de chimie quantique qui donnent accès à l'identification ainsi qu'à l'énergie de fragmentation des divers fragments chargés et neutres. On accède aussi à leurs propriétés électroniques et la possibilité d'identifier les liaisons fragilisées par l'ionisation et la fragmentation. Le calcul de ces espèces a permis d'attribuer différents fragments à des pics donnés, ou de réfuter d'autres fragments expérimentalement proposées. La comparaison entre l'énergie nécessaire à la formation de fragments et l'intensité du pic dans le spectre de masse, permet d'évaluer les fragments correspondants aux valeurs *m/z* du spectre de masse et aussi de déduire le mécanisme de fragmentation de la molécule.

La DFT permet également de prédire la nature hétérolytique/homolytique des ruptures des liaisons, indiquant des informations complémentaires sur la nature des ions radicalaires et aussi des fragments neutres qui ne sont pas accessibles dans les analyses par spectrométrie de masse. Cette constatation a justifié la mise en place de ce travail par des approches de chimie théorique de l'étude de la fragmentation de plusieurs bases pyrimidiques et puriques en privilégiant les information manquantes sur les mécanismes de dissociation de l'ion moléculaire et des cations successifs ainsi que sur les aspects énergétiques. Cette approche a permis, en privilégiant les voies de scission présentant les plus faibles valeurs d'énergie, de dégager des schémas cohérents de fragmentation des ions parents et des fragments fils en confortant les résultats expérimentaux de spectrométrie de masse et en apportant de nouvelles informations mécanistiques d'un grand intérêt.

Il existe un parallélisme étroit entre les modes de fragmentation obtenus par des méthodes de chimie théorique utilisées dans ce travail et ceux observés expérimentalement par analyse de spectrométrie de masse indépendamment du mode d'ionisation utilisé tel que l'impact électronique et de protons, l'ionisation chimique et l'électro-nébulisation. On peut toutefois noter que les mécanismes de fragmentation des bases puriques et pyrimidiques ainsi déterminés, conduisant à des processus de rupture dissociative de liaison, ne s'appliquent qu'aux réactions d'oxydation à un électron des acides nucléiques à l'état gazeux.

Il apparaît que le mécanisme de fragmentation des bases puriques est plus compliqué que celui des bases pyrimidiques à cause du cycle imidazole supplémentaire dans leurs structures. Les principales voies de fragmentation incluant celles observées expérimentalement pour l'uracile, la cytosine et la guanine, qui font intervenir une réaction de rétro Diels-Alder avec la perte de HNCO ou du radical $NCO^{\bullet}$, ont été explorées de manière systématique en considérant comme site de la rupture initiale des liaisons fragilisées après ionisation des bases. Un processus différent est impliqué dans la fragmentation du radical cation de l'adénine qui donne lieu au départ de la molécule HCN. Les ruptures successives les plus fréquentes pour ces éliminations impliquent les liaisons N1-C2/N3-C4 pour les bases pyrimidiques, N1-C2/C5-C6 pour la guanine et C2-N3/N1-C6 pour l'adénine.

En effet, dans la dissociation de l'adénine, la perte des groupes HCN (ou HNC) est une voie majeure de fragmentation qui peut se poursuivre jusqu'aux petits fragments à 28 Th. Ce chemin implique plusieurs possibilités.

La perte d'une molécule NH_3 ou du radical $NH_2^{\bullet}$ est un autre chemin commun à toutes les bases qui contiennent les groupes amine. Cependant le pic correspondant à l'élimination de NH_3 (NH_2) est peu intense dans les spectres de masse. L'élimination d'une molécule HCN (HNC) ou de CO à partir des bases cationiques ou à partir du cation primaire est un autre chemin commun pour les bases impliquant le groupe CO, conduisant à des petits cations.

La perte d'un hydrogène à partir des bases de l'ADN/ARN ou des cations primaires de la fragmentation initiale n'est pas très difficile et peut faire partie du processus de fragmentation. Même si la post-fragmentation à partir des bases déshydrogénées est plus difficile que leur fragmentation initiale, cette voie reste possible.

