



HAL
open science

Modèles de molécules biologiques sondés vibrationnellement et électroniquement en phase gazeuse

Floriane Grollau

► **To cite this version:**

Floriane Grollau. Modèles de molécules biologiques sondés vibrationnellement et électroniquement en phase gazeuse. Chimie théorique et/ou physique. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPASF013 . tel-03624951

HAL Id: tel-03624951

<https://theses.hal.science/tel-03624951>

Submitted on 30 Mar 2022

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.

Modèles de molécules biologiques sondés
vibrationnellement et électroniquement en
phase gazeuse
*Models of biological molecules probed vibrationally and
electronically in the gas phase*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 571, Sciences chimiques : Molécules, Matériaux,
Instrumentations et Biosystèmes (2MIB)
Spécialité de doctorat : Physique
Graduate School : Chimie, Référent : Faculté des sciences d'Orsay

Thèse préparée dans l'unité de recherche LIDYL (Université Paris-Saclay, CEA,
CNRS), sous la direction de Michel MONS, directeur de recherche CEA, et le
co-encadrement de Marc BRIANT, chercheur CEA

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 24 février 2022, par

Floriane GROLLAU

Composition du jury

Anne ZEHACKER-RENTIEN

Directrice de recherche, CNRS, Université Paris-Saclay

Charles DESFRANCOIS

Directeur de recherche, CNRS, Université Sorbonne Paris Nord

Christophe JOUVET

Directeur de recherche émérite, CNRS, Université Aix-Marseille

Jöelle MASCETTI

Directrice de recherche, CNRS, Université de Bordeaux

Michel MONS

Directeur de recherche CEA, CEA, Université Paris-Saclay

Marc BRIANT

Chercheur CEA, CEA, Université Paris-Saclay

Présidente

Rapporteur & Examineur

Rapporteur & Examineur

Examinatrice

Directeur de thèse

Co-encadrant de thèse

Titre : Modèles de molécules biologiques sondés vibrationnellement et électroniquement en phase gazeuse

Mots clés : Molécule d'intérêt biologique; Dynamique électronique; État triplet; Expériences pompe-sonde; Spectroscopie IR; Modélisation par chimie quantique

Résumé : Les processus photo-induits sont partout présents dans le monde biologique de par les propriétés intrinsèques des molécules qui les constituent, telles que les chromophores UV/Vis des résidus aromatiques des protéines, l'hème dans l'hémoglobine ou bien la chlorophylle. L'objectif de cette thèse a en partie été de documenter en détail les processus de relaxation électronique qui suivent l'absorption de la lumière visible ou UV par ces molécules. L'intérêt s'est porté sur la formation d'états triplets dans ces systèmes, qui restent mal connus malgré leur importance cruciale. En effet, le caractère bi-radicalaire des états triplets et leur longue durée de vie en font des intermédiaires efficaces vers des voies de désexcitation photochimiques, potentiellement dommageables à la fonction biologique de ces molécules. En outre, dans la mesure où ces propriétés peuvent être influencées par la conformation de ces molécules lorsqu'elles sont flexibles, comme les protéines, une autre part du travail a consisté à caractériser ces conformations.

L'approche choisie, la spectroscopie pompe-sonde en phase gazeuse vibrationnelle ou électronique, vise à obtenir les informations spectroscopiques détaillées et intrinsèques à la molécule, permettant une comparaison facilitée avec la modélisation théorique, notamment par chimie quantique. Cependant, un contrôle précis du système, de sa conformation et sa température en phase gazeuse nécessite d'étudier des molécules modèles, fragments des molécules biologiques visées, pertinents pour l'étude du processus visé, en les isolant soit dans une détente supersonique, soit dans des gouttelettes d'hélium. Trois actions principales ont ainsi été menées.

Du point de vue structurel et thermodynamique, la tautomérie de la chaîne latérale de l'acide aminé histidine a été étudiée sur la molécule de 4(5)-méthylimidazole. La spectroscopie IR en gouttelettes d'hélium a notamment permis

de quantifier la thermodynamique de la tautomérisation de ces molécules. Par ailleurs des petites chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine, utilisées comme modèles de chaînes peptidiques dans les études de sonde d'états triplets, ont été caractérisées en détente supersonique par spectroscopie de double résonance IR/UV dans le domaine spectral des elongations NH. Ces études ont toutes deux été appuyées par des calculs de chimie quantique au niveau DFT-D.

La formation et la caractérisation d'états triplets issus de la photo-excitation de chaînes peptidiques contenant l'acide aminé phénylalanine ont été étudiées, dans le cadre de la problématique de la photo-dégradation des protéines après photo-excitation UV. Bien que le cycle phényle soit connu pour son fort rendement quantique de croisement intersystème après excitation du premier état singulet, ce point restait mal connu pour les chaînes de protéines. Le passage à l'état triplet pour une série de molécules modèles de chaînes de protéines comportant l'acide aminé phénylalanine a donc été sondé par une méthode de type pompe-sonde. Ces études, en conjonction avec des calculs de chimie quantique, ont montré, qu'après passage à l'état triplet, la relaxation de la phénylalanine excitée dépend notamment de la taille de la chaîne latérale et de la présence de liaisons peptidiques (-CO-NH-) dans son environnement. Un schéma de relaxation a été proposé, suggérant la compétition entre formations d'états triplets à longue durée de vie (μs) et au moins une voie alternative vers des états « noirs » non détectés.

Enfin, les états triplets de deux porphyrines de cuivre, modèles de l'hème, ont également été détectés dans des expériences pompe-sonde. La détection de l'état triplet a dans un premier temps permis de remonter aux propriétés d'absorption de ces molécules puis de caractériser les modes de relaxation vers l'état fondamental après absorption d'un photon UV.

Title : Models of biological molecules probed vibrationally and electronically in the gas phase

Keywords : Molecules of biological interest ; Electronic dynamic ; Triplet state ; Pump-probe experiments ; IR spectroscopy ; Quantum chemistry computation

Abstract : Photo-induced processes are largely involved in the biological world because of the intrinsic properties of the molecules that compose them, like the UV/Vis aromatic chromophores residues of the proteins, the heme of hemoglobin protein or the chlorophylls. The goal of this thesis was in part to document in details the electronic relaxation processes that follow the UV/Vis absorption by these molecules. The interest was focused on the triplet states formation in these systems that are still poorly known despite their major importance. Indeed, the biradical character of the triplet states and their long lifetime made them efficient intermediate states involved in photochemical deactivation channels, potentially harmful to their biological function. Furthermore, because these properties can be influenced by the molecules conformation, when they are flexible like proteins, the second part of this work was devoted to the structure characterization.

The chosen approach, the vibrational or electronic pump-probe spectroscopy in gas phase, aims to obtain detailed spectroscopic information intrinsic to the molecule, allowing an easier comparison with theoretical modelisation, in particular with quantum chemistry. However, a precise control of the system, its conformation and its temperature in gas phase require the study of model molecules, a fraction of the targeted biological molecule, relevant for the studied process, insulating them either in a supersonic expansion or in helium droplets. Three approaches have been investigated.

On the structural and thermodynamical sides, the side chain tautomerism of the histidine amino acid was studied on the 4(5)-methylimidazole molecule. The IR spectroscopy in helium droplets allowed quantifying the molecules' tautomerization

thermodynamics. Moreover small peptide chains that contain the phenylalanine residue, used as peptide chain models when probing triplet states, have been characterized in a supersonic expansion by double IR/UV resonance spectroscopy in the spectral domain of the NH stretch modes. These studies have both been supported by quantum chemistry calculation on the DFT-D level.

Both triplet state formation and characterization induced by the photo-excitation of peptide chains containing phenylalanine amino acid have been studied in the framework of the protein photo-degradation after UV photo-excitation. Although the phenyl ring is known for its high intersystem crossing quantum yield after the first singlet state excitation, it is still not well known for protein chains. The triplet state formation for a series of model molecules protein chains containing the phenylalanine residue has been probed with a pump-probe method. With the help of quantum chemistry calculation, these studies have shown that the relaxation of the excited phenylalanine that follows the triplet states formation depends on the side chain and of the presence of peptide bonds (-CO-NH-) in its environment. A relaxation schema have been proposed, suggesting the competition between the formation of long lived triplets states (μs) and at least one alternative channel leading to undetected dark states.

Finally, triplet states of two copper porphyrins, heme models, have been detected in pump-probe experiments. Their detection allowed to first uncovering absorption properties of these molecules and then to characterize the relaxation modes leading to the ground state after the absorption of an UV photon.

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu Christophe Juvet et Charles Desfrancois d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse et examinateurs de ma soutenance de thèse. Je remercie également les deux autres membres de mon jury Joëlle Mascetti et Anne Zehnacker-Rentien.

Je remercie ensuite très chaleureusement mes deux encadrants de thèse, Marc Briant et Michel Mons. Merci d'avoir été présents pendant ces trois ans et demi de thèse (quatre si on compte le stage de M2), merci pour les nombreuses discussions scientifiques et merci infiniment d'avoir toujours pris le temps de répondre à mes questions et mes sollicitations. J'ai eu la chance d'avoir un très bon encadrement de thèse.

Mes remerciements sont également adressés à Valérie Brenner, Viola Dmello, Marc-André Gaveau, Jean-Michel Mestdagh et Benoît Soep, qui ont tous contribué à une partie des travaux présentés dans cette thèse. Je remercie particulièrement Viola et Benoît avec qui j'ai passé du temps en salle de manip à la recherche des états triplets.

Je remercie de plus tout le reste de l'équipe LUMO, anciennement DyR et SBM : Jean-Xavier Bardaud, Jérémy Donon, Guillaume Gallician, Eric Gloaguen, Lionnel Poisson et Benjamin Tardivel, pour leur aide, leur disponibilité et leur bonne humeur.

Je remercie par ailleurs Niloufar Shafizadeh et Anja Röder, pour m'avoir invitée à participer à leurs différents *run* Soleil. Cela m'a permis de découvrir d'autres montages expérimentaux et d'autres systèmes moléculaires.

Merci à tous pour votre accueil, votre bienveillance et pour tous les échanges scientifiques que nous avons pu avoir au cours de ma thèse.

Je remercie également très chaleureusement Emilie Sakat d'avoir été ma mentore dans le cadre du programme de mentorat Femmes et Sciences de l'université Paris-Saclay, et de tous les nombreux conseils qu'elle a pu me donner pour me permettre d'avancer. Merci également à Andres Santander Syro de nous avoir permis de passer une semaine formidable au workshop Quercy, parce qu'après tout, *c'est la vie qu'on mérite*.

REMERCIEMENTS

Je continue mes remerciements en citant mes nombreux, très nombreux, amis qui m'ont soutenu, fait rigoler et permis de passer de très bons moments quand ce n'était pas la joie (merci le COVID ...). Je citerais la grande famille de la TIPS (beaucoup trop nombreux pour que je ne puisse citer vos noms un à un), les Gibbons Masqués, tous mes amis doctorants physiciens (Dany, Noémie, Mic, Lucas, Joffrey, Christelle, Zoé, ..). Et surtout, et avant tout, vous, Jérôme, Léna, Mélina, Alexiane, Claire, Kenan et Romain : merci d'être vous, d'avoir été là et de toujours être là depuis si longtemps.

Et enfin, comment ne pas vous remercier, vous ma famille, Béa, Loan, Philippe, Charline, Noémie ... Merci pour votre soutien sans faille et d'avoir toujours cru en moi. J'ai de la chance d'être aussi bien entourée grâce à vous. Alors merci du fond du cœur.

Pour terminer, je souhaiterais citer deux adages célèbres dont j'ai pu découvrir le sens pendant cette thèse :

« *Igor, il n'y a pas plus fort.* » Marc Briant

« *Oui, mais Origin, ce n'est pas d'la bibine.* » Michel Mons

Table des matières

Remerciements	5
Introduction	11
1 Méthodologies	19
1.1 Molécules refroidies dans un jet supersonique	19
1.1.1 Le jet supersonique	20
1.1.2 Méthodes spectroscopiques IR2P	21
1.1.3 Description des montages expérimentaux SBM et Edelweiss	26
1.1.4 Particularités du montage SBM	32
1.1.5 Particularités du montage Edelweiss	36
1.2 Molécules refroidies dans une gouttelette d'hélium	38
1.2.1 Quelques propriétés des agrégats d'hélium	38
1.2.2 Principe de mesure.	41
1.2.3 Description du dispositif expérimental Gouttelium	42
1.3 Les calculs de chimie quantique	50
1.3.1 Principe de la DFT-D	50
1.3.2 Niveau de calculs des différentes études	51
1.3.3 Optimisation des structures : énergies et fréquences de vibrations.	52
2 Structures de molécules d'intérêt biologique	55
2.1 La molécule de 4(5)-méthylimidazole et ses hydrates dans des agrégats d'hélium	56
2.1.1 La tautomérisation de la molécule de 4(5)-MeIm	58
2.1.2 Les complexes 4(5)-MeIm-Eau	70
2.2 Paysage conformationnel de deux petites chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine	79
2.2.1 La molécule de 3-phénylpropanamide	82
2.2.2 La molécule de N-phénéthylacétamide	87
2.2.3 Mesures des durées de vie de l'état $S_1(\pi\pi^*)$ de 3PPA et de NPEA	89
2.3 Conclusion	92

3	Désexcitation du premier état excité $^1\pi\pi^*$ du résidu phénylalanine dans des peptides modèles	95
3.1	État de l'art et objectifs de cette étude	96
3.1.1	Photophysique des groupements phényles : benzène et toluène . . .	97
3.1.2	Photophysique des petits peptides	99
3.1.3	Problématiques de cette étude	102
3.2	Principe de la sonde des états triplets par photoionisation	103
3.2.1	Photoionisation des états triplets	103
3.2.2	Expérience pompe-sonde et limitations temporelles	106
3.2.3	Modèle de désexcitation via un état triplet	108
3.3	Détection des états triplets dans des dérivés du benzène	111
3.3.1	La molécule modèle de toluène	111
3.3.2	Détection de l'état triplet de trois alkylbenzènes	113
3.4	Détection de l'état triplet de modèles de chaînes peptidiques	118
3.4.1	Les chaînes peptidiques étudiées	118
3.4.2	Résultats expérimentaux et analyse qualitative	121
3.4.3	Analyse quantitative	125
3.4.4	Modélisation de la perte de la population de l'état triplet	130
3.5	Éclairage théorique et interprétation des expériences pompe-sonde nanoseconde	135
3.5.1	Résultats des calculs de chimie quantique	135
3.5.2	Interprétation des expériences pompe-sonde	137
3.6	Considérations sur la dynamique de l'état $S_1(\pi\pi^*)$	139
3.7	Conclusion	140
4	Détection de l'état tripdoublet de deux porphyrines de cuivre	143
4.1	Propriétés des métalloporphyrines : états électroniques et leurs dynamiques	145
4.1.1	Premiers états électroniques des porphyrines	146
4.1.2	Dynamique de ces états électroniques	148
4.2	Spectroscopie d'action triplet de CuTPP et CuOEP	151
4.2.1	Considérations expérimentales	153
4.2.2	Résultats expérimentaux : spectres d'action triplet	154
4.2.3	Discussion	157
4.2.4	Conclusions	160
4.3	Dynamique des états 2T formés après excitation de la bande Q de CuTPP et CuOEP	161
4.3.1	Considérations expérimentales	162
4.3.2	Déclin de l'état 2T	162
4.3.3	Discussion	164
4.4	Conclusion	168
	Conclusion	171

A	Calculs de l'enthalpie libre du 4(5)-MeIm	177
B	Isomérisation du 5→4-MeIm : une approche <i>via</i> la chimie quantique	179
B.1	Stratégie de calcul	180
B.2	Système de coordonnées	181
B.3	Conduite du calcul	182
B.4	Résultats et discussion	183
C	Étude conformationnelle de deux peptides QFa et QFm, contenant les résidus Glutamine et Phénylalanine	187
C.1	Étude conformationnelle du peptide QFa	189
C.1.1	Le spectre UV	189
C.1.2	Détermination des conformations	189
C.1.3	Mesure de la durée de vie de l'état S_1	193
C.2	Étude conformationnelle du peptide QFm	194
C.2.1	Le spectre UV	194
C.2.2	Détermination des conformations	195
C.2.3	Mesure de la durée de vie de l'état S_1	198
D	Structure et nomenclature des conformations de Ac-Gly-Phe-NH₂ (GFa) et Ac-Gly-Phe-NHMe (GFm)	201
E	Étude de la fragmentation post-ionisation suite à la photoionisation pompe-sonde de NAPA A avec la sonde à 193 nm	205
F	États excités de conformations remarquables de NAPMA, 3PPA et NPEA	211
	Bibliographie	219

Introduction

Contexte

ASSEZ tôt dans l'histoire de la biologie, les scientifiques ont adopté une démarche consistant à établir un lien entre la structure d'une molécule et sa fonction. C'est ainsi que Paul Ehrlich propose en 1896 le concept de clef-serrure pour expliquer la reconnaissance des antigènes par les anticorps [1]. Puis, au début du XXème siècle, Emil Fischer utilise ce modèle de clef-serrure pour expliquer l'interaction spécifique entre une enzyme et son substrat. Dans ce modèle, les structures tridimensionnelles des enzymes et des substrats sont figées mais sont complémentaires l'une de l'autre, ce qui permet la liaison des deux molécules et à l'enzyme de jouer son rôle de catalyseur. Par la suite, le modèle clef-serrure a évolué vers le modèle d'ajustement induit [2], où la structure du site actif de l'enzyme est, cette fois-ci, modifiée par la présence du substrat.

Ces travaux précurseurs montrent que les protéines (enzymes, anticorps, etc ...) peuvent adopter différentes structures (appelées des *conformères*) afin de s'adapter à leur environnement et y avoir une fonction bien précise. Cette adaptation structurelle permet une reconnaissance spécifique entre molécules organiques particulières, qui est au cœur du fonctionnement de tous les êtres vivants.

L'adaptation des protéines à leur environnement provient de la grande flexibilité de leur structure. Celle-ci peut être décrite selon une organisation à plusieurs niveaux :

- La structure primaire décrit l'association des acides L- α -aminés ¹ reliés les uns aux autres par une liaison peptidique, formant ainsi de longues chaînes peptidiques. Cette combinaison est faite à partir des 22 acides aminés protéinogènes existants, et est propre à chaque protéine. La liaison peptidique est une liaison covalente plane qui fait intervenir le groupe carboxyle d'un acide aminé et la fonction amine de l'acide aminé suivant, tel que : $R_1-(C=O)-(NH)-R_2$. Il est à noter que la flexibilité de ces molécules ne vient pas de ce type de liaison qui est rigide mais des carbones α , hybridés sp^3 , qui forment des liaisons covalentes σ avec leurs liaisons peptidiques voisines.
- La structure secondaire décrit les structures locales dues aux interactions existantes

1. L'atome C_α est chiral, de configuration L.

au sein des chaînes peptidiques précédemment formées. Des liaisons hydrogène locales peuvent stabiliser le repliement de la chaîne polypeptidique pour former, par exemple, des hélices α , des feuillets β , des coudes γ , etc ... [3, 4]. La chaîne d'une protéine peut alors être décrite comme une succession de structures secondaires.

- La structure tertiaire fait référence à la structure globale de la protéine dans l'espace, résultant des interactions entre les différents éléments de la structure secondaire.
- Certaines protéines peuvent également être décrites par leur structure quaternaire, qui fait référence à l'agencement des différentes sous-unités protéiques (par exemple, plusieurs chaînes peptidiques) qui constituent la protéine.

L'ensemble de ces niveaux de description montre bien la complexité de ces molécules et la multitude de possibilités d'arrangements existant chez les protéines [5]. Résoudre ces structures et comprendre les interactions à l'origine de ces structures sont des problématiques fondamentales pour l'étude du monde biologique car la structure et la fonction d'une protéine sont liées [6, 7, 8].

Par ailleurs, les processus cités au début de cette introduction (reconnaissance anticorps-antigène, réactions enzymatiques) se déroulent, bien souvent, dans l'état électronique fondamental des molécules impliquées. Cependant, d'autres processus biologiques ont lieu dans les états excités des molécules. C'est notamment le cas lorsqu'un système est soumis à un rayonnement UV ou visible. Ces processus peuvent être bénéfiques à l'organisme, comme la photosynthèse [9], ou au contraire néfastes à celui-ci (par exemple par l'altération des molécules absorbant le rayonnement [10, 11]). Dans les deux cas, il est important de comprendre les mécanismes d'excitation et de transfert d'énergie impliqués au sein des molécules biologiques pour comprendre les réarrangements intramoléculaires initiés par l'absorption du rayonnement.

Or, de nombreuses molécules biologiques, comme les protéines, sont flexibles et présentent plusieurs conformères. Cela implique donc que d'une conformation à une autre, l'environnement d'un groupement peut varier [3]. Cela a pour conséquence que les voies de relaxation impliquées dans la dynamique d'un état électronique peuvent différer d'un conformère à un autre [12, 13, 14, 15]. Il est donc important de pouvoir étudier les mécanismes de relaxation électronique de ces molécules, tout en étant sélectif quant à la structure du système sondé.

Objectifs

LES travaux menés dans le groupe LUMO (LUmière et MOlécules) du LIDYL (CEA) s'inscrivent dans le cadre de ces deux axes de recherche : connaître la structure de molécules biologiques et comprendre leur dynamique de relaxation suite à l'absorption d'un photon UV ou visible. Du fait de la très grande taille des protéines (plusieurs milliers voire dizaines de milliers d'acides aminés) et de la présence de solvants, l'étude des

différents conformères de ces molécules biologiques dans leur milieu est extrêmement complexe. Il paraît donc judicieux d'isoler en phase gazeuse ces molécules pour les étudier. Par ailleurs, pour avoir une comparaison directe entre les résultats expérimentaux et ceux des calculs de chimie quantique, il est nécessaire d'utiliser des molécules modèles, plus petites et moins complexes. Dans ces conditions, il est possible d'étudier les propriétés intrinsèques de ces molécules isolées [3]. Ensuite, la réintroduction de manière contrôlée de molécules de solvant, telles que des molécules d'eau, pour générer des complexes moléculaires, permet d'observer l'effet de la solvatation. C'est dans le cadre de ces problématiques générales que s'incrivent les différentes études présentées dans cette thèse.

Le premier objectif de cette thèse a été de **définir la structure de quelques modèles de molécules biologiques**, et plus particulièrement, d'acides aminés et de petites chaînes peptidiques (Chapitre 2). Quelle que soit la molécule étudiée, l'interprétation des données expérimentales s'appuie sur les résultats de calculs de chimie quantique réalisés par DFT-D [16], dont le principe est abordé dans le Chapitre 1, à la page 50.

Dans la première partie du Chapitre 2, la problématique de la tautomérisation² de l'histidine a été abordée. Cet acide aminé a, en effet, la particularité d'être à la fois donneur et accepteur d'un proton *via* son hétérocycle imidazole qui possède deux atomes d'azote. Cette propriété lui confère une place particulière parmi les acides aminés [20, 21] et est à l'origine des deux axes de cette étude. Le premier a été de déterminer la constante de tautomérisation indépendamment d'un quelconque milieu. Le second a été d'étudier la solvatation de l'histidine en introduisant de manière contrôlée des molécules d'eau, avec une attention particulière portée aux interactions hydrogène présentes dans les complexes eau-histidine. Pour cette étude, la molécule modèle choisie est la molécule de 4(5)-méthylimidazole. Ce choix est justifié par la présence du cycle imidazole (responsable de la tautomérisation) et celle du groupe méthyle simulant la présence du carbone β de l'histidine. Par ailleurs, la technique HENDI (HElium NanoDroplet Isolation [22, 23, 24]), décrite dans le Chapitre 1 à la page 38 et qui consiste à réaliser la spectroscopie infrarouge d'une molécule piégée dans un agrégat d'hélium, a été préférée pour mener cette étude.

Dans la seconde partie du Chapitre 2, le paysage conformationnel de deux petites chaînes peptidiques contenant l'acide aminé phénylalanine, les molécules de 3-phénylpropanamide et de *N*-phénéthylacétamide, a été exploré avec les techniques de spectroscopie résonnante à deux photons et par double résonance IR/UV [3] (techniques décrites dans le Chapitre 1, à partir de la page 21). L'objectif a été d'identifier les conformations les plus stables observées de ces molécules modèles des protéines. Cette étude sur la structure est préliminaire à une autre étude réalisée dans la seconde partie de cette thèse, dont l'objectif est explicité juste après. Il est à noter par ailleurs que des études sur la structure de deux autres peptides plus gros, contenant les acides aminés glutamine et phénylalanine, ont également été réalisées dans le cadre de cette thèse ; les résultats obtenus sont présentés

2. Des tautomères sont des isomères de constitution qui passent d'une conformation à une autre par une réaction réversible et spontanée, appelée la tautomérisation [17, 18, 19].

dans l'Annexe C.

Le second objectif de cette thèse a été d'étudier la dynamique électronique des premiers états excités de molécules biologiques, dont ceux de petites chaînes peptidiques, pour lesquelles la structure a été déterminée au préalable. Ces états excités peuvent en effet intervenir dans différents processus photochimiques de ces molécules dès lors qu'elles ont absorbé un photon UV ou visible. L'idée sous-jacente à ces études est de comprendre les mécanismes responsables de la dégradation de ces molécules ou de leur préservation. En effet, il est avéré que l'absorption d'un photon UV ou visible par une molécule biologique peut être à l'origine de dégâts irrémédiables, pouvant entraîner l'apparition de différentes maladies (cataracte, cancers, etc... [25, 26, 27]). Il est donc essentiel de comprendre comment une molécule biologique évacue l'excédent d'énergie interne venant de l'absorption d'un de ces photons. Ainsi, il est raisonnable de s'interroger sur l'existence de voies de relaxation de cette énergie interne conduisant à la dégradation de cette dernière ou au contraire permettant de préserver son intégrité.

De nombreuses études [13, 28, 29, 30, 31] ont eu pour objectif de répondre à cette question. De façon très générale, les processus invoqués sont la conversion interne (IC³), la conversion intersystème (ISC), la redistribution d'énergie vibrationnelle intramoléculaire (IVR), la fluorescence, la phosphorescence, la photodissociation, la photofragmentation, et toutes les réactions chimiques initiées depuis un état excité. Ainsi, l'absorption d'un photon UV/Vis par une molécule peut conduire à ces différentes voies de relaxation, qui peuvent être en compétition les unes par rapport aux autres. Sur la Figure 1, est représenté un schéma illustrant le principe des différentes voies de relaxation d'une molécule préservant sa structure, suite à l'absorption d'un photon UV/Vis.

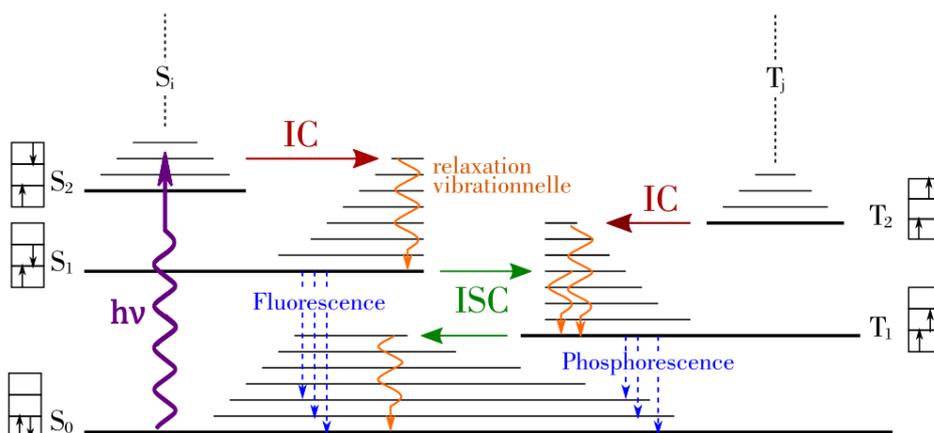


FIGURE 1 – Diagramme de Jablonski présentant le principe des différentes voies de relaxation qui préservent l'intégrité d'une molécule suite à l'absorption d'un photon.

Dans le but de comprendre les effets délétères sur la structure des molécules dus à

3. Les abréviations utilisées pour ces processus sont celles utilisées en langue anglaise qui correspondent à celles couramment utilisées.

l'absorption d'un photon, il est apparu intéressant d'étudier plus particulièrement les états triplets [32, 33, 34, 35]. En effet, une molécule excitée dans un état triplet est bien plus réactive que si elle avait été excitée dans un état singulet. Cela est lié à la séparation spatiale de la paire d'électrons formant cet état triplet (deux électrons de même spin dans des orbitales voisines) qui donne à la molécule un caractère biradicalaire très réactif [36]. Il faut également ajouter à cette propriété le fait que les états triplets possèdent, en général, une très longue durée de vie intrinsèque, souvent limitée par leur durée de vie radiative (\approx qq ms dans les cycles aromatiques [37]). Cela permet à la molécule d'explorer des chemins réactionnels avant qu'elle ne se désexcite. Ainsi, ces états triplets sont plus susceptibles que les autres états d'être à l'origine des mécanismes de dégradation des molécules puisqu'ils ont beaucoup plus de temps pour rencontrer un partenaire réactionnel tout en étant eux mêmes réactifs. Pour ces raisons, les états triplets des systèmes étudiés ont été au cœur de ces études de dynamique électronique.

Cependant, il faut préciser que ces états triplets sont difficilement accessibles par absorption d'un photon depuis l'état fondamental de la molécule. Cela est lié aux règles de sélection des transitions relatives au spin électronique, qui *interdisent* la transition singulet-triplet [33, 34, 35]. Mais, si un état triplet et un état singulet sont proches en énergie et que le couplage spin-orbite entre ces états est significatif [38, 39], alors la conversion intersystème est possible et une transition telle que $S_1 \rightarrow T_1$ peut se produire (cf. Figure 1). C'est d'ailleurs par cette voie de relaxation que les états triplets sont généralement peuplés dans le milieu biologique et dans la plupart des études s'intéressant aux états triplets, comme celles présentées dans cette thèse. Malgré tout, la conversion intersystème est un processus lent puisqu'il faut *retourner* le spin. Le temps caractéristique nécessaire à ce processus est typiquement de l'ordre de 100 ns, voire même, peut être plus long. Les cas de la molécule du toluène et de ses dérivés sont d'ailleurs de bons exemples, puisque ces molécules sont connues pour avoir une conversion intersystème très efficace et générer ainsi une forte population d'états triplets, dès lors que leur premier état singulet S_1 est peuplé [40, 41]. Cela s'explique pour ces systèmes par la faible efficacité de la fluorescence de l'état S_1 et l'absence de conversion interne vers l'état fondamental. Il en résulte que la durée de vie du premier état singulet de ces molécules (86 ns [42] pour le toluène) est principalement contrôlée par le passage à l'état triplet.

Le Chapitre 3 (page 95), qui a pour but de sonder la formation d'états triplets après excitation du premier état singulet excité d'une série de chaînes peptidiques, présente d'abord les résultats des mesures réalisées sur quelques alkylbenzènes, et notamment sur le toluène. Les mesures de détection d'états triplets sur le toluène réalisées par Smalley *et al.* [41] servent de référence à ce travail. Le choix de la molécule de toluène comme référence ne doit rien au hasard puisque le cycle phényle lié à un atome de carbone se retrouve dans l'acide aminé L-phénylalanine, qui est la brique élémentaire dans la construction des peptides étudiés dans la suite de ce chapitre. Mais surtout, le point important est que la plupart des conformères de ces petits peptides, qui possèdent le cycle phényle, ont une durée de vie de l'état S_1 qui est du même ordre de grandeur que celle du toluène. En

conséquence, il est vraisemblable que la conversion intersystème se produise également de façon efficace dans ces systèmes d'intérêt biologique.

Ainsi, après avoir présenté le travail sur les alkylbenzènes, ce chapitre présente celui réalisé sur différents peptides de taille croissante et contenant le résidu phénylalanine. L'observation, ou non, des états triplets sera une indication de la présence du processus de conversion intersystème. Les effets de taille (nombre de liaisons peptidiques, degré de liberté) sur cette conversion ont aussi pu être étudiés. Un modèle permettant d'expliquer les voies de relaxation *via* le peuplement des états triplets et les éventuelles disparités par rapport à ce qui était attendu, est présenté lors de la discussion de ces résultats. Ce modèle s'appuie sur les résultats expérimentaux ainsi que ceux de calculs de chimie quantique.

Enfin, une façon très intéressante d'augmenter le couplage spin-orbite, et donc la conversion intersystème, consiste à utiliser un atome lourd, qui a pour effet l'augmentation des effets relativistes de ce couplage [38]. Certaines molécules biologiques possèdent naturellement un atome lourd comme, par exemple, la grande famille des métalloporphyrines. Comme les métalloporphyrines se retrouvent dans de nombreuses molécules telles que l'hémoglobine, la myoglobine, la chlorophylle et bien d'autres métalloprotéines, et sont impliquées dans de nombreux processus qui régissent le monde biologique [43, 44, 45, 46, 47], il est apparu intéressant de poursuivre ce travail par l'étude des états triplets dans ces molécules (Chapitre 4, à partir de la page 143).

L'intention de ce travail s'est portée sur deux métalloporphyrines : les molécules de Cu-tétraphényle porphyrine (CuTPP) et de Cu-octaéthyle porphyrine (CuOEP). La raison du choix de ces molécules réside dans le fait que l'atome de cuivre, au sein de ces molécules, ne possède qu'un seul électron *d* non apparié. En conséquence, les voies de relaxation de ces deux molécules sont bien spécifiques. L'excitation $^1\pi\pi^*$ du macrocycle aboutit à la formation très efficace d'un état triplet particulier, localisé également sur ce cycle [48, 49]. La première étape de cette étude a consisté, *via* la détection de cet état triplet, à obtenir le spectre d'action du premier état singulet excité de ces molécules. Les spectres ainsi obtenus ont été interprétés selon un modèle permettant de décrire la structure électronique des métalloporphyrines. La seconde étape a été de mesurer la durée de vie de l'état triplet des deux molécules. Des différences de comportement notables dans les voies de relaxation de l'état triplet sondé sont apparues entre les deux molécules, et qui ont été expliquées par la nature différente du squelette de ces molécules.

En résumé, l'objectif principal de cette thèse a été d'étudier la dynamique électronique de molécules biologiques (Chapitre 3 et Chapitre 4) et, en particulier, des états triplets au voisinage de leur premier état singulet excité S_1 de nature $\pi\pi^*$. Le but était de comprendre les mécanismes présents dans ces molécules permettant de relaxer leur énergie interne après l'absorption d'un photon UV/Vis. Mais avant d'aborder cette thématique très complexe, il a été nécessaire de déterminer la structure des différents conformères pour les molécules flexibles sondées (Chapitre 2) puisque ces différentes conformations

peuvent avoir des dynamiques électroniques différentes. Ce chapitre a permis également de sonder les propriétés structurales de l'acide aminé histidine.

Avant d'aborder l'ensemble des thèmes scientifiques précédemment décrits, les dispositifs expérimentaux sur lesquels les résultats ont été obtenus, ainsi que les techniques expérimentales, vont maintenant être présentés (Chapitre 1).

Bonne lecture.

Chapitre 1

Méthodologies

L'ÉTUDE des différentes molécules biologiques a été réalisée à l'aide de plusieurs dispositifs expérimentaux et de calculs de chimie quantique. Deux approches expérimentales ont été utilisées, toutes deux consistant à refroidir les molécules soit dans une détente supersonique, soit dans un agrégat d'hélium. Ces approches permettent de travailler dans un environnement isolé, ou quasi-isolé, en phase gazeuse afin de caractériser par spectroscopie optique différentes propriétés intrinsèques des molécules. Les spectres ainsi obtenus sont directement comparables aux calculs de chimie quantique, indispensables pour l'interprétation des résultats expérimentaux.

La première partie de ce chapitre présente les deux montages expérimentaux reposant sur l'utilisation d'un jet supersonique pulsé permettant l'étude des états électroniques excités des chaînes peptidiques et des porphyrines. La seconde partie est consacrée au dispositif expérimental utilisant des agrégats d'hélium pour réaliser la spectroscopie rovibrationnelle du 4(5)-méthylimidazole et de ses hydrates. Enfin, la troisième partie présente les méthodes théoriques qui ont permis de déterminer les différentes géométries des molécules (et de leurs conformères, lorsqu'il y en a) ainsi que le calcul des fréquences harmoniques de ces systèmes.

1.1 Molécules refroidies dans un jet supersonique

Les études des petites chaînes peptidiques et des porphyrines ont été réalisées sur deux montages expérimentaux très similaires et dont le principe de fonctionnement est identique. Les deux montages allient les techniques de jet supersonique pulsé permettant de refroidir les molécules, de désorption laser pour la mise en phase gazeuse des molécules, de spectroscopie reposant sur la technique d'ionisation Résonnante à deux Photons (IR2P) et de détection par spectrométrie de masse à temps de vol. Ce type de configuration expérimentale permet d'étudier différentes propriétés des molécules refroidies dès lors que leurs états électroniques sont accessibles par spectroscopie laser. Le premier montage, dit SBM (car présent dans l'équipe Structures BioMoléculaires), a été utilisé pour caractériser

les conformations de petites chaînes peptidiques flexibles [50] et mesurer la dynamique de leurs premiers états électroniques excités (singulets et triplets). Le second montage, appelé Edelweiss, a été utilisé pour l'étude de la dynamique du premier état tripdoublet (2T)¹ de deux porphyrines, Cu-tétraphényle porphyrine (CuTPP) et Cu-octaéthyle porphyrine (CuOEP), après excitation de leur état électronique S_1 .

Dans un premier temps, le principe d'un jet supersonique est introduit. Puis, les méthodes spectroscopiques utilisées dans ces deux montages expérimentaux, qui sont des variantes de l'Ionisation Résonnante à deux Photons (IR2P), sont expliquées. Un survol de ces techniques peut être trouvé dans ces références [3, 51, 52, 53, 54]. Ensuite, le principe général de fonctionnement des dispositifs expérimentaux est exposé suivi d'une description des différentes méthodes expérimentales employées. Enfin, les caractéristiques techniques de ces montages sont données.

1.1.1 Le jet supersonique

Les premiers jets supersoniques ont été mis au point en 1951 par Kantrowitz et Grey [55] et sont des outils très utilisés pour réaliser la spectroscopie de molécules et de complexes [56, 57]. Ils permettent en effet d'avoir une densité importante de gaz dans le jet (comparé à un jet effusif) tout en permettant aux systèmes étudiés (atomes, molécules) d'être isolés dans une zone quasiment sans collision, de refroidir efficacement le gaz et enfin d'obtenir une distribution de vitesse très fine. Très schématiquement, le principe d'un jet supersonique est de transférer l'enthalpie initiale du gaz en énergie cinétique translationnelle d'ensemble *via* les nombreuses collisions qui ont lieu au début de la détente [56]. Dans le cas des molécules, ces collisions permettent également de les refroidir vibrationnellement et rotationnellement. Bien que la notion de température soit très discutable pour une molécule isolée², il est courant d'avoir des températures vibrationnelles de l'ordre de 40 K et rotationnelles de l'ordre de 10 K dans un jet supersonique [58]. Dans ces gammes de températures, la congestion spectrale, qui caractérise les spectres moléculaires à la température ordinaire, n'est plus présente, ce qui conduit à une simplification drastique des spectres (d'absorption ou autres) et permet ainsi une interprétation plus simple.

Un jet supersonique est obtenu en détendant un gaz initialement à pression et température génératrices P_0 et T_0 , dans une enceinte sous vide à la pression P_1 . Cette détente se fait à travers une tuyère de diamètre D . Pour que le jet soit supersonique, la pression génératrice P_0 et la pression de l'enceinte P_1 doivent vérifier une condition qui dépend de la nature du gaz [57]. Par exemple, pour un gaz d'hélium, cette condition est : $P_0 > 2P_1$. La valeur de la pression résiduelle de l'enceinte est un paramètre important car elle influence la nature des interactions entre le gaz détendu et le gaz résiduel de l'enceinte [59, 60, 61].

1. Cette notation signifie que le spin total de la porphyrine métallique est un doublet et que le spin local des électrons du cycle de la porphyrine (sans le métal) est un état triplet.

2. Parler d'énergie serait plus correct.

Il est possible d'estimer les propriétés du jet (température, pression, densité, ...) à partir des paramètres du jet (P_0 , P_1 , D) et du coefficient adiabatique du gaz (rapport de ses capacités thermiques à pression et volume constant) [57].

Le refroidissement des molécules s'arrête lorsque la densité de molécules dans le jet n'est plus suffisante pour que les collisions se produisent. Le jet moléculaire est alors libre et les molécules refroidies sont isolées et évoluent dans un environnement presque sans collisions. Les conditions sont alors favorables pour réaliser la spectroscopie de ces molécules sur un montage expérimental tel que ceux présentés ici. La méthode spectroscopique utilisée dans le cadre de cette thèse est la spectroscopie d'ionisation résonnante à deux photons décrite ci-dessous.

1.1.2 Méthodes spectroscopiques IR2P

Le principe général de la technique d'ionisation Résonnante à deux Photons (IR2P) repose sur l'absorption de deux photons par le système considéré. Le premier photon permet d'exciter le système sur un état résonnant tandis que le second photon l'ionise depuis cet état. L'énergie du second photon est choisie afin d'ioniser efficacement la molécule depuis l'état résonnant.

Plusieurs variations de cette méthode peuvent être distinguées suivant les propriétés des photons et des impulsions employées. Ces différentes configurations permettent de mesurer des durées de vie ou divers spectres tels que les spectres d'absorption, d'action, etc. Les différentes variantes de la spectroscopie IR2P utilisées au cours de cette thèse sont présentées ci-dessous.

A - Ionisation Résonnante à deux Photons et à une Couleur (IR2P-1C)

La technique d'ionisation Résonnante à deux Photons et à une Couleur (IR2P-1C) correspond à la configuration où les deux photons proviennent d'une même impulsion laser. Cette méthode a été utilisée pour obtenir les spectres d'absorption UV des chaînes peptidiques présentés dans le Chapitre 2.

Plusieurs conditions sont nécessaires pour qu'un ion soit formé. D'abord, il faut que l'énergie du photon soit en résonance avec un état rovibronique de la molécule. Ensuite, il faut que l'énergie du second photon absorbé permette d'ioniser la molécule. En conséquence, l'énergie de l'état électronique résonnant doit être supérieure à la moitié de l'énergie d'ionisation. Ainsi, dès lors qu'un état électronique est excité, un signal d'ion peut être détecté (Figure 1.1). Les spectres d'absorption UV sont obtenus en balayant la longueur d'onde du laser UV.

Bien sûr, ce type de spectroscopie ne fonctionne que pour des molécules qui absorbent dans l'UV, ce qui implique qu'elles aient un chromophore UV (groupe fonctionnel phényle par exemple). Il est également nécessaire que la durée de vie de l'état électronique sondé soit suffisamment grande (≥ 100 ps) pour permettre à la molécule d'absorber le deuxième photon avant de se désexciter. Enfin, l'interprétation des spectres repose sur l'hypothèse

d'une efficacité d'ionisation indépendante de la conformation de la molécule et de l'état rovibronique sondé. Cette hypothèse est relativement raisonnable si les photons utilisés permettent d'ioniser la molécule bien au delà de l'énergie d'ionisation, c'est-à-dire dans une gamme d'énergie où la section efficace d'ionisation évolue peu.