Cette étude a montré l'intérêt de ce genre de calculs pour l'interprétation d'un spectre de masse des molécules biologiques. Ce type d'étude peut donc être concevable pour les molécules en milieu aqueux, qui est plus similaire à celui des cellules vivantes (80% d'eau). Il peut aussi être étendu au rôle du sucre sur les modes de dissociation des bases oxydées ou des nucléosides.

Bibliographie

(1) Medical Research Council Rectal Cancer Working Party. *The Lancet* **1996**, *348*, 1610.
(2) Egea, M. I.; Martínez-Madrid, M. C.; Sánchez-Bel, P.; Murcia, M. A.; Romojaro, F. *LWT-Food Science and Technol* **2007**, *40*, 1027.
(3) Baccarelli, I.; Gianturco, F. A.; Scifoni, E.; Solvo'yov, A. V.; Surdutovich, E. *Eur. Phys. J. D* **2010**, *60*, 1.
(4) Goodhead, D. T. *Int. J. Radiat Biol.* **1994**, *65*, 7.
(5) Fuciarelli, A. F.; Zimbrick, J. D. *Radiation Damage in DNA: Structure/function Relationships at Early Times* **1995**.
(6) Von Sonnetage, C. *The Chemical Basis for Radiation Biology ,Taylor & Francis , London,* **1987**.
(7) Gonzalgo, M. L.; Jones, P. A. *Mutagenesis* **1997**, *386*, 107.
(8) Razin, A.; Kafri, T. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **1994**, *48*, 53.
(9) Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. H. *Mass spectrometry of organic compounds, Holden-Day, Inc* **1967**.
(10) Fernandez-Capetillo, O.; Nussenzweig, A. *Nat. Genet.* **2004**, *36*, 672.
(11) Marple, T.; Li, H.; Hasty, P. *Mutat. Res.* **2004**, *554*, 253.
(12) Cooke, M. S.; Evans, M. D.; Dizdaroglu, M.; Lunec, J. *FASEB J.* **2003**, *17*, 1195.
(13) Fayard, B.; Touati, A.; Abel, F.; Hervé du Penhoat, M. A.; Despiney-Bailly, I.; Gobert, F.; Ricoul, M.; L'hoir, A.; Politis, M. F.; Hill, M. A.; Stevens, D. L.; Sabatier, L.; Sage, E.; Goodhead, D. T.; Chetioui, A. *Radiat. Res.* **2002**, *157*, 128.
(14) Boudaiffa, B.; Cloutier, P.; Hunting, D.; Huels, M. A.; Sanche, L. *Science* **2000**, *287*, 1658.
(15) Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry, New York (N.Y. : Worth Publishers)* **1982**.
(16) Lea, D. E. *in The Action of Radiation on Living Cells, Macmillan: New York* **1947**.
(17) Keith, R. L.; Lawrence, A. L. *Carcinogenesis* **2000**, *21*, 379.
(18) Little, J. B. *Radioprotection* **2002**, *37*, 261.
(19) Tubiana, M.; Dutreix, J.; Jockey, P. *Bases Physiques de la radiothérapie et de la radiobiologie, Paris : Masson et Cie*

1963.
(20) Tabet, J. *PHD Thesis, Irradiation de molécules biologiques (bases de l'ADN et de l'ARN) par impact de protons dans le domaine de vitesse du pic de Bragg (20-150 keV/uma), Université Lyon 1, Lyon* **2007**.
(21) Hall, E. J. *Radiobiology for the radiologist, Hagerstown, Maryland* **1978**.
(22) Enjalbert, Q. *PHD Thesis, Nouvel outil de quantification de biomarqueurs couplant la spectroscopie optique et de la spectrométrie de masse, la Photo-SRM, Université Lyon 1, Lyon* **2013**.
(23) Simon, R. *PHD Thesis, La quantification ciblée de protéines et peptides par chromatographie liquide couplé à la spectrométrie de masse en tandem : développemants analytiques et applications, Université Lyon 1, Lyon* **2012**.
(24) De Hoffman, E.; Stroobant, V. *Spectrométrie de masse. 3ème édition ed.; Dunod* **2005**.
(25) Tabet, J.; Eden, S.; Feil, S.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Ouaskit, S.; Märk, T. D. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* **2010**, *268*, 2458.
(26) Tabet, J.; Eden, S.; Feil, S.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Ouaskit, S.; Märk, T. D. *Int. J. Mass spectrom.* **2010**, *292*, 53.
(27) Tabet, J.; Eden, S.; Feil, S.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Ouaskit, S.; Märk, T. D. *Phys. Rev. A: At. Mol. Opt. Phys.* **2010**, *82*, 022703.
(28) Tabet, J.; Eden, S.; Feil, S.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Ouaskit, S.; Märk, T. D. *Phys. Rev. A: At. Mol. Opt. Phys.* **2010**, *81*, 012711.

(29) Coupier, B.; Farizon, B.; Farizon, M.; Gaillard, M. J.; Gobet, F.; de Castro Faria, N. V.; Jalbert, G.; Ouaskit, S.; Carré, M.; Gstir, B.; Hanel, G.; Denifl, S.; Feketeova, L.; Scheier, P.; Märk, T. D. *Eur. Phys. J. D* **2002**, *20*, 459.

(30) Hanel, G. *Ph.D. thesis, universität Innsbruck, Austria* **2002**.

(31) Suelter, C. H.; Watson, J. T. *Biomedical Applications of Mass Spectrometry, Volume 34* **1990**.

(32) De Vries, J.; Hoekstra, R.; Morgenstern, R.; Schlathölter, T. *J. Phys. B: At., Mol. Opt. Phys.* **2002**, *35*, 4373.

(33) De Vries, J.; Hoekstra, R.; Morgenstern, R.; Schlathölter, T. *Phys. Scr.* **2004**, *T110*, 336.

(34) Imhoff, M.; Deng, Z.; Huels, M. *Int. J. Mass spectrom.* **2007**, *262*, 154.

(35) De Vries, J.; Hoekstra, R.; Morgenstern, R.; Schlatholter, T. *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 053401.

(36) De Vries, J.; Hoekstra, R.; Morgenstern, R.; Schlathölter, T. *Eur. Phys. J. D* **2003**, *24*, 161.

(37) Deng, Z.; Imhoff, M.; Hill, M. A. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 144509.

(38) Hush, N. S.; Cheung, A. S. *Chem. Phys. Lett.* **1975**, *34*, 11.

(39) Bredy, R.; Bernard, J.; Chen, L.; Wei, B.; Salmoun, A.; Bouchama, T.; Buchet-Poulizac, M. C.; Martin, S. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* **2005**, *235*, 392.

(40) Chen, L.; Bredy, R.; Bernard, J.; Montagne, G.; Allouche, A. R.; Martin, S. *J. Chem. Phys.* **2011**, *135*, 114309.

(41) Schlathölter, T.; Alvarado, F.; Bari, S.; Hoekstra, R. *Phys. Scr.* **2006**, *73*, C113.

(42) Denifl, S.; Sonnweber, B.; Hanel, G.; Scheier, P.; Märk, T. D. *Int. J. Mass spectrom.* **2004**, *238*, 47.

(43) In *NIST Chemistry WebBook, available from http://webbook.nist.gov.*

(44) Feil, S.; Gluch, K.; Matt-Leubner, S.; Scheier, P.; Limtrakul, J.; Probst, M.; Deutsch, H.; Becker, K.; Stamatovic, A.; Märk, T. D. *J. Phys. B: At., Mol. Opt. Phys.* **2004**, *37*, 3013.

(45) Nishiwaki, T. *Tetrahedron* **1966**, *22*, 3117.

(46) Nishiwaki, T. *Tetrahedron* **1967**, *23*, 1153.

(47) Jochims, H. W.; Schwell, M.; Baumgartel, H.; Leach, S. *Chem. Phys.* **2005**, *314*, 263.

(48) Le Padellec, A.; Moretto-Capelle, P.; Richard-Viard, M.; Champeaux, J. P.; Cafarelli, P. *J. Phys.: Conf. Ser.* **2008**, *101*, 012007.

(49) Rice, J. M.; Dudek, G. O.; Barber, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4569.