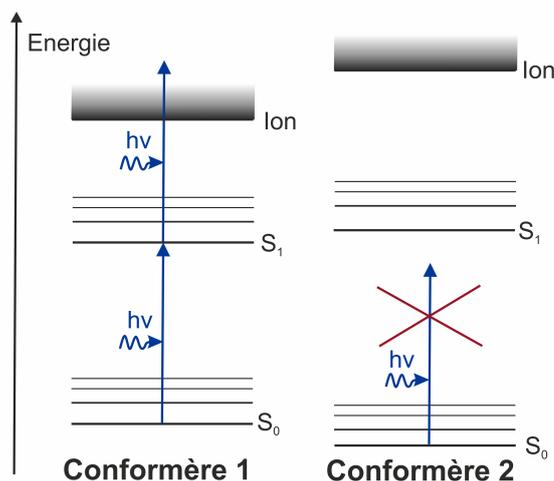


FIGURE 1.1 – Schéma du principe de la méthode d'IR2P-1C. Un signal d'ion est détecté dès lors que la longueur d'onde du laser UV est en résonance avec la transition vibronique $S_1 \leftarrow S_0$ d'un conformère. Dans ce cas, la molécule absorbe deux photons permettant son excitation puis l'ionisation depuis cet état (gauche). Les différents conformères n'absorbant pas à la même longueur d'onde, cette technique permet la sélection en conformation (droite).

Dans le cas des peptides étudiés, le chromophore UV est un groupement phényle dont la bande origine de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ se situe autour de 266 nm. Cependant, l'environnement du chromophore perturbe les états électroniques des molécules et peut décaler spectralement cette transition. Par ailleurs, comme un même peptide peut présenter différentes conformations, changeant l'environnement proche du chromophore, les différents conformères n'absorbent pas à la même longueur d'onde. La technique d'IR2P-1C permet donc d'obtenir des spectres de transitions électroniques qui contiennent les signatures des différents conformères d'une même espèce. Un refroidissement suffisant des espèces est primordiale afin de limiter la congestion spectrale et ainsi d'obtenir des signatures électroniques séparées spectralement.

Cette technique couplée à de la spectroscopie de masse à temps de vol permet par la suite de pouvoir être sélectif à la fois en masse et en conformation. La sélectivité en conformation dans les techniques présentées dans la suite, est assurée par la longueur d'onde du laser UV, choisie pour n'être en résonance qu'avec une seule conformation. Ainsi, les différents conformères peuvent être étudiés séparément, permettant de mettre en avant des effets dus aux différentes structures.

B - Double résonance IR/UV

La spectroscopie par double résonance IR/UV permet d'enregistrer les spectres vibrationnels de l'état électronique fondamental des molécules étudiées, en tirant parti de la sélectivité en conformation apportée par la méthode IR2P-1C. Cette méthode permet ainsi d'enregistrer les signatures vibrationnelles de l'état fondamental d'un conformère particulier. Cette technique a été utilisée pour enregistrer les spectres IR des chaînes peptidiques composées du résidu phénylalanine présentés dans le Chapitre 3.

Cette méthode est une méthode de type pompe-sonde, utilisant un laser IR (pompe) et un laser UV (sonde). La longueur d'onde du laser IR est balayée autour de la transition vibrationnelle étudiée. L'énergie des photons du laser de sonde UV est fixe et est égale à l'énergie d'une transition électronique du conformère sélectionné. L'absorption des photons UV par la conformation sélectionnée permet d'obtenir un signal IR2P-1C constant en l'absence du laser IR. Le laser IR est envoyé en premier, suivi du laser UV. Le recouvrement spatial des deux taches lasers est nécessaire.

Lorsque l'énergie des photons IR est en résonance avec une transition vibrationnelle de l'état fondamental d'un conformère, la molécule est excitée et l'état fondamental S_0 se dépeuple. Ainsi, lorsque les photons UV illuminent ensuite les molécules excitées, l'absorption des photons UV par ces dernières n'est plus possible. Le signal d'ion IR2P-1C diminue alors, en conséquence de la dépopulation de l'état fondamental causée par l'absorption d'un photon du laser IR. A l'inverse, lorsque l'énergie des photons IR n'est pas en résonance avec une transition vibrationnelle du conformère, le signal IR2P-1C reste constant. Ainsi, la mesure du spectre IR est réalisée en suivant la déplétion du signal IR2P-1C en fonction de la longueur d'onde du laser IR. La Figure 1.2 illustre le principe de cette méthode.

Il est possible que le rayonnement IR excite vibrationnellement un autre conformère. Cependant, cette excitation ne sera pas responsable de la déplétion du signal IR2P-1C puisque l'énergie du photon UV ne permet d'exciter électroniquement qu'un conformère particulier. Ainsi, le spectre IR mesuré correspond à la signature vibrationnelle d'un seul conformère sectionné par le choix de longueur d'onde du laser UV.

C - Ionisation résonnante à deux photons et à deux couleurs IR2P-2C

La méthode d'ionisation résonnante à deux photons et à deux couleurs (IR2P-2C) repose sur le même principe que l'IR2P-1C. Cependant, les deux photons absorbés proviennent de deux impulsions lasers différentes. Cette technique permet notamment de pouvoir appliquer un délai temporel Δt entre les deux impulsions lasers. Il s'agit d'une technique pompe-sonde dont le principe est illustré sur la Figure 1.3. Cette technique a été utilisée pour deux types de mesure : l'acquisition des spectres d'action³ des molécules

3. La spectroscopie d'action consiste à sonder l'effet d'un laser sur un système. Par exemple, l'effet sondé peut-être le passage sur un autre état quantique, la formation de fragment ou bien le déclenchement d'une réaction chimique. Un spectre d'action est obtenu en suivant le produit issu de l'interaction entre

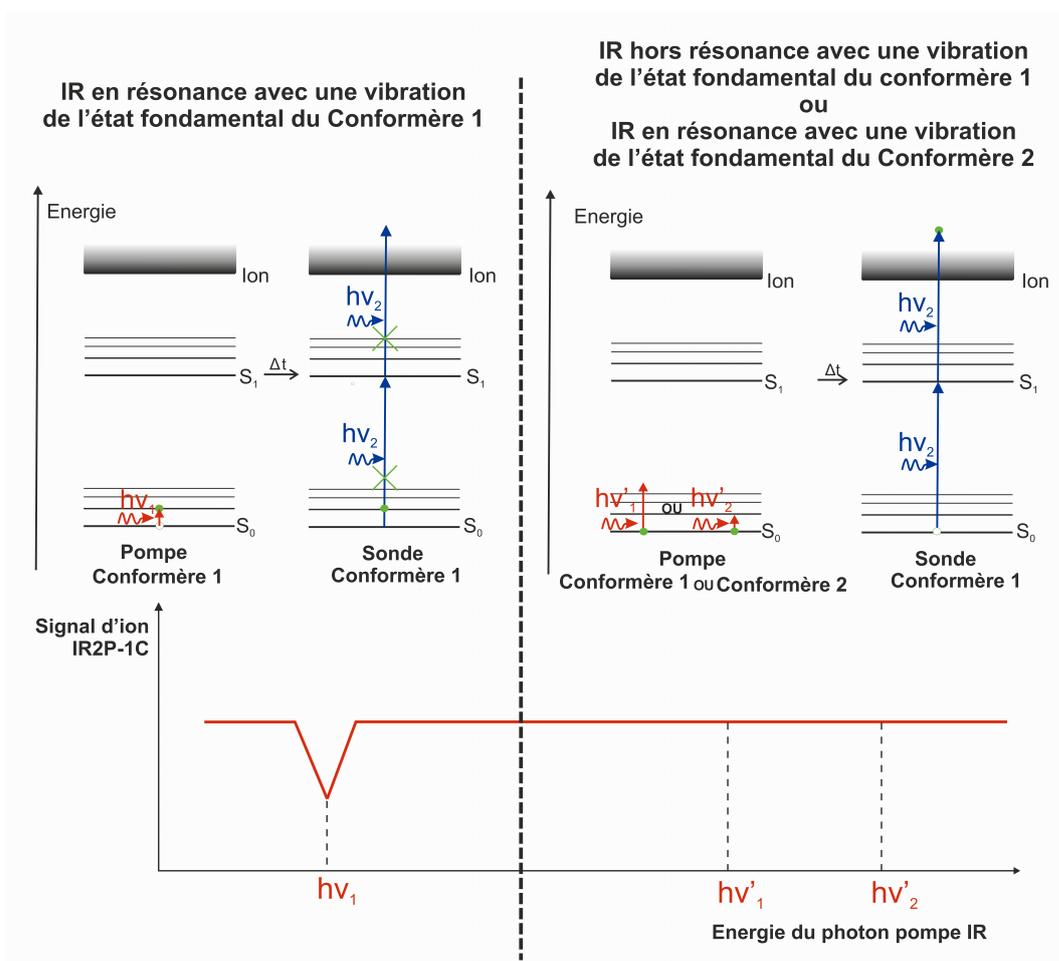


FIGURE 1.2 – Schéma du principe de la méthode de la double résonance IR/UV. Pour un conformère sélectionné (partie de gauche), si les photons IR sont en résonance avec un état vibrationnel de son état électronique fondamental, celui-ci se dépeuple conduisant à une diminution du signal dû à l'interaction entre le conformère sélectionné et les photons UV (signal IR2P-1C). Si les photons IR sont en résonance avec un autre conformère, le signal IR2P-1C reste constant (partie de droite).

CuTPP et CuOEP (Chapitre 4) et la mesure des durées de vie d'états électroniques de ces deux molécules (Chapitre 4) ainsi que celles des chaînes peptidiques (Chapitres 2 et 3).

Spectroscopie d'action³ Une des limitations majeures de la méthode d'IR2P-1C est la durée de vie de l'état électronique sondé. Si elle est trop courte (typiquement <100 ps), la molécule excitée n'a pas le temps d'absorber un deuxième photon pour être ionisée. L'utilisation de l'IR2P-2C peut permettre de contrer cette difficulté si l'état initialement excité se désexcite sur un état de durée de vie plus grande, adaptée à l'échelle de temps de la mesure.

le système et le laser en fonction de la longueur d'onde de ce dernier.

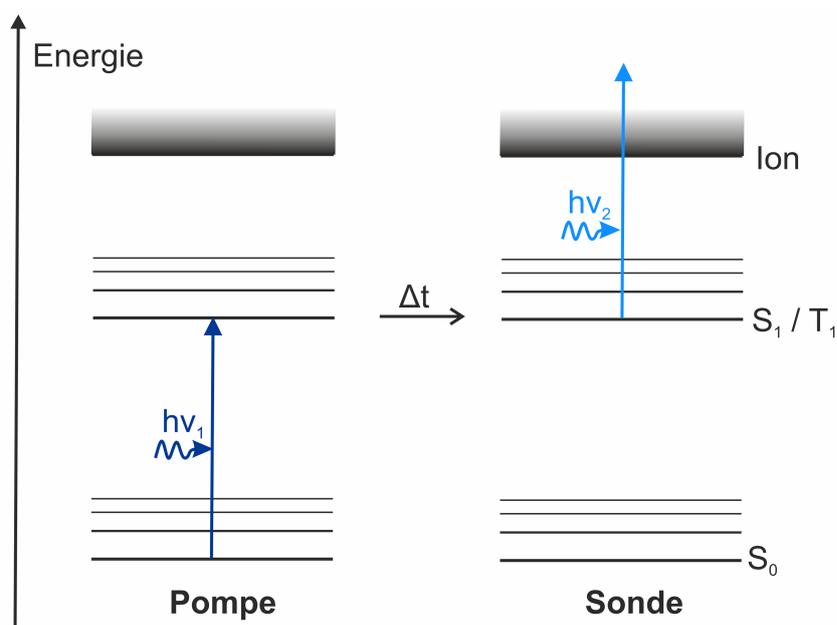


FIGURE 1.3 – Schéma du principe de la méthode d'IR2P-2C, appliqué aux systèmes étudiés. Le laser de pompe permet d'exciter la molécule sur le premier état singulet. Puis, le laser de sonde, envoyé après un délai Δt après le laser de pompe, ionise la molécule soit depuis l'état singulet, soit depuis l'état triplet. Dans le cas de la spectroscopie d'action, la longueur d'onde du laser de pompe est balayée et le délai est fixe. Dans le cas des mesures de durée de vie, la longueur d'onde du laser de pompe est fixe tandis que le délai temporel varie.

Dans le cas de l'acquisition des spectres d'action de CuTPP et CuOEP, l'état électronique excité par le laser de pompe est l'état $S_1(\pi\pi^*)$. Cependant, cet état a une durée de vie de quelques fs [48, 49], qui est très courte comparé à l'échelle de temps des mesures (ns). De ce fait, l'impulsion sonde n'a pas le temps d'ioniser l'état S_1 avant que celui-ci ne se désexcite. Dans le cas de CuTPP et CuOEP, l'état S_1 se relaxe vers un état 2T via un état intermédiaire de transfert de charge. L'état 2T est formé en moins de quelques picosecondes [48, 49] et a de plus une durée de vie supérieure à la nanoseconde [48, 62]. Ainsi, sonder l'état tripdoublet 2T par ionisation permet de sonder l'absorption de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ via la spectroscopie d'action. Il s'agit de la *spectroscopie d'action triplet*.

Dans ce type de mesure, la longueur d'onde du laser de pompe est balayée dans la région de la transition étudiée, $S_1 \leftarrow S_0$, tandis que les photons du laser de sonde ont une énergie fixe suffisante pour ioniser efficacement la molécule depuis l'état intermédiaire, 2T . Un délai fixe de quelques nanosecondes est appliqué entre les deux impulsions laser qui se recouvrent spatialement.

Mesure des durées de vie des états électroniques excités Mesurer la durée de vie d'un état électronique excité revient à suivre l'évolution de la population de cet état en fonction du temps. Dans le cadre de cette thèse, cela a été réalisé par des mesures

de spectroscopie IR2P-2C. Un délai variable est appliqué entre les deux impulsions de pompe et de sonde. Ce délai permet de sonder, à des temps différents, l'évolution de la population de molécules excitées par le photon pompe. La durée de vie est ensuite déduite par un modèle qui permet d'ajuster l'évolution du signal détecté par la sonde en fonction du délai.

Dans le cas de l'étude de la dynamique des états triplets des petites chaînes peptidiques (Chapitre 3) et de l'état tripdoublet de CuTPP et CuOEP (Chapitre 4), l'énergie du laser de pompe permet d'exciter le premier état singulet S_1 qui se relaxe ensuite. Cette relaxation vers d'autres états (via les processus de croisement intersystème ou de conversion interne) de plus basse énergie peut poser un problème. En effet, il faut que l'énergie des photons de sonde soit suffisamment élevée pour ioniser ces états formés indirectement. Le choix de la longueur d'onde du laser de sonde est donc un point critique. Lorsque seule la dynamique de l'état initialement excité est voulue, comme dans le Chapitre 2, il est nécessaire de choisir une longueur d'onde du laser de sonde ne permettant pas d'ioniser les autres états.

L'énergie des impulsions laser est également un point critique. Il est nécessaire qu'elle soit atténuée pour limiter les processus d'IR2P-1C, notamment celui dû à la sonde seule, tout en ayant un bon rapport signal-sur-bruit. La contribution de ces processus multiphotoniques est néanmoins soustraite aux différents spectres enregistrés pour ne garder que le signal issu de l'interaction laser de sonde/laser de pompe. Enfin, il est nécessaire que les deux impulsions laser illuminent les mêmes molécules. Cette condition peut être délicate à réaliser en jet moléculaire lorsque le délai entre les deux impulsions est important. Il est alors nécessaire de décaler spatialement le pointé des deux lasers afin que la bouffée de gaz illuminée soit la même car les molécules sont mobiles le long du jet. Cette exigence peut affecter la mesure de la durée de vie.

Il est important de noter que le refroidissement des molécules est primordial pour ces différentes techniques de spectroscopie. En effet, si les molécules sont chaudes, de larges bandes spectroscopiques UV sont observées, ne permettant plus d'être sélectif en conformation qui est un avantage majeur de ces techniques. Le refroidissement des molécules, réalisé dans une détente supersonique avec un gaz porteur est explicité dans la partie suivante traitant du principe général des montages expérimentaux.

1.1.3 Description des montages expérimentaux SBM et Edelweiss

Afin de réaliser les différentes mesures spectroscopiques des chaînes peptidiques et des porphyrines, deux montages expérimentaux différents, mais présentant de nombreuses similitudes, ont été utilisés. Le montage *SBM* a permis l'étude de petits peptides. Le montage *Edelweiss* a été utilisé pour l'étude de deux porphyrines de cuivre. Dans un premier temps, le principe général de ces montages est donné. Puis les particularités des deux montages sont exposées.

A - Principe général de fonctionnement

Ces deux montages expérimentaux sont constitués de deux enceintes pompées par un ensemble de pompes turbo-moléculaires et primaires. Dans la première enceinte, la mise en phase gazeuse des systèmes et leur refroidissement dans une expansion supersonique y sont réalisés tandis que, la seconde enceinte sert à la caractérisation spectroscopique de ces systèmes et comporte un spectromètre de masse à temps de vol. Un vide de l'ordre de 10^{-6} mbar (10^{-5} mbar en présence du jet) est obtenu dans l'enceinte de détente alors qu'il est de l'ordre de 10^{-7} mbar (10^{-6} mbar en présence du jet) dans le spectromètre de masse.

Le principe de fonctionnement des deux montages expérimentaux peut être décomposé en trois étapes principales. Dans un premier temps, un mélange gaz porteur-molécules d'intérêt, mises en phase gazeuse par désorption laser, est refroidi dans une détente supersonique pulsée. Un faisceau moléculaire est ensuite extrait du jet *via* un écorceur et les molécules d'intérêt entrent dans la zone d'interaction du spectromètre de masse où des lasers interagissent avec les molécules. Cette étape permet leur excitation et leur ionisation suivant une des méthodes décrites précédemment 1.1.2. Les ions créés sont ensuite accélérés et collectés sur le détecteur du spectromètre de masse à temps de vol. Le signal correspondant est finalement numérisé et traité (moyennage notamment) par un oscilloscope numérique rapide. L'ensemble fonctionne en régime pulsé et les synchronisations sont réalisées par des générateurs d'impulsions. La Figure 1.4 présente le principe général des montages.

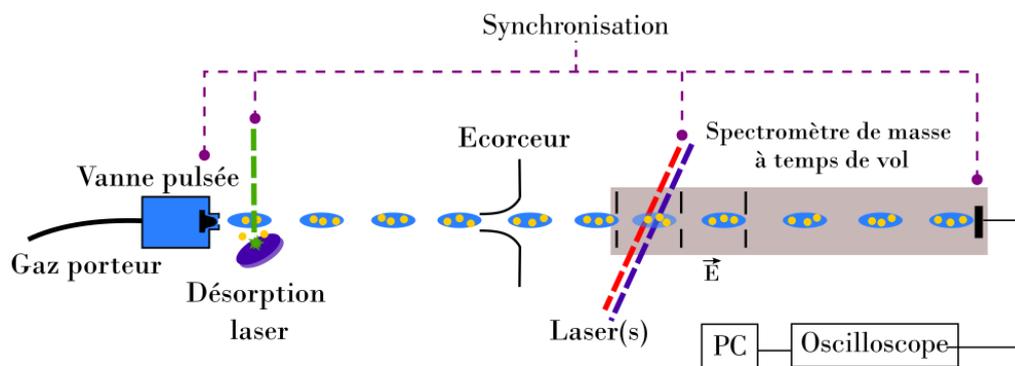


FIGURE 1.4 – Schéma du principe général de fonctionnement des deux montages expérimentaux SBM et Edelweiss.

B - Mise en phase gazeuse des petits peptides

La mise en phase gazeuse de molécules d'intérêt biologique est un véritable challenge car il est nécessaire que la méthode employée n'abîme pas les molécules. Par ailleurs, il faut que la densité de molécules neutres évaporées soit suffisamment importante de manière à pouvoir facilement détecter les ions formés.

La mise en phase gazeuse de ce type de molécules est réalisée par *désorption laser* [63, 64]. Cette technique consiste à focaliser un laser pulsé sur une tablette solide, placée juste après la sortie de la tuyère. Cette dernière est un mélange de la molécule étudiée (sous la forme d'une poudre fine) et d'une matrice constituée d'un matériau absorbant les photons. L'énergie lumineuse absorbée provoque un chauffage rapide de la matrice et les molécules sont alors sublimées. L'énergie par impulsion de laser de désorption permet de contrôler la quantité de molécules volatilisées.

Lors de la désorption laser, il est possible que des fragments neutres de la molécule se forment. Cependant les techniques de spectroscopie et de détection utilisées, notamment la spectrométrie de masse, permettent de ne sélectionner que le signal provenant des molécules d'intérêt.

Divers problèmes peuvent survenir si le laser de désorption illumine toujours la même surface. Ainsi, des mécanismes de translation et/ou de rotation de la tablette sont utilisés afin de changer continuellement la surface éclairée et maximiser la surface de la tablette utilisée. Ces mécanismes permettent de limiter la dégradation de la tablette dans le temps en répartissant son usure sur la plus grande surface possible. Ces précautions d'utilisation de la tablette ont pour objectif de sublimer une quantité de molécules la plus stable possible au cours des différentes acquisitions [62, 65].

Bien sûr, les molécules désorbées sont chaudes. Dans le cas des chaînes peptidiques, qui sont des systèmes flexibles, l'énergie emmagasinée lors du processus de désorption leur permet de parcourir un très large paysage conformationnel (Figure 1.5). Il est alors nécessaire de refroidir ces molécules afin de les piéger dans des minima locaux de leur surface de potentiel et ainsi d'isoler les structures les plus stables. Cela permet également de refroidir le plus possible les degrés de liberté vibrationnels et rotationnels de la molécule. Cette étape est importante pour l'obtention des signatures électroniques résolues et par conséquent, des signatures vibrationnelles attribuables à des conformères spécifiques. C'est la raison pour laquelle, une fois désorbées, les molécules sont refroidies dans une détente supersonique.

C - Refroidissement des molécules dans une détente supersonique

L'utilisation d'une vanne pulsée permet de générer le jet supersonique dans l'enceinte de détente. Un gaz porteur de quelques bars et à température ambiante alimente cette vanne. La tablette de désorption et son mécanisme de déplacement sont placés à la sortie de la tuyère du jet. Une fois les molécules d'intérêt sublimées, elles sont entraînées par une bouffée du gaz porteur libérée par la vanne pulsée. En sortie de tuyère, le mélange gazeux se détend provoquant des collisions entre le gaz porteur et les molécules ce qui les refroidit. Le faisceau moléculaire est ensuite extrait par un écorceur pour entrer dans la zone d'ionisation du spectromètre de masse dans laquelle a lieu l'interaction avec les lasers.

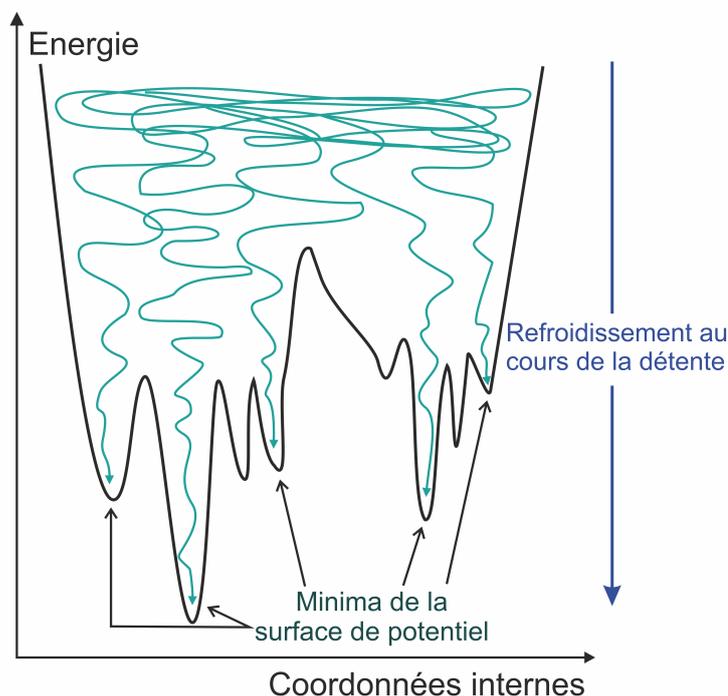


FIGURE 1.5 – Après leur vaporisation, les molécules sont chaudes. Cette énergie a pour conséquence que l'isomérisation entre les différents conformères est permise. Ainsi, en début de détente, un très large paysage conformationnel est peuplé, correspondant à un équilibre à haute température. Le refroidissement au cours de la détente supersonique, *via* les collisions, permet qu'à la fin de la détente, seuls les fonds de puits de potentiel soient peuplés et ainsi ne peuvent se former que les structures les plus stables à basse température. Le refroidissement permet ainsi d'obtenir des bandes spectroscopiques résolues.

D - Interaction avec les lasers : excitation et ionisation

Les molécules refroidies interagissent ensuite avec différents lasers dans la zone d'extraction du spectromètre de masse. Suivant le type de spectroscopie réalisé, un ou des lasers croisent le faisceau moléculaire perpendiculairement. Tous les lasers utilisés dans ce travail sont des lasers fonctionnant en régime pulsé nanoseconde. Les lasers permettent d'exciter et d'ioniser les molécules (technique IR2P). Les ions formés sont par la suite détectés par spectrométrie de masse à temps de vol.

E - Spectroscopie de masse à temps de vol

La spectrométrie de masse à temps de vol [57, 66, 67] est une technique qui consiste à accélérer des ions avec un champ électrique connu, puis à les laisser évoluer librement jusqu'à la détection. Cette technique repose sur le fait que des ions de même charge q mais de masse m différente, accélérés par un même champ électrique, ne mettent pas le même temps pour arriver sur le détecteur. Le temps de vol des ions est proportionnel à la racine

1.1. MOLÉCULES REFROIDIES DANS UN JET SUPERSONIQUE

carrée du rapport masse sur charge ($t \propto \sqrt{\frac{m}{q}}$). Ainsi, il est possible d'enregistrer des spectres de masse, où le signal des ions détectés est visualisé en fonction de leur temps de vol. Pour les mesures spectroscopiques IR2P, il suffit de suivre le signal correspondant au temps de vol de la molécule étudiée en fonction d'un paramètre (longueur d'onde, délai) de la chaîne laser. Cette étape permet la sélectivité en masse.

Le principe général, sur lequel le fonctionnement d'un spectromètre à temps de vol repose, peut être découpé en trois étapes :

1. la génération et l'extraction des ions,
2. l'accélération des ions par un champ électrique connu,
3. un temps de vol libre, durant lequel les ions parcourent une distance connue et sans champ électrique, avant d'être détectés.

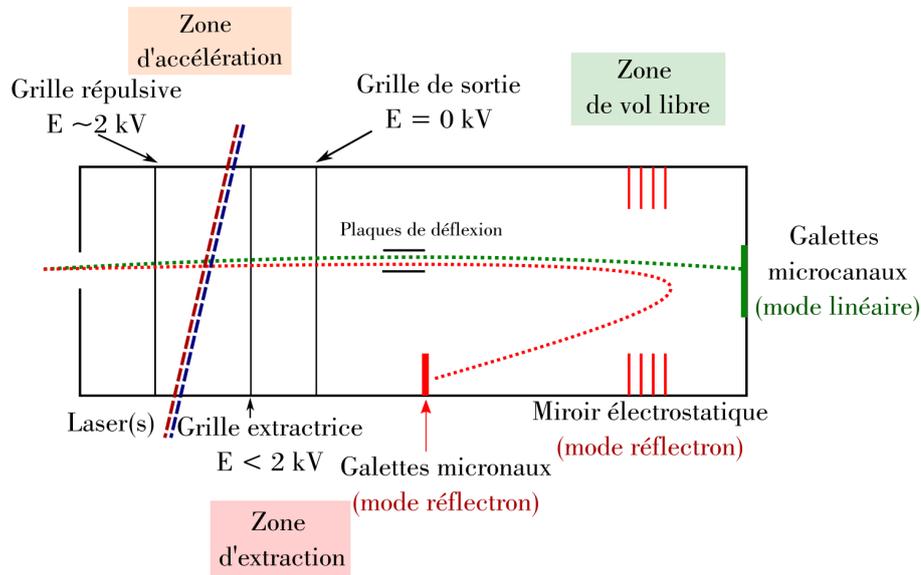


FIGURE 1.6 – Principe d'un spectromètre de masse à temps de vol muni d'un miroir électrostatique. La trajectoire des ions en mode linéaire est représentée en vert alors que celle en mode réflectron est en rouge.

Dans ces études, les spectromètres de masse utilisés possèdent en plus un miroir électrostatique permettant de freiner les ions puis les réaccélérer avant leur détection. L'utilisation du miroir électrostatique peut être, ou non, activée. Si le miroir électrostatique est utilisé, le spectromètre de masse fonctionne en mode réflectron. Si ce n'est pas le cas, il s'agit du mode linéaire. Le schéma 1.6 illustre le fonctionnement des spectromètres de masse utilisés. Le trajet des ions dans ces spectromètres à temps de vol est le suivant :

1. *Zone d'extraction* : Un ou des lasers permettent d'exciter et d'ioniser les molécules d'intérêt suivant la méthode IR2P dans la zone d'extraction. Cette zone est délimitée par deux grilles montées sur des électrodes, l'une répulsive et l'autre extractrice.

Une haute tension positive de 2 kV est appliquée sur la grille répulsive ainsi qu'une tension intermédiaire sur la grille extractrice de manière à créer un champ électrique extracteur de quelques centaines de V/m. Les ions formés sont alors extraits de cette zone et entrent dans la zone d'accélération.

2. *Zone d'accélération* : Cette zone est délimitée par l'électrode extractrice et par une électrode de sortie mise à la masse. Les ions subissent alors une accélération très importante par le champ électrique créé par la différence de potentiel des deux électrodes.
3. *Zone de vol libre* : La trajectoire des ions est ensuite contrôlée par la présence de plaques de déflexion. Dans le mode linéaire, les ions sont défléchis pour atteindre directement le détecteur situé à l'arrière du miroir électrostatique ; ce dernier étant à la masse. Une focalisation des ions, c'est-à-dire, une arrivée simultanée sur le détecteur des ions de même rapport $\frac{m}{z}$, malgré des dispersions initiales en position, est obtenue en ajustant les champs électriques de façon à obéir aux relations de focalisation classiques dites de Wiley-McLaren [66]. Dans le mode réflectron, le miroir électrostatique, qui comporte deux zones (une, restreinte spatialement où les ions sont freinés et une, beaucoup plus longue, où les ions rebroussement chemin) est polarisé de manière à réfléchir les ions. La motivation de ce miroir est essentiellement d'allonger le temps de parcours et, ce faisant, d'augmenter la résolution en masse. Les ions réfléchis rencontrent ensuite le détecteur. Ce mode de fonctionnement présente aussi l'avantage de corriger la dispersion initiale des ions en position, donc en énergie initiale, moyennant un réglage fin des paramètres électriques du miroir (conditions de focalisation dites de Mamyrin [68]).

L'avantage majeur d'allier la spectroscopie de masse à temps de vol à la spectroscopie IR2P est de pouvoir réaliser la spectroscopie d'une espèce donnée sans que les polluants de l'enceinte, ou des fragments issus de la désorption laser et/ou de l'interaction avec les lasers, ne perturbent les spectres. Cela n'est possible qu'à condition d'avoir des rapports $\frac{m}{q}$ différents pour ces constituants et celui de l'espèce sondée. De plus, la combinaison de ces techniques permet la sélectivité en conformation ce qui est un véritable atout pour l'étude des chaînes peptidiques et leurs différentes conformations.

F - Synchronisation des instruments

Tous les instruments fonctionnent en régime pulsé. Il est donc nécessaire de contrôler le déclenchement de chaque instrument et de les synchroniser. Pour cela, un générateur de fréquence est utilisé pour contrôler les délais suivants :

- le délai entre l'ouverture de la vanne libérant le gaz porteur et le déclenchement du laser de désorption. Ce délai permet de contrôler l'ensemencement des molécules dans la bouffée de gaz et donc de contrôler le refroidissement des molécules.

- le délai entre le laser de désorption et le laser UV (pour l'IR2P-1C) ou le laser de pompe (pour les méthodes dites de pompe sonde). Dans les deux cas, ce délai dépend du temps que met le faisceau moléculaire pour arriver dans la zone d'extraction du spectromètre de masse. Le temps de parcours dépend de la nature du gaz porteur.
- le délai entre le laser de pompe et le laser de sonde pour les méthodes dites de pompe sonde. Le laser de pompe doit arriver avant le laser de sonde. Ce délai est fixe pour la spectroscopie d'action triplet (IR2P-2C) et de double ionisation IR/UV. Le délai est variable pour les mesures des durées de vie.

La synchronisation est donc un réglage critique puisque les molécules désorbées doivent êtreensemencées au bon moment dans l'impulsion de gaz pour un bon refroidissement et les lasers doivent illuminer le nuage de gaz après qu'il a voyagé dans la première enceinte.

G - L'acquisition

Le signal issu du détecteur du spectromètre de masse est envoyé sur un oscilloscope numérique. L'oscilloscope permet de visualiser les spectres de masse, qui correspondent au signal d'ion en fonction de leur temps de vol. Lors d'une acquisition, l'oscilloscope moyenne le signal sur un nombre de tirs laser défini, ce qui permet d'augmenter le rapport signal-sur-bruit. Le moyennage du signal est réalisé automatiquement pour chaque longueur d'onde ou chaque incrémentation du délai temporel pour les mesures de durée de vie. Le signal moyenné est ensuite transmis à l'ordinateur d'acquisition.

Le logiciel d'acquisition intègre sur des intervalles de temps de vol définis, le spectre moyenné issu de l'oscilloscope. Les intervalles de temps sont définis par l'opérateur et correspondent aux temps de vol des ions étudiés (l'ion parent de la molécule pour toutes les études présentées). Les données sont ensuite traitées soit directement par le logiciel, soit manuellement suivant la nature des mesures réalisées.

Après avoir détaillé le principe général des deux montages expérimentaux en jet pulsé, une description des caractéristiques particulières de chaque dispositif est donnée.

1.1.4 Particularités du montage SBM

Ce montage expérimental, décrit en détail dans l'article [50], a été utilisé pour l'étude des chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine (Chapitres 2 et 3) par les méthodes spectroscopiques d'IR2P-1C, de double ionisation IR/UV et des mesures de durée de vie par IR2P-2C. Le principe général du montage est décrit dans la section précédente. Les particularités expérimentales de ce montage sont décrites ci-dessous.

A - Désorption laser

Les tablettes utilisées dans ce montage sont composées d'un mélange de graphite et de la molécule étudiée. Le rapport d'abondance des deux composés est de 4 moles de graphite pour 1 mole de molécules. Le mélange est ensuite pressé par une presse hydraulique (1,5 à 2 tonnes) et forme une pastille cylindrique de 6 mm de diamètre pour 2 mm d'épaisseur.

Le laser de désorption est un laser pulsé Nd :YAG (Continuum Minilite) doublé ($\lambda = 532$ nm) avec une fréquence de répétition de 10 Hz. Les impulsions durent quelques nanosecondes. L'énergie lumineuse des impulsions utilisées varie de 250 μ J à 2 mJ. Les photons sont amenés jusqu'à la pastille par une fibre optique en verre. Le laser est dirigé perpendiculairement à la surface de la pastille. Il permet de chauffer localement une zone de moins de 1 mm² à la surface de la tablette [65].

B - Génération du jet supersonique

Pour générer le jet supersonique, un mélange d'hélium-néon (70-30 %), à pression $P_0 = 18$ bars et à température ambiante, est détendu à travers une tuyère de 1 mm de diamètre. La vanne pulsée (General Valve) fonctionne à 10 Hz. La tablette, qui est fixée à un système de translation horizontal [65], est placée de façon à ce que la surface irradiée par le laser de désorption soit située assez proche du milieu de l'orifice de la tuyère, typiquement à un demi-rayon du centre. Le choix d'une telle configuration, dont on pourrait penser qu'elle soit potentiellement dommageable au jet, assure aussi (et surtout) une bonne interaction entre les molécules désorbées et le gaz porteur, optimisant ainsi les collisions et le refroidissement moléculaire.

Dans le Chapitre 3, des molécules de la famille des alkylbenzènes ont également été étudiées. A température ambiante et pression atmosphérique, ces molécules sont liquides. Un cylindre contenant quelques gouttes du produit a été placé sur la ligne d'injection du gaz porteur, de sorte à ce que lorsque la vanne s'ouvre, le gaz porteur entraîne avec lui les molécules. Pour l'étude des alkylbenzènes, une pression génératrice du gaz de 4 bars a été utilisée.

Le jet moléculaire refroidi est ensuite extrait du jet supersonique par un écorceur de 2 mm de diamètre et pénètre dans la zone d'extraction du spectromètre de masse à temps de vol.

C - Description des lasers utilisés

L'ensemble des lasers fonctionne à une fréquence de 10 Hz. Les mesures d'IR2P-1C ont été réalisées avec un laser à colorant dont la longueur d'onde est accordable. Le colorant utilisé pour les mesures est la Coumarine 540A permettant d'émettre autour de 532 nm. Ce rayonnement laser est ensuite doublé en fréquence dans un cristal non-linéaire permettant d'obtenir un rayonnement UV vers 266 nm. Les impulsions laser produites ont une durée

de 10 ns, une largeur spectrale de $0,2 \text{ cm}^{-1}$ et une énergie par impulsion de $500 \mu\text{J}$ à 270 nm . L'accordabilité en longueur d'onde est réalisée grâce à un réseau dans la cavité laser qui est contrôlé par un contrôleur numérique. Ce laser est initialement pompé par un laser Nd :YAG triplé en fréquence avec une puissance utilisée variant de 100 à 130 mJ.

Les mesures de double résonance IR/UV sont obtenues par l'association du laser UV décrit précédemment et d'un laser IR OPO/OPA (Oscillateur Paramétrique Optique / Amplificateur Oscillateur Paramétrique) accordable entre 3000 et 4500 cm^{-1} . Le laser IR est également pompé par le fondamental d'un Nd :YAG (1064 nm).

Pour les mesures de durées de vie, le laser de pompe utilisé est le laser UV décrit précédemment. Pour les mesures de durée de vie des états singulets, un second laser à colorant est utilisé avec la Coumarine 520A permettant d'émettre autour de 530 nm . Ce laser à colorant est également pompé par un second laser Nd :YAG triplé. Pour les mesures de durées de vie des états triplets, un laser à excimère ArF est utilisé. Ce laser émet à une longueur d'onde de 193 nm et l'énergie par pulse est d'environ $1,2 \text{ mJ}$.

D - Parcours optique

Pour les mesures d'IR2P-1C, le rayon UV du laser à colorant doublé est amené par un système de prismes jusqu'à l'entrée de la première enceinte. Le laser est modérément focalisé dans la zone d'extraction du spectromètre de masse à temps de vol par une lentille de 1 m de focale.

Pour les mesures de double résonance IR/UV, le faisceau laser IR est également focalisé dans la zone d'extraction par une lentille de 1 m de focale. Pour de telles mesures, il est nécessaire que le laser UV croise deux fois le jet moléculaire afin d'avoir un signal de référence. Pour cela, un prisme est placé à la sortie de l'enceinte permettant de renvoyer le laser UV sur le jet (Figure 1.7). Le laser IR est aligné sur un seul passage du laser UV. Une telle disposition, décrite en [50], permet d'enregistrer deux signaux : un signal de référence où seul le laser UV interagit avec les molécules (signal IR2P-1C) et un signal où les deux lasers interagissent avec les molécules du jet, permettant d'enregistrer les spectres IR. Le signal de référence permet de compenser les différentes fluctuations (désorption laser, intensité du laser UV, etc.) en l'utilisant pour normaliser le signal obtenu par double résonance IR/UV. Par ailleurs, un lambda-mètre placé dans la chaîne laser IR permet une lecture instantanée de la longueur d'onde IR lors d'une acquisition.

Pour les mesures de durée de vie, les lasers de pompe et de sonde sont alignés afin de se recouvrir spatialement au délai $\Delta t = 0$. Ils sont injectés du même côté de l'enceinte en croisant perpendiculairement qu'une seule fois le jet moléculaire. Dans le cas des mesures réalisées avec le second laser à colorant, celui-ci est focalisé avec une lentille. Le laser à excimère n'est pas focalisé pour éviter de détériorer les fenêtres d'entrée et de sortie de l'enceinte. Dans les deux cas, la tache du laser de sonde est choisie la plus large possible et la tache du laser pompe est diaphragmée afin de sonder la plage temporelle la plus grande possible sans à avoir besoin de changer l'alignement spatial en cours de mesure.

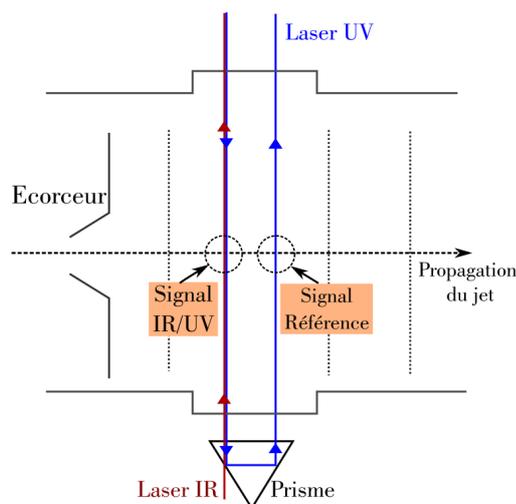


FIGURE 1.7 – Injection des lasers IR et UV dans le cas des mesures de double résonance IR/UV. Deux paquets d'ions sont formés à deux endroits différents du jet afin d'avoir un signal de référence pour corriger les fluctuations qui peuvent survenir au cours d'une mesure.

E - Spectromètre de masse à temps de vol

Le spectromètre de masse utilisé pour ce montage fonctionne en mode réflectron. Le spectromètre de masse permet de détecter des ions avec un rapport $\frac{m}{q}$ allant jusqu'à 500, avec une séparation des ions $\frac{m}{q}$ d'environ 1 u.m.a. Le spectromètre de masse est en général accordé sur les conditions de focalisation de Mamyrin. [67]. Cependant, pour les études réalisées par double résonance IR/UV, les tensions sont choisies pour être en dehors de ces conditions. En effet, pour ce type de spectroscopie, deux paquets d'ions identiques sont formés à deux endroits distincts dans la zone d'extraction. Il est nécessaire que ces deux paquets d'ions arrivent sur le détecteur à des temps différents.

F - Oscilloscope et logiciel d'acquisition

Le signal brut issu du spectromètre de masse est envoyé sur un oscilloscope numérique. Le signal est moyenné sur 50 à 1000 tirs laser, suivant le type d'étude, avant d'être transmis à l'ordinateur d'acquisition.

Le logiciel d'acquisition a été écrit en langage Labview [69]. Il permet de traiter les données issues de l'oscilloscope, d'enregistrer et tracer les différents spectres IR et UV. Le logiciel permet également de contrôler le changement en longueur d'onde des lasers IR et UV. Pour les spectres UV et IR, le logiciel intègre les signaux d'ions correspondant à des intervalles de temps de vol définis par l'utilisateur. Ces intervalles correspondent au signal d'ions du système étudié. Pour le cas de la spectroscopie double résonance IR/UV, deux paquets d'ions sont définis : les ions issus de l'interaction avec les lasers IR et UV et

les ions issus de l'interaction avec le laser UV seul. Un intervalle correspondant à la ligne de base est également défini pour tous les types de mesure. Pour chaque longueur d'onde, le logiciel enregistre les différents signaux ainsi définis. L'analyse des spectres consiste ensuite à soustraire la ligne de base et dans le cas de mesure par double résonance IR/UV, à normaliser le signal d'ion par le signal issu seulement de l'interaction avec le laser UV.