(50) Wolken, J. K.; Yao, C.; Turecek, F.; Polce, M. J.; Wesdemiotis, C. *Int. J. Mass spectrom.* **2007**, *267*, 30.

(51) Rice, J. M.; Dudek, G. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2719.

(52) Zavilopulo, A. N.; Shpenik, O. B.; Agafonova, A. S. *J. Phys. B: At., Mol. Opt. Phys.* **2009**, *42*, 025101.

(53) Occolowitz, J. L. *Chem. Commun.* **1968**, *1226*.

(54) Barrio, M. D. C. G.; Scpoes, D. I. C.; Holtwick, J. B.; Leonard, N. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1981**, *78*, 3986.

(55) Sethi, S. K.; Gupta, S. P.; Jenkins, E. E.; Whitehead, C. W.; Townsend, L. B.; McCloskey, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3349.

(56) Improta, R.; Scalmani, G.; Barone, V. *Int. J. Mass spectrom.* **2000**, *201*, 321.

(57) Zhou, C.; Matsika, S.; Kotur, M.; Weinacht, T. C. *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 9217.

(58) Tehrani, Z. A.; Javan, M. G.; Fattahi, A.; Hashemi, M. M. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry* **2011**, *11*, 313.

(59) Cheng, P.; Li, Y.; Li, S.; Zhang, M.; Zhou, Z. *PCCP* **2010**, *12*, 4667.

(60) Hartree, D. R. *Theory and Methods Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* **1928**, *24*, 89.

(61) Pauli, W. *Phys. Rev.* **1940**, *58*, 716.

(62) Schrödinger, E. *Annals of Physics* **1926**, *384*, 361.

(63) Born, M.; Oppenheimer, R. *Annals of Physics* **1927**, *84*, 457.