Dans le cas des mesures de durée de vie, la même procédure que celle décrite précédemment est utilisée. L'analyse des spectres consiste également à soustraire la ligne de base mais aussi les différentes contributions non-voulues (absorption de deux photons du laser de pompe, absorption de deux photons du laser sonde). Comme un délai Δt est appliqué entre le laser pompe et le laser sonde, ces différentes composantes du spectre de masse se décalent temporellement les unes par rapport aux autres. Il faut donc retirer les différentes composantes en tenant compte de ce décalage. Par ailleurs, ces contributions sont minimisées en diminuant l'intensité des lasers. Mais un compromis doit être trouvé afin d'obtenir un bon rapport signal-sur-bruit et par conséquent ces signaux parasites ne sont jamais totalement absents.

1.1.5 Particularités du montage Edelweiss

Le montage Edelweiss [62, 70, 71] a été utilisé pour l'étude des deux porphyrines de cuivre CuTTP et CuOEP (Chapitre 4). Les objectifs étaient de caractériser la transition $S_1(\pi^*) \leftarrow S_0(\pi)$ ainsi que la dynamique de relaxation de l'état S_1 *via* le passage vers un état $^3\pi\pi^*$. Pour réaliser ces études, les techniques de spectroscopie d'action triplet et de mesure de durée de vie électronique par IR2P-2C ont été utilisées.

A - Génération du jet supersonique

2,5 bars d'hélium à température ambiante sont détendus à travers une tuyère de 0,7 mm de diamètre. L'alimentation de la tuyère est contrôlée par une vanne pulsée (General Valve/Parker) qui fonctionne à 10 Hz. La vanne pulsée est connectée à un canal situé dans un bloc d'acier inoxydable, dans lequel se situe le système de désorption laser [62].

Les tablettes utilisées pour la désorption laser dans ce montage expérimental sont composées d'un mélange de graphite et de la molécule d'intérêt avec un rapport d'abondance de 50/50. Ce mélange est ensuite pressé pour former une pastille de 12 mm de diamètre et 2 mm d'épaisseur.

Les molécules évaporées sont ensuite entraînées par la bouffée de gaz d'hélium située dans le canal. Le canal permet de mélanger les molécules au gaz porteur et de thermaliser le mélange gazeux. Ce dernier est ensuite détendu dans l'enceinte source. Le faisceau moléculaire est extrait du jet par un écorceur de 2 mm de diamètre et amené dans l'enceinte d'interaction avec les lasers.

B - Descriptions des lasers utilisés

Pour réaliser la spectroscopie d'action triplet et les mesures de durée de vie, deux lasers sont utilisés simultanément. Un laser à colorant émettant dans le visible, pompé par un laser Nd :YAG doublé ou triplé, est utilisé pour exciter les molécules. Ce laser à colorant émet des impulsions d'énergie d'environ quelques mJ à 532 nm. Différents colorants sont utilisés pour pouvoir couvrir la plage spectrale des mesures. Un laser à excimère ArF est utilisé pour ioniser les molécules. Le laser à excimère émet des photons à 193 nm avec une énergie inférieure au mJ. Ces deux lasers fonctionnent à 10 Hz et ont une durée d'impulsion de quelques ns.

C - Parcours optique

Afin de limiter la divergence, le laser à colorant est focalisé dans la zone d'extraction du spectromètre avec une lentille de 3 m. Le laser à excimère est injecté dans l'enceinte par réflexion sur un miroir métallique. Le miroir réfléchit 90 % du faisceau. Le faisceau excimère est focalisé dans l'enceinte de telle sorte à ce qu'il forme une tache de 1 mm de large lorsqu'il croise le faisceau moléculaire. Un système de prismes et de miroirs mobiles est utilisé pour assurer le recouvrement spatial des deux faisceaux laser. Les deux faisceaux laser sont injectés de par et d'autre de l'enceinte à travers des fenêtres de silice fondue sans oxyde de fer.

Deux photo-diodes sont utilisées pour vérifier le délai appliqué entre les deux impulsions. La photo-diode du laser à colorant est située du côté de l'injection du laser à excimère, alignée avec le faisceau. La photo-diode du laser à excimère est alignée avec la partie du faisceau transmis par le miroir réfléchissant à 90 %.

D - Spectromètre de masse à temps de vol, oscilloscope et logiciel d'acquisition

Le spectromètre de masse à temps de vol a une configuration linéaire. Les tensions appliquées aux électrodes suivent les conditions de Wiley et McLaren [66].

Le signal issu du spectromètre de masse est ensuite transmis à un oscilloscope numérique. L'oscilloscope permet de moyenniser les spectres sur environ 150 tirs lasers (soit 15 s), qui sont alors transmis à l'ordinateur. Le logiciel d'acquisition a été écrit en langage Labview [69]. Ce logiciel permet de mesurer l'aire des pics de masse des ions d'intérêt dont l'intervalle de temps de vol correspondant est défini manuellement. Pour les spectres d'action triplet, la ligne de base est soustraite. Comme différents colorants ont été utilisés pour étendre la plage spectrale accessible par le laser, les données sont également corrigées des variations d'énergie de ce dernier. Pour les mesures de durée de vie, un traitement similaire à celui expliqué pour le montage SBM est appliqué.

1.2 Molécules refroidies dans une gouttelette d'hélium

De part leurs propriétés remarquables (température, superfluidité et transmission optique), les agrégats d'hélium sont de très bons milieux pour former et isoler des complexes moléculaires et pour réaliser leur spectroscopie infrarouge (IR), visible ou proche UV. Du fait de ces propriétés, le spectre HENDI ⁴ d'un complexe moléculaire solvaté dans un agrégat d'hélium est proche du spectre d'absorption du même complexe en phase gazeuse. Évidemment, la difficulté en phase gazeuse est de former ces complexes et de contrôler leur stœchiométrie, deux points réalisables grâce aux agrégats de van der Waals, en particulier aux agrégats d'hélium. C'est pourquoi ces agrégats quantiques ont été utilisés pour réaliser la spectroscopie IR du 4(5)-méthylimidazole et de ses hydrates (Chapitre 2).

Dans un premier temps, les propriétés des agrégats sont présentées. Puis le principe de mesure des spectres HENDI est expliqué suivi d'un descriptif du montage expérimental Gouttelium permettant la formation des agrégats d'hélium et la réalisation de la spectroscopie infrarouge des molécules.

1.2.1 Quelques propriétés des agrégats d'hélium

Les agrégats d'hélium sont des agrégats de van der Waals particuliers, puisque ce sont les seuls à être liquides et même superfluides. La formation des agrégats d'hélium lors de la détente de ce gaz a été mentionnée pour la première fois en 1961 par Beckern [72]. Les agrégats d'hélium ont fait l'objet de très nombreuses études expérimentales et théoriques afin de comprendre leurs propriétés tout à fait remarquables et qui font d'eux de bons milieux pour l'étude de systèmes atomiques et moléculaires [24, 73, 74, 75].

Nature quantique et implications macroscopiques

Les caractéristiques particulières des agrégats d'hélium s'expliquent par la nature quantique de cet élément. En effet, du fait de sa petite masse, l'extension de sa fonction d'onde est très importante. Mais il faut également tenir compte du fait qu'il s'agit d'un gaz rare et qu'il ne peut pas avoir de liaison covalente avec un autre atome, et en particulier avec lui-même. Cependant, à très basse température, l'hélium 4 peut former un dimère *via* des interactions de van der Waals. Du fait de son énergie de point zéro proche de sa limite de dissociation, l'existence du dimère a longtemps été mise en cause et n'a été montrée expérimentalement qu'en 1993 par Luo et collaborateurs [76]. En 2000, Grisenti et collaborateurs [77] ont mesuré la distance interatomique moyenne du dimère et son énergie de liaison et, ont trouvé 52 Å et $0,76 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$ respectivement. L'exemple du dimère illustre bien le caractère particulier de l'hélium avec là aussi, l'extension de la fonction d'onde de la molécule qui est très importante. A cela s'ajoute le fait que l'hélium

4. Helium NanoDroplet Isolation (HENDI) [22, 23, 24] est la technique utilisée pour faire interagir un photon avec une molécule dopant un agrégat d'hélium. Elle est décrite au paragraphe 1.2.2.

4 a un spin entier et qu'il suit donc la statistique de Bose-Einstein. Dans ce cas, une grande fraction de sa population peut coexister dans le même état quantique fondamental lorsque le système est proche du zéro absolu.

Ces caractéristiques rendent l'hélium particulier et en font le seul élément à rester liquide à pression atmosphérique lorsqu'il est refroidi jusqu'à 0 K. Cela se reflète dans le diagramme de phase de l'hélium 4 qui diffère de celui des autres éléments puisqu'il n'a pas de point triple. La Figure 1.8 représente le diagramme de phase de l'argon et celui de l'hélium 4. Le point critique de l'hélium est très bas en température et en pression ($P_c = 2,3$ bar et $T_c = 5,2$ K). Enfin, l'hélium 4 est à ce jour, le seul ⁵ élément possédant un deuxième état liquide : l'hélium 4 est superfluide en dessous de 2,2 K et 25 bar. La séparation entre les deux états liquides est nommée la *lambda-line*. La superfluidité est un état de la matière dans lequel celle-ci se comporte comme un fluide possédant une viscosité nulle. Le fluide s'écoule donc sans dissipation.

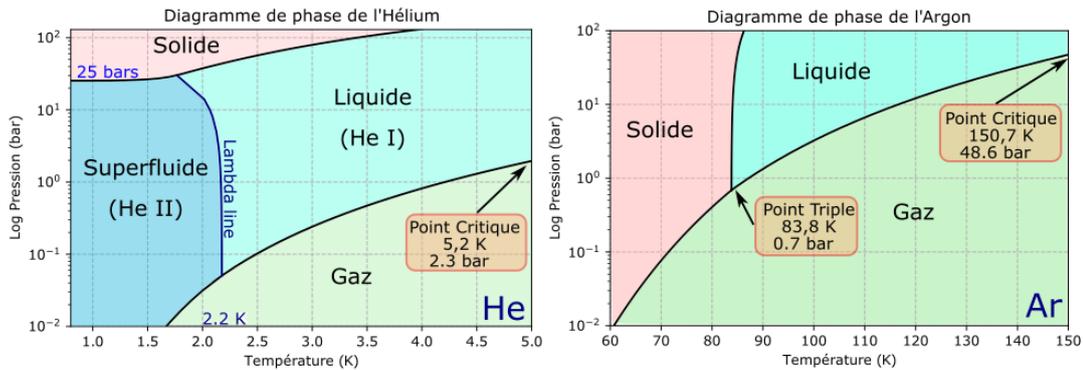


FIGURE 1.8 – Diagramme de phase de l'hélium et de l'argon [78].

Il est à noter que la particularité de l'hélium ne vient pas uniquement de sa faible masse mais des autres caractéristiques énoncées précédemment. En effet, la masse de l'atome d'hydrogène est également très petite ce qui lui confère aussi une fonction d'onde avec une grande extension. Mais la molécule de dihydrogène est liée de façon covalente et son énergie de point zéro est suffisamment basse pour que plusieurs états rovibrationnels de l'état électronique fondamentale existent. Par ailleurs, la molécule de dihydrogène existe sous deux formes d'isomères de spin nucléaire : l'ortho et le para hydrogène. Ainsi, l'hydrogène et l'hélium ont un comportement très différent à basse température. Cependant, une analogie entre l'hélium et le para-hydrogène peut être faite puisque, pour ce dernier, on peut parler de solide quantique [79].

Les propriétés des agrégats d'hélium, qui font d'eux des systèmes uniques, sont principalement leur température, leur superfluidité, leur transmission optique et leur fragilité. Voici quelques informations sur ces propriétés.

5. L'hélium 3 est également superfluide en dessous de 2,65 mK mais dans ce cas, deux fermions (^3He) s'associent pour former une paire de Cooper. Il ne s'agit plus d'une condensation de Bose-Einstein mais d'un processus similaire à celui de la supraconductivité.

Température des agrégats

La température des agrégats d'hélium est extrêmement faible. Elle a été mesurée expérimentalement à 0,37 K par Harmtann et collaborateurs en 1995 par l'étude du contour rotationnel de la molécule de SF₆ isolée en agrégat d'hélium [80]. Cette très basse température est contrôlée par l'évaporation en surface de l'agrégat [81]. A titre comparatif, les agrégats d'argon ont une température d'environ 30 K [82].

Cette température très basse est un atout majeur pour réaliser la spectroscopie de molécules. En effet, lorsqu'elles sont déposées dans un agrégat d'hélium, ce dernier agit comme un bain thermique qui refroidit ses dopants. Les degrés de liberté vibrationnels et rotationnels sont ainsi rapidement thermalisés à la température de l'agrégat. En général, la molécule se retrouve alors dans son état électronique fondamental avec seulement l'état vibrationnel $v=0$ peuplé. La distribution de population des états rotationnels à 0,37 K dépend des constantes rotationnelles de la molécule.

Superfluidité

En dessous de 2,2 K (cf Figure 1.8), l'hélium 4 macroscopique a cette propriété très unique d'être superfluide. Pendant très longtemps, l'hypothèse de la superfluidité des agrégats d'hélium a été émise sans preuve expérimentale. Elle a finalement été apportée en 1996 par Hartmann, Toennies et Vilesov [83] par l'observation d'une séparation entre la raie de zéro phonon et la bande de phonons de la transition électronique $S_1 \leftarrow S_0$ de la molécule du glyoxal. Cette séparation, de l'ordre de 8 K, est caractéristique de la superfluidité.

La superfluidité des agrégats d'hélium implique une interaction extrêmement faible entre ces derniers et leurs hôtes. De ce fait, l'observation de spectres vibrationnels et rotationnels résolus est possible. Cela permet l'obtention d'informations sur la structure des dopants à 0,4 K. Par ailleurs, cette faible interaction modifie peu les spectres HENDI qui peuvent être comparés directement à ceux obtenus en phase gazeuse et également à des calculs de chimie quantique. Cependant, des interactions entre les atomes d'hélium et les molécules existent tout de même, comme évoqué un peu plus loin et dans le Chapitre 2.

Transmission optique

Les agrégats d'hélium ont également la propriété d'être entièrement transparents aux rayonnements de l'IR lointain jusqu'au VUV (en dessous de 20 eV). Cela est lié au fait que la première transition permise de l'hélium atomique $^1P_0 \leftarrow ^1S$ correspond à l'absorption d'un photon de 21,22 eV. Bien sûr la bande d'absorption de l'agrégat d'hélium est légèrement inférieure à celle de l'atome comme l'ont montré von Haeften et collaborateurs [84], mais cela n'empêche pas de réaliser la spectroscopie des dopants sur la gamme spectrale pré-citée.

Fragilité

Enfin, les agrégats d'hélium sont des systèmes très fragiles. Leur énergie de liaison a été étudiée théoriquement. Il a été prédit que cette énergie augmente de façon monotone depuis l'énergie de liaison du dimère ($0,94 \cdot 10^{-3} K = 0,76 \cdot 10^{-3} cm^{-1} = 0,094 \cdot 10^{-3} meV$ [76]) jusqu'à atteindre l'énergie de liaison du « bulk » ($7,2 K = 5 cm^{-1} = 0,62 meV$ [85]) pour les agrégats de plus de 1000 atomes. A titre de comparaison, l'énergie d'une liaison hydrogène entre un acide et une base moyenne est typiquement de $2000 cm^{-1}$ ($250 meV$) [86]. Cette propriété fait des agrégats d'hélium de vrais bolomètres qui s'évaporent dès que de l'énergie leur est transmise. Le principe de mesure sur lequel repose l'acquisition des spectres HENDI [22, 23, 24] est fondé sur cette propriété, comme cela est expliqué dans la partie suivante.

1.2.2 Principe de mesure.

Le dispositif Gouttelium a été conçu pour réaliser la spectroscopie infrarouge d'agrégats d'hélium dopés, via la technique *HElium Nano Droplet Isolation* (HENDI) [22, 23, 24]. Cette technique repose sur le fait que le moindre dépôt d'énergie dans l'agrégat entraîne l'évaporation d'un nombre fini d'atomes. Très schématiquement, il s'agit de mesurer la déplétion du jet d'agrégats d'hélium en fonction de l'énergie des photons absorbés par les dopants.

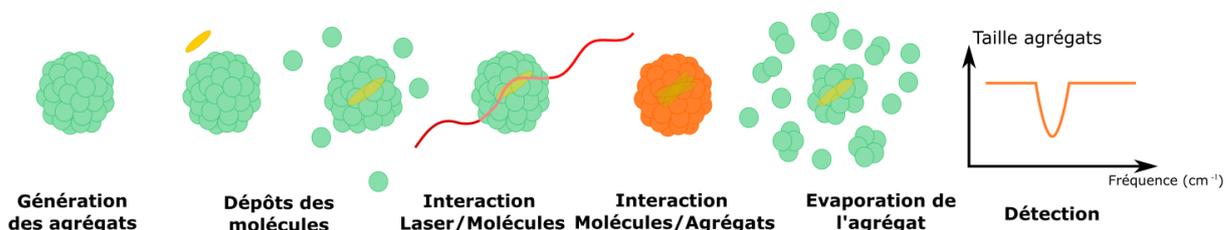


FIGURE 1.9 – Principe de la technique HENDI utilisée pour l'acquisition des spectres IR avec le montage Gouttelium.

La Figure 1.9 illustre la première étape du processus de mesure. Après formation des agrégats (expliquée un peu plus loin), les molécules sont déposées dans ces derniers. Lors du dépôt des molécules, une partie des atomes de l'agrégat s'évapore. En effet, l'agrégat doit dissiper l'énergie cinétique et interne de l'espèce chimique capturée. Par exemple, un calcul simpliste effectué sur la molécule de 4(5)-méthylimidazole montre que ses énergies cinétique et interne à $43^\circ C$ sont respectivement de $E_{cinétique} = 560 cm^{-1}$ et $E_{interne} = 660 cm^{-1}$. Ainsi, un peu moins de 240 atomes d'hélium sont évaporés lors de la capture et de la thermalisation de cette molécule dans l'agrégat d'hélium.

L'étape suivante correspond à l'interaction entre le complexe moléculaire et un photon. Si la longueur d'onde de ce dernier est en résonance avec une transition du complexe,

celui-ci absorbe un photon puis se relaxe. Comme les durées de vie radiatives des états rovibrationnels sont en général très longues (faibles forces d'oscillateur), le complexe se désexcite non radiativement en transférant tout, ou partie, de son énergie à l'agrégat. Cette interaction entre les photons et la molécule provoque une réduction significative de la taille de l'agrégat par une seconde vague d'évaporation. Par exemple, l'absorption d'un photon dont l'énergie est de 3500 cm^{-1} , ce qui correspond typiquement à une vibration N-H libre, conduit à l'évaporation de 700 atomes d'hélium. Pour des agrégats composés initialement de 4000 atomes, une telle évaporation conduit à une réduction de la taille d'environ 20 %.

Le principe de mesure consiste donc à mesurer la réduction de taille des agrégats ou, autrement dit, la déplétion du faisceau d'agrégats, en fonction de la longueur d'onde du laser IR. Cette mesure est réalisée dans le cas de Gouttelium avec un spectromètre de masse, où une masse particulière issue de l'agrégat est suivie. Cette mesure caractérise l'absorption moléculaire. Cependant, ce ne sont pas des spectres d'absorption car l'interaction molécule-agrégat intervient dans le processus [24]. Il s'agit de spectres d'action très proches de ce que serait le spectre d'absorption du complexe en phase gazeuse.

Dans les parties suivantes, le montage expérimental Gouttelium dédié à l'étude de molécules en agrégat d'hélium et reposant sur le principe de mesure HENDI est présenté en détail.

1.2.3 Description du dispositif expérimental Gouttelium

Le montage expérimental Gouttelium [87] est composé de trois enceintes distinctes, toutes sous vide secondaire et aux rôles bien définis. La Figure 1.10 est une représentation schématique de ce dispositif.

La première enceinte, l'enceinte source, est utilisée pour générer les agrégats d'hélium. Elle est notamment équipée d'une tête froide cryogénique mobile, permettant de refroidir le gaz d'hélium avant de l'injecter dans l'enceinte sous vide. Les agrégats sont formés au cours d'une détente supersonique d'hélium gazeux préalablement refroidi.

La seconde enceinte est la chambre de dépôt. Elle est constituée d'un four, utilisé pour mettre en phase gazeuse les molécules solides à température ambiante. Des cellules sont également positionnées dans cette enceinte. Elles permettent d'y injecter sous forme gazeuse des molécules initialement sous forme liquide ou gazeuse. Ces dispositifs permettent de déposer les molécules dans les agrégats par la méthode de capture collisionnelle [88].

La troisième enceinte est celle où ont lieu l'interaction avec un laser et l'analyse du faisceau d'agrégats. Le jet d'agrégats dopés croise dans un premier temps le faisceau laser IR, permettant l'interaction entre les molécules hôtes et les photons. Le jet d'agrégats parcourt librement une dizaine de centimètres afin de laisser le temps à la molécule d'interagir avec l'agrégat pour qu'il s'évapore le cas échéant. Puis, un spectromètre de masse quadripolaire est placé à la fin de la trajectoire du jet pour détecter le jet d'agrégats. Le signal obtenu avec le spectromètre de masse, qui correspond à la masse du dimère d'hé-

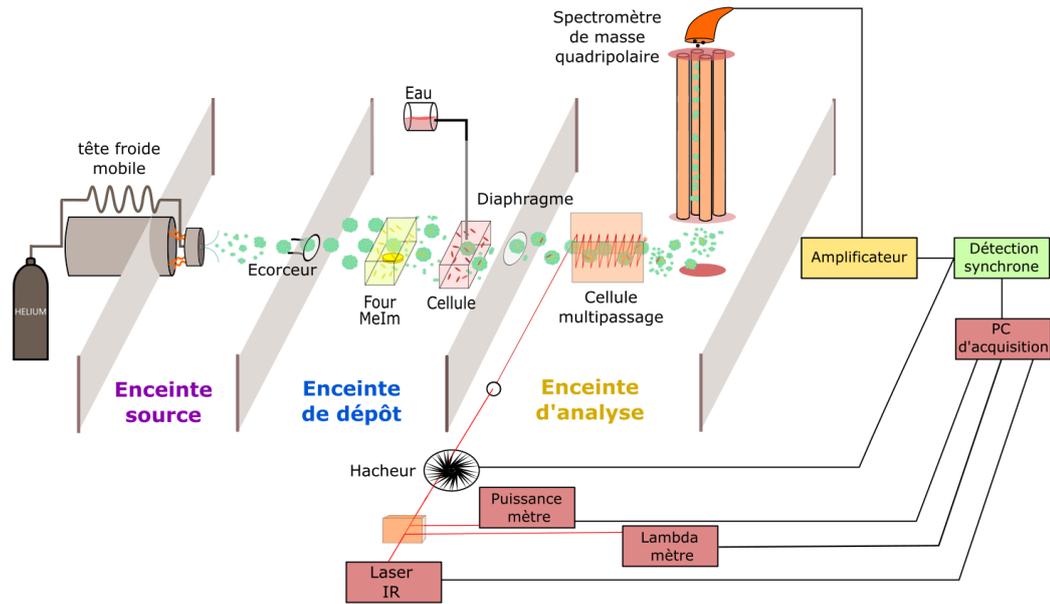


FIGURE 1.10 – Schéma du principe du montage expérimental Gouttelium.

lium, permet de détecter la déplétion des agrégats et d'enregistrer les spectres d'action des molécules.

Chaque enceinte ainsi que leur fonctionnement sont décrits plus en détail dans les paragraphes suivants.

A - Génération des agrégats dans le jet supersonique

Les agrégats sont formés dans l'enceinte source par nucléation lors de la détente supersonique d'un gaz d'hélium préalablement refroidi. D'un point de vue pratique, l'hélium est injecté à une pression d'une dizaine de bars ou plus, dans une tête froide mobile, qui permet de refroidir le gaz à 10 K. Puis ce gaz est détendu à travers un diaphragme de $5 \mu\text{m}$ de diamètre. Le jet supersonique fonctionne en régime continu. Ici, les conditions de fonctionnement du jet supersonique sont particulières puisqu'il s'agit de générer des agrégats, situation qui est en général évitée car la condensation est une source de perturbation du jet.

Il existe deux modes de formation des agrégats : la nucléation et la fragmentation d'un jet liquide [89]. Les agrégats d'hélium utilisés pour ces travaux sont formés par nucléation. C'est pourquoi, seul ce principe est expliqué dans cette partie.

Au cours d'une détente supersonique, les atomes du jet sont refroidis par collision. La détente est isentropique, au moins jusqu'à l'apparition des premiers agrégats, si bien que le couple pression/température suit la relation :

$$P = P_0 \left(\frac{T}{T_0} \right)^{\frac{\gamma}{\gamma-1}} \quad (1.1)$$

avec P_0 et T_0 la pression et la température génératrice du gaz, et γ le rapport des chaleurs spécifiques à pression et volume constant ⁶.

Dans un diagramme de phase (P,T) en échelle logarithmique, la détente isentropique correspond à une droite, dont le coefficient directeur est $\frac{\gamma}{\gamma-1}$. Si les conditions génératrices le permettent, la droite isentropique de la détente coupe la courbe de changement de phase gaz-liquide. Au delà de cette ligne, le gaz est alors dans une zone de super-saturation dans laquelle la condensation et la nucléation des agrégats sont possibles. [90, 91].

Le processus de nucléation est assez mal décrit théoriquement. De nombreuses études [90, 92, 93, 94, 95, 96] le décrivent qualitativement ou ne s'intéressent qu'à certaines parties de la nucléation. Jusqu'à aujourd'hui, aucun modèle ne permet de décrire complètement ce qui se passe depuis le réservoir jusqu'à l'agrégat. Cela est en partie lié au fait qu'initialement le gaz peut être décrit comme un milieu continu, puis comme un milieu très dilué et enfin comme un milieu diphasique : mélange gazeux d'atomes et d'agrégats. Il est cependant admis que la nucléation est initiée par la formation du dimère par une première collision à trois corps afin de conserver l'énergie et la quantité de mouvement. Le trimère et les agrégats de tailles supérieure sont formés ensuite par le même processus. A partir d'une certaine taille, le processus de coalescence avec éjection d'un fragment, pour tenter de stabiliser l'agrégat, prédomine. La croissance des agrégats cesse lorsque la densité du monomère et des agrégats dans le jet est trop faible pour permettre les collisions à trois corps ou le processus de coalescence.

Pour que la formation des agrégats s'initie, il faut donc que deux conditions soient validées lors de la détente. Il est nécessaire que la diminution de la pression et de la température soit suffisante pour que la courbe isentropique correspondante coupe la ligne de changement de phase. Il faut également que la densité d'atomes dans la zone de condensation soit suffisamment élevée pour permettre les collisions à trois corps.

Dans le cas de la formation des agrégats d'hélium et afin de vérifier la première condition, il est nécessaire de refroidir le gaz avant l'injection dans l'enceinte. En effet, la courbe de liquéfaction est impossible à atteindre au cours d'une détente supersonique si l'hélium est initialement à température ambiante. Le refroidissement de la détente ne serait pas suffisant. Le point critique de l'hélium est en effet relativement bas ($P_c = 2,3$ bar et $T_c = 5,2$ K) comparé à d'autres espèces comme l'argon ($P_c=48,6$ bars et $T_c=150,7$ K). Un refroidissement préalable à la détente est donc nécessaire. Pour cela, le gaz est initialement refroidi à 10 K à l'aide d'une tête froide mobile.

Pour former les agrégats, il faut également que la densité soit suffisante pour permettre les collisions à trois corps. La densité varie selon trois grandeurs : la pression génératrice P_0 , la température génératrice T_0 et le diamètre de la tuyère utilisée pour détendre le gaz, noté D [90, 97]. Expérimentalement, le diamètre D est un paramètre fixe qui ne peut pas être modifié au cours d'une expérience et vaut $5 \mu m$. La densité et donc la taille des

6. Attention, pour une simulation précise de la détente, il faut tenir compte de l'évolution de γ en fonction de la température car l'hélium n'est plus un gaz parfait à très basse température (proche de la courbe de changement de phase gaz-liquide).

agrégats est contrôlée en jouant avec la pression et la température génératrice.

Des mesures de la taille des agrégats et du nombre moyen d'atomes par agrégat ont été réalisées en déviant le faisceau d'agrégat par un second faisceau. Ces mesures ont été réalisées pour différentes températures et pressions génératrices avec un diamètre de tuyère égal à $5 \mu\text{m}$ [24, 74]. La Figure 1.11 représente le nombre moyen d'atomes d'hélium par agrégat en fonction de la température et de la pression génératrices, pour un diamètre de tuyère de $5 \mu\text{m}$ correspondant à celui de la tuyère utilisée sur Gouttelium [24, 74].

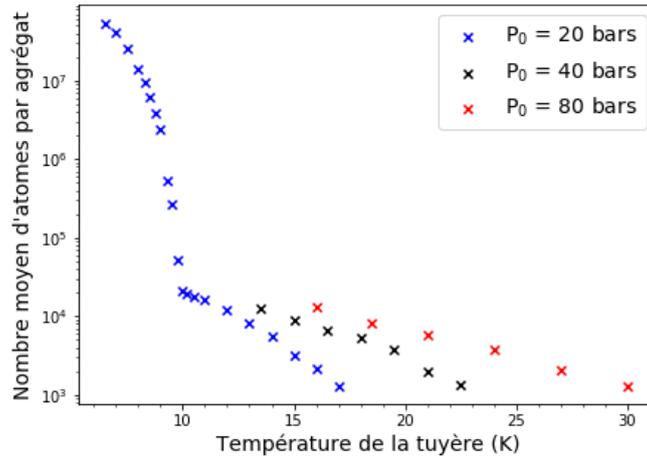


FIGURE 1.11 – Variation du nombre d'atomes d'hélium par agrégat en fonction de la température et de la pression génératrices, pour un diamètre de tuyère de $5 \mu\text{m}$ [24, 74, 98]. Dans les conditions d'utilisation expérimentales utilisées pour les mesures ($P_0=18$ bars et $T_0=10,7$ K), le nombre moyen d'atomes est de l'ordre de 8000.

Les conditions génératrices du jet d'agrégats utilisées pour les mesures sont $T_0 = 10,7$ K et P_0 comprise entre 8 et 20 bars. Dans ces conditions, la taille des agrégats est comprise entre 2000 à 10 000 atomes par agrégats, donc un diamètre de quelques nanomètres.

Les agrégats de van der Waals sont par ailleurs des systèmes qui ne sont pas en équilibre thermodynamique avec le gaz du jet (retard au refroidissement lié à la condensation). Pour se stabiliser en température, les agrégats évaporent des atomes au cours de la détente [91, 99]. Lorsque la détente se termine, les agrégats continuent d'évaporer des monomères en surface pour se refroidir et pour finalement atteindre leur température finale [100] qui est de 0,37 K pour l'hélium [80]. Il est à noter que cette température ne peut être changée puisqu'elle est fonction de l'enthalpie d'évaporation du gaz détendu [101, 102, 103].

Expérimentalement, les agrégats sont formés dans l'enceinte source qui est pompée par une pompe turbomoléculaire à paliers magnétiques et une pompe primaire roots-multi

étagée. Cette dernière est purgée par de l'azote en permanence pour aider au pompage de l'hélium. Le vide final atteint après injection de 10 bars d'hélium à 10 K à travers d'une tuyère de $5 \mu\text{m}$ est de quelques 10^{-4} mbar.

B - Dépôt des molécules dans les agrégats

Une fois les agrégats formés, ils sont extraits du jet supersonique par un écorceur de 1 mm de diamètre et amenés dans la seconde enceinte (l'enceinte de dépôt) dans laquelle les molécules vont être déposées dans ces derniers.

Malgré la superfluidité des agrégats d'hélium, ces derniers ont la propriété de capturer toutes les espèces qu'ils rencontrent sur leur trajectoire [104]. Le piégeage des molécules dans un agrégat d'hélium repose sur la capture collisionnelle développée par G. Scoles [88]. Cela consiste à placer sur la trajectoire des agrégats un gaz composé de la molécule que l'on souhaite déposer. Cette dernière sera capturée par l'agrégat si une collision se produit. La pression du gaz de la molécule d'intérêt conditionne le nombre moyen de molécules déposées par agrégat. La mise en phase gazeuse de la molécule est adaptée à sa pression de vapeur saturante (injection d'un gaz, chauffage d'un liquide ou d'un solide, tirage au vide, etc.) Ces agrégats permettent donc de pouvoir isoler des molécules et peuvent être considérés comme des matrices ayant très peu d'interaction avec le dopant.

Il est également possible de former et d'isoler dans les agrégats d'hélium des complexes qui peuvent être difficiles à former en phase gazeuse [24, 105]. Dans ce cas, il faut utiliser plusieurs zones de piégeage collisionnel (une pour chaque espèce à piéger). Une fois sur l'agrégat, les espèces chimiques vont migrer et s'associer. En effet, du fait de la très basse température de ces agrégats (0,37 K) il suffit que l'énergie de liaison du complexe à former soit supérieure à cette température pour que le complexe se forme, ce qui est généralement le cas. De plus, la superfluidité des agrégats permet aux différentes espèces de bouger librement et rapidement, selon leur potentiel d'interaction, afin de se rencontrer pour former le complexe [105]. Ainsi, en plus d'être utilisés comme des bolomètres, les agrégats d'hélium sont également des nano-réacteurs chimiques.

Les molécules étudiées sur Gouttelium dans le cadre de cette thèse sont le 4(5)-méthylimidazole (4(5)-MeIm) et ses complexes avec l'eau. Le 4(5)-MeIm est solide à température et pression standard. Cette molécule (sous forme d'une pastille de produit pur) a donc été placée dans un four et évaporée à une température d'environ 45°C . Le jet d'agrégat traverse le four et capture lors d'une collision le 4(5)-MeIm. Pour l'eau, il a suffit de relier un cylindre qui en était rempli, à une cellule *via* un système de tuyaux et de vannes. Cette cellule est également traversée par le jet d'agrégats qui peuvent ainsi piéger la molécule d'eau lors de sa traversée.

L'enceinte de dépôt est pompée par une pompe turbo moléculaire à palier magnétique et une pompe roots multi-étagée purgée en permanence par de l'azote. Le vide atteint est de quelques 10^{-7} mbar à quelques 10^{-6} mbar lorsque les molécules sont injectées pour le dépôt.

Une fois dopés, les agrégats continuent leur trajectoire et entrent dans la troisième enceinte, l'enceinte d'analyse, en passant par un diaphragme de 3 mm de diamètre. L'axe du jet est défini par l'écorceur (situé entre l'enceinte source et l'enceinte de dépôt) et ce diaphragme, qui sont tous les deux fixes. La tête mobile et le spectromètre de masse doivent être tous les deux alignés sur cet axe afin de maximiser le rapport signal-sur-bruit.

C - Spectroscopie des dopants

Dans cette troisième et dernière enceinte, le jet d'agrégats dopés croise un faisceau laser infrarouge plusieurs fois. Puis, une dizaine de centimètres après, un spectromètre de masse quadripolaire est placé sur la trajectoire du jet. Les agrégats sont alors ionisés par impacts électroniques. La détection d'ions issus des agrégats permet de suivre la déplétion du faisceau d'agrégats due à l'interaction entre le laser et la molécule puis entre la molécule et l'agrégat et d'acquérir des spectres d'action des molécules déposées dans les agrégats.

Un vide est de quelques 10^{-7} mbar est obtenu à l'aide d'une pompe secondaire turbo magnétique et d'une pompe primaire roots multi-étagée.

Le laser infrarouge (IR)

Le laser IR utilisé est un Oscillateur Paramétrique Optique (OPO) qui délivre une onde continue et accordable sur la plage 3100 à 4000 cm^{-1} (il s'agit de l'onde complémentaire ou *idler*). La puissance de sortie du laser est comprise entre 1 et 3 W. La cavité optique du laser est composée d'un cristal de lithium niobate à structure polarisée périodique (PPNL), de deux miroirs ainsi que d'un étalon (plage spectrale de 400 GHz). La cavité est pompée par un laser ytterbium fibré continu à 1064 nm. Le passage de l'onde pompe dans le cristal PPNL permet de générer l'onde infrarouge *via* le processus non linéaire du second ordre de couplage à trois ondes.

Le changement de longueur d'onde de l'OPO est réalisé en pinçant très légèrement une des fibres optiques du laser pompe avec un cristal piézoélectrique. Ce pincement implique un changement très léger de la longueur d'onde du laser pompe qui se répercute automatiquement sur la longueur d'onde de la sortie infrarouge. La précision du pas peut aller jusqu'à quelques 10^{-4} cm^{-1} sur une plage maximale de 2,5 cm^{-1} . Le pas du pincement de la fibre optique par le cristal piézoélectrique est contrôlé par un ordinateur. Le changement en longueur d'onde est déclenché par une rampe de tension triangulaire (tension montante puis descendante) pour un même balayage en longueur d'onde afin de préserver la fibre optique.

Le faisceau laser est injecté dans l'enceinte en passant par une fenêtre de CaF_2 . Il croise quasiment perpendiculairement le jet d'agrégats d'hélium dopés. Deux miroirs dorés, placés de part et d'autre du jet d'agrégats, forment une cellule multi-passage. Cela permet au faisceau IR de croiser environ une trentaine de fois le jet d'agrégats. Le volume d'interaction photon/molécule est alors considérablement augmenté ainsi que la proba-

bilité d'absorption d'un photon par les molécules. Ce dispositif est nécessaire pour avoir une meilleure sensibilité car les forces d'oscillateurs IR sont généralement très faibles.

Avant que le faisceau laser ne soit injecté dans l'enceinte, il est important de connaître la longueur d'onde du laser ainsi que sa puissance. Une lame de CaF_2 est placée en sortie du laser permettant de réfléchir 4 % du faisceau. La réflexion sur la face avant de la fenêtre est envoyée dans un lambda-mètre pour mesurer la longueur d'onde instantanée du laser lors d'un balayage. Un puissance-mètre mesure la puissance du faisceau laser réfléchi sur la face arrière de la fenêtre (cf Figure 1.10).

L'excitation des molécules par les photons a pour résultat une évaporation partielle des agrégats. L'effet de l'absorption d'un photon par les dopants de l'agrégat est détectée par un spectromètre de masse. Cette mesure est présentée dans le paragraphe suivant.

La détection de la déplétion

La détection du jet d'agrégats est réalisée par un spectromètre de masse quadripolaire dont la première étape de détection consiste à ioniser les systèmes par impacts électroniques. En raison de la petite taille des molécules par rapport à celle des agrégats, la probabilité d'ionisation des molécules par les électrons est égale à la section efficace d'ionisation des agrégats. En première approximation, la section efficace d'ionisation des agrégats est proportionnelle à leur section efficace géométrique, soit πR_0^2 , en supposant les agrégats sphériques de rayon R_0 . La probabilité d'ionisation dépend donc de la taille de l'agrégat.

De ce fait, si la molécule hébergée dans l'agrégat a pu être excitée par le laser, une partie de l'agrégat s'est évaporée. Cette réduction de taille se traduit alors par une diminution du signal observé au spectromètre de masse.

Les spectres présentés dans ce manuscrit ont été enregistrés en suivant la masse du dimère d'hélium ($m = 8 \text{ uma.}$). Le dimère d'hélium He_2^+ est caractéristique des agrégats puisqu'il n'existe pas à température ambiante. La présence du dimère sur les spectres de masse permet de s'assurer de la présence des agrégats d'hélium dans le jet et des bonnes conditions de génération. La masse de l'hélium seul ($m = 4 \text{ uma}$) n'est pas suivie car cette masse correspond aussi bien aux atomes d'hélium issus du jet qu'à ceux issus de la thermalisation des agrégats entrés en collision avec les parois de l'enceinte. De plus, la masse du dimère permet de travailler sur un fond noir puisque aucune des espèces étudiées et présentes dans l'enceinte ne possède de fragments à cette masse.

Le fonctionnement du spectromètre quadripolaire [57] est le suivant. Les molécules et les agrégats sont dans un premier temps ionisés par un canon à électron. Les ions sont ensuite filtrés selon le rapport $\frac{m}{q}$ par un système de quatre électrodes cylindriques sur lesquelles une tension continue superposée à une tension radio-fréquence est appliquée. Les ions filtrés sont ensuite accélérés et heurtent un channeltron permettant de créer des impulsions de courant. Ce courant correspond au signal avant traitement électronique.

L'électronique d'acquisition

Le spectromètre de masse génère des impulsions de courant de largeur temporelle d'environ 6 ns et de quelques mV d'amplitude. Les impulsions peuvent être pré-amplifiées par l'électronique du spectromètre de masse. La détection du signal à partir de ces impulsions de courant est réalisée *via* l'utilisation d'une détection synchrone.

La détection synchrone permet d'extraire un signal haché à une fréquence connue et noyé dans du bruit ou dans un signal beaucoup plus fort que celui recherché. Cela est réalisé en convoluant le signal avec une référence périodique, qui correspond ici à la fréquence de hachage du laser. La détection synchrone détecte ensuite seulement les signaux qui fluctuent à la même fréquence de référence et élimine les autres contributions. Comme différentes sources de bruit sont périodiques, par exemple la fréquence du courant alternatif à 50 Hz, la fréquence de référence doit être différente de ces fréquences et de leurs multiples pour pouvoir les éliminer. Sur Goultelium, les fluctuations du signal sont générées en modulant le faisceau laser IR à 23 Hz avec un hacheur. Celui-ci est placé sur le chemin du laser après les lames de prélèvement en CaF_2 et avant l'injection du laser dans l'enceinte d'analyse (cf Figure 1.10). Le faisceau laser est donc injecté dans l'enceinte à la fréquence de 23 Hz.

Les détections synchrones ne fonctionnent qu'avec un signal continu. Or le signal issu du spectromètre de masse est constitué d'impulsions de courant. Pour rendre possible l'utilisation de la détection synchrone, un amplificateur rapide est utilisé pour transformer ces impulsions de courant. L'amplificateur de charge convertit le courant en tension tout en *amplifiant*. Cependant, ce processus se déroule avec une certaine constante de temps ce qui permet d'empiler plusieurs impulsions, ou, d'un autre point de vue, d'intégrer le signal en fonction du temps. Ainsi, les impulsions de 2-3 mV et de 5 à 10 ns de largeur initiale sont transformées en un signal d'une centaine de mV ayant une modulation peu intense à 23 Hz. Ce signal modulé est ensuite injecté dans la détection synchrone qui extrait le signal du bruit.

Contrôle des instruments

Pour enregistrer un spectre, il est nécessaire que tous les instruments soient synchronisés et qu'un contrôle permanent soit réalisé. Deux ordinateurs sont utilisés simultanément : un pour contrôler le spectromètre de masse et l'autre pour la synchronisation des instruments et l'enregistrement des données.

Le spectromètre de masse est contrôlé par le logiciel fourni avec cet appareil. Ce logiciel permet de paramétrer les tensions appliquées aux différents éléments du spectromètre. Il permet également d'enregistrer les spectres de masse, qui sont utiles pour vérifier les conditions expérimentales (présence des agrégats et des molécules déposées, pollution, fuites, ...).

La synchronisation des instruments et l'enregistrement des spectres sont réalisés sur

un second ordinateur avec un programme écrit en langage LabView [69]. Le programme coordonne la tension appliquée au piézoélectrique pour le changement de longueur d'onde, la lecture de la longueur d'onde, la lecture de la puissance du faisceau laser et l'acquisition du signal de la détection synchrone. Le logiciel trace et enregistre le signal en fonction de la longueur d'onde.

Pour chaque longueur d'onde, le temps d'acquisition est de 2 s (1 s pour stabiliser la détection synchrone et 1 s d'acquisition). En raison des limites du piézoélectrique, la plage spectrale maximum pouvant être parcourue pour une seule acquisition est de $2,5 \text{ cm}^{-1}$. Le temps d'acquisition d'un spectre avec un pas de l'ordre de 10^{-3} cm^{-1} est alors de deux heures. Il faut donc veiller à la stabilité de tous les instruments et notamment celle du laser pendant ce temps d'acquisition. Il faut également veiller à la stabilité du jet d'agrégats et des différentes pressions d'injection des molécules étudiées. C'est la raison pour laquelle la pression des enceintes, la température de la tête froide ainsi que la température du four sont surveillées en permanence, indépendamment du logiciel d'acquisition (certains paramètres sont mêmes asservis à une consigne).

La dernière étape consiste à traiter les données. Des macros écrites avec le logiciel Igor [106] permettent notamment de réaliser une moyenne glissante de façon à améliorer le rapport signal-sur-bruit.

1.3 Les calculs de chimie quantique

Les différents systèmes étudiés dans les chapitres suivants peuvent présenter un grand nombre de structures possibles. Les peptides sont en effet des systèmes flexibles car ils possèdent plusieurs degrés de liberté notamment ceux correspondant aux rotations autour des liaisons covalentes HN-C_α et $\text{C}_\alpha\text{-CO}$. Ils peuvent également présenter des liaisons intramoléculaires stabilisant ces structures. Dans le cas des hydrates du 4(5)-méthylimidazole, il existe plusieurs agencements possibles de la molécule d'eau avec la molécule de méthylimidazole. Il est donc important de pouvoir déterminer les différentes structures observées dans les données expérimentales. Dans ce but, les spectres de vibration IR des structures calculées sont simulés et sont comparés aux données expérimentales. Les structures ainsi identifiées permettent ensuite d'identifier les différentes liaisons à l'origine de ces structures. Les calculs de chimie quantique, réalisés pour ces études par DFT-D, sont donc utilisés comme de véritables outils pour l'interprétation des données expérimentales. Le principe général de la DFT-D est dans un premier temps donné, suivi de précisions sur les calculs réalisés.

1.3.1 Principe de la DFT-D

La théorie de la densité de la fonctionnelle (DFT) est une méthode de calcul de chimie quantique consistant à résoudre l'équation de Schrödinger dans l'approximation de

Born-Oppenheimer, par la détermination de l'énergie comme une fonctionnelle de la densité [107]. L'énergie électronique E_e du système est exprimée suivant les équations de Kohn-Sham [108, 109] et son expression est donnée par la relation :

$$E_e[\rho] = T[\rho] + V_{Ne}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (1.2)$$

où $T[\rho]$ est l'énergie cinétique électronique, $V_{Ne}[\rho]$ est le potentiel noyaux-électrons, $J[\rho]$ est le potentiel de Coulomb et $E_{xc}[\rho]$ comprend les termes d'échange et de corrélation ; ces deux derniers termes correspondant au terme d'interaction électron-électron. La difficulté de la DFT réside dans l'expression du terme d'échange-corrélation qui n'est pas connu exactement. De ce fait, les calculs de DFT sont réalisés au moyen de fonctionnelles approchées qui permettent d'approximer ce terme de corrélation électronique. Il existe différents type de fonctionnelle.

La méthode de la DFT a l'avantage majeur d'avoir un temps et un coût de calcul raisonnable comparé à d'autres méthodes et donne également des résultats avec une bonne précision. Cependant, les calculs de DFT décrivent relativement mal les interactions de dispersion. Or ces interactions sont responsables, par exemple, des interactions intramoléculaires NH- π ou bien des liaisons hydrogène intermoléculaires présentes dans les hydrates des molécules. Il est donc important de prendre en compte la dispersion. Pour cela, Grimme a proposé un modèle (DFT-D) qui consiste à ajouter un terme prenant en compte cette dispersion dans l'expression de l'énergie du système [110]. Ce terme est de la forme $\frac{C_6}{R^6}$ où R est la distance entre deux atomes et C_6 le coefficient de dispersion. Cette méthode de calcul a montré qu'elle est bien adaptée à l'étude de systèmes biologiques flexibles [51, 111, 112].

1.3.2 Niveau de calculs des différentes études

Le niveau de calcul utilisé pour les différentes études théoriques est RI-B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD. Il s'agit de calculs de DFT-D qui prennent en compte à la fois la dispersion à deux corps et à trois corps [16]. La fonctionnelle utilisée, B97-D3 [113], est une fonctionnelle corrigée d'un terme semi-empirique pour prendre en compte la dispersion, reposant sur l'approximation des gradients généralisés (GGA). La base d'orbitales est la base triple-zéta de valence def2-TZVPPD [114]. Le choix de la base repose sur un compromis entre temps de calcul et précision. Les calculs ont été réalisés dans l'approximation de la résolution de l'identité (RI-DFT) qui permet de réduire le temps de calcul par la simplification du calcul du terme électronique de Coulomb ($J[\rho]$ de l'équation 1.3.1) [115]. Les différents calculs ont été réalisés avec le logiciel Turbomole 7 [116].

1.3.3 Optimisation des structures : énergies et fréquences de vibrations.

Pour les différentes conformations, les géométries des structures les plus basses en énergie sont optimisées. Cette optimisation permet de calculer différentes propriétés importantes pour l'interprétation des données expérimentales : l'énergie libre de Gibbs et les fréquences de vibration du système.

Énergie libre de Gibbs et enthalpie

Pour déterminer les structures les plus stables en énergie et donc celles potentiellement observées dans les différents spectres expérimentaux, deux termes d'énergie sont considérés : l'énergie libre de Gibbs à 300 K ($G(300\text{ K})$) et l'enthalpie à 0 K ($H(0\text{ K})$).

Il a en effet été montré que, dans le cas d'une détente supersonique, ces deux gammes de températures sont importantes pour décrire les distributions conformationnelles observées (cf Figure 1.5). Les populations initiales, issues du chauffage initial de l'échantillon de façon thermique ou par désorption laser, peuvent être raisonnablement décrites par des équilibres boltzmanniens à haute température, typiquement la température ambiante [3, 117]. En revanche les relaxations qui ont lieu en milieu ou en fin de détente conduisent à peupler les fonds de puits de potentiel, d'où la nécessité de connaître les conformations les plus basses en énergie, in fine peuplées à basse température.

Dans le cas du dépôt en agrégats d'hélium, du fait de leur très faible température, les molécules vaporisées et déposées dans les agrégats perdent quasiment instantanément leur énergie interne et se thermalisent à la même température que l'agrégat. Les agrégats d'hélium sont donc un cas particulier où les conformations à 300 K sont figées. A priori, seule l'énergie de Gibbs à 300 K est suffisante. Cependant, pour des complexes formés dans l'agrégat, l'enthalpie peut être éventuellement pertinente.

Parmi les structures optimisées, la structure présentant l'enthalpie et/ou l'énergie libre de Gibbs la plus faible est prise comme référence. Pour chaque structure présentée, l'énergie donnée correspond à la valeur relative (ΔH et ΔG) de cette structure par rapport à la structure de référence. Il est possible qu'une conformation particulière soit la plus stable à 0 K mais pas à 300 K. L'enthalpie est déterminée en corrigeant l'énergie électronique calculée par le terme d'énergie de point zéro (ZPE). L'énergie libre de Gibbs en est déduite en y ajoutant le terme entropique et les corrections thermiques.

Fréquences de vibration

Les fréquences de vibration des différents systèmes sont calculées pour l'état fondamental au même niveau de théorie que celui utilisé pour l'optimisation des structures. Ces calculs sont réalisés dans l'approximation harmonique. Afin de tenir compte des erreurs dues à la base et à la méthode mais également de l'anharmonicité des vibrations, ces fréquences calculées sont corrigées par des facteurs d'échelle. Ces facteurs d'échelle sont

déterminés à partir de systèmes modèles dont les fréquences de vibrations expérimentales sont connues. Les valeurs expérimentales de ces systèmes sont comparées aux valeurs calculées, avec le même niveau de calcul que celui dont on veut appliquer la correction, permettant d'établir des fonctions de facteur d'échelle dépendants du mode. Ces facteurs d'échelle, sous forme de fonction affine, appliqués aux valeurs calculées permettent alors d'obtenir des résultats comparables aux valeurs expérimentales avec une erreur (précision des calculs) comprise entre 10 et 20 cm^{-1} [51]. A titre d'exemple, la détermination de la fonction du facteur d'échelle des fréquences de vibration NH et OH appliquée sur les systèmes 4(5)-méthylimidazole et de ses hydrates est représentée sur la Figure 1.12. Les fréquences de vibration présentées dans les différentes études sont toutes corrigées. L'intensité des différentes vibrations est aussi calculée, ce qui permet de tracer le spectre IR de la conformation et ainsi comparer le spectre théorique avec les spectres expérimentaux pour l'attribution des structures.

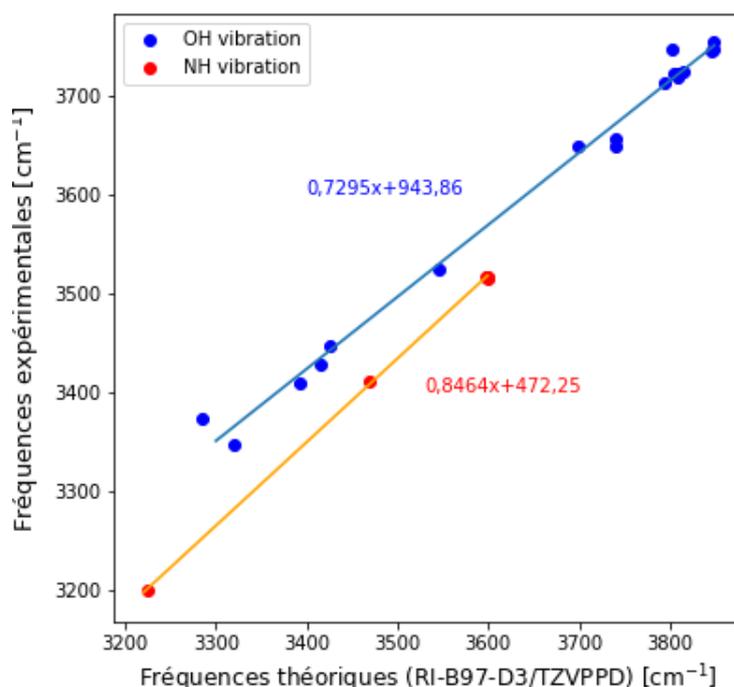


FIGURE 1.12 – Détermination des facteurs d'échelles dépendant du mode pour les fréquences de vibration NH (rouge) et OH (bleu). L'équation affine déterminée en traçant les fréquences expérimentales en fonction des fréquences calculées (au niveau RI-B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD) permet d'établir la fonction d'échelle de chacune de ces vibrations.

Chapitre 2

Structures de molécules d'intérêt biologique

LA détermination des structures des molécules est un enjeu important car il s'agit de la première étape vers la compréhension de leurs propriétés physico-chimiques. A cet effet, la spectroscopie infrarouge (IR) est un outil puissant puisque les fréquences de vibration renseignent sur l'environnement proche de l'oscillateur et donc sur la structure de la molécule [51]. Ainsi, des molécules flexibles possédant plusieurs conformères sont susceptibles d'avoir différentes fréquences de vibration caractéristiques de chaque structure [3]. Pour obtenir les informations les plus pertinentes, il faut alors sonder judicieusement les liaisons qui caractérisent ces différents conformères. Dans le cadre de cette thèse, ce sont des molécules d'intérêt biologique qui ont été étudiées et notamment des molécules possédant des liaisons NH, OH ou CO, voire plusieurs d'entre elles dans le cas des petits peptides. Or ce sont justement ces liaisons qui sont impliquées dans les interactions intramoléculaires et responsables des différents conformères. Il semble alors pertinent de sonder ces liaisons afin de déterminer les structures des molécules étudiées.

Par ailleurs, la phase gazeuse est un environnement idéal car ce milieu permet d'étudier des systèmes isolés et ainsi sonder les propriétés structurales intrinsèques de ces molécules. De plus, une comparaison directe des spectres IR obtenus en phase gazeuse peut être faite avec ceux prédits par les calculs de chimie quantique. Ces études théoriques sont une aide précieuse dans l'attribution des différentes bandes vibrationnelles. Elles permettent également d'avoir la structure complète (les vibrations sondées ne donnent que des informations locales) des différents conformères ainsi que plusieurs de leurs propriétés thermodynamiques et physico-chimiques.

Dans ce chapitre, deux études ont été réalisées. La première concerne la tautomérisation¹ de la molécule de 4(5)-méthylimidazole et la caractérisation de ses hydrates. Pour cette étude, les molécules ont été déposées dans des agrégats d'hélium afin de réaliser la

1. Des tautomères sont des isomères de constitution qui passent d'une conformation à une autre par une réaction réversible et spontanée, appelée la tautomérisation.

spectroscopie IR directement sans utiliser de chromophore UV². Pour la seconde étude, le paysage conformationnel de deux petites chaînes peptidiques a été exploré, à l'aide des techniques usuelles du groupe LUMO², dans le but d'identifier les conformations les plus stables et pouvoir ensuite sonder leur dynamique électronique (abordée dans le Chapitre 3). Ces études expérimentales ont été complétées par des calculs de chimie quantique (DFT-D) pour aider à la compréhension des données expérimentales.

L'étude réalisée en agrégat d'hélium est présentée dans un premier temps, suivie de celle sur l'étude des chaînes peptidiques en jet supersonique.

2.1 La molécule de 4(5)-méthylimidazole et ses hydrates dans des agrégats d'hélium

Parmi les vingt et un acides animés présents chez les mammifères, trois d'entre eux contiennent un composé aromatique hétérocyclique. L'histidine est l'un d'entre eux et contient le cycle imidazole. Celui-ci est composé de cinq atomes dont deux d'azote non équivalents. Le cycle imidazole a la particularité d'être à la fois donneur et accepteur de proton. En effet, sous sa forme neutre, l'imidazole présente un atome d'azote porteur d'une liaison NH et l'autre qui en est dépourvu. Ce dernier a donc une paire électronique libre. L'échange de l'atome d'hydrogène labile entre les deux atomes d'azote donne lieu à deux tautomères équivalents. Dans le cas de l'histidine, dont la chaîne latérale est un méthylimidazole (Figure 2.1), les deux tautomères ne sont plus équivalents. L'équilibre entre les différents tautomères dépend des propriétés du milieu et est décrit par la constante de tautomérisation K_T . Les deux tautomères de l'histidine, désignés par N_ϵ et N_δ sont représentés dans l'encadré *a* de la Figure 2.1.

Cette tautomérie confère à l'histidine une place particulièrement importante dans le milieu biologique car peu de molécules biologiques ont cette faculté. C'est ainsi que l'histidine est impliquée dans des mécanismes de transfert de protons [118] et est présente dans des sites actifs d'enzymes [119, 120].

La tautomérisation du cycle imidazole et de ses dérivés ont déjà fait l'objet de nombreuses études. Cependant, du fait de la difficulté à dissocier les tautomères, ces études sont principalement théoriques ou expérimentales en phase condensée [121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129]. Or le milieu entourant les molécules a une très forte influence sur l'équilibre tautomérique de ces dernières. Par exemple, il a été montré que le rapport tautomérique de l'histidine dans les protéines en solution varie significativement suivant la position de l'histidine dans une même protéine [130] ainsi qu'en fonction du pH de la solution. L'étude en phase gazeuse du comportement intrinsèque de cet équilibre tautomérique

2. La spectroscopie IR2P-1C et IR/UV sont les techniques traditionnellement utilisées dans le groupe LUMO pour obtenir des informations structurales spécifiques à un conformère particulier. Ces techniques sont difficilement utilisables si la molécule ne possède pas de chromophore UV ou si la durée de vie de l'état excité est très courte.

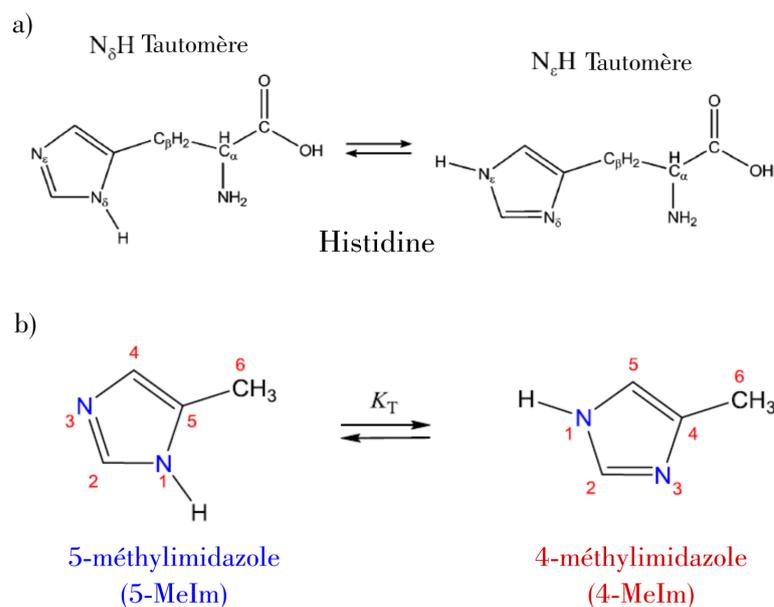


FIGURE 2.1 – a) Les deux tautomères neutres de l’histidine; b) les deux tautomères neutres du méthylimidazole (MeIm).

est donc un point clef dans la compréhension des processus biologiques.

Dans ce but, un modèle simplifié de l’histidine a été étudié en agrégat d’hélium. Il s’agit de la molécule de méthylimidazole (MeIm) qui présente deux tautomères : le 4-méthylimidazole (4-MeIm) et le 5-méthylimidazole (5-MeIm), représentés dans l’encadré *b* de la Figure 2.1. La présence des deux formes tautomériques du cycle et du groupe méthyle, mimant la présence du carbone β de l’histidine, font du MeIm un très bon modèle de l’histidine. Un autre argument en faveur de cette molécule modèle vient de son comportement en milieu biologique qui correspond à celui de l’histidine. En effet, le pKa de l’acide conjugué (forme protonée) du MeIm neutre est de 6, et donc en milieu physiologique, (pH \sim 7.4) la chaîne latérale du MeIm est neutre [131]. L’intérêt d’utiliser un tel modèle est d’obtenir une plus grande précision lors des calculs de chimie quantique (moins d’atomes que l’histidine) et de limiter les problèmes expérimentaux (mise en phase gazeuse, coût du produit/consommation, piégeage en agrégat, etc.).

L’objectif de cette étude est double :

- Le premier objectif a été de déterminer la constante de tautomérisation K_T de la molécule de 4(5)-MeIm. Dans ce but, la vibration NH a dans un premier temps été sondée afin de caractériser les deux tautomères. Puis, la constante de tautomérisation K_T a été déterminée par le rapport des surfaces des deux bandes, corrigées des forces d’oscillateur. Ici, la démarche est similaire à celle de Choi et Miller [132] qui ont caractérisé quatre tautomères de la guanine en gouttelette d’hélium.
- Le second objectif a été d’étudier le comportement du cycle imidazole lorsqu’il forme

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

un complexe avec l'eau. Les complexes MeIm-Eau ont été sondés vibrationnellement afin de caractériser les structures qu'ils forment et donc le comportement donneur-accepteur d'un proton du cycle imidazole. Ces informations sont importantes, notamment pour la compréhension de la stabilisation des structures de protéines [133].

Le dispositif expérimental Gouttelium utilisé pour cette partie est présenté dans le Chapitre 1. En plus des mesures expérimentales, des calculs de chimie quantique par DFT-D ont été réalisés, dont le principe et le niveau de calcul sont également décrits dans le Chapitre 1.

2.1.1 La tautomérisation de la molécule de 4(5)-MeIm

En raison de l'équilibre tautomérique de la molécule de 4(5)-MeIm, il est impossible de réaliser séparément la spectroscopie du 4- puis du 5-MeIm. Il est donc nécessaire de pouvoir identifier les deux formes *via* une signature vibrationnelle particulière.

Un très bon marqueur de ces deux tautomères est la vibration NH qui est plus ou moins perturbée par la présence du groupe méthyle. C'est pourquoi, la spectroscopie IR dans la région spectrale de cette vibration a été réalisée.

Des calculs de chimie quantique (DFT-D) ont été effectués avant les mesures expérimentales afin de délimiter la plage spectrale à sonder. Par ailleurs, ces calculs ont permis d'attribuer les bandes à leur tautomère respectif mais également d'obtenir les géométries les plus stables des molécules ainsi que d'autres informations comme les forces d'oscillateur. Une partie des résultats de ces calculs est présentée ci-dessous, suivi de la présentation des spectres IR du 4(5)-MeIm.

A - Géométries et fréquences calculées

Les deux structures optimisées du 4(5)-MeIm sont représentées sur la Figure 2.2. Cette molécule appartient au groupe de symétrie C_s . Le plan de symétrie est constitué du cycle avec ses hydrogènes ainsi que du carbone du groupe méthyle avec un des ses atomes d'hydrogène. Les deux autres atomes de ce groupe se trouvent de part et d'autre du plan. Les deux structures sont très proches en énergie ($\Delta E=2,0$ kJ.mol⁻¹ corrigée de la ZPE). Le 4-MeIm est le tautomère le plus stable. Les distances entre atomes voisins varient d'une molécule à l'autre, puisque les formules mésomères sont différentes, mais suffisamment peu pour que les molécules soient presque superposables, à la position de l'hydrogène près. Les distances inter-atomiques de deux formes sont indiquées sur la Figure 2.2. Ces calculs sont en accord avec ceux réalisés par Li *et al.* en phase gazeuse [134].

Les calculs ont également permis de déterminer la fréquence harmonique de la vibration NH des deux tautomères. Un facteur correctif a été appliqué à la fréquence calculée pour tenir compte de l'anharmonicité et des erreurs systématiques du niveau de théorie utilisé. Celui-ci est déterminé à partir d'un jeu de fréquences appartenant à d'autres molécules où la vibration N-H est équivalente à celle du MeIm, comme la molécule de l'imidazole [135, 136, 137], et est connue expérimentalement (cf Figure 1.12 du Chapitre 1).

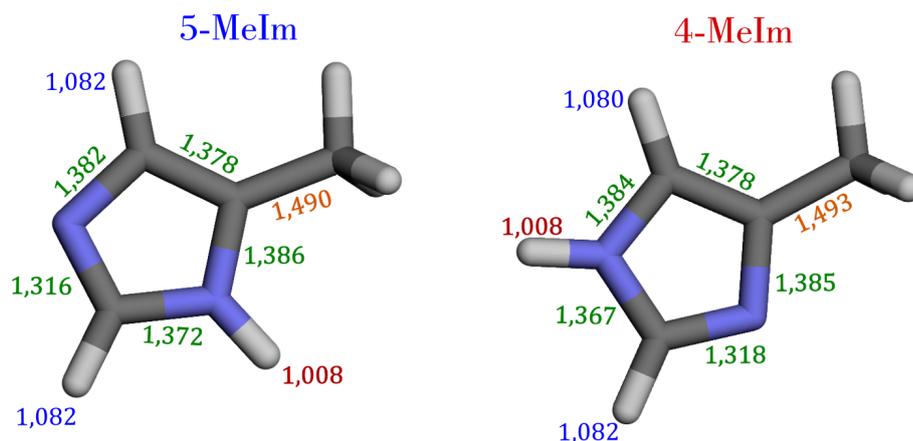


FIGURE 2.2 – Structures du 5- et du 4-MeIm optimisées par les calculs de DFT-D (niveau de calcul RI-B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD). Les distances inter-atomiques sont indiquées pour les deux structures en Å : en vert les distances entre les atomes du cycle, en orange la distance C-CH₃, en bleue les liaisons C-H et en rouge la liaisons N-H.

Les fréquences corrigées sont alors de **3517 cm⁻¹** pour le 4-MeIm et de **3510 cm⁻¹** pour le 5-MeIm. Il faut donc s'attendre à une différence d'environ 10 cm⁻¹ entre les deux tautomères. Ces fréquences calculées et corrigées sont ensuite confrontées aux valeurs expérimentales.

Par ailleurs, le calcul des fréquences a également permis de calculer l'enthalpie libre à 298 K et à 316 K. Cette dernière correspond à la température d'évaporation du MeIm (43°C) qui a été utilisée lors de l'acquisition des spectres permettant la détermination de la constante de tautomérisation. La différence d'enthalpie libre des deux conformères à ces deux températures est : $\Delta G(298K) = 2,36 \text{ kJ.mol}^{-1}$ et $\Delta G(316K) = 2,42 \text{ kJ.mol}^{-1}$, où $\Delta G = G(5\text{-MeIm}) - G(4\text{-MeIm})$. Ces valeurs sont importantes car elles permettent de calculer la constante de tautomérisation, comme cela est explicité plus bas. C'est la raison pour laquelle, il est apparu nécessaire de tester la robustesse des valeurs de ces enthalpies libres. Ainsi, des calculs de chimie quantique supplémentaires ont été réalisés avec différents niveaux de sophistication et différentes bases : CCSD(T)/DFT-D TZVPPD ; Full-CCSD(T)/QZVPPD//CCSD(T)/TZVPPD, etc... (voir le tableau de l'Annexe A). La méthode CCSD(T) est une des meilleures méthodes pour décrire l'état fondamental et elle a été utilisée avec plusieurs bases, dont une très grande, si bien qu'il semble difficile d'obtenir de meilleurs résultats. Tous les calculs donnent les mêmes valeurs d'enthalpie libre à 0,1 kJ.mol⁻¹ près (valeurs comprises entre 2,43 et 2,56. kJ.mol⁻¹). Ce résultat est assez cohérent avec le fait qu'il s'agisse d'un calcul sur des molécules n'ayant que des liaisons covalentes (pas de liaison intramoléculaire) et qui ont au pire, quelques doubles liaisons. Il faut également ajouter que ces deux molécules sont très similaires et qu'en conséquence, il est légitime de s'attendre aux mêmes *erreurs* de calculs dans les deux cas. Comme c'est la différence des enthalpies libres qui est intéressante, ces erreurs vont,

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

en première approximation, se compenser. Ainsi la valeur de la différence d'enthalpie libre présentée ci-dessus paraît être une valeur fiable et au vu des arguments développés précédemment, il est raisonnable d'estimer l'incertitude de ces calculs à $\pm 2 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

B - Spectres IR du 4(5)-MeIm en agrégat d'hélium

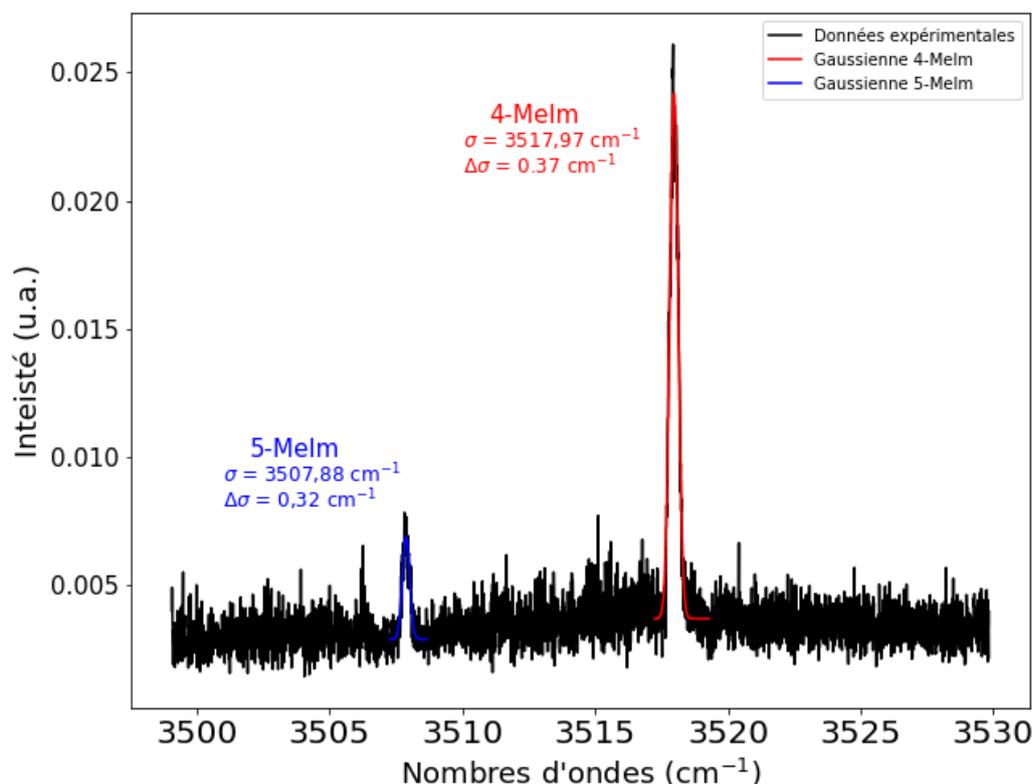


FIGURE 2.3 – Spectre IR du 4(5)-MeIm dans la région spectrale de la vibration NH. En rouge à 3518 cm^{-1} , le 4-MeIm. En bleu à 3508 cm^{-1} , le 5-MeIm. Les deux courbes de couleur correspondent à deux ajustements des bandes.

Les calculs de chimie quantique ont permis de délimiter une zone de recherche pour le signal du 4(5)-MeIm. La région entre 3500 et 3530 cm^{-1} a donc été sondée. Le spectre correspondant à cette zone est représenté sur la Figure 2.3. Les conditions d'acquisition de ce spectre sont les suivantes : pression génératrice du gaz d'hélium $P_0=10$ bars, température génératrice du gaz d'hélium $T_0=10,8$ K. La température du four permettant de mettre en phase gazeuse le MeIm est de 43°C , température optimale dans les conditions d'utilisation du dispositif expérimental pour ne déposer, en moyenne, qu'une seule molécule de MeIm par agrégat.

Dans la région spectrale de la Figure 2.3, deux bandes vibrationnelles sont observées. Elles ont été ajustées par deux gaussiennes afin de déterminer plus précisément leur position et leur largeur à mi-hauteur. La bande la plus intense a son maximum à $3718,97 \text{ cm}^{-1}$ et une largeur à mi-hauteur de $0,37 \text{ cm}^{-1}$. La seconde bande, moins intense et plus dans le rouge, a son maximum à $3507,88 \text{ cm}^{-1}$ et une largeur à mi-hauteur de $0,32 \text{ cm}^{-1}$.

Grâce aux calculs de chimie théorique, l'attribution de ces deux bandes vibrationnelles est possible sans ambiguïté. La vibration NH du 4-MeIm correspond à la bande à $3717,97 \text{ cm}^{-1}$ et celle du 5-MeIm à la bande à $3507,88 \text{ cm}^{-1}$.

Il est intéressant de noter que la vibration NH du 4-MeIm est très proche de celle de l'imidazole, qui a également été étudié en agrégat d'hélium [135]. La bande NH de l'imidazole a été trouvée à $3517,8 \text{ cm}^{-1}$. Ce résultat suggère, dans le cas du 4-MeIm, une faible incidence de la méthylation sur le cortège électronique du cycle.

Zoom sur le 4-MeIm

La bande du 4-MeIm a également été acquise avec un pas d'échantillonnage du laser plus petit que celui utilisé pour l'acquisition du spectre de la Figure 2.3. Ainsi, celui de la Figure 2.4 est d'environ $2.10^{-3} \text{ cm}^{-1}$. Comme la résolution spectrale du laser est de $\Delta\sigma_{laser} \sim 3,3.10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ (1 MHz), il serait possible de diminuer encore ce pas d'échantillonnage. Cependant, dans le cas présent, cela ne présenterait pas d'intérêt (le contour rotationnel observé ne pourra pas être résolu, comme expliqué plus bas) et prendrait beaucoup trop de temps (environ 2h30 pour le spectre de la Figure 2.4). Les conditions d'acquisition de ce spectre sont $P_0=12$ bars, $T_0=10,7$ K et $T_{four}=24^\circ\text{C}$.

Cette bande vibrationnelle est composée de trois sous-structures ressemblant à un contour rotationnel du type P, Q et R ($\Delta J = -1, 0$ et 1). Afin de confirmer cette hypothèse, une simulation de la structure rotationnelle de la transition vibrationnelle $v=0 \rightarrow v=1$ du mode ν_1 du 4-MeIm (vibration NH), a été réalisée à l'aide du logiciel Pgopher. Pour une telle simulation, il est nécessaire de fournir au logiciel certaines propriétés de la molécule comme :

- le type de toupie (asymétrique),
- la symétrie de la molécule (C_s),
- l'axe d'inertie principal (A ; cf Figure 2.5),
- l'axe d'inertie perpendiculaire au plan σ_h (C ; cf Figure 2.5),
- la température rotationnelle (0,37 K, température de l'agrégat),
- les constantes rotationnelles de la molécule (données dans le Tableau 2.1),
- la projection du moment de transition de la vibration NH sur les trois axes de rotation de la molécule ($\mu_a \propto 0.85 \text{ D}$ et $\mu_b \propto 0.52 \text{ D}$). Ce point permet de déterminer le type de transition et donc les règles de sélection. Ici ce sont des transitions de type a et b, ce qui donne : $\Delta J=0, \pm 1$ et $\Delta M=0, \pm 1$, avec les règles pour K :
Type a : $\Delta K_a=0$ ($\pm 2, \pm 4, \dots$) et $\Delta K_c= \pm 1$ ($\pm 3, \pm 5, \dots$)

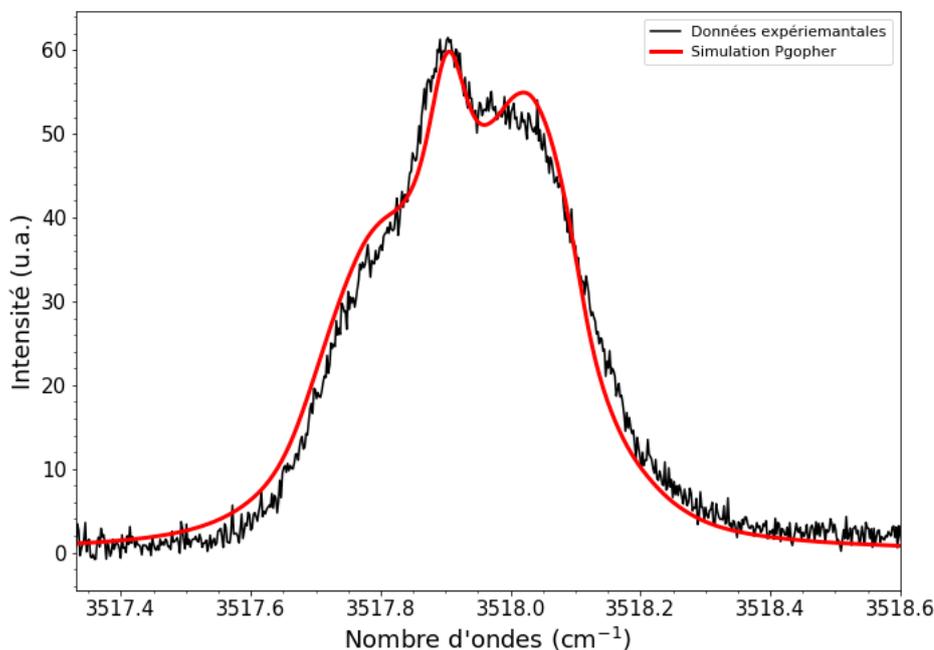


FIGURE 2.4 – Bande vibrationnelle NH du 4-MeIm. En noir, les données expérimentales. En rouge, une simulation du contour rotationnel par le logiciel Pgopher avec les constantes rotationnelles indiquées dans la colonne Pgopher du Tableau 2.1.

Type b : $\Delta K_a = 1$ ($\pm 3, \pm 5, \dots$) et $\Delta K_c = \pm 1$ ($\pm 3, \pm 5, \dots$)

Les transitions entre parenthèses sont très faibles.

- la position de la transition vibrationnelle ($3517,903 \text{ cm}^{-1}$),
- la durée de vie de l'état vibrationnel excité, qui est réduite à cause de la redistribution d'énergie vibrationnelle intramoléculaire (IVR), en particulier grâce à la présence de modes de basse fréquence (64 ps qui est une valeur ajustée),
- une fonction d'appareil correspondant à l'échantillonnage du spectre par le laser (pas de $2 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$).

Un premier jeu de constantes rotationnelles de la molécule a été obtenu à partir des calculs de DFT-D. Les valeurs sont présentées dans le Tableau 2.1 ; pour la définition des axes se référer à la Figure 2.5. Cependant, le spectre de la Figure 2.4 ayant été acquis en gouttelette d'hélium, les constantes rotationnelles calculées ne peuvent pas être utilisées telles que dans la simulation comme cela est détaillé juste après. Le travail consiste en réalité à reproduire au mieux le spectre expérimental en ajustant ces constantes de rotation mais aussi les constantes de distorsion centrifuge, jusqu'à obtenir une simulation qui décrit les données expérimentales. Néanmoins, comme le spectre ne présente qu'un contour rotationnel, il est difficile de déterminer ces constantes avec une très grande

précision. Des simplifications sont nécessaires : les constantes rotationnelles de l'état initial et de l'état vibrationnellement excité sont ainsi supposées être identiques.

Constantes rotationnelles [cm ⁻¹]	Molécule libre Calculs DFT-D	4-MeIm dans(He) _n ajustées via PGOPHER
A	0,3	0,034
B	0,11	0,018
C	0,085	0,015
Δ_J	0	1.10^{-5}
Δ_{JK}	0	1.10^{-5}
Δ_K	0	1.10^{-5}
δ_J	0	1.10^{-5}
δ_K	0	1.10^{-5}

TABLE 2.1 – Constantes rotationnelles en cm⁻¹ du 4-MeIm. Les valeurs théoriques correspondent aux valeurs calculées par DFT-D (niveau de calcul RI-B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD). Les valeurs utilisées pour la simulation du contour rotationnel de la bande NH de la Figure 2.4 correspondent à la colonne Pgopher. Se référer à la Figure 2.5 pour la définition des axes.

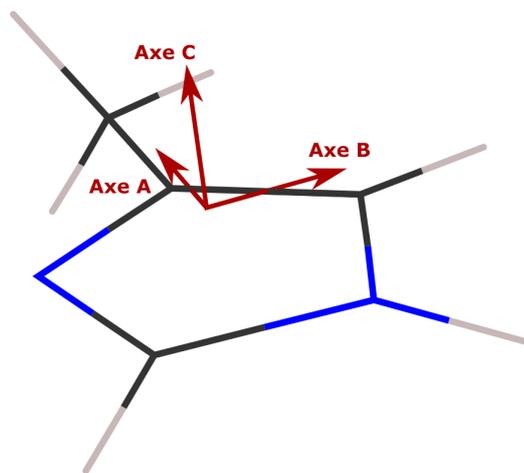


FIGURE 2.5 – Les trois axes principaux d'inertie du 4-MeIm.

Une première simulation du contour rotationnel a donc été réalisée avec le jeu de constantes rotationnelles théoriques issu des calculs de DFT-D. Mais, comme attendu, la simulation obtenue n'est pas du tout en accord avec les données expérimentales, notamment en raison de la présence de plusieurs bandes rotationnelles distinctes. Afin d'obtenir la simulation de la Figure 2.4, correspondant à la courbe rouge, les valeurs des constantes de rotation ont été fortement modifiées par rapport aux valeurs théoriques et correspondent à celles de la troisième colonne du Tableau 2.1. Le choix des constantes utilisées pour la simulation, décrit dans le Tableau 2.1, permet de reproduire l'essentiel des observations. Les intensités relatives des trois structures et leur position sont en accord qualitatif

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

avec les valeurs expérimentales. Cette simulation confirme qu'il s'agit bien d'un contour rotationnel P, Q, R. La largeur de la bande R simulée (autour de $3518,04 \text{ cm}^{-1}$) est a priori sous-estimée, tout comme celle de la bande Q, alors que celle de la bande P (autour de $3517,64 \text{ cm}^{-1}$) est elle légèrement surestimée. Il est à noter qu'en plus de la diminution des constantes rotationnelles, les constantes de distorsion centrifuge ont été introduites et sont importantes. Cette simulation pourrait être améliorée en relâchant la contrainte sur le choix des constantes (identiques entre le niveau fondamental et vibrationnellement excité) mais cela n'a pas été fait car la part d'arbitraire dans le choix de nombreuses constantes deviendrait trop importante.

A ce stade de la simulation, il faut donner quelques précisions sur la spectroscopie rovibrationnelle réalisée en agrégat d'hélium.

Bien que les gouttelettes d'hélium soient superfluides, la rotation des molécules en leur sein est perturbée. En effet, Kwon *et al.* [138, 139, 140] ont décrit la gouttelette d'hélium avec son dopant grâce à des calculs Monte Carlo d'intégrales de chemin (*path integral Monte Carlo calculations*). De ces simulations, il apparaît que la rotation libre de la molécule est préservée car le couplage des moments angulaires de rotation entre le dopant et l'hélium superfluide n'est pas très efficace. Cela est intuitivement cohérent avec le caractère superfluide de l'environnement qui va s'adapter à ce qu'il perçoit comme une perturbation. Cependant, selon un point de vue de mécanique classique, une des interactions molécule-agrégat provient de la composante *non-superfluide* de l'hélium dans la gouttelette, qui forme comme une couche de solvation autour de la molécule. Cette couche de solvation est entraînée dans la rotation de la molécule. En conséquence, tout semble se passer comme si les moments d'inertie augmentaient et qu'il faille diminuer les constantes rotationnelles pour tenir compte de l'effet de solvation. Il faut alors utiliser des constantes rotationnelles effectives plus petites que celles de la molécule libre pour simuler un spectre rotationnel acquis en agrégat d'hélium. Par exemple, un tel effet a été observé, entre autre, pour la molécule de SF_6 [80] où des calculs indiquent que huit atomes d'hélium seraient en rotation avec la molécule. Il existe deux cas limites de comportement observé [24, 138]. Le premier correspond à une rotation moléculaire *lente*, $B_{\text{libre}} < 0.5 \text{ cm}^{-1}$, lors de laquelle la composante non superfluide peut suivre de façon adiabatique la molécule. Dans ce cas les constantes rotationnelles sont divisées par 2 ou 3, en général. Par contre, pour une rotation plus *rapide*, $B_{\text{libre}} > 1 \text{ cm}^{-1}$, la composante non superfluide a plus de mal à suivre la rotation de la molécule et dans ce cas, les constantes effectives de rotation ne sont que légèrement plus petites que celles de la molécule isolée.

D'autres phénomènes issus de l'interaction molécule-agrégat peuvent intervenir. Il peut être mentionné l'anisotropie du potentiel d'interaction molécule-agrégat qui intervient également dans la modification de ces constantes mais dont l'influence est beaucoup plus difficile à prévoir [138]. Également, lorsque le niveau rotationnel augmente, il est possible d'observer un couplage entre ces niveaux rotationnels plus élevés et les quantum d'excita-

tion de l'hélium superfluide à savoir les rotons ³ et les maxons ⁴. Ce couplage se traduit par un élargissement des bandes rotationnelles.

Il faut remarquer par ailleurs, que l'utilisation de ces constantes effectives, pour tenir compte de l'interaction dopant-agrégat, indique que l'opérateur du moment total \hat{J} de la molécule ne commute plus avec l'hamiltonien de cette dernière et donc que le nombre quantique J n'est plus un bon nombre quantique. Il est d'usage de continuer à utiliser J pour identifier les transitions rotationnelles, à défaut de pouvoir faire mieux.

Pour résumer, même si la transition rotationnelle obtenue en agrégat d'hélium est proche de celle obtenue en phase gazeuse ($\Delta J=0, \pm 1$), le spectre lui correspondant peut être différent de celui observé en phase gazeuse en raison de l'interaction agrégat superfluide-molécule.