(64) Mayer, I. *Int. J. Quantum Chem* **1983**, *23*, 341.
(65) Slater, J. C. *Phys. Rev.* **1930**, *35*, 210.
(66) Burkert, U.; Allinger, N. *Molecular Mechanics, ASC Monography* **1982**, *117*, NY.
(67) Leach, A. R. *Molecular Modelling. Principles and Applications, Longman* **1996**.
(68) Atkins, P. W. *Chimie Physique, De Boeck Université* **2000**.
(69) Vidal, B. *Chimie quantique : de l'atome à la théorie de Hückel, Masson* **1993**.
(70) Boucekkine, G. *méthodes de la chimie quantique, Edition TI, AF6050* **2007**.
(71) Chinnasamy, C. N.; Narayanasamy, A.; Ponpandian, N.; Chattopodhyay, K.; Shinoba, K.; Jeyadevan, B.; Tohji, K.; Nakatsuka, K. *Physical Review B* **2001**, *63*, 184108.
(72) Huang, X.; Chen, Z. *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, *280*, 37.
(73) Cheng, Y.; Zheng, Y.; Wang, Y.; Bao, F.; Qin, Y. *J. Solid State Chem.* **2005**, *178*, 2394.
(74) Roothaan, C. C. J. *Rev. Mod. Phys.* **1951**, *23*, 69.
(75) Schmidt, M. W.; Baldridge, K. K.; Boatz, J. A.; Elbert, S. T.; Gordon, M. S.; Jensen, J. H.; Koseki, S.; Matsunaga, N.; Nguyen, K. A.; Su, S. J.; Windus, T. L.; Dupuis, M.; Montgomery, J. A. *J. Comput. Chem.* **1993**, *14*, 1347.
(76) Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev.* **1965**, *140*, A1133.
(77) Perdew, J. P.; Levy, M. *Phys. Rev. Lett.* **1983**, *51*, 1884.
(78) Dirac, P. A. M. *Proc. Cambridge Philos. Soc.* **1930**, *26*, 376.
(79) Slater, J. C. *Phys. Rev.* **1951**, *81*, 385.
(80) Vosko, S. J.; Wilk, L.; Nussair, M. *Can. J. Phys.* **1980**, *58*, 1200.
(81) Perdew, J. P.; Wang, Y. *Physical Review B* **1992**, *45*, 13244.
(82) Perdew, J. P.; Zinger, A. *Physical Review B* **1981**, *23*, 5048.
(83) Sham, L. J.; Schlüter, M. *Phys. Rev. Lett.* **1983**, *51*, 1888.
(84) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865.
(85) Becke, A. D. *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098.
(86) Perdew, J. P. *Electronic Structure of Solids, Eds. P. Ziesche, H. Eschring, Academic Verlag : Berlin,* **1991**.
(87) Perdew, J. P. *Physical Review B* **1986**, *33*, 8822.
(88) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Physical review B* **1988**, *37*, 785.
(89) Barone, V. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *226*, 392.
(90) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
(91) Sproviero, E. M.; Gascon, J. A.; McEvoy, J. P.; Brudvig, G. W.; Batista, V. S. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 786.
(92) Wordrich, M. D.; Corminboeuf, C.; Von Ragué Schleyer, P. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3631.
(93) Baerends, E. J.; Autschbach, J.; Berces, A.; Bo, C.; Boerrigter, P. M.; Cavallo, L.; Chong, D. P.; Deng, L.; Dickson, R. M.; Ellis, D. E.; Faassen, M. V.; Fan, L.; Fischer, T. H.; Guerra, C. F.; Gisbergen, S. J. A. V.; Groeneveld, J. A.; Gritsenko, O. V.; Gruning, M.; Harris, F. E. P. V.; Hoek, D.; Jacobsen, H.; Jensen, L.; Kessel, G. V.; Kootstra, F.; Lenthe, E. V.; McCormack, D. A.; Michalak, A.; Osinga, V. P.; Patchkovskii, S.; Philipsen, P. H. T.; Post, D.; Pye, C. C.; Ravenek, W.; Ros, P.; Schipper, P. R. T.; Schreckenbach, G.; Snijders, J. G.; Sola, M.; Swart, M.; Swerhone, D.; Velde, G. T.; Vernooijs, P.; Versluis, L.; Visser, O.; Wang, F.; Wezenbeek, E. V.; Wiesenekker, G.; Wolff, S. K.; Woo, T. K.; Yakovlev, A. L.; Ziegler, T. ADF2010, SCM, Theoretical Chemistry, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands, http://www.scm.com.
(94) Baerends, E. J.; Ziegler, T.; Autschbach, J.; Bashford, D.; Bérces, A.; Bickelhaupt, F. M.; Bo, C.; Boerrigter, P. M.; Cavallo, L.; Chong, D. P.; Deng, L.; Dickson, R. M.; Ellis, D. E.; van Faassen, M.; Fan, L.; Fischer, T. H.; Fonseca Guerra, C.; Franchini, M.; Ghysels, A.; Giammona, A.; van Gisbergen, S. J. A.; Götz, A. W.; Groeneveld, J. A.; Gritsenko, O. V.; Grüning, M.; Gusarov, S.; Harris, F. E.; van den Hoek, P.; Jacob, C. R.; Jacobsen, H.; Jensen, L.; Kaminski, J. W.; van Kessel, G.; Kootstra, F.; Kovalenko, A.; Krykunov, M. V.; van Lenthe, E.; McCormack, D. A.; Michalak, A.; Mitoraj, M.; Morton, S. M.; Neugebauer, J.; Nicu, V. P.; Noodleman, L.; Osinga, V. P.; Patchkovskii, S.; Pavanello, M.; Philipsen, P. H. T.; Post, D.; Pye, C. C.; Ravenek, W.; Rodríguez, J. I.; Ros, P.; Schipper, P. R. T.; Schreckenbach, G.; Seldenthuis, J. S.; Seth, M.; Snijders, J. G.; Solà, M.; Swart, M.; Swerhone, D.; te Velde, G.; Vernooijs,

P.; Versluis, L.; Visscher, L.; Visser, O.; Wang, F.; Wesolowski, T. A.; van Wezenbeek, E. M.; Wiesenekker, G.; Wolff, S. K.; Woo, T. K.; Yakovlev, A. L. ADF2013, SCM, Theoretical Chemistry, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands, http://www.scm.com.

(95) Te Velde, G.; Bickelhaupt, F. M.; van Gisbergen, S. J. A.; Fonseca Guerra, C.; Baerends, E. J.; Snijders, J. G.; Ziegler, T. *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 931.