Ainsi, pour simuler le contour rovibrationnel observé expérimentalement, il a été nécessaire d'utiliser des valeurs des constantes de rotation effectives plus petites que celles de la molécule libre. La constante de rotation de l'axe A a été divisée par un facteur 9, celle de l'axe B par un facteur 6 et celle de l'axe C par un facteur 5,5. Ces facteurs sont nettement supérieurs à ceux obtenus usuellement. Cependant, la plupart des études précédentes de spectroscopie infrarouge portaient sur de petites molécules voire des molécules linéaires. La molécule de MeIm est plus grosse et surtout, la rotation autour de l'axe A (reliant le groupe méthyle au cycle) entraîne forcément beaucoup d'atomes d'hélium. La toupie étant de type a, cela doit avoir un impact important sur les constantes rotationnelles.

Comme indiqué précédemment, cette simulation confirme qu'il s'agit bien d'un contour rotationnel P, Q, R. Le contour à $3517,7 \text{ cm}^{-1}$ est dû à la présence de branches P ($\Delta J = -1$), celle à $3517,9 \text{ cm}^{-1}$ à la branche Q ($\Delta J = 0$) et la dernière à $3518,0 \text{ cm}^{-1}$ à la branche R ($\Delta J = 1$). Le spectre présenté sur la Figure 2.4 ressemble très fortement à celui de la transition rovibrationnelle NH de l'imidazole enregistré en agrégat d'hélium par Choi et Miller [135]. Cependant, les branches P, Q et R sont un peu mieux séparées, ce qui semble confirmer l'importance de la rotation selon l'axe a et donc l'influence du groupe méthyle sur la rotation en agrégat d'hélium de cette molécule.

Zoom sur le 5-MeIm

La bande vibrationnelle NH de la molécule de 5-MeIm a également été mesurée avec un pas d'échantillonnage plus fin pour observer l'éventuelle existence d'un contour rotationnel. Le spectre de la Figure 2.6 a été acquis dans les mêmes conditions que celui de la Figure 2.4.

Contrairement à la molécule de 4-MeIm, la bande vibrationnelle NH du 5-MeIm ne

3. quasiparticule dont l'impulsion correspond au minimum local d'énergie de la courbe de dispersion de l'hélium superfluide [73, 141]

4. quasiparticule dont l'impulsion correspond au maximum local d'énergie de la courbe de dispersion de l'hélium superfluide [73, 141]

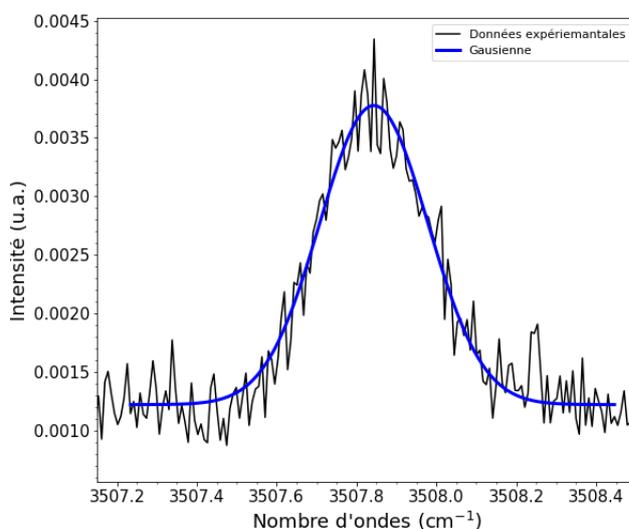


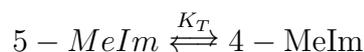
FIGURE 2.6 – Bande vibrationnelle NH de la molécule de 5-MeIm. Les données expérimentales en noir ont été ajustées par une fonction gaussienne représentée en bleu.

présente pas de structure. Cette bande peut être ajustée par une fonction gaussienne centrée en $3507,8 \text{ cm}^{-1}$ et de $0,325 \text{ cm}^{-1}$ de largeur à mi-hauteur (courbe bleue). Il est fort probable que la bande vibrationnelle NH de la molécule de 5-MeIm présente un contour rotationnel équivalent à celui de son tautomère. Néanmoins, le faible niveau de signal ne permet pas de le mettre en évidence.

Il pourrait être intéressant d'accroître le signal du tautomère 5-MeIm en augmentant le nombre d'agrégats dopés en levant pour cela la température du four. Mais cette température est limitée à environ 50°C car elle correspond au point de fusion de la molécule de MeIm. Par ailleurs, augmenter la température du four favoriserait la formation de multimères au détriment du monomère car la technique de dépôt par capture collisionnelle suit une statistique de Poisson⁵. Le signal observé dans le Graphe 2.6, qui correspond au monomère, serait alors moins intense.

C - Détermination de la constante de tautomérisation K_T

La constante de tautomérisation K_T , qui décrit l'équilibre tautomérique suivant :



5. Cela implique que la probabilité de capturer k molécules d'une même espèce suit la loi : $P_k(\langle m \rangle) = \frac{\langle m \rangle^k}{k!} e^{-\langle m \rangle}$ où $\langle m \rangle$ est le nombre moyen de molécules déposé dans l'agrégat. $\langle m \rangle$ dépend de la densité de molécules présente dans la cellule de dépôt [24, 142, 143].

est définie par :

$$K_T = \frac{[4 - MeIm]}{[5 - MeIm]} \quad (2.1)$$

où [4-MeIm] et [5-MeIm] représente les populations des deux tautomères. La constante de tautomérisation est également définie par :

$$K_T = \exp\left(\frac{\Delta G}{RT}\right) \quad (2.2)$$

où $\Delta G = G(5\text{-MeIm}) - G(4\text{-MeIm}) > 0$ correspond à la différence d'enthalpie libre entre la molécule de 5-MeIm et celle de 4-MeIm (en J.mol^{-1}), R est la constante des gaz parfait (en $\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) et T est la température (en K).

Cette constante n'a encore jamais été déterminée expérimentalement en phase gazeuse pour la molécule de 4(5)-MeIm en raison des difficultés expérimentales que cela représente. Cette constante a cependant déjà été mesurée en phase liquide. La première mesure en solution a été réalisée par Pyman [144] en 1922 permettant de l'évaluer à 0,45. D'autres études en phase liquide ont permis de mesurer K_T égale à 1,2 [121], 1,5 en solution aqueuse avec un pH=11 [145] et 0,8 dans des solutions non aqueuses [146]. Par ailleurs, des calculs en phase liquide ont permis d'estimer cette constante entre 0,14 et 2,38 en fonction du niveau de calcul utilisé [147]. Li *et al.* ont plus tard refait des calculs avec une base plus grande pour le calcul des énergies ainsi qu'un modèle différent pour prendre en compte la présence de l'eau et ont trouvé une valeur de K_T variant entre 1,69 et 3,46 [148]. Ces différents résultats montrent bien la difficulté à estimer cette constante de tautomérisation qui dépend fortement du pH de la solution et donc de l'environnement.

Li *et al.* ont également réalisé des calculs de la constante de tautomérisation du 4(5)-MeIm en phase gazeuse [134]. Ils ont pu estimer que K_T est comprise entre 1,5 et 3,4. En phase gazeuse, la constante de tautomérisation semble davantage favoriser le 4-MeIm par rapport à la solution. L'explication proposée au fait que le 5-MeIm serait le tautomère favorisé en solution est que la valeur du moment dipolaire de ce tautomère est plus importante que celle du 4-MeIm. Ainsi ses interactions avec un solvant tel que l'eau le stabiliserait.

Valeur théorique Avec les valeurs d'enthalpie libre obtenues par les différents calculs de chimie quantique réalisés pour cette étude (niveau B97-D3(BJabc)/def-2-TZVPPD et ceux indiqués dans l'Annexe A), il est possible de déterminer une valeur théorique de la constante de tautomérisation, grâce à l'expression 2.2, à 298 K mais également à 316 K (43°C). Les valeurs calculées au niveau B97-D3(BJabc)/def-2-TZVPPD, sont alors :

$$K_T(298 \text{ K}) = 2,6 \quad (2.3)$$

$$K_T(316 \text{ K}) = 2,5 \quad (\Delta G(316 \text{ K}) = 2,4 \text{ kJ.mol}^{-1}) \quad (2.4)$$

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

Le calcul de la constante de tautomérisation en phase gazeuse dépend très fortement du niveau de calcul, comme l'attestent les résultats de Li (réalisés au niveau MP2/6-31G* et DFT/BLYP/6-31G* principalement) [134]. Mais, les calculs réalisés dans cette étude sont plus précis que les leurs en raison du niveau de calcul utilisé (DFT-D) plus élevé qui prend en compte la dispersion et l'utilisation d'une fonctionnelle (B97-D) et d'une base (def2-TZVPPD) adaptées pour décrire de tels systèmes. De plus, comme cela est décrit dans le paragraphe 2.1.1, d'autres méthodes et d'autres bases plus précises ont été utilisées pour réaliser le même calcul. Il s'agissait de vérifier la validité des valeurs d'enthalpies libres obtenues (et par conséquent celles de K_T). Une valeur moyenne de la différence d'enthalpie libre de 2,5 kJ.mol⁻¹ a été obtenue avec une incertitude de ± 2 kJ.mol⁻¹ pour l'ensemble des calculs, validant ainsi la valeur de K_T à 43°C.

Ces calculs prédisent qu'à l'équilibre thermodynamique, la population du 4-MeIm est trouvée majoritaire sur le 5-MeIm ($\Delta G > 0$). Il y aurait environ deux fois plus de 4-MeIm que de 5-MeIm à 43°C.

Valeur expérimentale en phase gazeuse La mesure de la constante de tautomérisation du 4(5)-MeIm sur agrégat d'hélium est fondée sur l'hypothèse de la trempe. En effet, les agrégats étant très froids (0,37 K), lorsque la molécule est déposée dans l'agrégat, il y a refroidissement quasi-instantané des degrés de liberté de la molécule. La molécule perd alors son énergie interne et est immédiatement piégée dans un fond de puits de potentiel. La molécule n'a plus l'énergie suffisante pour explorer sa surface de potentiel et changer de minimum. Ainsi, la population entre le 4- et le 5-MeIm est supposée se figer directement lors du dépôt en agrégat d'hélium et représente alors la population de ces molécules à la température d'évaporation (43°C).

Pour déterminer expérimentalement la valeur en phase gazeuse de la constante de tautomérisation K_T , les données du Graphe 2.3 ont été utilisées. La constante de tautomérisation est définie comme étant le rapport de la population du 4-MeIm sur celle du 5-MeIm (Équation 2.1). Or, les aires des deux bandes vibrationnelles du MeIm, pondérées par la force d'oscillateur de la transition considérée pour chaque tautomère, sont proportionnelles à ces populations. Ainsi, l'expression 2.1 peut être réécrite par :

$$K_T = \frac{\mathcal{A}(4 - MeIm) FO_{5MeIm}}{\mathcal{A}(5 - MeIm) FO_{4MeIm}} \quad (2.5)$$

où FO sont les forces d'oscillateur déterminées par les calculs de DFT-D.

La valeur expérimentale ainsi trouvée est :

$$\boxed{K_T(43^\circ C) = 5,3 \pm 0,8} \quad (2.6)$$

Cette valeur montre, comme l'avaient suggéré les calculs de Li [134] et les calculs de DFT-D de cette étude, qu'en phase gazeuse, le 4-MeIm est le conformère prédominant. Cependant, la valeur expérimentale est deux fois plus grande que la valeur théorique.

A partir de la valeur expérimentale de K_T , il est possible de déterminer la valeur de ΔG d'après la relation 2.2. Ainsi, il est trouvé qu'expérimentalement :

$$\boxed{\Delta G(43^\circ C = 316 K) = 4,4 \pm 0,4 \text{ kJ.mol}^{-1}} \quad (2.7)$$

D'après les considérations sur l'exactitude des calculs sur ΔG , cette valeur expérimentale est compatible avec la borne supérieure de l'encadrement théorique de ΔG à 316 K. Cependant, elle est tout de même très éloignée (deux fois plus grande) de la valeur convergée commune aux différents calculs. Cet écart est surprenant. Il semble donc pertinent de chercher à comprendre son origine.

D - Discussion

Une possibilité pour expliquer cet écart serait que les populations tautomériques en agrégats ne reflètent pas les populations de la phase gazeuse avant piégeage. En effet l'énergie interne des molécules pourrait conduire à l'isomérisation lors du piégeage. Pour tester cette hypothèse, des calculs de chimie ont été réalisés dans le but de déterminer la hauteur de la barrière à l'isomérisation, en supposant négligeable l'effet de l'agrégat sur celle-ci. Pour cela, il a été nécessaire de déterminer l'état de transition entre les deux conformations, impliqué lors du processus d'isomérisation. Des calculs de minimisation sous contrainte des structures, qui font suivre une coordonnée réactionnelle connectant les deux isomères, ont ainsi été réalisés. Le principe des calculs et les résultats sont donnés dans l'Annexe B. Rapidement, il s'agit de calculs CASSCF (Complete Active Space Self-Consistent Field [149, 150]) complétés pour prendre en compte la corrélation électronique statique par des calculs RS2C (Multireference Rayleigh Schrödinger Perturbation Theory [151]), par des calculs MRCI (Multiconfiguration reference internally contracted configuration interaction [152, 153]) et par des calculs *closed shell* CCSD(T) [154]. Les géométries des structures ont été au préalable optimisées au niveau CAS(4,4)/aug-cc-pVDZ [155]. Les résultats de ces calculs (Figure B.4 de l'Annexe B) montrent que l'hydrogène labile doit passer au-dessus du plan moléculaire et former un intermédiaire réactionnel haut en énergie (plus de 2 eV d'énergie potentiel au-dessus des 5- et 4-MeIm) pour que l'isomérisation ait lieu dans le MeIm isolé. Ce résultat exclut ainsi que l'isomérisation puisse avoir lieu lors du piégeage dans les agrégats.

Il en résulte alors que le rapport d'abondance mesuré pourrait plutôt refléter les populations avant le piégeage, mais de populations hors équilibre thermodynamique en phase gazeuse. Cela pourrait être les conséquences de populations initiales différentes dans le solide et d'un équilibre en phase gazeuse trop long à être atteint durant l'expérience.

Pour conclure, ces expériences, aidées de calculs de chimie quantique, ont permis de caractériser les deux tautomères du MeIm. Les valeurs expérimentales et théoriques de la constante de tautomérisation sont compatibles puisque leurs barres d'erreurs respectives se chevauchent. Cependant les valeurs moyennes sont dans un rapport légèrement

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

supérieur à 2, ce qui est relativement surprenant. Ce facteur peut s'interpréter par le fait que l'échantillon pourrait être produit hors équilibre tautomérique ; ce dernier étant long à s'établir en phase gazeuse, ce que ces mesures pourraient refléter. Pour valider ou non cette hypothèse, il aurait été intéressant de vaporiser le MeIm à plus haute température. En effet, cela aurait favorisé les collisions multi-corps au sein de la cellule (dans le four) ce qui aurait permis de tendre plus rapidement vers l'équilibre tautomérique. Malheureusement, la plage de température accessible (comprise entre la température ambiante et 50°C pour éviter l'altération du MeIm) n'aurait pas été suffisante pour augmenter de manière significative les collisions multi-corps et tendre vers l'équilibre tautomérique. Une autre alternative aurait été d'utiliser la désorption laser pour mettre en phase gazeuse le MeIm car cette technique devrait permettre de fournir au MeIm l'énergie nécessaire pour l'isomérisation et ainsi de retrouver l'équilibre tautomérique. Le refroidissement des molécules dans les agrégats d'hélium permettrait ensuite de figer cet équilibre. Mais pour des raisons techniques, cela n'est pas possible avec Gouttelium.

2.1.2 Les complexes 4(5)-MeIm-Eau

Comme indiqué ci-dessus, le passage du 5- au 4-MeIm isolé se produit *via* un intermédiaire et des états de transition situés à plus de 2 eV. Cela rend la tautomérisation de cette molécule isolée impossible. Par contre, en phase liquide elle est possible car elle fait intervenir un atome d'hydrogène extérieur à la molécule. Il est donc naturel d'aborder l'étude de la tautomérisation en introduisant de manière contrôlée un environnement permettant l'apparition de ce processus. Ainsi, l'idée est de générer le complexe MeIm-Eau et d'observer l'influence de la molécule d'eau sur la tautomérisation. La première étape de cette étude est donc de déterminer les différents complexes MeIm-Eau qu'il est possible de former. Puis dans un second temps, l'étude du processus en lui-même peut être abordé. Malheureusement, cette étude de la tautomérisation n'a pas pu être réalisée à cause d'un problème technique et seule l'étude des différents complexes est présentée dans ce qui suit.

Comme pour la partie 2.1.1, les complexes MeIm-Eau ont été sondés vibrationnellement en agrégat d'hélium afin de déterminer les structures de ces différents hydrates. Dans ce but, les vibrations NH et OH ont été excitées car elles sont révélatrices des interactions existant dans le complexe et permettent donc de comprendre comment l'eau se place vis-à-vis de la molécule et interagit avec les sites donneurs et accepteurs du cycle imidazole. Des calculs de chimie quantique ont permis de déterminer les complexes les plus stables ainsi que leurs fréquences de vibration. L'attribution des bandes vibrationnelles sondées repose sur les résultats de ces calculs. Les résultats des calculs sont présentés dans un premier temps. Puis les différentes bandes expérimentales acquises sont exposées, suivies d'une discussion sur l'attribution de ces bandes vibrationnelles.

A - Géométries et fréquences des structures calculées

Plusieurs calculs de la géométrie optimisée du complexe MeIm-Eau ont été réalisés en positionnant l'eau sur différents sites du MeIm (au-dessus du cycle par exemple). Mais les quatre structures les plus stables correspondent à ce qui est attendu de la part d'une molécule qui est à la fois donneur et accepteur d'un atome d'hydrogène. Il y a deux possibilités pour chacun des deux tautomères :

- soit l'atome d'hydrogène du MeIm, qui est lié à l'atome d'azote, pointe vers l'atome d'oxygène de l'eau (liaison $\text{NH}\cdots\text{O}$) : le complexe MeIm-eau est dit Wa (pour *Water acceptor*),
- soit un des atomes d'hydrogène de l'eau pointe vers l'atome d'azote *libre* du MeIm (liaison $\text{OH}\cdots\text{N}$) : le complexe MeIm-eau est dit Wd (pour *Water donor*).

Il est à noter que ces complexes Wa et Wd sont les structures observées pour les complexes Imidazole-Eau [135].

Les quatre structures les plus stables de ces complexes sont représentées sur la Figure 2.7. Pour un même type de complexe (Wa ou Wd), l'eau semble se positionner de la même manière, que ce soit pour le 4- ou le 5-MeIm. Dans le cas des complexes avec l'eau donneur (Wd), le complexe est stabilisé par la liaison $\text{OH}\cdots\text{N}$ qui est quasiment dans le plan du cycle imidazole. La liaison OH libre est proche de la normale au plan du cycle. Cette géométrie est très proche de celle trouvée pour un des complexes Imidazole-Eau [135]. Pour les complexes où l'eau est accepteur (Wa), l'atome d'oxygène est dans le plan du cycle. Les deux atomes d'hydrogène sont orientés de façon à s'éloigner le plus possible du groupe méthyle. L'axe de rotation C_2 de la molécule d'eau n'est donc pas parallèle à la liaison NH contrairement à ce qui a été observé pour le complexe Eau-Imidazole (Wa) [135]. Cela montre que pour les complexes Wa, la présence du groupe méthyle à une influence plus importante que dans le cas des complexes Wd.

Le Tableau 2.2 regroupe les énergies relatives des différents complexes. Les valeurs de ces énergies confirment ce qui vient d'être remarqué, à savoir que les complexes les plus stables sont les formes MeIm-Wd. Parmi ces deux derniers, le complexe le plus stable est le complexe 4-MeIm-Wd. Enfin, les complexes avec la molécule de 4-MeIm sont plus stables que leurs homologues de même nature ayant la molécule de 5-MeIm.

Les calculs ont également permis d'estimer les fréquences de vibration des modes normaux des différents complexes. Trois vibrations sont expérimentalement accessibles et pertinentes pour la comparaison avec les mesures expérimentales : la vibration NH du MeIm et les deux vibrations d'élongation OH de l'eau. Pour les complexes Wd, la vibration NH est libre alors que les modes d'élongation OH sont gênés par la liaison hydrogène. Pour les complexes Wa, c'est l'inverse. Les différentes valeurs des fréquences de vibration de NH et OH calculées et corrigées sont données dans le Tableau 2.3.

Pour les complexes Wd, la vibration NH est libre. Il est donc attendu, comme l'attestent les calculs, que la fréquence de vibration soit proche de celle de la molécule de MeIm isolée. Pour les fréquences NH gênées, un décalage vers le rouge est observé, ce

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

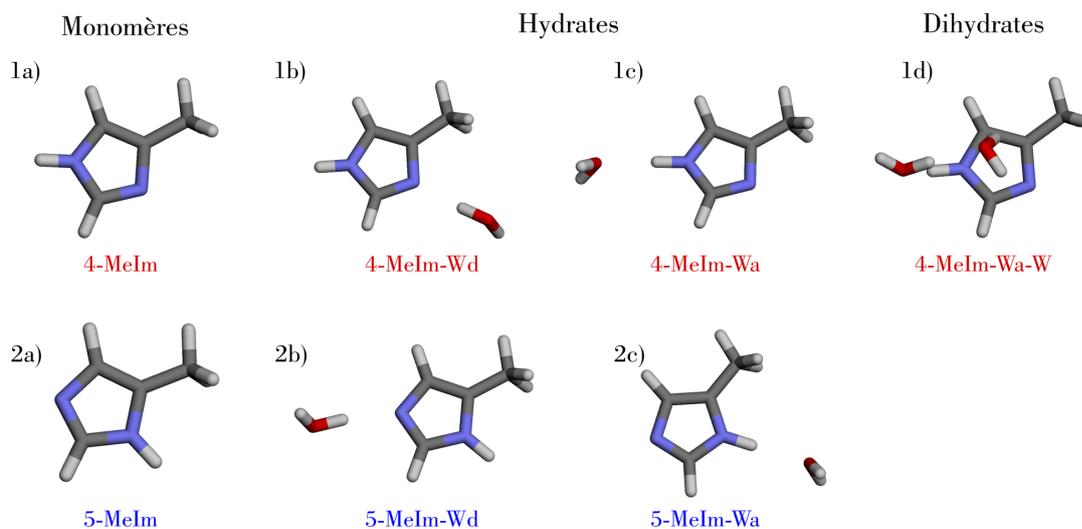


FIGURE 2.7 – Géométries des structures optimisées des complexes MeIm-Eau par DFT-D (niveau de calcul RI-B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD).

	ΔH	ΔG
	(0 K)	(298 K)
kJ.mol ⁻¹		
4-MeIm	0,0	0,0
5-MeIm	2,0	2,4
4-MeIm-Wd	0,0	0,0
4-MeIm-Wa	9,7	8,5
5-MeIm-Wd	3,0	3,7
5-MeIm-Wa	11,5	9,8

TABLE 2.2 – Différences d'énergies entre les complexes MeIm-Eau correspondant aux quatre structures les plus stables. ΔH est l'enthalpie (0 K), ΔG correspond à l'enthalpie libre à 298 K. La référence pour les monomères est le 4-MeIm et pour les hydrates le 4-MeIm-Wd.

qui est un résultat attendu puisque l'atome d'hydrogène lié à l'atome d'azote est attiré par l'atome d'oxygène de la molécule d'eau, ce qui diminue la constante de raideur de l'oscillateur.

Les fréquences de vibration symétrique et antisymétrique de l'eau en phase gazeuse sont de 3657 et 3755 cm⁻¹ respectivement. Les calculs des fréquences de la liaison OH libre pour les complexes Wa sont proches de ces valeurs, ce qui est cohérent. Malheureusement, ces fréquences de vibration n'ont pas pu être sondées car ces transitions sont trop proches de celles de l'eau (présente dans l'air ambiant) qui absorbait les photons du laser, voire l'empêchait de laser. Pour les fréquences OH gênées, un décalage vers le rouge est également attendu et est bien prédit par les calculs.

Un complexe formé du 4-MeIm et de deux molécules d'eau a également été optimisé.

[cm ⁻¹]	NH	OH (sym.)	OH (antisy.)
4-MeIm	3517.1	-	-
4-MeIm-Wd	3520.2	3424.3	3721,5
4-MeIm-Wa	3414.3	<u>3673.6</u>	<u>3750.7</u>
4-MeIm-Wa-W	3389.8	3471.1 (W ₁) <u>3563.6</u> (W ₂)	<u>3716.6</u> (W ₂) 3727.8 (W ₁)
5-MeIm	3510.0	-	-
5-MeIm-Wd	3513.2	3429.0	3722.0
5-MeIm-Wa	3409.8	<u>3671.5</u>	<u>3749.6</u>

TABLE 2.3 – Fréquences calculées et corrigées des complexes 4(5)-MeIm-H₂O et du complexe 4(5)-MeIm-(H₂O)₂. Les fréquences écrites en gras correspondent aux complexes ayant un groupe OH lié au MeIm (ou à la seconde molécule d'eau pour le dihydrate), celles soulignées au groupe OH libre. Pour le dihydrate, W₁ fait référence à la molécule d'eau impliquée dans la liaison NH···O du complexe et W₂ correspond à la molécule d'eau au dessus du cycle, dont les hydrogènes pointent vers le MeIm (cf. Figure 2.7), expliquant en parti pourquoi les fréquences de vibration de cette molécule d'eau sont dans le rouge par rapport aux complexes MeIm-Wa.

La structure ainsi que les fréquences corrigées de ce complexe sont présentées dans la Figure 2.7 et dans le Tableau 2.3. Pour ce dihydrate, les molécules d'eau ne forment pas une chaîne linéaire. La seconde molécule d'eau est au-dessus du cycle. La justification de l'optimisation de ce dihydrate, qui est le plus stable trouvé, est donnée dans la discussion des résultats expérimentaux.

B - Données expérimentales

La pression et la température génératrices utilisées pour acquérir les spectres présentés ci-dessous, sont P₀=12 bars et T₀=10,7 K. La pression de l'eau ($\sim 5 \cdot 10^{-7}$ mbar) et la température du four (30°C) ont été choisies de sorte à optimiser le dépôt d'une seule molécule de MeIm et une seule molécule d'eau en moyenne par agrégat. Il faut signaler que la molécule d'eau et ses complexes (dimère, trimère, ...) ont déjà été étudiés en agrégat d'hélium [156, 157, 158, 159, 160, 161, 162]. Il est donc assez facile de repérer d'éventuelles bandes qui leurs seraient attribuées.

La recherche des bandes vibrationnelles des complexes a consisté à balayer les plages spectrales suivantes : 3387,8 à 3411 cm⁻¹, 3418 à 3422,7 cm⁻¹ et 3505 à 3520,1 cm⁻¹. Pour chacune de ces zones, la mesure a été réalisée sans eau injectée, puis avec, afin de s'assurer que les signaux obtenus proviennent bien d'un complexe MeIm-Eau. Au total, seuls trois signaux attribués à un complexe MeIm-Eau ont été enregistrés. La première bande se situe à 3518,6 cm⁻¹ (Figure 2.8), la seconde à 3410,0 cm⁻¹ (Figure 2.9) et la dernière à 3389,0 cm⁻¹ (Figure 2.9).

Dans le graphe de la Figure 2.8, la courbe noire a été obtenue avec du MeIm seul.

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

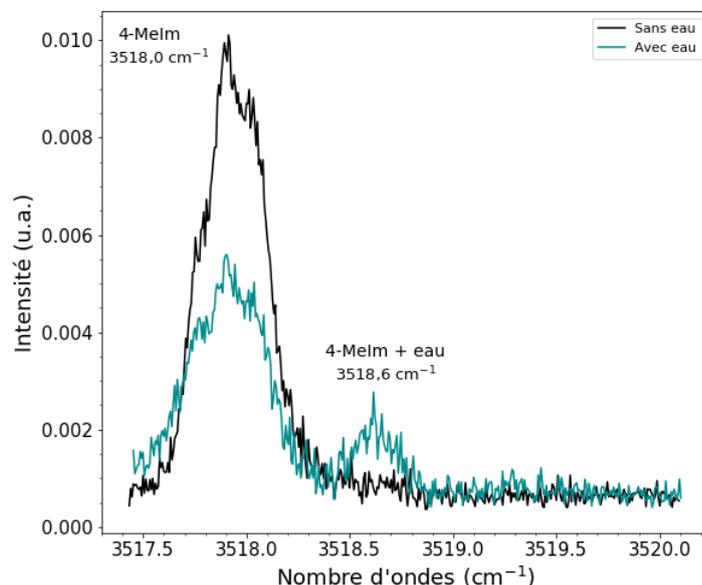


FIGURE 2.8 – Courbe en noire : seul le MeIm est injecté. La bande observée correspond à la vibration NH du 4-MeIm. En bleu : l'eau et le MeIm sont injectés. Une nouvelle bande vibrationnelle apparaît, attribuée à la vibration NH du complexe 4-MeIm-Wd.

La bande à $3518,0\text{ cm}^{-1}$ correspond à la vibration NH du 4-MeIm. La courbe bleue a été obtenue en injectant de l'eau en plus du MeIm. Deux bandes sont alors observées, la vibration NH ($3518,0\text{ cm}^{-1}$) du 4-MeIm seul et une seconde bande à $3518,6\text{ cm}^{-1}$. Cette dernière bande est due à un complexe avec l'eau. Mis à part l'eau, les deux courbes ont été acquises dans les mêmes conditions expérimentales. Le spectre bleu correspond à l'absorption d'un photon infrarouge par les agrégats ne contenant que du MeIm (bande à $3518,0\text{ cm}^{-1}$) et à ceux contenant le complexe MeIm-eau (bande à $3518,6\text{ cm}^{-1}$). Il est à noter que les gammes spectrales comprises entre la bande de la vibration NH du 5-MeIm et du 4-MeIm ainsi que dans le rouge de la bande du 5-MeIm, ont également été parcourues mais qu'aucun signal n'a été détecté.

Les deux bandes présentes dans les spectres de la Figure 2.9, ont été obtenues lorsque le complexe MeIm-Eau est formé. Ces deux bandes disparaissent quand seul le MeIm est présent dans l'agrégat (courbe noire du graphe *a* de la Figure 2.9).

Pour des raisons d'ordre expérimental, la zone spectrale entre 3423 et 3505 cm^{-1} n'a pas pu être sondée. Or dans cette région, deux vibrations correspondant aux vibrations OH liées des complexes MeIm-Wd ont été prédites par les calculs.

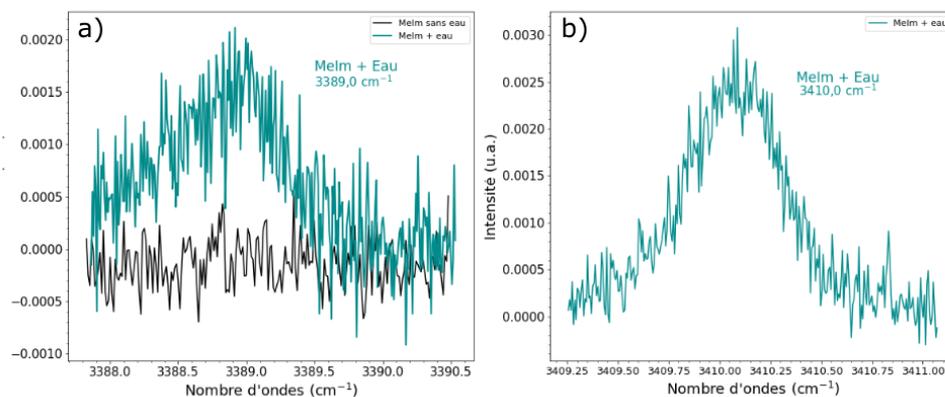


FIGURE 2.9 – *a)* Bande vibrationnelle à 3389 cm^{-1} associée à un complexe MeIm-Eau (courbe bleue). Pour comparaison, seul le MeIm a été injecté pour la courbe noire. *b)* Bande vibrationnelle à 3410 cm^{-1} associée à un complexe MeIm-Eau. La même région a également été sondée lorsque seul le MeIm est injecté : aucun signal n'a été détecté dans ce cas. Cependant, cette donnée n'a pas été enregistrée.

C - Discussion et attribution des bandes

Un bilan des fréquences de vibration calculées et mesurées est représenté sur la Figure 2.10. La ligne A correspond aux données expérimentales, les lignes B à G aux fréquences calculées et corrigées des différents complexes MeIm-Eau. Chaque ligne correspond à une structure indiquée sur la droite de la figure. Les fréquences de vibration symétrique et antisymétrique de l'eau des complexes Wa ne sont pas indiquées puisqu'elles sont impossibles à observer expérimentalement. Les vibrations OH du dihydrates n'apparaissent pas non plus car leurs fréquences sont trop éloignées des zones spectrales sondées (cf Tableau 2.3). L'attribution des trois bandes observées et identifiées à des complexes MeIm-Eau est discutée ici.

Région spectrale entre $3500\text{-}3520\text{ cm}^{-1}$

La bande située à $3518,6\text{ cm}^{-1}$ peut être attribuée sans ambiguïté à la vibration NH du complexe 4-MeIm-Wd (ligne B). Pour ce complexe, la vibration NH est libre et donc proche de celle du 4-MeIm seul, comme le prédissent les calculs. Par ailleurs, dans le cas de l'imidazole, la bande de la vibration NH du complexe Wd est superposée à celle du monomère et se situe à $3519,7\text{ cm}^{-1}$ [135], ce qui est cohérent avec nos résultats.

Pour le complexe 5-MeIm-Wd, la vibration NH est aussi libre. Sa fréquence devrait être proche de celle du 5-MeIm seul. Les calculs l'estiment d'ailleurs à 3510 cm^{-1} . Cependant, comme indiqué précédemment, mises à part les trois bandes correspondant à la vibration NH du 4-MeIm seul, du 5-MeIm seul et du 4-MeIm-Wd, aucun signal n'a été détecté dans cette gamme spectrale. Il est fort probable que le complexe 5-MeIm-Eau se forme également et qu'il absorbe un photon. Mais il faut remarquer que dans le cas du 4-MeIm,

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

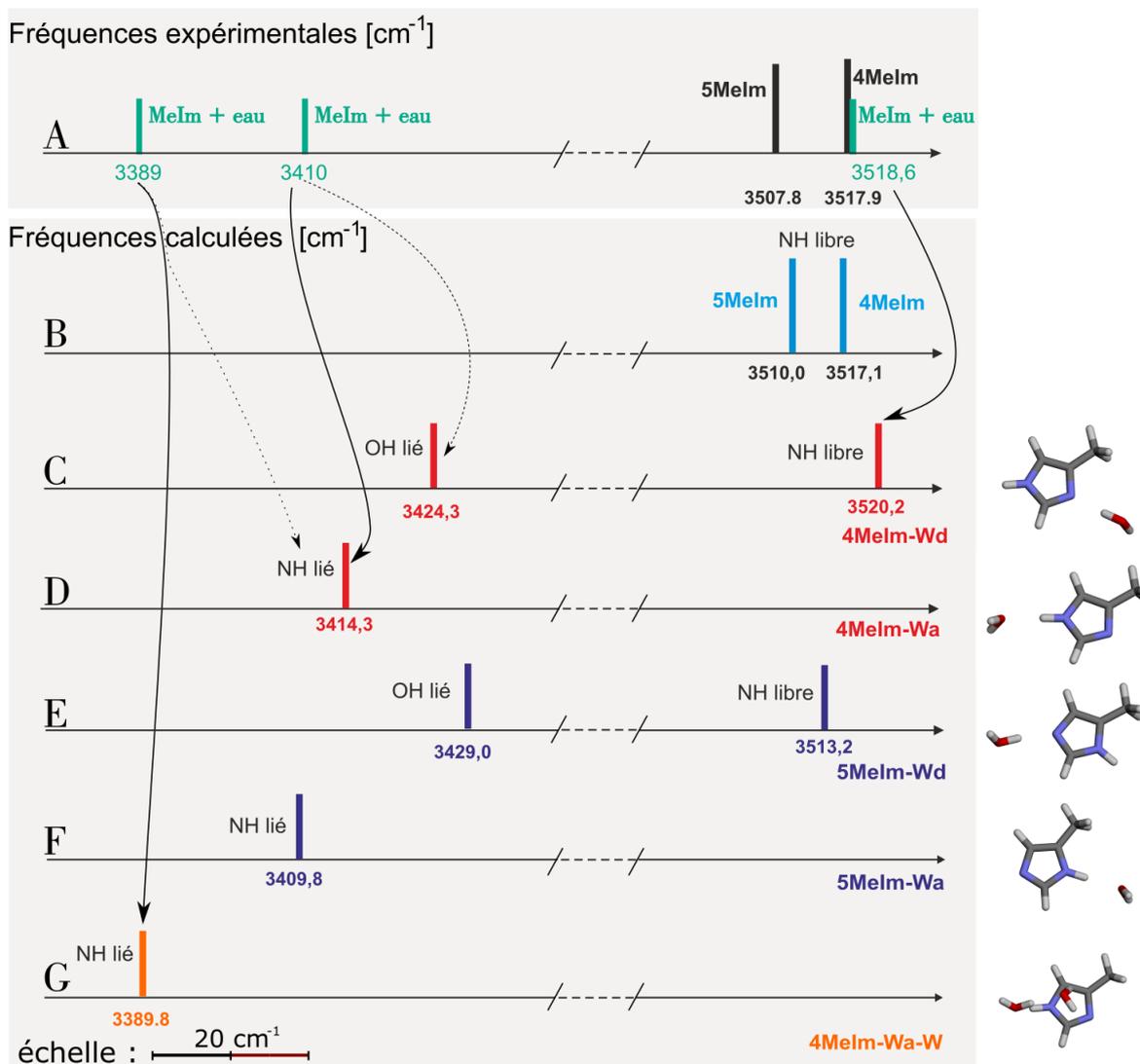


FIGURE 2.10 – Bilan des fréquences expérimentales (ligne A) et calculées et corrigées (ligne B à G) des complexes MeIm-Eau. Chaque ligne de B à G correspond à un conformère particulier dont un schéma est indiqué sur la droite. Toutes les fréquences sont données en cm^{-1} .

qui possède la bande la plus intense, lorsque l'eau est injectée, la bande NH du 4-MeIm seule décroît de moitié et la bande associée au complexe avec l'eau est environ trois fois plus petite que la bande du NH du 4-MeIm seul (cf Figure 2.8). Si le même rapport d'intensité est appliqué à la bande du 5-MeIm seul, il est raisonnable de penser que le signal du complexe 5-MeIm-Eau doit être noyé dans le bruit et n'est pas détectable. Il faut également préciser que la force d'oscillateur de la vibration NH du complexe est sensiblement la même que celle du tautomère seul et ne pourrait pas compenser la faible intensité initiale.

Région spectrale 3380-3430 cm⁻¹

D'après ce qui vient d'être remarqué, la faible intensité du signal venant du 5-MeIm seul justifie l'exclusion des complexes formés à partir de ce tautomère comme étant à l'origine d'un signal. Ainsi, les bandes observées ne sont très probablement pas dues aux complexes 5-MeIm-Wd (ligne E) et 5-MeIm-Wa (ligne F).

En conséquence, les bandes expérimentales à 3389 et 3410 cm⁻¹ peuvent être attribuées à des complexes formés à partir du 4-MeIm. Que ces bandes soient attribuées à une vibration NH ou OH, elles sont très décalées dans le rouge par rapport à la molécule isolée. Il s'agit donc soit d'une vibration NH formant une liaison hydrogène avec l'atome d'oxygène d'une molécule d'eau (complexe Wa), soit d'une vibration OH formant une liaison hydrogène avec l'atome d'azote *libre* du 4-MeIm (complexe Wd). Dans ces deux cas, les vibrations sont dites *liées*.

Comme une vibration du complexe 4-MeIm-Wd a déjà été attribuée (vibration NH, cf ligne C de la Figure 2.10) et que les vibrations OH libres du complexe 4-MeIm-Wa (ligne D) sont situées en dehors de la région spectrale concernée, une première tentative d'attribution consiste à affirmer qu'une des bandes provient du complexe 4-MeIm-Wd et l'autre du 4-MeIm-Wa. Ainsi, il paraît naturel de penser que la bande à 3389 cm⁻¹ corresponde à la vibration NH liée au 4-MeIm-Wa (ligne D) et celle à 3410 cm⁻¹ à la vibration OH liée au 4-MeIm-Wd (ligne C). Cette première hypothèse est représentée par les flèches en pointillé sur la Figure 2.10. Cependant, cette attribution implique une différence d'environ 25 cm⁻¹ entre la valeur expérimentale (3389 cm⁻¹) et celle calculée (3414,3 cm⁻¹) pour la fréquence de vibration de la liaison NH liée du 4-MeIm-Wa. Or, les calculs, après correction, estiment généralement assez bien les fréquences des vibrations NH comme cela a été vu au paragraphe 2.1.1. Un tel écart paraît donc peu probable.

Par contre, il est intéressant de noter que la vibration NH du 4-MeIm-Wa est calculée à 3414 cm⁻¹ ce qui est proche de la bande expérimentale à 3410 cm⁻¹ et l'écart entre les deux est bien plus compatible avec ce qui est attendu. Un second argument en faveur de cette attribution vient des travaux de Choi et Miller [135] sur l'imidazole. Dans cette étude, une bande à 3411,8 cm⁻¹ a été observée et attribuée à la vibration NH du complexe Imidazole-Eau accepteur par spectroscopie infrarouge VTMA⁶, qui est une technique différente de celle utilisée ici. Or, lors de l'étude du MeIm seul, il a été noté que la fréquence de vibration du NH du 4-MeIm est très proche de celle de l'imidazole, ce qui implique une faible perturbation induite par la méthylation. Dans ces conditions, il est fort probable que les deux hydrates (Im et 4-MeIm) aient un comportement similaire lorsque la vibration NH est perturbée par la présence d'une molécule d'eau. Ces différents arguments permettent

6. La spectroscopie VTMA (Vibrational Transition Moment Angles) consiste à mesurer l'angle entre le moment dipolaire permanent d'une molécule et le moment de transition de la vibration observée. La comparaison avec des calculs de chimie quantique permet d'attribuer une bande infrarouge à tel ou tel complexe.

2.1. LA MOLÉCULE DE 4(5)-MÉTHYLIMIDAZOLE ET SES HYDRATES DANS DES AGRÉGATS D'HÉLIUM

d'attribuer la bande à 3410 cm^{-1} à la vibration NH liée du complexe 4-MeIm-Wa (flèche en trait plein dans la Figure 2.10).

Il reste alors à déterminer l'origine de la bande à 3389 cm^{-1} . Pour cela, il faut s'appuyer à nouveau sur les travaux de Choi et Miller [135] qui ont observé une bande vers 3390 cm^{-1} . Ces auteurs ont attribué cette bande au dihydrate de la molécule d'imidazole. Pour vérifier que le même type de complexe peut être à l'origine de la bande à 3389 cm^{-1} , de nouveaux calculs de chimie quantique ont été réalisés. En effet, la structure la plus stable parmi les dihydrates (structure *1d* de la Figure 2.7) correspond au complexe dont la fréquence de vibration NH est estimée à $3389,8\text{ cm}^{-1}$. Il est donc assez probable que la bande à 3389 cm^{-1} corresponde au complexe 4-MeIm-(Eau)₂.

Il faut préciser que l'existence de ce dihydrate est parfaitement compatible avec les conditions expérimentales d'acquisition des spectres qui, rappelons-le, étaient optimales pour la capture d'une molécule de MeIm et d'une molécule d'eau. Cela est lié au fait que la capture de chacune de ces espèces est un processus aléatoire et sans mémoire (ou presque dans le cas des agrégats d'hélium) qui suit une statistique de Poisson⁷. Ainsi, lorsque les conditions expérimentales sont optimisées pour la capture d'une seule molécule (d'eau ou de MeIm), cela signifie qu'il existe 37 % d'agrégats qui ne contiennent pas de molécule, 37 % qui n'en contiennent qu'une, 18 % qui n'en contiennent que deux et ainsi de suite. Une étude de stœchiométrie⁸ [103] de cette bande en fonction de la quantité d'eau injectée aurait été utile pour confirmer cette attribution.