(96) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1396.

(97) Snijders, J. G.; Baerends, E. J.; Vernooijs, P. *At. Data Nucl. Data Tables* **1982**, *26*, 483.

(98) van Lenthe, E.; Baerends, E. J. *J. Comput. Chem.* **2003**, *24*, 1142.

(99) van Gisbergen, S. J. A.; Osinga, V. P.; Gritsenko, O. V.; van Leeuwen, R.; Snijders, J. G.; Baerends, E. J. *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 3142.

(100) van Gisbergen, S. J. A.; Snijders, J. G.; Baerends, E. J. *J. Chem. Phys.* **1995**, *103*, 9347.

(101) Versluis, L.; Ziegler, T. *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 322.

(102) Fan, L.; Ziegler, T. *J. Chem. Phys.* **1992**, *96*, 9005.

(103) Fan, L.; Ziegler, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10890.

(104) Tian, S. X.; Zhang, C. F.; Zhang, Z. J.; Chen, X. J.; Xu, K. Z. *Chem. Phys.* **1999**, *242*, 217.

(105) Gopinathan, M. S.; Jug, K. *Theor. Chim. Acta* **1983**, *63*, 497.

(106) Burke, K. *J. Chem. Phys.* **2012**, *136*, 150901.

(107) Coote, M. L.; Wood, G. P. F.; Radom, L. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 12124.

(108) Close, D. M. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10376.

(109) Wetmore, S. D.; Boyd, R. J.; Eriksson, L. A. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *322*, 129.

(110) Sevilla, M. D.; Besler, B.; Colson, A. O. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 1060.

(111) Crespo-Hernandez, C. E.; Arce, R.; Ishikawa, Y.; Gorb, L.; Leszczynski, J.; Close, D. M. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 6373.

(112) Schlathölter, T.; Alvarado, F.; Bari, S.; Lecointre, A.; Hoekstra, R.; Bernigaud, V.; Manil, B.; Rangama, J.; Huber, B. *Chem. Phys. Chem.* **2006**, *7*, 2339.

(113) Orlov, V. M.; Smirnov, A. N.; Varshavsky, Y. M. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *48*, 4377.

(114) Colson, A. O.; Sevilla, M. D. *Int. J. Radiat. Biol.* **1995**, *67*, 627.

(115) Improta, R.; Scalmani, G.; Barone, V. *International Journal of Mass Spectrometry* **2000**, *201*, 321.

(116) Cadet, J.; Douki, T.; Ravanat, J. L. *Free Radical Biol. Med.* **2010**, *49* 9.

(117) Sadr-Arani, L.; Mignon, P.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Chermette, H. *PCCP* **2012**, *14*, 9855.

(118) Wagner, J. R.; Cadet, J. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 564.

(119) Eatock, B. G.; Waltz, W. L.; Mezey, P. G. *Can. J. Chem.* **1986**, *64*, 914.

(120) Richardson, N. A.; Gu, J.; Wang, S.; Xie, Y.; Schaeffer, H. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4404.

(121) Ray, S. G.; Daube, S. S.; Naaman, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 15.

(122) Schlathölter, T.; Alvarado, F.; Hoekstra, R. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* **2005**, *233*, 62.

(123) Sevilla, M. D.; Li, X. *Adv. Quantum Chem.* **2007**, *52*, 59.

(124) Kumar, A.; Sevilla, M. D. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 7002.

(125) Budzikiewicz, H.; Brauman, J. I.; Djerass, C. *Tetrahedron* **1965**, *21*, 1855.

(126) Dougherty, R. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5780.

(127) Touboul, D.; Gaie-Levrel, F.; Garcia, G. A.; Nahon, L.; Poisson, L.; Schwell, M. *J. Chem. Phys.* **2013**, *138*, 094203.

(128) Plekan, O.; Feyer, V.; Richter, R.; Coreno, M.; de Simone, M.; Prince, K. C. *Chem. Phys.* **2007**, *334*, 53.

(129) Beynon, J. H.; Williams, A. E. *Appl. Spectrosc.* **1960**, *13*, 101.