Par ailleurs, comme il est possible de le voir dans la Figure 2.7, une des molécules d'eau du dihydrate est positionnée de façon similaire à celle du complexe 4-MeIm-Wa, c'est-à-dire que cette molécule d'eau est accepteur de l'hydrogène du cycle imidazole. Les atomes d'hydrogène de la seconde molécule d'eau pointent vers le cycle de la molécule de MeIm tandis que son atome d'oxygène se positionne en direction d'un des atomes d'hydrogène de la première molécule d'eau.

Pour résumer, les attributions les plus probables des bandes des complexes sont indiquées par des flèches en trait plein dans la Figure 2.10. Cependant cette attribution implique que la vibration de la liaison OH liée du complexe 4-MeIm-Wd (ligne C) ne soit pas observée bien qu'elle soit prédite comme étant plus intense que celle du NH libre de ce même complexe et malgré le fait que la vibration OH du complexe Imidazole-Eau donneur a été observée à $3447,9\text{ cm}^{-1}$ [135]. Néanmoins, dans le cas du méthylimidazole, la présence du méthyle au voisinage de la molécule d'eau perturbe la vibration OH comme l'attestent les résultats des calculs de chimie quantique (3424 cm^{-1}). Cette vibration doit donc possiblement se situer dans une région spectrale qui, malheureusement, n'a pas pu être explorée. Il est donc assez probable que la vibration de la liaison OH liée du 4-MeIm-

7. cf. note de bas de page 5

8. Cela consiste à tracer l'intensité de la bande à 3389 cm^{-1} en fonction du nombre moyen de molécule d'eau déposée par agrégat, puis relier l'évolution de cette intensité à une loi de Poisson. Une calibration préalable est nécessaire en étudiant l'évolution d'une transition de la molécule d'eau déjà connue [156, 157, 158, 159, 160, 161, 162].

Wd n'ait pas été observée dans le cadre de cette étude.

Pour conclure, l'ensemble des bandes observées (molécule de MeIm seule ou hydratée) ont pu être attribuées grâce à une comparaison avec les résultats des calculs de chimie quantique, ainsi qu'avec ceux des travaux menés par Choi et Miller sur l'imidazole et ses hydrates [135]. Les deux tautomères du MeIm ont été caractérisés. Du fait du rapport des populations entre le 4- et le 5-MeIm, seuls les hydrates du 4-MeIm ont été observés. *A priori* les deux formes Wa et Wd formés avec le 4-MeIm ont été observées ainsi que le dihydrate où une des molécules d'eau est également dans une position $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{HN}(\text{MeIm})$. Cependant, pour le complexe 4-MeIm-Wd, une des vibrations (OH liée) manque et doit être située dans des régions spectrales qui n'ont pas pu être explorées. Pour lever l'ambiguïté quant à la position des bandes OH liées, des travaux complémentaires avec de l'eau deutérée sont envisageables et devraient permettre de consolider cette interprétation.

2.2 Paysage conformationnel de deux petites chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine

Les protéines sont des polymères constitués de longues chaînes d'acides α -aminés ⁹. Ces grandes chaînes peptidiques ont la propriété d'être des systèmes très flexibles. Leur flexibilité est due aux rotations possibles des liaisons simples qui constituent la chaîne des acides aminés. De plus, du fait de la présence d'interactions stabilisantes et déstabilisantes, intra- et intermoléculaires, les protéines peuvent se replier et adopter différentes structures. Les liaisons hydrogènes intramoléculaires sont l'une des interactions existantes les plus importantes qui définissent ces structures [3].

La structure d'une protéine est importante car elle définit sa fonction. En effet, pour la majorité des protéines, il leur est nécessaire de se replier selon une structure tertiaire bien définie afin de pouvoir assurer leur fonction au sein du monde biologique. Or, du fait de leur grande flexibilité, les protéines peuvent adopter un très large paysage conformationnel. Dans des cas malheureux, certaines peuvent former des repliements enclins à former des agrégats. L'agrégation des protéines, suite à leur mauvais repliement, a été mise en cause dans l'apparition de maladies neuro-dégénératives telles que la maladie d'Alzheimer ou bien la maladie de Parkinson [163, 164]. Il est donc important d'identifier les structures des protéines (les bonnes comme les mauvaises), de comprendre les mécanismes à l'origine de ces repliements et également d'étudier les propriétés physico-chimiques des structures favorisées. Dans cette optique, des systèmes de petites tailles adaptés aux outils expérimentaux et théoriques et composés de petites chaînes peptidiques, sont étudiés afin d'identifier leur paysage conformationnel et de mettre en avant les propriétés et le rôle des liaisons hydrogène stabilisant ces structures [3].

9. α, β , etc. indique la position du groupe amine par rapport au groupe carboxylique

2.2. PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE DEUX PETITES CHAÎNES PEPTIDIQUES CONTENANT LE RÉSIDU PHÉNYLALANINE

Dans cette thèse, le choix s'est porté sur de petits peptides contenant le résidu phénylalanine dont le chromophore absorbe dans l'UV. Le chromophore phényle et la chaîne latérale flexible de ces chaînes peptidiques permettent à la molécule d'adopter différentes conformations en fonction de l'orientation du cycle phényle par rapport à la chaîne latérale, mais également par la possible présence de liaisons hydrogène dans la chaîne latérale. De plus, la présence des liaisons peptidiques dans ces chaînes d'acides aminés permettent de copier autant que possible l'environnement proche des acides aminés tel qu'il le serait dans les protéines. Ces molécules constituent ainsi de bons modèles pour appréhender les structures des protéines. Par ailleurs, le choix d'étude de ces petits peptides contenant le résidu phénylalanine repose également, et surtout, sur la problématique de la photostabilité des protéines car le résidu phénylalanine est l'un des trois acides aminés absorbant dans l'UV. Or, l'absorption d'un photon UV par l'un de ces acides aminés dans une protéine peut conduire à sa photodégradation [10] et ainsi être néfaste à sa fonction. Les propriétés photo-induites de ces systèmes ont donc un intérêt majeur.

Les motivations de cette étude ont ainsi été doubles. Dans un premier temps, il s'agissait d'étudier la diversité conformationnelle de petites chaînes peptidiques afin d'identifier les liaisons intramoléculaires responsables de la formation des conformères. Ces études sont présentées dans ce chapitre, ainsi que dans l'Annexe C. Puis, une fois les structures connues, dans le Chapitre 3, l'objectif a été de comprendre la dynamique électronique de petites chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine et de mettre en lumière les processus de relaxation de ces molécules.

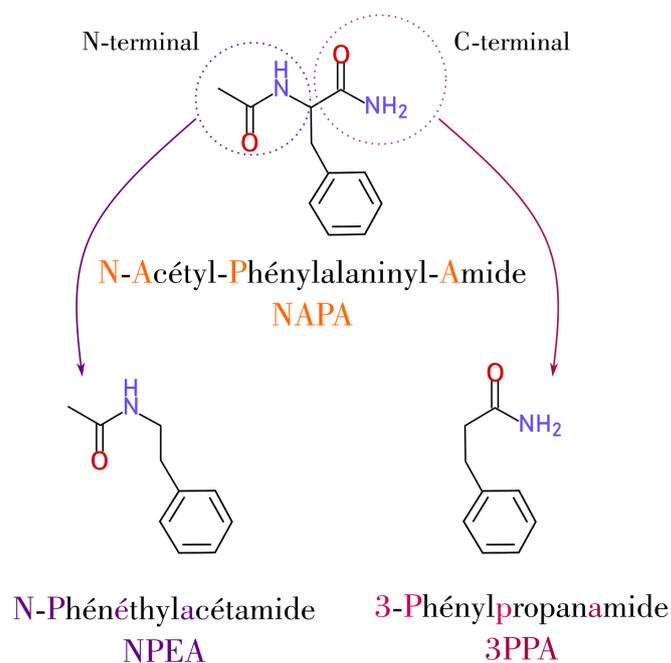


FIGURE 2.11 – Les formes semi-développées de NAPA, de 3PPa et de NPEA.

Dans cette section, la structure de deux molécules contenant le résidu phénylalanine

a été étudiée : le 3-phénylpropanamide (3PPA) et le *N*-phénéthylacétamide (NPEA), représentées sur la Figure 2.11. Le 3PPA et le NPEA correspondent chacun à une partie de la chaîne peptidique protégée : le *N*-Acétyl-Phénylalanine-Amide (NAPA, cf Figure 2.11), correspondant à l'acide aminé phénylalanine protégé. Le qualificatif *protégé* fait référence au fait que toutes les chaînes peptidiques étudiées dans cette thèse (dans ce chapitre et dans le suivant, Chapitre 3) ont leurs bouts de chaîne modifiés chimiquement. En effet, un acide aminé est composé d'un carbone α auquel est relié un résidu définissant l'acide aminé, une fonction amine ($-\text{NH}_2$) et une fonction acide carboxylique ($-\text{COOH}$). Dans les chaînes peptidiques, ces fonctions sont reliées de manière à former des liaisons peptidiques complètes ($-\text{CO-NH-}$). Ces liaisons peptidiques sont d'ailleurs présentes dans les molécules étudiées. Mais, le *N*-terminal (fonction amine) des molécules étudiées a été modifié par l'ajout d'un groupement acétyle ($\text{CH}_3\text{-CO-}$) sur l'amine. Sur le *C*-terminal (fonction acide), le groupement OH est substitué soit par un amide ou soit par un méthylamide. Ces modifications sont nécessaires pour éviter des repliements des petits peptides qui ne seraient pas pertinents dans le cas des protéines. De ce fait, la chaîne peptidique NAPA sans la partie de la chaîne latérale contenant le *N*-terminal modifié correspond au 3PPA. Le NPEA correspond lui au NAPA sans la partie contenant le *C*-terminal modifié (Figure 2.11). Ces deux molécules seront d'ailleurs appelées dans le chapitre suivant les *demi*-NAPA. L'intérêt de l'étude de 3PPA et NPEA est d'observer l'effet individuel des groupes terminaux modifiés sur la structure de ces molécules et dans un second temps, sur la dynamique électronique des différentes conformations.

L'approche employée pour ce type d'étude structurale est à la fois théorique et expérimentale. A l'aide de calculs de chimie quantique, le paysage conformationnel des molécules est dans un premier temps déterminé pour identifier les structures les plus stables. Lors de cette caractérisation théorique, les fréquences de vibration associées à chaque conformère sont systématiquement calculées afin de simuler son spectre IR. Puis les conformères sont caractérisés expérimentalement à l'aide de l'enregistrement de deux types de spectre :

- Un spectre UV correspondant à la transition $S_1 \leftarrow S_0$, où un électron du groupe phényle (sensible à son environnement) est excité. Ce type de spectre permet d'obtenir les bandes d'absorption des différents conformères avec, éventuellement, leur progression vibrationnelle.
- Puis pour chaque conformère, un spectre IR dans la région des élongations NH. Ce spectre permet de différencier les conformères les uns par rapport aux autres en comparant la position des bandes IR à celles obtenues par les calculs de chimie quantique.

Expérimentalement, ces mesures spectroscopiques sont réalisées en jet supersonique pour permettre un refroidissement vibrationnel et rotationnel efficace des molécules et ne former que les structures les plus stables. Les mesures présentées ont été réalisées sur le montage SBM décrit dans le Chapitre 1. Les spectres UV ont été obtenus par la méthode d'IR2P-1C couplée à de la spectrométrie de masse à temps de vol. Les spectres

2.2. PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE DEUX PETITES CHAÎNES PEPTIDIQUES CONTENANT LE RÉSIDU PHÉNYLALANINE

IR vibrationnels de l'état fondamental ont été acquis par la méthode de double résonance IR/UV. L'étude théorique préalable a été réalisée à l'aide de calculs de DFT-D avec le niveau de calcul : B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD.

Par ailleurs, des études préliminaires de la dynamique de l'état excité S_1 , réalisées par IR2P-2C, seront abordées à la fin de ce chapitre avec la mesure de la durée de vie de l'état S_1 et l'influence de la conformation sur celle-ci. Ces études sont les prémices de celles menées au chapitre suivant.

La caractérisation conformationnelle de 3PPA est dans un premier temps donnée, suivie de celle du NPEA. Puis, la mesure de la durée de vie du premier état singulet $\pi\pi^*$ de ces systèmes sont présentées.

2.2.1 La molécule de 3-phénylpropanamide

La molécule de 3PPA, présentée dans la Figure 2.11, correspond à la molécule NAPA amputée de la chaîne latérale N -terminal, où seul le groupement carboxalamide (-CONH₂) reste.

Les résultats des calculs

Les calculs de chimie quantique ont permis de déterminer les configurations les plus stables de la molécule de 3PPA et d'optimiser leur géométrie. Les structures des quatre conformères les plus stables (à 0 K) sont représentées dans la Figure 2.12 et leurs énergies sont données dans le Tableau 2.4. Ces quatre configurations sont constituées de deux formes repliées (*gauche*) et de deux formes étendues (*anti*). Les deux géométries les plus stables sont la configuration I correspondant à une forme *gauche* où une des liaisons NH de l'amide pointe vers le cycle phényle formant une liaison NH- π faible (*gauche* π I). La seconde structure est la forme étendue II où le plan du groupe carboxamide est proche du plan parallèle au cycle phényle (*anti* II). Ces deux structures sont très proches en énergie, même si la structure II est légèrement défavorisée à basse température. Il est attendu que ces deux structures soient prioritairement présentes dans la détente supersonique et observées dans les spectres expérimentaux. Les configurations I' et II' sont également proches en énergie l'une de l'autre.

Afin de pouvoir identifier les différentes conformations formées et détectées en jet supersonique, les fréquences de vibration de ces structures ont été calculées. Les fréquences harmoniques de vibration d'élongation NH₂ symétrique et antisymétrique de l'amide de ces géométries, corrigées pour rendre compte de l'anharmonicité et d'éventuelles déficiences calculatoires par les facteurs d'échelles $\nu_{corrigé} = a\nu_{harm} + b$: (0,6087; 1324,1) pour les élongations NH₂ antisymétriques et (0,6312; 1209,8) pour les symétriques [165], sont données dans le Tableau 2.4. Pour les structures I', II et II', ces fréquences de vibration sont quasiment identiques car l'amide de ces conformères est presque libre. Pour la structure

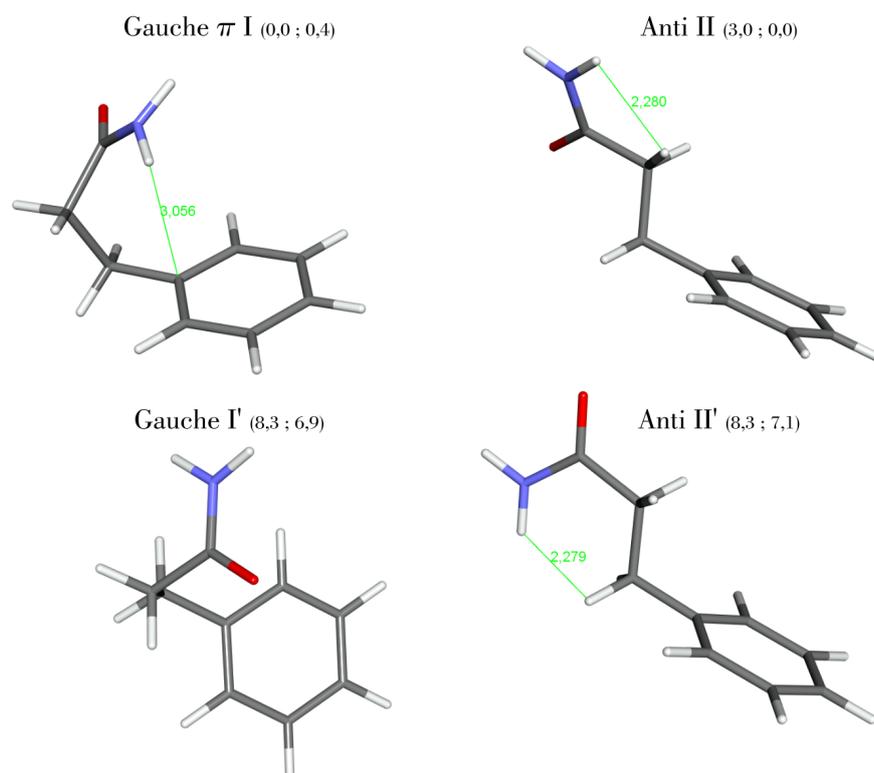


FIGURE 2.12 – Les quatre structures les plus stables de 3PPA déterminées à l'aide de calculs de DFT-D (voir texte). Leurs énergies sont indiquées entre parenthèse (Enthalpie, Enthalpie libre) en kJ/mol. Les distances en vert sont données en Å.

		gauche π I	gauche I'	anti II	anti II'
kJ/mol	ΔH (0 K)	0,0	8,3	3,0	8,3
	ΔG (300 K)	0,4	6,9	0,0	7,1
cm ⁻¹	Élongation symétrique NH ₂	3427	3437	3437	3442
	Élongation antisymétrique NH ₂	3540	3554	3556	3560
	Cisaillement NH ₂	1599	1584	1587	1589
	C=O	1712	1718	1710	1706
	Modes de basse fréquence	31 43	27 38	21 41	29 57

TABLE 2.4 – L'enthalpie (ΔH), l'enthalpie libre (ΔG), ainsi que les fréquences de vibration de l'état fondamental des quatre structures les plus stables de 3PPA calculées à l'aide de la méthode de DFT-D (voir texte).

I, présentant une faible liaison NH- π (distance NH-C _{γ} : 3,056 Å), ces fréquences sont décalées dans le rouge.

Cependant, la différence de fréquence observée entre la conformation I et les autres conformères (~ 10 cm⁻¹ pour chacune des vibrations) sont à la limite de la précision des calculs. De plus, les fréquences de vibration NH- π sont généralement assez mal caractéri-

2.2. PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE DEUX PETITES CHAÎNES PEPTIDIQUES CONTENANT LE RÉSIDU PHÉNYLALANINE

sées par les calculs et sont parfois surestimées. Il est donc possible que les fréquences des élongations symétrique et antisymétrique de NH_2 ne soient pas très informatives quant à l'attribution des structures observées. C'est la raison pour laquelle, le Tableau 2.4 donne également les valeurs des fréquences de vibration corrigées correspondant à l'élongation de la liaison $\text{C}=\text{O}$ (facteurs d'échelles (1,008 ; 0) [165]), au mode de cisaillement NH_2 (facteurs d'échelles (1,004 ; 1) [165]), ainsi que les premiers modes de très basse fréquence de l'état fondamental des structures calculées (facteurs d'échelles (1 ; 0)). L'élongation de la liaison $\text{C}=\text{O}$ et le mode de cisaillement de NH_2 peuvent être observés par l'acquisition d'un spectre infrarouge dans la région autour de 1700 et 1600 cm^{-1} respectivement. Mais à nouveau, la différence des fréquences de vibration pour un mode donné entre les diverses conformations reste faible ($< 8 \text{ cm}^{-1}$) et ne permettra probablement pas d'obtenir une attribution tranchée. Par contre, si les facteurs de Franck-Condon sont favorables, il est possible que, lors de l'acquisition du spectre UV, des progressions vibrationnelles de la transition $S_1(\pi^*) \leftarrow S_0(\pi)$ soient présentes dans le spectre. Les modes de très basse fréquence, qui sont relatifs à la flexibilité globale du squelette, sont très peu dépendants des électrons π et π^* de la transition excitée. Ainsi, les modes de basse fréquence de l'état excité sont donc généralement très proches de ceux de l'état fondamental, avec une tendance à être plus faibles. Une comparaison de ces modes entre les conformations peut donc être un outil supplémentaire pour l'attribution des structures si une différence notable est prédite par les calculs. Dans ce cas de figure, une différence est bien présente entre la structure I à 31 cm^{-1} et la structure II à 21 cm^{-1} .

Spectre UV

Le spectre UV de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ de 3PPA est présenté sur la Figure 2.13. Dans la région sondée, seules cinq bandes ont été observées. Les bandes les plus intenses sont labellisées A (37 622 cm^{-1}), B (37 590 cm^{-1}) et C (37 654 cm^{-1}). Les deux autres bandes, les moins intenses, sont situées à 37 614 et 37 638 cm^{-1} .

Avant d'utiliser les spectres infrarouges et les résultats des calculs de chimie quantique pour l'attribution des bandes, il est intéressant de noter que la bande B est très proche de la bande origine des formes *anti* du propylbenzène (37 553 cm^{-1}) et du butylbenzène (37 512 cm^{-1}) [166]. Ceci laisse donc penser que la bande B est aussi due à une conformation *anti* où la chaîne latérale interagit peu avec le groupe phényle. De plus, les bandes de moindre intensité forment une progression vibrationnelle de 24 cm^{-1} , qui s'appuie sur la bande B, ce qui est cohérent avec la forme *anti* II d'après le Tableau 2.4.

Spectres IR

Pour permettre l'attribution des bandes UV observées à leur structure correspondante, des spectres IR dans la région de l'élongation NH_2 ont été acquis grâce à la méthode de double résonance IR/UV. La Figure 2.14 présente ces spectres acquis en fixant la longueur

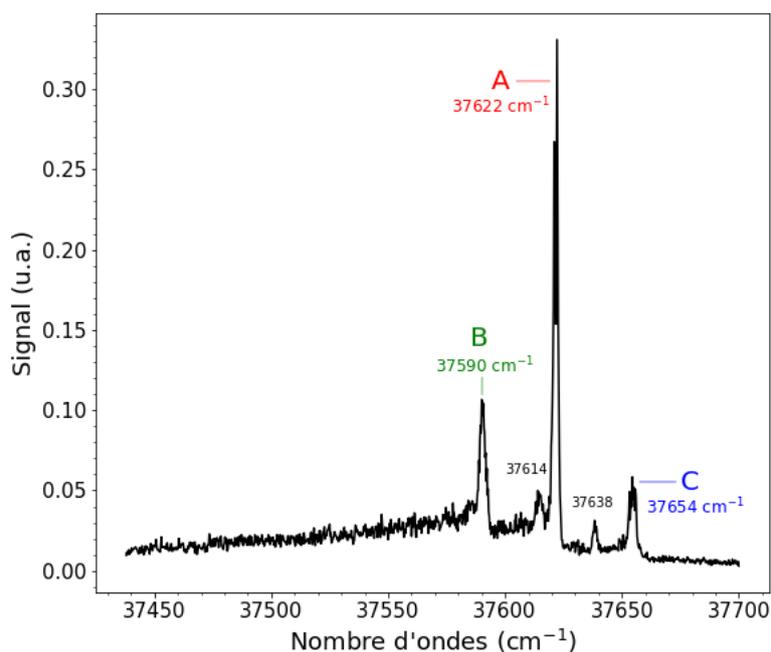


FIGURE 2.13 – Spectre UV de la transition $\pi\pi^*$ du 3PPA obtenu par IR2P-1C.

d'onde du laser UV au sommet des bandes A, B et C.

Ces trois spectres présentent tous deux bandes vibrationnelles correspondant à la vibration symétrique (vers 3440 cm^{-1}) et antisymétrique (vers 3565 cm^{-1}) de l'amide. Les bandes A et C ont le même spectre IR, ce qui implique que ces bandes sont issues du même conformère. La bande C est donc une bande vibronique associée à la bande A. Le spectre infrarouge de la bande B est très légèrement différent de celui de la bande A, avec des pics très faiblement décalés vers le rouge de $1\text{-}2\text{ cm}^{-1}$.

Discussion

Les calculs prédisent que les conformères *gauche* π I et *anti* II sont les plus stables et devraient donc être observés. Cependant, comme indiqué dans le paragraphe présentant les résultats des calculs de chimie quantique, la différenciation claire des conformères à partir du spectre IR est difficile. Néanmoins, un faisceau d'indices concordants permet de proposer une attribution. En effet :

1. Les spectre IR de la bande A est plus rouge que celui de la bande B, même si ce n'est que très légèrement,
2. Le spectre UV de la bande B est proche de la transition de la forme *anti* du propyl- et du butyl-benzène,

2.2. PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE DEUX PETITES CHAÎNES PEPTIDIQUES CONTENANT LE RÉSIDU PHÉNYLALANINE

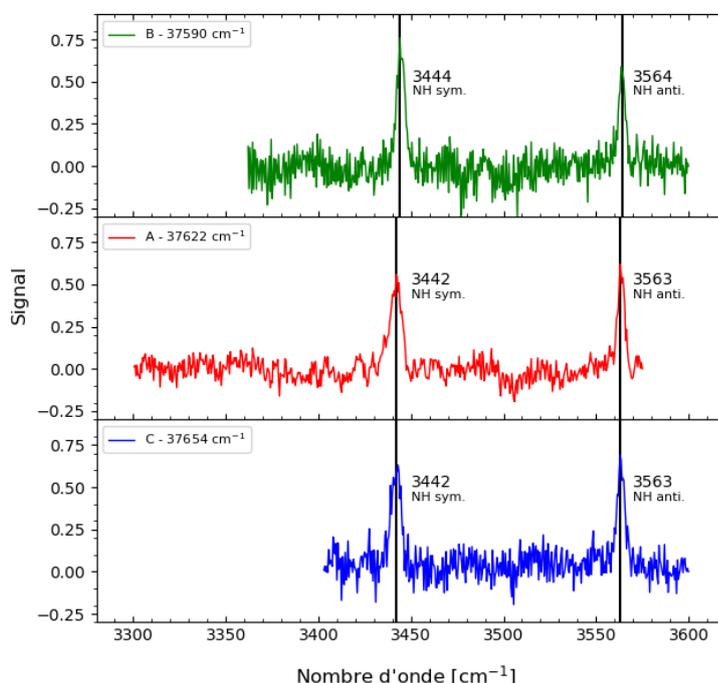


FIGURE 2.14 – Spectres de double résonance IR/UV obtenus en fixant la longueur d’onde du laser UV au sommet des bandes A, B et C du spectre de la Figure 2.13. Les spectres IR de l’état fondamental des structures A, B et C ont été acquis dans la région de l’élongation de NH_2 .

3. Le spectre UV de la bande A présente une bande vibronique de 32 cm^{-1} , correspondant à la bande C, alors que celui de la bande B présente une progression dans un mode de 24 cm^{-1} ,
4. A partir de l’intensité du spectre UV, le conformère A semble plus stable que celui de la bande B.

Ces observations correspondent bien aux prédictions théoriques des structures I et II, à savoir : i) le spectre IR de la structure I est prédit plus rouge relativement au conformère II, ii) un mode de basse fréquence pour la structure I est plus grand que celui du conformère II, et iii) une plus grande stabilité du conformère I à basse température est prédite. Ces résultats sont donc cohérents avec une attribution de la bande A à la forme *gauche* π I et de la bande B à la forme *anti* II. La prépondérance du conformère I en fin d’expansion, alors que les deux espèces sont initialement isoenergétiques au début du jet supersonique (à 300 K), s’explique par une barrière vraisemblablement faible entre les deux formes, permettant à la population conformationnelle d’évoluer pendant la détente. En ce qui concerne l’accord assez décevant entre l’expérience et la théorie pour la prédiction des fréquences de la bande A, il doit en être déduit qu’il s’agit d’un cas où l’interaction $\text{NH}-\pi$

est sans doute mal décrite, comme c'est souvent le cas, même pour des calculs de DFT-D supposés prendre en compte la dispersion [167].

Par ailleurs, des molécules proches de 3PPA ont également été étudiées dans la littérature. Dans le cas de l'acide 3-phényl-propionique (Phe-(CH₂)₂-COOH), deux conformères ont aussi été observés : une forme *anti* à 37 617 cm⁻¹ et une forme *gauche* à 37 649 cm⁻¹[168, 169, 170]. Pour cette molécule également, la forme *anti* est celle dont la bande origine est la plus dans le rouge, ce qui est cohérent avec ce qui est observé pour le 3PPA et renforce l'attribution faite pour cette molécule.

2.2.2 La molécule de N-phénéthylacétamide

La molécule de NPEA, ainsi que ses hydrates, ont fait l'objet d'études structurales en phase gazeuse [171, 172]. Cependant aucune donnée n'existe sur la durée de vie de son état $S_1(\pi\pi^*)$ en phase gazeuse, qui est une donnée clef pour la suite de l'étude. Il était donc nécessaire d'acquérir le spectre UV de cette molécule dans nos conditions expérimentales et de s'assurer de l'attribution précédemment réalisée. Pour cela, des calculs de DFT-D ont été réalisés. Ces résultats sont présentés dans la suite.

Résultats des calculs

Les deux structures des conformations les plus stables optimisées par DFT-D sont présentées sur la Figure 2.15. Leur énergie ainsi que leurs fréquences de vibration ont été déterminées et sont données dans le Tableau 2.5.

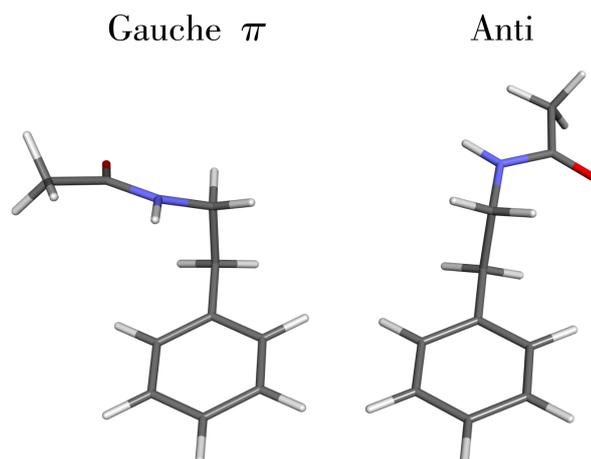


FIGURE 2.15 – Les deux structures les plus stables de la molécule de NPEA déterminées par des calculs de DFT-D (voir texte).

Le conformère le plus stable est une forme repliée (*gauche*), où la chaîne latérale forme quasiment un angle droit avec le cycle phényle. La liaison NH pointe vers le cycle formant

2.2. PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE DEUX PETITES CHAÎNES PEPTIDIQUES CONTENANT LE RÉSIDU PHÉNYLALANINE

		Gauche π	Anti
kJ/mol	ΔH (0 K)	0,0	3,5
	ΔG (300 K)	0,0	2,4
cm ⁻¹	Élongation NH	3485	3492

TABLE 2.5 – L’enthalpie (ΔH), l’enthalpie libre (ΔG), ainsi que les fréquences de vibration NH de l’état fondamental des structures optimisées par DFT-D du NPEA. Les fréquences de vibration sont les fréquences harmoniques, corrigées par le mêmes facteurs d’échelles que ceux utilisés pour 3PAA.

une liaison NH- π faible. La seconde structure est une forme étendue (*anti*), où le plan de la liaison peptidique est quasiment parallèle au cycle phényle.

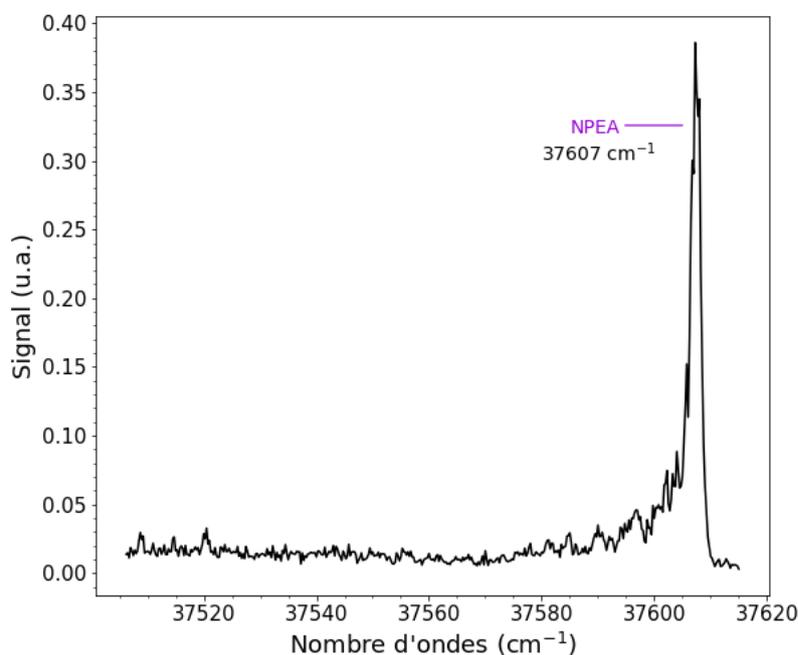
Il est intéressant de noter que la forme *gauche* π reste le conformère le plus stable à 300 K et à 0 K, tandis que le conformère *anti* est défavorisé à 0 K ($\Delta H > \Delta G$). La différence de fréquence de la vibration NH des deux conformères est faible ($\Delta\sigma = 7$ cm⁻¹) et est à la limite de la précision des calculs.

Spectre UV

Le spectre UV de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ est présenté dans la Figure 2.16. Une seule bande très intense est présente et est située à 37 607 cm⁻¹. Un seul conformère est donc a priori détecté en jet supersonique. Ce spectre est en accord avec le travail réalisé par Zwier et collaborateurs [171].

Discussion

Zwier et collaborateurs ont réalisé la spectroscopie IR de cette molécule dans la région de la fréquence de l’élongation NH et ont trouvé une bande à 3484 cm⁻¹ [171]. Étant donné qu’il n’y a qu’un seul conformère observé et que la différence entre les fréquences de vibration NH des formes *gauche* et *anti* est faible, il est délicat d’attribuer une conformation à cette bande avec ce seul argument. Cependant, comme la forme *anti* est défavorisée à basse température et que la fréquence de vibration trouvée expérimentalement coïncide très bien avec celle de la forme *gauche* π , l’attribution de cette bande à ce conformère semble donc être la plus naturelle. Zwier *et al.* ont d’ailleurs opté pour la même attribution, qui est également appuyée par les données dont on dispose pour la molécule voisine de 2-phényléthylamine (Phe-(CH₂)₂-NH₂). Celle-ci, qui a été caractérisée en jet supersonique [173, 174, 175], présente quatre conformations (deux *anti* et deux *gauche*), dont la plus stable est aussi une forme *gauche* π , très semblable à celle du NPEA et qui présente une bande UV située à 37 610 cm⁻¹, soit très proche de celle du NPEA. A priori, la structure observée du NPEA est donc la forme *gauche* π .

FIGURE 2.16 – Spectre UV de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ de la molécule de NPEA.

La détermination des structures observées est un travail très important car elle permet d'identifier les mécanismes (liaisons hydrogène par exemple) à l'origine de leur formation. De plus l'identification des conformères est nécessaire afin de mettre en avant de possibles effets de conformation dans les propriétés photo-physiques de ces molécules. Ce dernier point est abordé dans la partie suivante par la mesure des durées de vie électronique.

2.2.3 Mesures des durées de vie de l'état $S_1(\pi\pi^*)$ de 3PPA et de NPEA

Le principal objectif de l'étude des petits peptides dans cette thèse est de comprendre la dynamique électronique de l'état excité $S_1(\pi\pi^*)$ de ces molécules et notamment sa désexcitation vers un état triplet (Chapitre 3). Or pour comprendre cette dynamique, il est nécessaire de connaître les structures de ces molécules et la durée de vie de l'état $S_1(\pi\pi^*)$. Ces données sont déjà connues pour la plupart des peptides étudiés (études précédentes du groupe [13, 176]), sauf pour les molécules de 3PPA et de NPEA dont les structures ont été décrites dans les paragraphes précédents (ainsi que deux autres peptides dont la structure est présentée dans l'Annexe C). C'est pourquoi, la durée de vie du premier état singulet $S_1(\pi\pi^*)$ de chaque structure de 3PPA et de NPEA a été mesurée. Ces mesures sont présentées ci-dessous.

Pour réaliser ces mesures, la technique de spectroscopie pompe-sonde ns a été utilisée.

2.2. PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE DEUX PETITES CHAÎNES PEPTIDIQUES CONTENANT LE RÉSIDU PHÉNYLALANINE

La longueur d'onde du laser de sonde a été choisie proche de 530 nm de sorte à ne pouvoir ioniser efficacement les molécules que depuis l'état singulet et mesurer ainsi que la durée de vie de cet état.

Cas du NPEA

La Figure 2.17 présente le déclin de l'unique conformère du NPEA. La décroissance du signal en fonction du délai temporel appliqué entre le laser de pompe et de sonde suit une loi mono-exponentielle. La durée de vie de l'état singulet a été déterminée à 60 ± 3 ns.

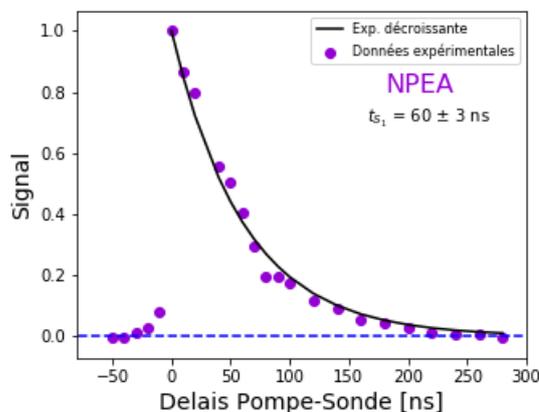


FIGURE 2.17 – Déclin du signal pompe-sonde suite à une excitation de l'état S_1 ($\sigma_{Pompe} = 37\,607 \text{ cm}^{-1}$) de la molécule de NPEA.

Généralement, sauf cas particulier, la durée de vie de la bande origine du premier état singulet $\pi\pi^*$ de molécules possédant un chromophore phényle est du même ordre de grandeur que celle mesurée pour le toluène (86,4 ns [42]). Cela est lié au fait que l'excitation de l'état $S_1(\pi\pi^*)$ fait intervenir un électron du cycle et que si celui-ci n'est pas, ou peu, perturbé par des groupements chimiques dans son environnement, alors la durée de vie est similaire. Cette constatation est vraie pour le NPEA. Une durée de vie similaire au NPEA a d'ailleurs été mesurée pour les quatre structures observées de la molécule de 2-phényléthylamide ($\text{Phe}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$, qui correspond au NPEA non protégé) qui varie entre 66 et 79 ns [175].

Cas du 3PPA

La Figure 2.18 présente les trois mesures de durée de vie pour les conformères de la molécule de 3PPA responsables des bandes d'absorption A, B et C de la Figure 2.13. La décroissance mesurée suit une loi mono-exponentielle dans les trois cas. Les durées de vie trouvées sont de 11 ± 1 ns pour la bande A, 10 ± 1 ns pour la bande C et une durée

de vie inférieure à 4 ns pour la bande B. Le fait de trouver la même valeur de durée de vie pour les bandes A et C est un indice supplémentaire indiquant qu'il s'agit bien du même conformère. La durée de vie de la bande B correspondant au conformère *anti* II n'a pas pu être déterminée précisément avec les lasers ns. En effet, la durée de vie de 4 ns donnée précédemment correspond à la fonction d'appareil de la chaîne de mesure (profil temporel des deux impulsions lasers superposées). Pour mesurer correctement cette durée de vie, il faudrait réaliser ces mesures avec des lasers picoseconde afin d'avoir la résolution temporelle adaptée.

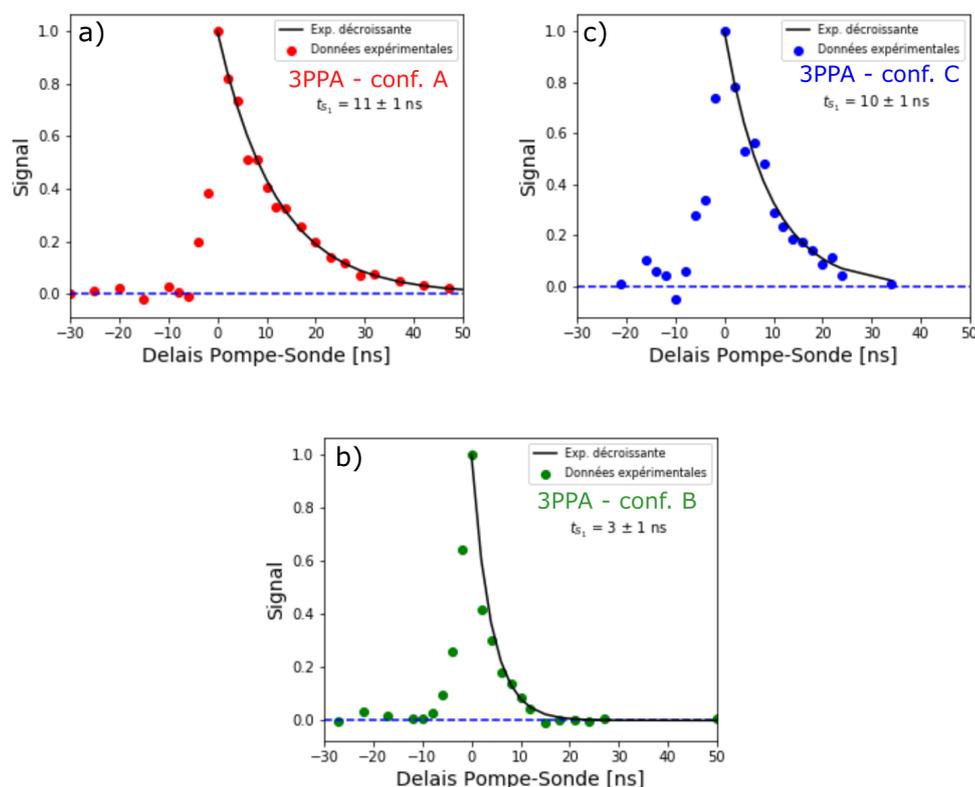


FIGURE 2.18 – Déclin du signal pompe-sonde suite à une excitation de l'état $S_1(\pi\pi^*)$ de la molécule de 3PPA. Le graphique *a* a été obtenu avec $\sigma_{Pompe}=37622$ cm^{-1} , le *b* avec $\sigma_{Pompe}=37590$ cm^{-1} et le *c* avec $\sigma_{Pompe}=37654$ cm^{-1} , qui correspondent au sommet des trois bandes A, B et C de la Figure 2.13.

La durée de vie de la molécule de 3PPA est beaucoup plus courte que celle de la molécule de NPEA (~ 60 ns) et que celle de la molécule de toluène (~ 86 ns). Cette diminution de la durée de vie a déjà été constatée dans d'autres systèmes de peptides contenant le résidu phénylalanine. Par exemple, on peut citer un des conformères de NAPA dont la durée de vie a été mesurée à 1,5 ns [13] ou bien la molécule de 2-phénylacétamide (Phe-CH₂-CO-NH₂) étudiée par Simons et collaborateurs [177]. Bien qu'ils n'avancent pas de valeur précise sur cette durée de vie, ils ont constaté que cette molécule ne fluoresce pas et par différentes mesures décrites dans l'article, ils en concluent que la durée de vie de

cette molécule est bien plus courte qu'attendue.

Ces différentes mesures de durée de vie sont donc une première approche pour identifier les processus photophysiques à l'œuvre dans ces systèmes puisqu'il semble que les peptides contenant le résidu phénylalanine se rangent en deux catégories : ceux dont la durée de vie est proche de celle du toluène, comme le NPEA, et ceux dont la durée de vie est bien plus courte, comme le 3PPA. Le chapitre suivant (Chapitre 3) tentera d'aller plus loin dans la détermination des modes de relaxation de l'état singulet $^1\pi\pi^*$ en cherchant à détecter les états triplets formés depuis cet état singulet.

2.3 Conclusion

Ces deux études se sont intéressées aux propriétés structurales de deux familles de molécules d'intérêt biologique.

Dans la première partie, un modèle de l'acide aminé histidine, le 4(5)-MeIm, a été déposé en agrégat d'hélium afin de caractériser ses deux tautomères. La vibration NH a permis de mettre en avant, par l'analyse du contour rovibrationnel de sa bande vibrationnelle, l'interaction existant entre l'agrégat et la molécule déposée. Le contour rovibrationnel mesuré a en effet montré que des atomes d'hélium sont entraînés par la molécule dans sa rotation. L'étude s'est également consacrée à la mesure de la constante de tautomérisation K_T de ces deux isomères en agrégat d'hélium. Cependant, la valeur mesurée en agrégat d'hélium est deux fois plus élevée que la valeur théorique en phase gazeuse, questionnant ainsi la signification de la valeur mesurée. Au vu de cet écart relativement surprenant, des calculs de chimie quantique supplémentaires ont été réalisés dans le but de déterminer l'énergie nécessaire à l'isomérisation 5- \rightarrow 4-MeIm. Ils ont montré que cette isomérisation en molécule isolée requiert une énergie supérieure à 2 eV, ce qui exclut qu'elle puisse se passer lors du piégeage par l'agrégat d'hélium. Ainsi, il a été conclu que la valeur mesurée reflétait plus vraisemblablement les populations tautomériques issues de l'échantillon chauffé, possiblement hors équilibre pour des raisons cinétiques. Enfin, les hydrates du 4(5)-MeIm ont été formés et détectés en agrégat d'hélium. Ces mesures ont permis de montrer que pour le 4-MeIm, l'eau peut interagir et former les complexes avec le site donneur et le site accepteur du cycle imidazole. Malheureusement, le fait de pas avoir pu observer les complexes formés avec le 5-MeIm ne permet pas d'aller plus loin sur la problématique de l'effet de la présence d'une molécule d'eau sur le processus de la tautomérisation.

Des mesures complémentaires seraient nécessaires pour compléter les différentes conclusions de ces résultats. Par exemple, des mesures de la constante de tautomérisation par spectroscopie d'absorption IR en matrice d'argon pourraient être intéressantes afin de comparer les valeurs obtenues avec celle en agrégat. Ou bien, concernant la détermination

des complexes avec l'eau, des mesures similaires avec de l'eau deutérée devrait permettre de confronter l'attribution des bandes observées.

Dans la seconde partie, le paysage conformationnel de deux petites chaînes peptidiques, le 3PPA et le NPEA, contenant le résidu phénylalanine a été sondé après refroidissement de ces structures au cours d'une détente supersonique. L'analyse des spectres UV de la transition $\pi\pi^*$ ainsi que des spectres IR dans l'état fondamental a permis de montrer que pour le 3PPA, deux types de structures ont été formées (une forme repliée et une forme étendue) tandis que pour le NPEA, seule la forme repliée a été détectée. Ce type de structures est commun à de nombreuses chaînes peptidiques et sont révélatrices de la grande flexibilité des liaisons simples des chaînes d'acides aminés. Les deux structures repliées de ces deux molécules semblent présenter une faible interaction NH- π , qui est également une interaction souvent observée dans les peptides. Enfin, la mesure de la durée de vie du premier état singulet des trois structures observées a montré un comportement très différent pour les deux molécules. Le NPEA se comporte comme le cas du toluène, c'est-à-dire, possède une durée de vie de l'ordre de 80 ns, tandis que les deux conformères observés de 3PPA possèdent une durée de vie bien plus courte (< 10 ns). Une telle diminution de la durée de vie de l'état singulet $^1\pi\pi^*$ a déjà été observée dans des cas particuliers de peptides contenant le résidu phénylalanine. Cependant, le mécanisme à l'origine de ces durées de vie est controversé. S'agit-il d'une conversion intersystème privilégiée pour ces conformations particulières ou bien d'une autre voie non radiative en compétition avec le passage à l'état triplet ? La détection d'états triplets formés par ISC dans ces chaînes peptidique devrait apporter des éléments à la compréhension du schéma de désexcitation de cet état singulet. Cette problématique est abordée dans le chapitre suivant.

Chapitre 3

Désexcitation du premier état excité ${}^1\pi\pi^*$ du résidu phénylalanine dans des peptides modèles

DE nombreuses maladies telles que les cancers de la peau et la cataracte semblent être causées en partie par les rayonnements UV [10, 178]. Ces rayonnements UV peuvent interagir avec le milieu biologique, notamment avec les protéines qui représentent 68 % de la matière sèche des cellules, et induire des phénomènes de photodégradation. Parmi ces processus, on peut citer la photooxydation, mise en cause dans la formation de la cataracte [10, 179] et qui est le processus majoritaire des photodégradations des protéines. On peut également citer la photofragmentation et les réactions chimiques initiées depuis un état électronique excité. Tous ces processus, photoinduits, débutent par l'absorption d'un photon UV par l'un des acides aminés aromatiques présents dans les protéines. L'absorption de ce photon excite localement le chromophore aromatique de l'acide aminé, qui va se désexciter selon différentes voies, dont certaines peuvent être dommageables à la fonction de la protéine.

La question de la désexcitation de ces acides aminés aromatiques est donc une problématique importante pour comprendre les photodégradations des protéines. Il est alors essentiel, dans un premier temps, d'identifier les différents processus qui permettent aux acides aminés de relaxer leur énergie et ensuite, à une plus grande échelle, ceux qui les gouvernent dans les protéines. Ainsi, si des études en phase gazeuse sur des acides aminés isolés sont utiles pour révéler le comportement intrinsèque de ces systèmes, ceux-ci ne sont pas les modèles les plus pertinents pour décrire le comportement dans l'environnement protéique. Il est notamment nécessaire de s'assurer de la présence d'un environnement minimal, mimant celui d'une protéine donnant notamment accès à leur structure secondaire. Une possibilité, qui a été suivie dans ce travail, est d'étudier des petites chaînes peptidiques protégées contenant l'un de ces acides aminés aromatiques.

De plus, l'approche en phase gazeuse permet un diagnostic précis de l'état du système, principalement sa conformation dans le cas de molécules flexibles comme les chaînes pepti-

diques, qui facilite la comparaison avec la modélisation, notamment au niveau quantique.

3.1 État de l'art et objectifs de cette étude

Les trois acides aminés majoritairement responsables de l'absorption des rayonnements UV par les protéines sont le tryptophane (Trp), dont le chromophore de la chaîne latérale, l'indole, absorbe vers 283 nm, la tyrosine (Tyr), avec une chaîne latérale phénolique qui absorbe vers 278 nm, et la phénylalanine (Phe), dont le chromophore phényle absorbe vers 260 nm (Figure 3.1). La phénylalanine est l'acide aminé le plus abondant des trois et, tout comme la tyrosine, elle est présente dans pratiquement toutes les protéines [180, 181].



FIGURE 3.1 – Les trois acides aminés possédant un chromophore UV et responsables de l'absorption entre 260 et 300 nm des protéines.

La photophysique de ces systèmes peut être très complexe car elle fait intervenir différentes voies de désexcitation en compétition les unes avec les autres. Ce peut être des processus radiatifs (la fluorescence ou la phosphorescence), des processus non-radiatifs comme des conversions internes (IC pour *Internal Conversion*) vers l'état fondamental ou des états excités (à transfert de charge ou d'excitation), le passage à l'état triplet par le processus de croisement intersystème (ISC pour *InterSystem Crossing*), ou encore la photodissociation.

La fluorescence des protéines, émise par l'état initialement excité (l'un des états $^1\pi\pi^*$ des chromophores), est principalement due au tryptophane. Lorsque le tryptophane n'est pas présent dans la protéine, la fluorescence provient de la tyrosine ; celle de la phénylalanine n'est que rarement détectable, à cause d'un rendement de fluorescence réputé faible [182].

Cette différence des rendements de fluorescence de ces trois acides aminés au sein des protéines suggère que leurs processus de désexcitation sont notablement différents. Cette conclusion est d'ailleurs largement reflétée par les dynamiques du premier état singulet $^1\pi\pi^*$ localement excité des chromophores indole et phénol qui sont contrôlées par des processus non-radiatifs efficaces, comme le détachement d'atome d'hydrogène dû à une intersection conique entre l'état $^1\pi\pi^*$ initialement excité et un état $\pi\sigma^*$ de basse énergie pour le premier, ou la conversion interne vers l'état fondamental pour le second. La

photophysique des acides aminés Trp et Tyr est relativement bien documentée et les processus majoritaires intervenant dans la dynamique sont exposés dans une revue récente de Soorkia *et al.* qui résume les connaissances actuelles sur la photoexcitation des peptides aromatiques en phase gazeuse [30].

La photophysique de l'acide aminé phénylalanine en revanche n'a pas fait l'objet d'études aussi poussées. L'objectif de ce travail a été d'avancer sur le sujet, notamment en privilégiant l'existence d'un environnement peptidique de taille croissante. Avant d'évoquer la dynamique électronique des petits peptides contenant Phe, résumons les quelques connaissances sur la dynamique électronique du chromophore phényle.

3.1.1 Photophysique des groupements phényles : benzène et toluène

Dans le chromophore phényle, la dynamique du premier état singulet, un état $\pi\pi^*$ localisé sur le cycle, est due à un tout autre schéma que ceux mis en avant pour l'indole et le phénol. En effet, elle est principalement expliquée, au moins pour les niveaux vibrationnels proches de l'origine de l'état singulet excité, par le processus de croisement intersystème (ISC), c'est-à-dire par le passage à l'état triplet. En effet, la dynamique du premier état singulet excité S_1 du benzène et du toluène, a été étudiée par spectroscopie pompe-sonde à différentes longueurs d'onde d'excitation [40, 183, 184]. Ces mesures, réalisées avec un laser de sonde à 193 nm, ont permis de détecter un état triplet $T(^3\pi\pi^*)$, de longue durée de vie (μs), formé depuis l'état S_1 initialement excité. De ces mesures, ont pu être déterminés le rendement quantique du processus d'ISC, noté Q_{ISC} , et la durée de vie de l'état triplet.

Dynamique du benzène (C_6H_6)

Pour le benzène, dont la transition $S_1 \leftarrow S_0$ est bien documentée [40, 53, 183, 185], lorsque la bande origine de cette transition est excitée, le rendement quantique d'ISC a été estimé à $Q_{ISC} = 0,62$, faisant de l'ISC le processus majoritaire impliqué dans la dynamique de l'état S_1 . Les autres processus sont la fluorescence avec un rendement égal à $Q_{fluo} = 0,22$ et l'IC vers l'état fondamental chaud ($Q_{IC} = 0,16$) [40].

Lorsque cet état électronique est faiblement excité vibrationnellement, de petites fluctuations du rendement de fluorescence sont observées mais l'ISC reste toujours le processus majoritaire [40]. Cependant, au delà de 3000 cm^{-1} , s'ouvre la fameuse *troisième voie* du benzène. Au dessus de ce seuil, le rendement de fluorescence devient quasiment nul [185] et le rendement d'ISC diminue également pour laisser place à l'IC qui devient le processus majoritaire dans la dynamique. Par exemple, pour une excitation 3288 cm^{-1} au dessus de la bande origine, les rendements quantiques d'IC et d'ISC ont été estimés à $Q_{IC} = 0,71$ et $Q_{ISC} = 0,29$ [40]. L'origine de cette troisième voie de désexcitation a fait l'objet de nombreuses interprétations, dont la plus probable est l'accès à une intersection conique

avec l'état fondamental.

L'ISC est donc le processus majoritaire impliqué dans la dynamique du benzène lorsque la bande origine est excitée. L'ISC nécessite un changement de spin et est donc un processus relativement lent. De ce fait, la durée de vie du premier état singulet excité du benzène a été mesurée égale à 100 ns [186], ce qui est bien plus long que la durée de vie de l'indole (17,5 ns [187]) et du phénol (2 ns [188]) dont la dynamique est expliquée par le mécanisme de désexcitation de conversion interne.

Par ailleurs, la durée de vie de l'état triplet $^3\pi\pi^*$ formé après excitation de la bande origine de l'état S_1 a été mesurée : 1,2 μs [40, 53]. Cette durée de vie est typique d'un état triplet.

Dynamique du toluène ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_3$)

Par la présence du groupement méthyle, qui rompt la symétrie C_6 du benzène et qui peut perturber la structure électronique du cycle, le toluène apparaît plus pertinent que le benzène pour modéliser le chromophore de la phénylalanine dans les peptides.

Des études similaires à celles réalisées sur le benzène ont été menées, notamment par l'équipe de Smalley en 1982 [41], sur la molécule de toluène. Elles ont permis de montrer que la conversion interne est très peu impliquée dans la dynamique de la bande origine du premier état singulet $^1\pi\pi^*$ pour cette molécule. En effet, ces auteurs ont mesuré un rendement quantique d'ISC égal à $0,64 \pm 0,05$. Comme le rendement de fluorescence a lui été estimé à $0,30 \pm 0,07$ [189], de ce fait, la conversion interne est négligeable dans la dynamique du premier état singulet du toluène.

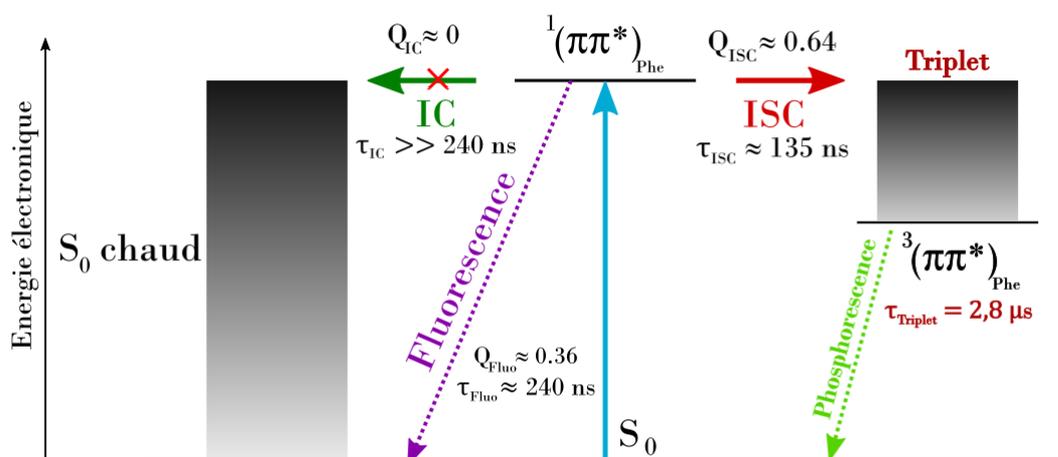


FIGURE 3.2 – Modèle de désexcitation du toluène, après photoexcitation de la bande origine de la transition $S_1 \leftarrow S_0$. Dans le cas du toluène, seul l'ISC et la fluorescence interviennent dans la dynamique de l'état S_1 . Les autres processus non-radiatifs tel que la conversion interne vers les états chauds de S_0 sont négligeables [41].

La durée de vie de l'état S_1 du toluène a été mesurée égale à 86,4 ns à l'origine [42].

Connaissant cette durée de vie et les différents rendements quantiques, il est possible de déterminer les temps caractéristiques de ces deux processus dans le cas du toluène : 135 ns pour l'ISC et 240 ns pour la fluorescence. La durée de vie de l'état triplet a par ailleurs été mesurée égale à $2,9 \pm 0,03 \mu\text{s}$ [41]. La dynamique de l'état S_1 du toluène est résumée sur la Figure 3.2.

Ainsi, les états triplets ont un rôle important dans la dynamique du premier état singulet excité S_1 du toluène puisque 64 % de la population initiale de cet état se retrouve dans l'état triplet. L'objet de cette étude est de documenter ce qu'il en est dès lors que le chromophore est inclus dans une chaîne peptidique.

3.1.2 Photophysique des petits peptides

Bien que dans ce travail l'intérêt se soit porté sur l'étude de chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine, la photophysique de l'acide aminé Phe est intéressante à mentionner.

L'acide aminé phénylalanine

La transition $S_1 \leftarrow S_0$ de la phénylalanine a été étudiée en jet supersonique [12, 190, 191, 192]. Plusieurs bandes spectroscopiques ont été observées et attribuées à six conformères différents de la molécule. La mesure de la durée de vie de l'état $^1\pi\pi^*$ de ces conformères montre d'importantes disparités, avec notamment un conformère, désigné par X, dont la durée de vie est plus courte d'un facteur deux que celle des autres. Les durées de vie des cinq conformères mesurées par spectroscopie pompe-sonde [192] sont comprises entre 68 et 87 ns contre 29 ns pour le conformère X. Les durées de vie de fluorescence ont également été mesurées [12]; même si elles semblent différer des mesures précédentes, elles montrent le même phénomène de raccourcissement, avec 20 ns pour le conformère X contre des durées de vie comparables à celle du toluène (86 ns) pour les cinq autres conformères. La formation de l'état triplet par ISC est une voie vraisemblable dans la dynamique de ces conformères. Pour expliquer le raccourcissement de la durée de vie observée pour le conformère X, Ebata et collaborateurs ont avancé la possibilité d'un passage à l'état triplet spécifiquement favorisé pour cette conformation [12].

Cependant, il existe peu ou pas d'études sur le passage à l'état triplet de la phénylalanine en phase gazeuse. Ce passage a été tout de même détecté en solution après excitation de la molécule à 265 nm [193]. Par ailleurs, la phosphorescence de la phénylalanine n'a été observée qu'en solution [194] et à 77 K [195].

La phénylalanine dans les petites chaînes peptidiques

Les petites chaînes peptidiques protégées sont les modèles les plus pertinents pour étudier la dynamique de la phénylalanine dans les protéines car la molécule y voisine

les liaisons peptidiques. Ainsi l'étude de ces chaînes permet de tester le rôle de ces liaisons dans la dynamique électronique. Par ailleurs, deux résultats de deux études récentes apparaissent contradictoires, et justifient une étude plus poussée de ces systèmes.

Dynamique de l'état S_1 contrôlée par l'IC ? Dans la première l'étude, Mališ *et al.* [13, 28] se sont intéressés à la durée de vie du premier état singulet $^1\pi\pi^*$ de la petite chaîne peptidique contenant le résidu phénylalanine : le *N*-acétyl-phénylalaninyl-amide (NAPA, en abrégé). Ce système comporte trois conformères (Figure 3.3), l'un au squelette étendu (désigné A), et deux repliés (B et C) stabilisés par une liaison hydrogène C_7 entre les groupes acétyle et amide. Les conformations B et C diffèrent par l'orientation du groupe phényle par rapport à la chaîne peptidique. Des mesures de la durée de vie par des expériences pompe-sonde menées en jet supersonique ont montré que le conformère B (correspondant à la conformation repliée $\gamma_L(g+)$) possède une durée de vie de 1,5 ns, contre 35 et 70 ns pour C et A respectivement, soit une durée de vie spectaculairement plus courte (50 fois !) que les deux autres.

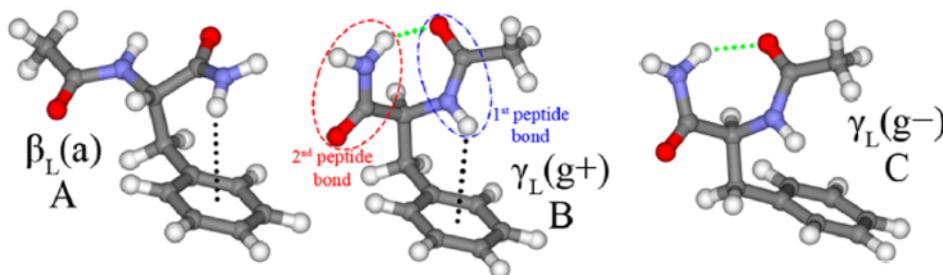


FIGURE 3.3 – Les trois conformères les plus stables de NAPA (figure adaptée de la référence [13]).

Afin de chercher à préciser les éléments critiques pour ce comportement, la dynamique de l'état singulet de la forme méthylée de NAPA sur le groupement amide terminal (NAPMA) a également été sondée [28]. NAPMA est caractérisé par les mêmes conformères que NAPA. En revanche le conformère B de NAPMA a une durée de vie comparable à celle des deux autres conformères observés et du même ordre de grandeur que la durée de vie du toluène (67, 48 et 62 ns pour NAPMA A, B et C respectivement). Pour expliquer cette remarquablement faible durée de vie de NAPA B, les auteurs ont réalisé des simulations de dynamique non-adiabatique dans le formalisme de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps (TD-DFT) et prenant en compte les cinq plus bas états excités de ce système. Les résultats de ces simulations couplés aux résultats expérimentaux ont permis de conclure qu'une explication vraisemblable serait un transfert d'excitation entre le cycle phényle, initialement excité, et l'une des liaisons peptidiques. Cette conversion interne entre états singulets serait rendue possible par la présence d'une intersection conique (CI pour *Conical Intersection*) entre les états $^1(\pi\pi^*)_{Phe}$ et $^1(n\pi^*_{CO})_{amide}$. Les différentes durées de vie observées seraient expliquées par une accessibilité de cette CI plus

ou moins favorisée en fonction du conformère. La méthylation de la molécule aurait notamment pour effet de nettement réduire cette accessibilité pour NAPMA [28], expliquant pourquoi NAPMA B a une durée de vie bien plus longue que le NAPA B.

Les auteurs de cette étude avaient exclu la possibilité d'un passage à l'état triplet plus rapide pour NAPA B comme cela a été proposé par Ebata et collaborateurs pour la phénylalanine [12]. Pour ces auteurs, une différence aussi grande de la durée de vie entre conformères aurait impliqué une très grande variation du couplage spin-orbite entre les états $^1\pi\pi^*$ et $^3\pi\pi^*$, d'un conformère à l'autre. Il paraît en effet difficile d'imaginer qu'un tel changement drastique ne soit possible que pour cette seule conformation particulière. La photophysique de ce petit peptide serait donc expliquée par un mécanisme de conversion interne entre deux états singulets de nature différente *via* une intersection conique. Cependant, il n'existe pas de preuves expérimentales de cette voie de désexcitation par conversion interne, ce qui ne permet pas d'exclure le passage à l'état triplet dans l'interprétation de ces dynamiques observées.

Rupture de la liaison C_α - C_β depuis l'état triplet ? La seconde étude à considérer concerne celle d'un peptide protoné de plus grande taille, Ac-Phe-(Ala)₅-Lys-H⁺, piégé en piège de Paul par Rizzo et ses collaborateurs [196]. Par une étude spectroscopique par absorption IR après excitation UV et refroidissement dans le piège, ces auteurs concluent à la formation d'un état triplet de très longue durée de vie (domaine ms) localisé sur le chromophore UV de la phénylalanine, susceptible de donner lieu à une fragmentation, correspondant à la rupture de la liaison C_α - C_β de la chaîne latérale de Phe. Cette fragmentation est induite par l'excitation infrarouge de la vibration NH de la liaison peptidique en interaction avec le cycle, et ceci même après un délai dans le domaine des millisecondes. Les auteurs en déduisent l'existence d'une barrière à la fragmentation et en concluent que le passage à l'état triplet est un mode de désexcitation important pour le résidu Phe dans les protéines.

Par ailleurs, la détection de ces états triplets rappelle les études de photodissociation menées dans le groupe de Y. T. Lee, sur divers systèmes contenant le chromophore phényle, notamment deux alkylbenzènes [197, 198], et une molécule un peu plus grande, le *N*-méthyl-phényléthylamine [199]. Dans ces études, les molécules sont initialement excitées dans leur premier état singulet excité $^1\pi\pi^*$ par des photons à 248 nm. Des fragments neutres sont alors détectés par ionisation par un laser VUV et leur distribution de vitesses est mesurée. Les fragments observés correspondent à la rupture de la liaison C_α - C_β , et le bilan énergétique montre qu'ils sont formés par dissociation d'un état électronique excité, plutôt que par prédissociation vibrationnelle de l'état fondamental. Ces résultats suggèrent que la dissociation a lieu à l'état triplet ; une conclusion en accord avec des calculs très sommaires de dissociation de l'état triplet, qui suggèrent l'existence d'une telle barrière à la dissociation.

Ces différentes études semblent donc être contradictoires puisque l'une avance que la

désexcitation de l'état singulet excité $^1\pi\pi^*$ de Phe serait expliquée par de la conversion interne, tandis que les autres, par la détection de photofragments, suggèrent que le processus d'ISC est actif. Ce travail de thèse s'inscrit donc dans la continuité de ces études et a pour but, en partie, d'apporter des éléments éclairants pour comprendre la dynamique électronique de petits peptides contenant l'acide aminé Phe.

3.1.3 Problématiques de cette étude

Les différentes considérations présentées dans les parties précédentes montrent donc que la formation d'état triplet est une voie possible dans la dynamique électronique de la phénylalanine dans les protéines. Cependant, la formation des états triplets est potentiellement plus problématique que celle des états singulets pour la question de la photostabilité des protéines. Les états triplets sont en effet connus pour présenter une longue durée de vie ($\gg \mu s$), souvent limitée par la phosphorescence qui est une désexcitation radiative très lente (typiquement quelques ms). Cette énergie électronique est donc stockée dans un état qui a tout le temps de réagir avec son environnement. Le passage à l'état triplet après absorption d'un photon UV peut donc conduire plus facilement à la photodégradation de la protéine. Si des états triplets à longue durée de vie sont en effet formés dans les protéines, la nature doit donc compter sur divers modes de protection pour neutraliser l'effet délétère de ces états triplets, comme le transfert d'énergie d'un chromophore à une autre, plus bas en énergies (Tyr, Trp, dans le cas présent) ou encore l'existence de filtres UV naturels. Il y a donc un intérêt fort dans l'étude des états triplets de la phénylalanine dans les protéines.

Cependant, du fait de la faiblesse des transitions radiatives entre états singulets et triplets, peu de méthodes existent pour sonder directement la spectroscopie de ces derniers. Même leur ionisation peut être problématique. Les états singulets excités peuvent être détectés facilement par ionisation à un photon, si leur durée de vie est longue (> 100 ps), car leur géométrie est proche de celle de l'ion. En revanche la détection des états triplets, dont la structure en diffère sensiblement, n'est efficace qu'avec une ionisation réalisée par un laser à courte longueur d'onde, par exemple à 193 nm (cf paragraphe 3.1.3). Moyennant cette précaution, la technique de spectroscopie pompe-sonde s'est révélée être un outil fécond pour détecter la formation d'états triplets par ISC après photoexcitation UV, comme montré par les travaux de Smalley et coll. dans les années 80 avec les mesures du rendement quantique de l'ISC du benzène et du toluène [40, 41, 53].

Le but principal de ce chapitre a été de mettre en œuvre la méthodologie de Smalley sur des petites chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine, de taille et de complexité croissantes, afin de sonder le processus d'ISC après photoexcitation du premier état singulet $^1\pi\pi^*$ dans son fond de puit.

Deux objectifs ont alors guidé ces mesures. Dans un premier temps, elles devraient permettre d'observer directement si l'état triplet se forme bien pour toutes ces structures après excitation de l'origine de la transition $S_1 \leftarrow S_0$. Ainsi la détection de l'état triplet

et la mesure de son rendement quantique de formation, notamment pour les conformères ayant un état singulet de courte durée de vie comme le NAPA B, doivent permettre de valider ou d’infirmer l’hypothèse d’une IC importante dans ces structures, proposée par Mališ [13, 28]. Dans un second temps, les mesures de durée de vie des états triplets observés devraient permettre de proposer un modèle de leurs voies de relaxation.

Le principe de la sonde des états triplets par photoionisation est d’abord présenté. Cette partie permet d’exposer toutes les considérations expérimentales nécessaires pour l’interprétation des résultats. Ensuite, avant de sonder la dynamique des petites chaînes peptidiques, des mesures de détection de l’état triplet réalisées sur la molécule de toluène et de trois petits alkylbenzènes ont permis de valider la méthodologie expérimentale. Ces résultats sont présentés en premier, suivis de ceux sur la série des peptides étudiés, complétés par la discussion et l’interprétation des observations, à la lumière d’études théoriques menées au laboratoire.

3.2 Principe de la sonde des états triplets par photoionisation

Afin de mesurer la dynamique de l’état singulet $^1\pi\pi^*$ et de l’état triplet $^3\pi\pi^*$ formé par le processus d’ISC depuis l’état singulet, des mesures par spectroscopie pompe-sonde ont été réalisées. Cette méthode expérimentale est décrite dans le Chapitre 1. Le principe de cette mesure est rappelé par le schéma de la Figure 3.4.

Une première impulsion (impulsion pompe) permet d’exciter le système sur le premier état vibrationnel ($v=0$) du premier état singulet. Puis, une seconde impulsion laser (laser de sonde) interagit ensuite avec les molécules photoexcitées. Ces photons ont pour rôle d’ioniser les molécules en arrachant un électron π du cycle aromatique. Pour suivre la dynamique des états électroniques, un retard Δt est appliqué entre les deux lasers. Ce délai permet de sonder la population des états à différents instants.

3.2.1 Photoionisation des états triplets

Pour pouvoir détecter un état excité de la molécule, il est nécessaire que l’énergie des photons du laser de sonde soit suffisante pour ioniser cet état. Pour tous les systèmes étudiés, le minimum de l’état triplet $^3\pi\pi^*$ formé est localisé énergétiquement $\sim 1,1$ eV en dessous du minimum du premier état singulet, comme le montrent les calculs de chimie quantique (références [41, 200], ainsi que le travail mené au laboratoire, exposé dans l’Annexe F). Il en résulte que l’état triplet formé présente une énergie vibrationnelle correspondant à cette différence, puisque la molécule est isolée (cf Figure 3.4). La photoionisation étant soumise au principe de Franck-Condon, elle ne sera permise que si l’énergie de photon permet d’accéder à des états du cation présentant un contenu vibrationnel similaire.

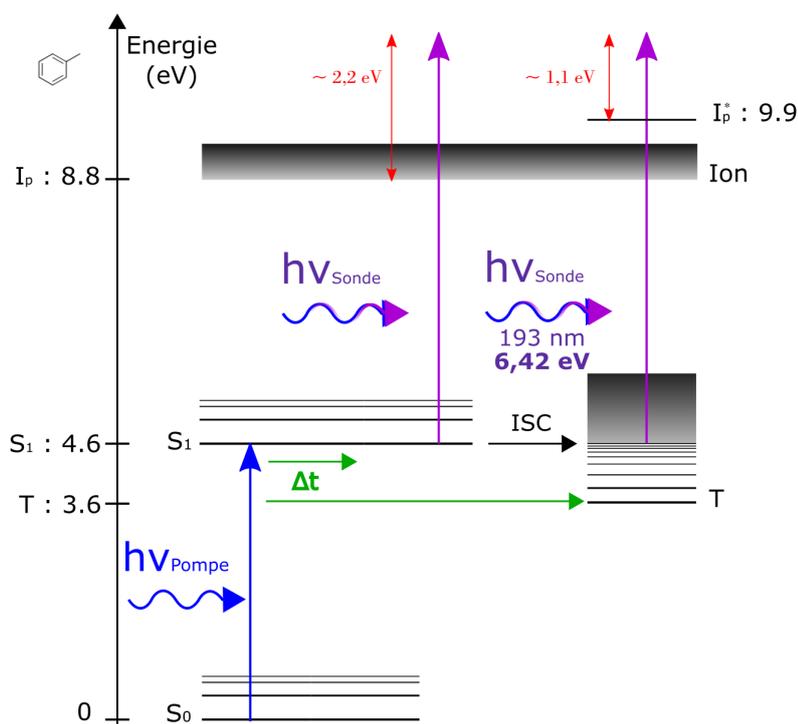


FIGURE 3.4 – Principe des mesures de dynamique par la technique de spectroscopie pompe-sonde ns. Une première impulsion laser, appelée impulsion pompe, photoexcite la molécule dans son état S_1 . Puis une seconde impulsion laser, impulsion sonde, interagit avec les molécules photoexcitées en ionisant la molécule soit depuis l'état singulet, soit depuis un état triplet $T(\pi\pi^*)$. Un délai temporel Δt est appliqué entre les deux impulsions pour suivre la dynamique des deux états sondés. L'énergie des photons sonde est de 6,42 eV. Une telle énergie permet d'ioniser les molécules dans l'état S_1 , soit 2,2 eV au dessus du seuil d'énergie d'ionisation (I_p) et 1,1 eV au dessus du seuil d'ionisation effectif (I_p^*) nécessaire pour ioniser les molécules depuis l'état $T(\pi\pi^*)$ avec 1 eV d'énergie vibrationnelle (voir texte). Les énergies indiquées dans le schéma correspondent aux valeurs de la molécule du toluène.

Dans notre cas, l'énergie de photon doit typiquement excéder l'énergie d'ionisation ($I_p = 8,8$ eV pour le toluène) de la molécule de 1,1 eV, conduisant à un seuil de photoionisation effectif I_p^{\dagger} de 9,9 eV. D'ailleurs, le spectre de photoélectrons du toluène obtenu par ionisation résonante à deux couleurs (deuxième couleur à 225 nm = 5,51 eV) montre que le signal obtenu à des délais entre lasers supérieurs à 70 ns (donc délais correspondants à la photoionisation d'une proportion importante d'états triplets) correspond à un contenu vibrationnel important (> 8000 cm⁻¹ = 1 eV), qui s'étend largement au dessus de ce seuil [200].

Ceci permet de comprendre pourquoi les premières expériences de sonde des états triplets aromatiques ont utilisé, ainsi que nous à leur suite, un laser à excimère émettant à 193 nm. Cette énergie de photon (6,42 eV) conduit à ioniser la molécule de toluène avec

un excédent d'énergie d'environ 2,2 eV au dessus du seuil d'ionisation I_p , donc avec un excédant de 1,1 eV au dessus du seuil d'ionisation effectif I_p^\dagger , ce qui permet de couvrir largement l'enveloppe Franck-Condon de la photoionisation de l'état triplet.

Au-delà de la faisabilité de l'ionisation, se pose la question de l'efficacité relative de l'ionisation pour les deux espèces, singulet et triplet. Les études antérieures [40, 41, 53, 184, 201] se sont largement reposées sur des lasers intenses, saturant la transition, c'est-à-dire susceptible d'ioniser la majorité des états excités formés. A cet égard, les mesures de rendement quantique mesurés pour le toluène par Smalley et ses collaborateurs ont validé cette approche puisque les valeurs obtenues sont conformes aux mesures réalisées par des techniques alternatives [189]. Cependant pour le cas des peptides, il est tout de même intéressant de se questionner sur cette efficacité relative, car il n'existe pas dans la littérature de valeurs comparatives.

Tous les systèmes étudiés dans ce chapitre (les dérivés du benzène et les peptides) sont des molécules contenant le chromophore phényle. Les états excités $\pi\pi^*$ singulet et triplet sont des états excités localisés sur le cycle phényle (cf section 3.4.4, où les calculs de ces états triplets sont décrits), photoionisables vers l'état fondamental du cation. La présence des chaînes carbonées ou des liaisons peptidiques à proximité du phényle a pour effet d'induire des variations d'énergie de ces deux états, avec une dépendance en fonction de la conformation. Ces variations restent faibles ($<0,3$ eV) comme en atteste le domaine spectral des transitions électroniques de ces molécules [13, 14, 28, 176]. Cependant, à l'état ionique, l'interaction entre le cation (cycle phényle) et les chaînes, notamment peptidiques, peut en revanche être plus intense. Typiquement cet écart est de ± 2 eV, pour une liaison peptidique pointant vers le cycle aromatique ou vers l'extérieur. Ces interactions sont susceptibles respectivement de déstabiliser ou de stabiliser les états de l'ion. Ainsi, il peut être envisagé que pour certaines conformations où le cation est déstabilisé, l'ionisation soit difficile car elle nécessite plus d'énergie pour former l'ion et donc que ceci module l'ensemble des états finaux accessibles de l'ion. Mais, le fait d'utiliser un laser de sonde à 193 nm permet au moins partiellement de compenser l'effet de déstabilisation car avec une telle énergie, un plus grand nombre d'états vibrationnels finaux de l'ion peut être atteint.

Un autre point à considérer alors est l'effet de cette énergie vibrationnelle déposée dans l'ion ainsi formé, et l'éventualité d'une fragmentation ionique, notamment lorsqu'on ionise les états triplets dans les conformations qui sont défavorisées à l'état ionique. L'énergie vibrationnelle déposée dans l'ion par photoionisation peut en effet conduire à ce qu'une partie de la population d'ions formée se fragmente par prédissociation vibrationnelle, après un éventuel réarrangement structurel de l'ion. Ceci conduirait à une diminution du signal de l'ion parent de la molécule, qui est la masse suivie pour toutes les mesures. Cependant, il faut noter que, dans les états triplets de la molécule neutre, la vibration étant originellement localisée sur le cycle, elle est amenée à diffuser dans toute la molécule par le phénomène de redistribution vibrationnelle intramoléculaire (IVR) à une échelle de temps

de l'ordre de 1-100 ps [202]. L'IVR permet alors à des isomérisations conformationnelles de se réaliser dans la molécule, dispersant très rapidement (à l'échelle de l'expérience pompe-sonde nanoseconde) la population conformationnelle initiale (celle de l'état singulet initialement excitée) dans tous les conformères accessibles. Dans la mesure où ces conformères possèdent des structures différentes, on doit s'attendre à ce que, si certains sont pénalisés par l'interaction chaîne latérale – cation, ce ne soit pas le cas de tous, facilitant pour les états triplets la formation d'ions de moindre énergie interne, et donc moins sensibles à la fragmentation. On devrait s'attendre à détecter au moins, dans le pire des cas, un minimum d'état triplet. Cette question sera considérée en détail par la suite dans l'interprétation des résultats.

Pour l'ensemble de ces raisons, on peut s'attendre, pour les molécules peptidiques, à détecter les états triplets avec une efficacité (notée α), qui reste du même ordre de grandeur que celle des états singulets.

Enfin signalons que les dynamiques ultérieures, comme des conversions internes vers l'état fondamental ou d'autres états excités (comme des états à transfert de charge) sont hors de portée de la sonde car l'ionisation de ces états, beaucoup plus bas en énergie, requiert un processus à deux photons, non résonant, beaucoup moins efficace que l'ionisation à un photon.

3.2.2 Expérience pompe-sonde et limitations temporelles

Le signal de sonde, noté $\mathcal{S}(t)$, est collecté en fonction du délai temporel Δt appliqué entre les deux lasers. Il dépend notamment des populations des états sondés, l'état singulet $^1\pi\pi^*$ initialement photoexcité, notée $S_1(t)$ et de l'état triplet $^3\pi\pi^*$, notée $T(t)$:

$$\mathcal{S}(t) = S_1(t) + \alpha T(t) \quad (3.1)$$

où α correspond au coefficient d'efficacité d'ionisation défini dans le paragraphe précédent.

La Figure 3.6 est un exemple de dynamique mesurée. Il s'agit du cas de la molécule de toluène. L'état singulet est initialement peuplé par photoexcitation avec le laser de pompe. Cet état se dépeuple avec un temps correspondant à sa durée de vie, qui est 86 ns pour le toluène [42]. Cet état est donc pratiquement dépeuplé après 300 ns. Si au-delà de ce délai un signal est toujours détecté, cela implique qu'il provient d'un autre état, qu'on attribue à un état triplet à longue durée de vie. Cet état triplet se peuple graduellement par le processus d'ISC depuis l'état S_1 . Puis l'état triplet se désexcite en général lentement (échelle μs), soit par phosphorescence ou d'autres processus lents, conduisant à un signal de sonde aux temps longs formant un plateau lentement décroissant, caractéristique de la détection de l'état triplet (Figure 3.5).

Dans toutes les expériences pompe-sonde réalisées, le délai utile est limité à 1 μs pour

des considérations d'ordre expérimental. En effet, les mesures ont été réalisées en jet supersonique, comme décrit dans le Chapitre 1. Le jet moléculaire se déplace donc dans le vide, à une vitesse qui dépend de la nature du gaz porteur. Le gaz porteur pour ces mesures étant un mélange de 70 % d'hélium et de 30 % de néon, la vitesse de déplacement du jet est d'environ $\sim 1000 \text{ m.s}^{-1}$. Or, le déplacement des molécules implique des contraintes pour la détection. En effet, la technique pompe-sonde nécessite que les deux impulsions laser illuminent la même population de molécules. L'alignement des lasers a été réalisé de sorte que les lasers se recouvrent spatialement au délai $\Delta t = 0 \text{ ns}$. Ainsi, sur les spectres expérimentaux, sont observées la décroissance de la population de l'état singulet ainsi que le début celle de l'état triplet. La dynamique est sondée en incrémentant le délai temporel appliqué entre les lasers. L'alignement spatial des lasers étant fixe et les molécules se déplaçant, au delà d'un certain délai temporel les lasers n'illuminent plus les mêmes populations de molécules. Ce délai critique a été estimé à $1 \mu\text{s}$. Au delà, il est observé une brusque diminution du signal s'expliquant par la fuite des molécules excitées par le laser de pompe en dehors de la zone illuminée par le laser de sonde. Ainsi, la détection de l'état triplet n'est plus réalisée de façon optimale au delà de la microseconde. Afin de maximiser cette fenêtre temporelle, la tache du laser de sonde a été choisie la plus large possible (2 mm), recouvrant la totalité de la tache du laser de pompe et décalée vers l'aval du jet.

Cette contrainte expérimentale a une conséquence sur la détermination de la durée de vie de l'état triplet. En effet, si elle excède $1 \mu\text{s}$, comme cela est le cas pour le toluène ($\tau_T = 2,9 \pm 0,3 \mu\text{s}$ [41]), elle ne peut être déterminée avec précision dans ces conditions. C'est la raison pour laquelle ce sont essentiellement des bornes inférieures qui sont données pour la détermination des durées de vie des états triplets de certaines molécules. Le problème ne se pose pas, bien évidemment, si la durée de vie de l'état triplet est inférieure $1 \mu\text{s}$.

Plusieurs solutions auraient pu être envisagées pour étendre la borne supérieure de cette fenêtre temporelle. Une première solution aurait été de suivre spatialement les molécules en changeant l'alignement du laser de sonde en cours de mesure. Ainsi, une plus grande plage temporelle aurait pu être sondée. La limitation aurait été l'espace existant entre la zone d'ionisation et la zone d'accélération des ions dans le spectromètre de masse. Cependant, ce type de manipulation est assez complexe et nécessite une précision et stabilité des outils optiques difficiles à obtenir. La deuxième solution aurait pu être de changer de gaz porteur en utilisant des atomes plus lourds comme l'argon. La vitesse de propagation d'un jet d'argon est plus lente que celle d'un jet He/Ne. Cette possibilité aurait pu permettre de sonder une plus grande plage temporelle sans avoir à changer l'alignement spatial des lasers en cours de mesure. L'inconvénient majeur de cette solution est le refroidissement des molécules. En effet, avec un gaz porteur différent, l'efficacité de refroidissement des molécules peut être plus faible. Le nombre de conformations observées dans les spectres UV peut être ainsi changé. Or, la conformation est un élément important dans cette étude, notamment pour étudier ses effets sur la dynamique des états triplets,

comme il en a été rapporté pour l'état singulet [13, 28].

Cependant, la détermination de la durée de vie exacte de l'état triplet n'est pas la priorité de cette étude. L'information importante de ces mesures est plutôt la détection de l'état triplet et la quantification de ce processus par la mesure du rendement quantique Q_{ISC} .

3.2.3 Modèle de désexcitation via un état triplet

Le modèle de désexcitation considéré pour toutes les molécules de cette étude, c'est-à-dire les états excités ionisables par les lasers, est illustré sur la Figure 3.5. Il s'agit d'un modèle en deux étapes symbolisé par $S_1 \rightarrow T \rightarrow X$ où X fait référence à un ou des états non détectés.