(130) Sadr-Arani, L.; Mignon, P.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Chermette, H. *Chem. Phys. Lett.* **2013**, *583*, 165.

(131) Kim, S. K.; Lee, W.; Herschbach, D. R. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 7933.

(132) Bjelland, S.; Seeberg, E. *Mutat. Res.* **2003**, *531*, 37.

(133) Hecht, S. M.; Gupta, A. S.; Leonard, N. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1967**, *182*, 444.
(134) Löwdin, P. O. *Adv. Quantum Chem.* **1966**, *2*, 213.
(135) Florian, J.; Leszczynski, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3010.
(136) Wilson, M. S.; McCloskey, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 3436.
(137) Salpin, J. Y.; Guillaumont, S.; Tortajada, J.; MacAleese, L.; Lemaire, J.; Maitre, P. *Chem. Phys. Chem.* **2007**, *8* 2235.
(138) Nei, Y. W.; Akinyemi, T. E.; Steill, J. D.; Oomens, J.; Rodgers, M. T. *Int. J. Mass spectrom.* **2010**, *297*, 139.
(139) Nelson, C. C.; McCloskey, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3661.
(140) Nelson, C. C.; McCloskey, J. A. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **1994**, *5*, 339.
(141) Gregson, J. M.; McCloskey, J. A. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1997**, *165/166*, 475.
(142) Cao, H.; Wang, Y. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2006**, *17*, 1335.
(143) Tuytten, R.; Lemière, F.; Esmans, E. L.; Herrebout, W. A.; Van der Veken, B. J.; Dudley, E.; Newton, R. P.; Witters, E. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2006**, *17*, 1050.
(144) Jensen, S. S.; Ariza, X.; Nielsen, P.; Vilarrasa, J.; Kirpekar, F. *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 49.
(145) Qian, M.; Yang, S.; Wu, H.; Majumdar, P.; Leigh, N. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2007**, *18*, 2040.
(146) Sagoo, S.; Beach, D. G.; Manderville, R. A.; Garyelski, W. *J. Mass Spectrom.* **2011**, *46*, 41.
(147) Beach, D. G.; Gabryelski, W. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2012**, *23*, 858.
(148) Rodriguez-Ferrnandez, R.; Vazquez, S. A.; Martinez-Nunez, E. *PCCP* **2013**, *15*, 7628.
(149) Trujillo, C.; Lamsabhi, A. M.; Mo, O.; Yanez, M.; Salpin, J. Y. *Int. J. Mass spectrom.* **2011**, *306*, 27.
(150) Greco, F.; Liguori, A.; Sindona, G.; Uccella, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9092.
(151) Hunter, E. P. L.; Lias, S. G. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1998**, *27*, 413.
(152) Chandra, A. K.; Nguyen, M. T.; Uchimaru, T.; Zeegers-Huyskens, T. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 8853.
(153) Chandra, A. K.; Nguyen, M. T.; Zeegers-Huyskens, T. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 6010.
(154) Wolken, J. K.; Turecek, F. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2000**, *11*, 1065.
(155) Podolyan, Y.; Gorb, L.; Leszczynski, J. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 7346.
(156) Kryachko, E. S.; Nguyen, M. T.; Zeegers-Huyskens, T. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 1288.
(157) Kurinovich, M. A.; Phllips, L. M.; Sharma, S.; Lee, J. K. *Chem. Commun.* **2002**, *20*, 2354.
(158) Bakker, J. M.; Sinha, R. K.; Besson, T.; Brugnara, M.; Tosi, P.; Salpin, J. Y.; Maitre, P. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 12393.
(159) Mezzache, S.; Alves, S.; Pepe, C.; Quelquejeu, M.; Fournier, F.; Valery, J. M.; Tabet, J. C. *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 722.
(160) Wu, R.; McMahon, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 569.
(161) Nguyen, M. T.; Chandra, A. K.; Zeegers-Huyskens, T. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1998**, *94*, 1277.
(162) Chandra, A. K.; Uchimaru, T.; Zeegers-Huyskens, T. *J. Mol. Struct.* **2002**, *605*, 213.