Après photoexcitation du premier état singulet $^1\pi\pi^*$, cet état se dépeuple selon différentes voies de désexcitation : la fluorescence (non représentée), le croisement intersystème (ISC) et possiblement d'autres voies non-radiatives comme la conversion interne IC singulet-singulet (non représentée) [13, 28]. Ces voies non-radiatives, si elles sont impliquées dans la dynamique de l'état singulet, ne sont pas détectables dans ces mesures. Seul le passage à l'état triplet est détectable car le laser de sonde peut ioniser l'état triplet $T(^3\pi\pi^*)$ ainsi formé. L'état triplet formé est un état *chaud*, avec ~ 1 eV d'énergie vibrationnelle. L'état $T(^3\pi\pi^*)$ se dépeuple ensuite vers un ou des états qui sont inaccessibles dans ces mesures, labellisés par le symbole X. Ainsi la dynamique sondée dans ces mesures est la dépopulation de l'état singulet, la formation d'un état triplet de longue durée de vie par le processus d'ISC et la dépopulation de l'état triplet vers un état inconnu non détectable.

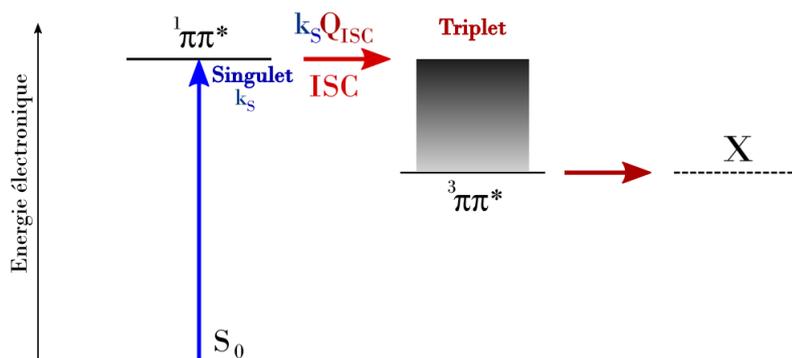


FIGURE 3.5 – Modèle cinétique des états sondés pour toutes les molécules : $S_1 \rightarrow T(^3\pi\pi^*) \rightarrow X$. Après photexcitation de la bande origine de la transition $S_1 \leftarrow S_0$, une partie de la population de l'état S_1 peuple un état triplet $T(^3\pi\pi^*)$ par le processus d'ISC. Cet état se dépeuple ensuite vers un état X non détecté. Les états S_1 et $T(^3\pi\pi^*)$ étant des états $\pi\pi^*$, sont ionisables avec une impulsion à 193 nm et sont détectés lors de la mesure de la dynamique de l'état S_1 .

Equations aux populations

Pour analyser les données, il est nécessaire d'établir l'expression littérale de l'évolution temporelle de l'état singulet et de l'état triplet en fonction des paramètres du système.

On note k_S et k_T la constante de temps de décroissance de l'état singulet et de l'état triplet. Ces deux constantes sont égales à l'inverse de la durée de vie de l'état considéré, notée τ_S pour le singulet et τ_T pour le triplet :

$$k_S = \frac{1}{\tau_S} \quad (3.2)$$

$$k_T = \frac{1}{\tau_T} \quad (3.3)$$

k_S est également définie comme étant la somme des constantes de temps des différents processus intervenant dans sa dynamique :

$$k_S = k_{fluor}^S + k_{ISC}^S + k_{NR}^S \quad (3.4)$$

où k_{fluor}^S , k_{ISC}^S , k_{NR}^S sont respectivement les constantes de vitesse de la fluorescence, du croisement intersystème et des autres processus non-radiatifs de l'état singulet S_1 .

On note Q_{ISC} le rendement quantique du croisement intersystème de l'état singulet S_1 vers l'état triplet $T(^3\pi\pi^*)$. Q_{ISC} est défini par :

$$Q_{ISC} = \frac{k_{ISC}^S}{k_S} \quad (3.5)$$

On considère que l'état singulet est entièrement peuplé initialement par photoexcitation. L'état triplet n'est peuplé que par le processus de croisement intersystème depuis l'état singulet. Les équations des populations sont alors :

$$\frac{dS_1(t)}{dt} = -k_S S_1(t) \quad (3.6)$$

$$\frac{dT_1(t)}{dt} = k_S Q_{ISC} S_1(t) - k_T T(t) \quad (3.7)$$

avec les conditions initiales suivantes :

$$\begin{cases} S_1(t=0) = 1 \\ T(t=0) = 0 \end{cases} \quad (3.8)$$

La résolution de ce système d'équations différentielles couplées, avec les conditions initiales, permet d'exprimer l'évolution de la population de l'état singulet et de l'état triplet en fonction des paramètres du système. Les solutions sont :

$$\begin{cases} S_1(t) = e^{-k_S t} \\ T(t) = \frac{k_S Q_{ISC}}{k_S - k_T} [e^{-k_T t} - e^{-k_S t}] \end{cases} \quad (3.9)$$

On peut ainsi déduire l'expression du signal $\mathcal{S}(t)$ détecté qui est la somme des signaux provenant de l'état singulet et de l'état triplet, en prenant en compte l'efficacité d'ionisation relative α .

$$\mathcal{S}(t) = \left(1 - \frac{\alpha k_S}{k_S - k_T} Q_{ISC}\right) e^{-k_S t} + \alpha \frac{k_S}{k_S - k_T} Q_{ISC} e^{-k_T t} \quad (3.10)$$

L'expression théorique du signal permet de déduire des données expérimentales les valeurs des grandeurs physiques du système.

Analyse des données expérimentales

Le signal détecté est une double exponentielle décroissante décrivant la dépopulation de l'état singulet et de l'état triplet. Les données sont donc ajustées par la méthode des moindres carrés par une double exponentielle décroissante de la forme :

$$\mathcal{F}(t) = A_S e^{-k_S t} + A_T e^{-k_T t} \quad (3.11)$$

où A_S et A_T sont des constantes indépendantes du temps. Les données expérimentales ont été normalisées à $\Delta t = 0$ ns de sorte que les coefficients A_S et A_T soient liés par la relation $A_S + A_T = 1$. Ainsi, la forme de l'ajustement $\mathcal{F}(t)$ peut être réécrite en introduisant les durées de vie des états sondés :

$$\mathcal{F}(t) = (1 - A_T) e^{-\frac{t}{\tau_S}} + A_T e^{-\frac{t}{\tau_T}} \quad (3.12)$$

Comme la durée de vie de l'état singulet est connue pour toutes les molécules étudiées, les variables d'ajustement sont le coefficient A_T et la durée de vie de l'état triplet τ_T .

L'équation 3.10 et l'équation 3.12 permettent d'exprimer le coefficient A_T en fonction de paramètres du système :

$$\boxed{A_T = \frac{\alpha}{1 - \frac{\tau_S}{\tau_T}} Q_{ISC}} \quad (3.13)$$

Ainsi, l'ajustement des données expérimentales par une courbe composée de deux exponentielles décroissantes permet de déterminer les deux paramètres importants de la dynamique sondée : la durée de vie de l'état triplet τ_T et, *via* le coefficient A_T , le rendement quantique apparent αQ_{ISC} qui correspond au produit du rendement quantique Q_{ISC} par l'efficacité relative de détection de l'état triplet par rapport à l'état singulet, noté α .

3.3 Détection des états triplets dans des dérivés du benzène

Dans cette première partie de résultats, les méthodes expérimentales et d'analyse sont appliquées aux cas de quatre dérivés du benzène : le toluène, l'éthylbenzène, le *n*-propylbenzène et le *n*-butylbenzène. Ces premières mesures ont permis de déterminer les limitations expérimentales et de valider le modèle de désexcitation.

3.3.1 La molécule modèle de toluène

Avant de sonder la dynamique des états excités des peptides, il est important de valider les méthodes expérimentales et d'analyse. C'est pourquoi la campagne de mesure a débuté avec la molécule de toluène afin de comparer les résultats avec les valeurs de la littérature. Les conditions expérimentales de cette étude sont proches de celle réalisée par Smalley sur le toluène [41].

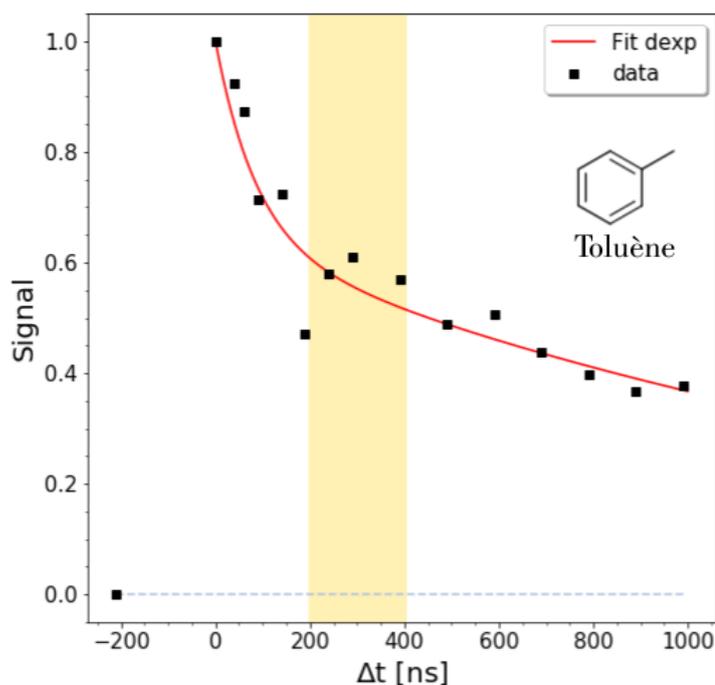


FIGURE 3.6 – Dynamique pompe-sonde du toluène. Les données expérimentales sont représentées en noir. La courbe d'ajustement composée d'une double exponentielle décroissante est représentée en rouge.

La mesure de la dynamique de l'état triplet du toluène de cette étude est présentée sur la Figure 3.6. Les carrés noirs correspondent aux données expérimentales. La courbe rouge est l'ajustement des données expérimentales par une double exponentielle décroissante. Comme expliqué dans la section précédente, deux décroissances composent le signal. La première décroissance aux temps courts correspond à la dépopulation de l'état singulet et la seconde, plus lente, caractérisée par un long plateau décroissant, correspond à la

détection de l'état triplet à longue durée de vie.

La durée de vie de l'état singulet $^1\pi\pi^*$ excité à son origine est de 86 ns [42], valeur qui permet de bien décrire la première pente observée. L'analyse des données permet de donner une borne inférieure de la durée de vie du toluène égale à $\tau_T > 1 \mu\text{s}$. Le coefficient A_T est lui mesuré égal à $0,64 \pm 0,02$. Ainsi, le rendement apparent αQ_{ISC} , déterminé selon la relation 3.13, a été estimé à $0,58 \pm 0,02$.

La borne inférieure de la durée de vie du toluène obtenue dans notre configuration ($\sim 1 \mu\text{s}$) est compatible avec la mesure réalisée par Smalley [41]. Ces auteurs ont pu déterminer la durée de vie exacte du toluène en empruntant une configuration expérimentale différente du montage utilisé dans ce chapitre. Dans leur étude, le laser de pompe se propage coaxialement et en contre propagation du jet moléculaire. Le laser de sonde croise perpendiculairement le jet supersonique. De cette façon, ils s'affranchissent des difficultés de recouvrement spatial des deux lasers nécessaires à la détection. Dans la configuration expérimentale utilisée pour l'étude de ce chapitre, les deux lasers croisent perpendiculairement le faisceau moléculaire. Une configuration en contre-propagation n'était pas possible en raison de la présence du spectromètre de masse à temps de vol placé dans l'axe direct du jet.

Le rendement quantique apparent déterminé dans notre étude, $\alpha Q_{ISC} = 0,58 \pm 0,02$, est légèrement inférieur à celui déterminé par Smalley ($0,64 \pm 0,05$ [41]). La raison en est la détermination du coefficient A_T à partir de notre borne inférieure de la durée de vie de l'état triplet (relation 3.13), conduisant à une sous-estimation d'environ 10 % du rendement quantique. Si on calcule le rendement quantique en utilisant la valeur de la durée de vie mesurée par Smalley ($\tau_T = 2,9 \mu\text{s}$), la valeur passe de $0,58 \pm 0,02$ à $0,62 \pm 0,02$, ce qui est compatible avec leur mesure.

Par ailleurs, dans l'article de Smalley [41], les auteurs insistent sur le fait que dans leur expérience, les probabilités d'ionisation de l'état singulet et de l'état triplet sont comparables. Comme déjà évoqué plus haut, les arguments de cette affirmation reposent sur l'excès d'énergie dans l'ion apporté par le laser à 193 nm qui permet d'atteindre les niveaux vibrationnels de l'ion correspondant à l'excitation vibrationnelle de l'état triplet issue de l'ISC et sur les fortes fluences utilisées qui saturent les transitions d'ionisation. Ces mêmes arguments ont été repris par ailleurs par Johnson *et coll.* pour leur étude de l'état triplet du benzène [40]. Les mesures de Smalley et les nôtres conduisent à des valeurs de αQ_{ISC} très proches de celles obtenues en phase gazeuse par des méthodes alternatives. L'une d'elles est la méthode dite de Cundall [203], qui repose sur un transfert d'excitation intermoléculaire triplet-triplet entre la molécule d'intérêt, initialement excitée dans l'état S_1 et la molécule de butène-2. Ce transfert d'excitation mène à l'isomérisation *cis-trans* du butène-2. La comparaison des populations des deux isomères par spectrophotométrie permet d'évaluer le rendement quantique d'ISC de la molécule considérée. Il s'agit donc d'une technique qui ne nécessite pas l'ionisation de la molécule. Cette méthode a été utilisée pour déterminer le rendement quantique du passage à l'état triplet du toluène [189], pour lequel le rendement quantique a été estimé par cette méthode à 0,70. Cette valeur

est légèrement supérieure à celle déterminée par Smalley et à la nôtre, ce qui pourrait laisser entendre que α est de l'ordre de 90 %. Par ailleurs, le rendement quantique du *para*-xylène a également été déterminé par spectroscopie pompe-sonde avec une sonde à 193 nm [184] et par la méthode de Cundall [204]. Avec ces deux méthodes, la même valeur du rendement quantique Q_{ISC} a été mesurée ($Q_{ISC}=0,4$).

Ces comparaisons permettent donc de valider expérimentalement l'hypothèse d'une efficacité d'ionisation très proche pour l'état triplet et l'état singulet du toluène, *i.e.*, $\alpha \sim 1$. De plus, l'étude du toluène a permis de valider la méthode expérimentale et d'analyse des données. Avant de sonder la dynamique des peptides, trois autres molécules, des alkylbenzènes, ont été étudiées.

3.3.2 Détection de l'état triplet de trois alkylbenzènes

La mesure de la dynamique des états excités des alkylbenzènes semblait importante pour plusieurs raisons. Avant de sonder la dynamique des peptides, il était important de vérifier que de telles mesures sont toujours possibles sur des systèmes un peu plus gros que le toluène mais moins complexes que les peptides. De plus, il était également important de vérifier si un effet sur l'efficacité d'ionisation relative singulet-triplet est observé pour des systèmes plus complexes que le toluène. Pour cela, la famille des alkylbenzènes est un bon compromis puisque cette famille de molécules est composée du cycle phényle et d'une chaîne carbonée plus ou moins longue (Phe- C_nH_{2n+1}). De ce fait, il est aussi intéressant d'observer l'effet éventuel du rallongement de la chaîne carbonée sur la dynamique de l'état S_1 par rapport au toluène (Phe- CH_3). Trois petits alkylbenzènes ont donc été étudiés. Il s'agit de l'éthylbenzène (Phe- C_2H_5), du *n*-propylbenzène (Phe- C_3H_7) et du *n*-butylbenzène (Phe- C_4H_9).

La durée de vie du premier état singulet de l'éthylbenzène a été mesurée en phase gazeuse égale à 80 ns [205]. Cette valeur étant très proche de la valeur du toluène (86,4 ns), il est donc attendu qu'après excitation de l'état S_1 , l'état triplet se forme avec un rendement quantique très proche de celui du toluène. La mesure du rendement quantique permet donc de vérifier si l'ISC est toujours un processus majoritaire dans la désexcitation de l'état S_1 lorsque croît la complexité de la chaîne carbonée de la molécule.

Une autre motivation importante pour l'étude des alkylbenzènes est l'étude publiée par Ni *et al.* [197, 198], déjà évoquée plus haut, dans laquelle de la photodissociation autour de la liaison $C_\alpha-C_\beta$ aurait été observée après passage à l'état triplet pour les molécules d'éthylbenzène et de *n*-propylbenzène. Dans cet article, l'état singulet est initialement excité par un photon à 248 nm, c'est-à-dire avec un excès d'énergie de 2700 cm^{-1} (0,33 eV) au dessus de la bande origine de l'état singulet S_1 . Il est donc intéressant de vérifier la possible existence de cette voie de relaxation dans nos conditions expérimentales car si cette photodissociation est observée pour les alkylbenzènes, on pourrait envisager qu'elle soit également une voie de relaxation possible pour les états triplets des peptides. D'autant plus que des mesures similaires ont été réalisées sur des dérivés de la phénylalanine

tels que la phénylethanamine [199] et que les mêmes conclusions en avaient été tirées. Le montage expérimental utilisé pour ce chapitre ne permet pas de détecter les photofragments. Cependant, si la dissociation se produit dans la fenêtre temporelle de l'étude, un raccourcissement de la durée de vie des états triplets devrait être observé.

La structure des alkylbenzènes

Les alkylbenzènes ont été abondamment étudiés en jet supersonique, notamment les plus petites molécules. La spectroscopie de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ est bien documentée (spectre d'excitation de fluorescence [166, 206, 207, 208], spectre de fluorescence dispersée [209, 210], spectres REMPI et IR2P [166, 211] et mesure du rendement de fluorescence [212]). Par ailleurs, l'attribution des différentes bandes électroniques et vibrationnelles observées a montré que les alkylbenzènes, à partir du *n*-propylbenzène, présentent deux familles de conformations : les formes *gauche* et les formes *trans* (ou *anti*). Ces deux familles correspondent à une orientation différente de la chaîne latérale autour de la liaison C_α - C_β par rapport au phényle. Les formes *gauche* correspondent aux formes repliées où la chaîne carbonée est orientée vers le chromophore. Les formes *trans* (ou *anti*) correspondent à l'inverse aux formes étendues où la chaîne latérale est éloignée du phényle.

La position de la transition origine de chaque conformère est répertoriée dans le Tableau 3.1. Dans nos conditions expérimentales, deux conformères du *n*-propylbenzène ont été observés. La position des bandes est en accord avec les précédents travaux [166, 206, 207, 208, 209, 210] et la notation de ces conformations suit celle de Simons et coll. [166]. Le conformère A correspond à la forme *gauche* et la B à la forme *anti*.

Pour le *n*-butylbenzène, quatre conformères sont observés, nommés A, B, C et D [166, 206, 207, 208, 209, 211]. Les conformères A et B sont des formes *gauche* et les conformères C et D sont des formes *anti* [166, 208]. La dynamique de l'état triplet n'a été sondée que pour les conformères A et D qui correspondent aux conformères dont la bande origine est la plus intense.

Les résultats expérimentaux

Les résultats expérimentaux de l'éthylbenzène, du conformère A du *n*-propylbenzène et du conformère D du *n*-butylbenzène sont présentés dans la Figure 3.7. Pour les trois graphes, l'abscisse correspond au délai pompe-sonde en ns. Les données expérimentales sont représentées par les carrés noirs. Les courbes d'ajustement sont en jaune.

Pour les trois molécules, tout comme pour le toluène, un plateau lentement décroissant est détecté aux temps longs, caractéristique de la détection de l'état triplet $^3(\pi\pi^*)$. Le coefficient A_T et la durée de vie de l'état triplet pour les différents systèmes sont résumés dans le Tableau 3.1.

La durée de vie de l'état triplet pour ces systèmes a été mesurée comme supérieure

CHAPITRE 3. DÉSEXCITATION DU PREMIER ÉTAT EXCITÉ $^1\pi\pi^*$ DU RÉSIDU PHÉNYLALANINE DANS DES PEPTIDES MODÈLES

Molécule	Conf.	$s_1 \leftarrow s_0$ [cm^{-1}]	τ_{S_1} [ns]	τ_T [ns]	A_T	αQ_{ISC}^{exp}	Q_{ISC}^{min}	Q_{ISC}^{max}	réf.
Toluène	-	37 477	86	> 1000	0.64 ± 0.02	0.59 ± 0.02	0.64		[42]
	-	37 587	80	≥ 1000	0.69 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.60	0.67	[205]
n-Propylbenzène	A	37 533	80	≥ 1000	0.57 ± 0.05	0.53 ± 0.05	0.60	0.67	[205]
	B	37 582	80	≥ 1000	0.70 ± 0.10	0.64 ± 0.10	0.60	0.67	[205]
n-Butylbenzène	A	37 512	80	$\simeq 1000$	0.66 ± 0.10	0.60 ± 0.10	0.60	0.67	[205]
	D	37 575	80	$\simeq 1000$	0.65 ± 0.10	0.59 ± 0.10	0.60	0.67	[205]
NPEA	-	37 607	60 ± 1	$\simeq 1000$	0.10 ± 0.01	$0,09 \pm 0.01$	0.45	0.75	Chap. 2
	A	37 622	11 ± 1	≥ 1000	0.13 ± 0.01	$0.10 \pm 0,01$	0.08	0.95	Chap. 2
3PPA	B	37 590	< 4	≥ 1000	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.03	0.98	Chap. 2
	A	37 595	70 ± 2	-	0.01 ± 0.01	-	0.52	0.71	[13, 28]
NAPA	B	37 602	$1,5 \pm 0,3$	-	0.01 ± 0.01	-	0.01	0.99	[13, 28]
	C	37 524	35 ± 2	-	0.01 ± 0.01	-	0.34	0.81	[13, 28]
	A	37 413	67 ± 3	-	0.01 ± 0.01	-	0.50	0.71	[13, 28]
NAPMA	B	37 517	48 ± 3	-	0.01 ± 0.01	-	0.36	0.80	[13, 28]
	C	37 592	62 ± 3	-	0.02 ± 0.02	-	0.46	0.73	[13, 28]
	77-	37 505	53 ± 3	$\simeq 1000$	0.05 ± 0.03	0.05 ± 0.03	0.34	0.81	[14]
GFa	77'	37 606	19 ± 2	x	x	x	0.14	0.92	[14]
	10	37 556	30 ± 2	> 1000 (x)	0.015 ± 0.015	0.014 ± 0.014	0.23	0.87	[14]
	10'	37 615	19 ± 2	> 1000 (x)	0.08 ± 0.04	0.07 ± 0.04	0.14	0.92	[14]
	77-	37 519	78 ± 5	$\simeq 1000$	0.10 ± 0.05	0.09 ± 0.05	0.53	0.71	[14]
GFm	55a	37 432	75 ± 10	x	0.05 ± 0.05	x	0.56	0.69	[14]
	10	37 538	67 ± 4	> 1000	0.07 ± 0.04	0.065 ± 0.035	0.50	0.72	[14]
	10'	37 597	75 ± 4	> 1000	0.05 ± 0.03	0.04 ± 0.03	0.56	0.69	[14]
	A	37 605	< 3	≥ 1000	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.04	0.92	Annexe C
QFa	B	37 483	78 ± 3	> 1000	0.15 ± 0.05	0.14 ± 0.05	0.59	0.67	Annexe C
	C	37 570	47 ± 5	> 1000	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.35	0.81	Annexe C
	A	37 599	51 ± 3	≥ 1000	0.18 ± 0.10	0.17 ± 0.10	0.37	0.79	Annexe C
QFm	B	37 480	63 ± 4	> 1000	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.07	0.49	0.73	Annexe C
	C	37 554	64 ± 4	> 1000	0.32 ± 0.07	0.30 ± 0.06	0.64	0.72	Annexe C

TABLE 3.1 – Tableau récapitulatif des différents résultats de l'étude. Les données ou cases marquées par le symbole x correspondent à des mesures où le rapport S/B était trop faible rendant soit impossible la mesure, soit impliquant de grandes incertitudes. Voir les références pour les structures, les valeurs des transitions et des durées de vie de S_1 (τ_{S_1}).

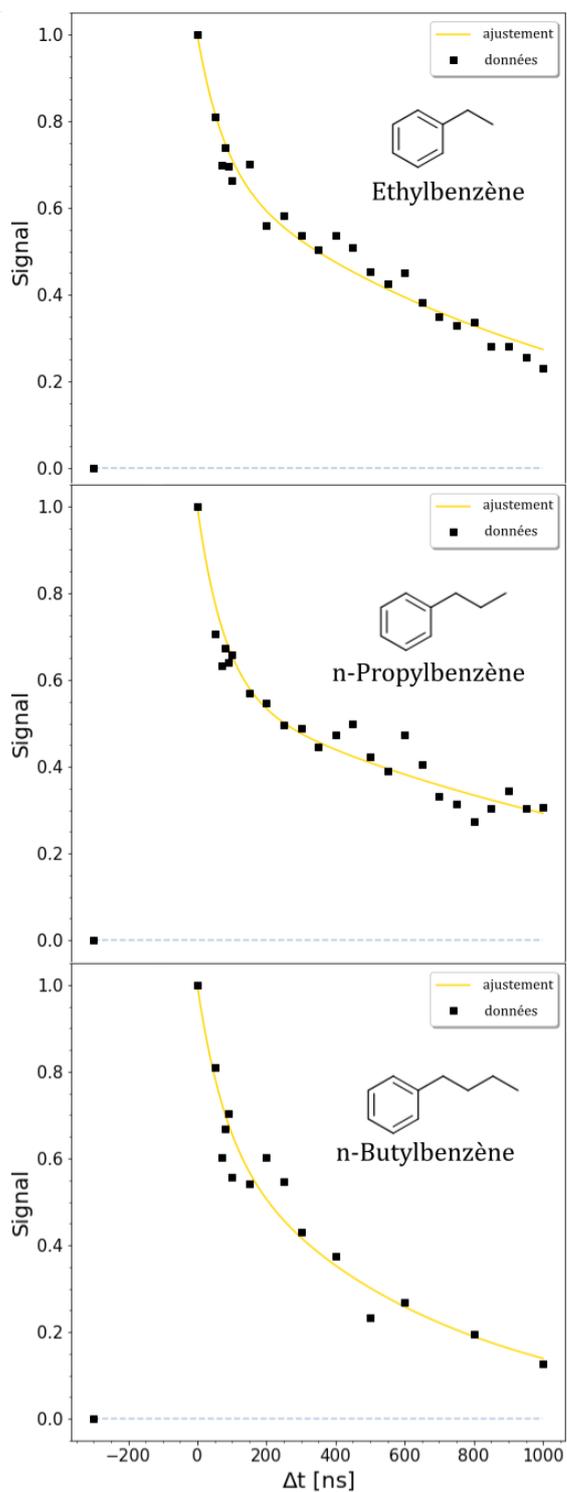


FIGURE 3.7 – Résultats expérimentaux pour les trois alkylbenzènes : l'éthylbenzène, le *n*-propylbenzène (conformère A), et le *n*-butylbenzène (conformère D). Les carrés noirs correspondent aux données expérimentales. Les courbes en jaunes représentent l'ajustement des données par une double exponentielle décroissante.

à $1 \mu\text{s}$. Les durées de vie pour les deux conformères du butylbenzène semblent être plus courtes que celles des deux autres systèmes. Ce résultat est cependant à relativiser à cause de la fenêtre temporelle des délais pompe-sonde. Ces mesures sont en accord qualitatif avec des mesures similaires réalisées à température ambiante en jet libre sur l'éthylbenzène dont la durée de vie de l'état triplet a été trouvée égale à $2,5 \pm 0,3 \mu\text{s}$ [184].

Le rendement quantique apparent du passage à l'état triplet (αQ_{ISC}) a pu être estimé grâce au coefficient A_T et la durée de vie de l'état triplet. Tout comme pour le toluène, ce rendement quantique apparent est légèrement sous-estimé en raison de la connaissance seule de la borne inférieure de τ_T . Les valeurs sont présentées dans le Tableau 3.1. A cette incertitude près, le rendement quantique apparent des trois molécules est très proche de celui du toluène et est de l'ordre de $\simeq 0,60$. Par ailleurs, il est important de noter qu'il n'y pas d'effet notable de conformation sur le rendement de formation de l'état triplet, ni sur sa dynamique de relaxation.

Le fait de trouver un rendement quantique apparent proche de celui du toluène pour ces systèmes plus larges, et donc proche du rendement quantique réel, nous conduit à penser que l'efficacité d'ionisation de l'état triplet dans nos conditions expérimentales reste proche de celle de l'état singulet, en d'autres termes que $\alpha \simeq 1$.

Ces résultats sont informatifs sur plusieurs plans. La première conclusion de ces résultats est le fait que, même pour un système plus large que le toluène, la détection de l'état triplet est toujours possible. De plus, malgré l'allongement de la chaîne carbonée, un rendement quantique proche de 0,64 est détecté. La dynamique de l'état S_1 du phényle dans les trois alkylbenzènes étudiés est proche de celle du toluène.

La seconde conclusion est que les durées de vie longues mesurées pour l'état triplet ($\geq 1 \mu\text{s}$) ne plaident pas en faveur de l'existence d'une voie efficace de dissociation de l'état triplet, au moins pour l'état triplet formé depuis l'origine de l'état S_1 . Cette différence peut se comprendre par la différence d'énergie interne de l'état triplet formé entre l'expérience de Ni et coll. (excitation à 248 nm) et la notre (excitation à 266 nm). Dans l'expérience de Ni, il y a environ 2700 cm^{-1} (0,33 eV) en excès d'énergie dans l'état S_1 , tandis que nos mesures se font depuis l'origine de l'état singulet.

Cependant, le fait que la durée de vie du butylbenzène semble plus courte mérite un commentaire. En effet, il s'agit de l'alkylbenzène le plus grand étudié. Dans l'hypothèse d'une prédissociation vibrationnelle dans l'état triplet, la plus grande densité d'états vibrationnelle présente dans le butylbenzène devrait conduire au contraire à une durée de vie plus longue, ce qui est contraire à l'observation. Le raccourcissement de la durée de vie de l'état triplet doit donc avoir son explication ailleurs.

Maintenant que toutes ces considérations sur la faisabilité de l'ionisation de l'état triplet et la possible dissociation dans l'état triplet ont été interrogées, il est temps de s'intéresser à la dynamique électronique des petites chaînes peptidiques.

3.4 Détection de l'état triplet de modèles de chaînes peptidiques

Cette partie s'intéresse à la détection des états triplets formés par ISC après photoexcitation du premier état singulet d'une série de petits peptides. Ces molécules sont dans un premier temps introduites et décrites. Puis les résultats expérimentaux sont présentés, suivis d'une discussion autour de l'interprétation de ces observations.

3.4.1 Les chaînes peptidiques étudiées

Le but de ce chapitre est de comprendre comment les protéines relaxent l'excédant d'énergie absorbée après une photoexcitation UV. Pour cela, des systèmes modèles de protéines contenant le résidu phénylalanine ont été étudiés. Ces systèmes sont de bons modèles de chaîne peptidique qui préservent l'environnement proche du phényle tel qu'il le serait au sein d'une protéine. Il s'agit de peptides dits protégés dont les extrémités ont été modifiées chimiquement. Le *N*-terminal est protégé par un groupement acétyle ($\text{CH}_3\text{CO}-$). Le groupe *C*-terminal a été modifié soit par un amide ($-\text{CONH}_2$) soit par un méthylamide ($-\text{CONH-Me}$). Les peptides protégés par un méthylamide sont appelées *formes méthylées* dans la suite du texte.

Différentes chaînes peptidiques, de tailles et de complexités différentes ont été étudiées. Les formes développées de ces molécules sont représentées dans la Figure 3.8. Les différents systèmes sont présentés par ordre croissant du nombre d'atomes composant la molécule :

- Les deux plus petites molécules étudiées sont le *N*-phénéthylacétamide (NPEA) et 3-phénylpropanamide (3PPA). Ces deux molécules ne présentent qu'une seule liaison peptidique.
- Le résidu phénylalanine protégé : *N*-acétyl-phénylalaninyl-amide (NAPA) et la forme méthylée *N*-acétyl-phénylalaninyl-méthylamide (NAPMA). Ces deux molécules présentent deux liaisons peptidiques.
- Les systèmes intermédiaires sont les chaînes peptidiques composées du résidu glycine (Gly ou G) et du résidu phénylalanine : *N*-acétyl-glycinyphénylalaninyl-amide (GFa) et la forme méthylée (GFm). Ces deux molécules présentent trois liaisons peptidiques.
- Le plus gros système est une chaîne peptidique composée de l'acide aminé glutamine (Gln ou Q) et de la phénylalanine : le *N*-acétyl-glutaminyphénylalaninyl-amide (QFa) et la forme méthylée (QFm). Ces deux molécules présentent quatre liaisons peptidiques.

Les molécules NPEA et 3PPA sont également appelées de manière informelle les *demi*-NAPA. En effet, le NPEA correspond à la partie *N*-terminale de la chaîne principale du NAPA et celle du 3PPA à sa partie *C*-terminale. L'intérêt de ces deux molécules est de tester si le nombre de liaisons peptidiques au voisinage proche du phényle a un effet sur la

CHAPITRE 3. DÉSEXCITATION DU PREMIER ÉTAT EXCITÉ $^1\pi\pi^*$ DU RÉSIDU PHÉNYLALANINE DANS DES PEPTIDES MODÈLES

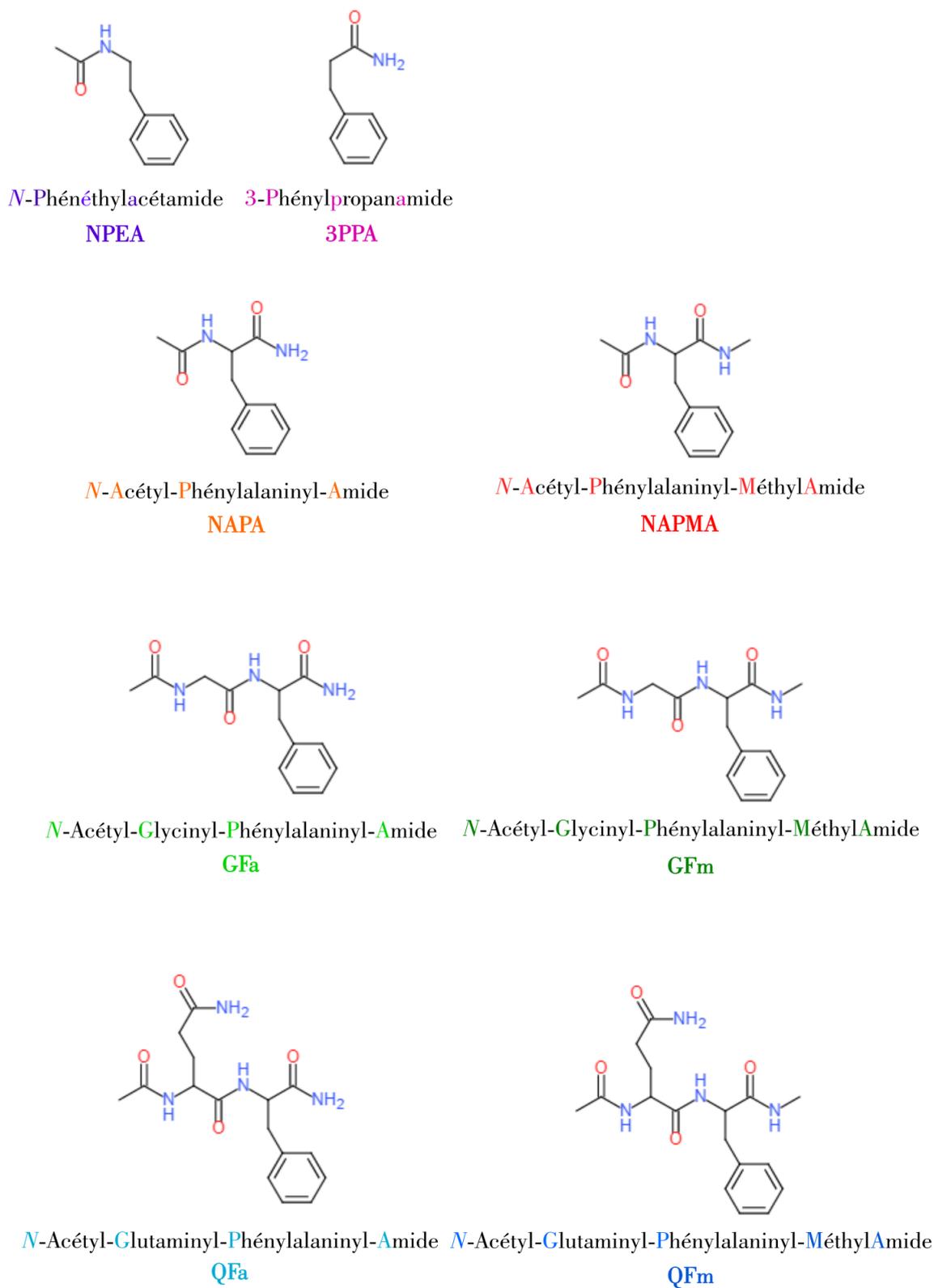


FIGURE 3.8 – Formules développées des différents peptides étudiés.

dynamique des états singulet et triplet, puisque que les demi-NAPA ne possèdent qu'une seule liaison peptidique. Les peptides GFa, QFa et leurs formes méthylées respectives sont appelées dans ce chapitre les dipeptides. Cette appellation fait référence à la présence de deux résidus peptidiques dans la molécule.

Au préalable de cette étude de dynamique électronique, une étude structurale de chacune de ces molécules a été réalisée. Par spectroscopie UV et IR et par des calculs de chimie quantique, les différentes conformations de ces molécules à l'état fondamental ont pu être identifiées. Les spectres UV de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ ainsi que l'attribution des différentes conformations à l'origine de ces signatures spectrales sont présentés dans le Chapitre 2 pour 3PPA et NPEA, dans l'Annexe C pour QFa et QFm et dans les articles [13, 14, 28, 171, 176] pour les autres molécules. Pour le NAPA (Figure 3.3), NAPMA, QFa et QFm (cf l'Annexe C), trois conformations sont à l'origine des bandes spectroscopiques des spectres UV, toutes nommées A, B ou C (cf Tableau 3.1). Le GFa et le GFm présentent eux quatre conformations chacun (se référer au Tableau 3.1 pour les noms et à l'Annexe D pour les structures associées). Un seul conformère a été détecté en jet supersonique pour le NPEA, deux pour le 3PPA (notés A et B).

Tout comme pour le toluène et les alkylbenzènes, le premier état singulet S_1 des conformères de ces huit molécules est un état $\pi\pi^*$ localisé sur le cycle phényle. Les mesures de dynamique ont donc pu être réalisées en excitant la bande origine de la transition $S_1 \leftarrow S_0$. La longueur d'onde d'excitation de cette transition pour chaque molécule est répertoriée dans le Tableau 3.1.

Par ailleurs, les durées de vie de l'état singulet des conformères des huit molécules ont également été mesurées au préalable de cette étude. Les différentes durées de vie de l'état singulet de ces structures sont répertoriées dans le Tableau 3.1. Il est intéressant de noter que deux catégories de conformations se distinguent : les conformations dont la durée de vie de l'état singulet est du même ordre de grandeur que celle du toluène, comprises entre 30 ns pour le GFa 10 [176] et 78 ns pour le QFa B, et cinq conformations dont la durée de vie est 4 à 50 fois plus courte que celle du toluène. Ces cinq derniers cas sont le GFa 10' avec une durée de vie de 19 ns [176], le 3PPA avec une durée de vie égale 11 ns pour le conformère A et les cas extrêmes du 3PPA B avec une durée de vie estimée inférieure à 4 ns, du QFa A dont la durée de vie est inférieure 3 ns et le NAPA B dont la durée de vie est de 1,5 ns [13].

Etant donné que, mis à part ces cinq cas, la durée de vie de l'état singulet des peptides est du même ordre de grandeur que celle du toluène, il est attendu que i) le processus d'ISC soit un processus efficace dans la dynamique de l'état singulet de ces peptides, ii) que des états triplets de longue durée de vie soient détectés, et iii) que les signaux de sonde puissent être décrits avec le même modèle de désexcitation en deux étapes que ceux du toluène et des alkylbenzènes.

3.4.2 Résultats expérimentaux et analyse qualitative

Pour chaque molécule, les mesures de dynamique ont été réalisées en suivant l'évolution de l'ion parent de la molécule. Seulement six données, un conformère par molécule, sont présentées dans la Figure 3.9. Il s'agit du NAPA A (a), du NAPMA A (b), du GFa 77- (c), du GFm 77- (d), du QFa C (e) et du QFm C (f). Les données expérimentales sont représentées par des carrés noirs. Pour chaque jeu de données expérimentales est également représentée la courbe d'ajustement composée d'une double exponentielle décroissante telle que décrite dans la sous-partie 3.2.3.

La première observation marquante de ces données est le cas du NAPA et du NAPMA. Contrairement à ce qui a été observé pour le toluène et les alkylbenzènes, il n'y a pas de plateau décroissant aux temps longs. Il n'y a qu'une seule décroissance aux temps courts. Le signal devient nul au delà de 300 ns, qui est le temps caractéristique d'extinction de l'état singulet (typiquement trois fois la durée de vie). Notons que ce comportement est également le même pour les deux autres conformères du NAPA et du NAPMA. Quelle que soit la durée de vie de l'état singulet du conformère sondé, aucun signal aux temps longs n'est détecté. Le signal, qui n'est composé que d'une seule composante décroissante, correspond à la dépopulation de l'état singulet. Cela se traduit par le fait que le coefficient A_T de la courbe d'ajustement est quasi nul pour ces deux molécules. Par ailleurs, il est impossible de déterminer la durée de vie de l'état triplet puisqu'il n'est pas détecté. Nous reviendrons en détail sur le cas de ces molécules plus bas.

A l'inverse, pour les autres molécules, deux décroissances sont observées quel que soit le conformère sondé. Il y a d'abord une première décroissance rapide aux temps courts correspondant à la décroissance de l'état singulet. Puis le signal décroît lentement, formant un plateau toujours présent à 1000 ns. Cette partie du signal est attribuée à la détection de l'état triplet. Il est également observé une variation de la hauteur du plateau d'une molécule à l'autre. Ces variations sont quantifiables grâce à la détermination du coefficient A_T de la courbe d'ajustement. Dans la mesure où un état triplet à longue durée de vie est observé, le coefficient A_T peut être considéré en première approximation comme égal au rendement quantique apparent (cf éq. 3.13). Les différentes valeurs des coefficients A_T sont répertoriées dans le Tableau 3.1 pour les divers conformères sondés. Les premières observations qualitatives des données, grâce aux valeurs du coefficient A_T , montrent que le GFa est la molécule pour laquelle la hauteur de plateau est la plus basse (A_T compris entre $0,015 \pm 0,015$ et $0,08 \pm 0,03$). La forme méthylée de ce peptide, GFm, semble avoir un plateau plus élevé (A_T compris entre $0,05 \pm 0,05$ et $0,10 \pm 0,05$). Pour le cas du QFa, le plateau est plus haut que celui du GFa avec un A_T variant de $0,04 \pm 0,04$ à $0,15 \pm 0,05$. La molécule pour laquelle le plus haut plateau est observé est le cas du QFm avec une variation du coefficient A_T allant de $0,18 \pm 0,10$ à $0,32 \pm 0,07$, en fonction des conformations considérées.

Une première observation de ces données permet donc de révéler un effet de taille sur la dynamique du passage à l'état triplet. Plus la molécule est grande, plus la proportion de l'état triplet détectée est importante dans le cas des dipeptides. On remarque cependant

3.4. DÉTECTION DE L'ÉTAT TRIPLET DE MODÈLES DE CHAÎNES PEPTIDIQUES

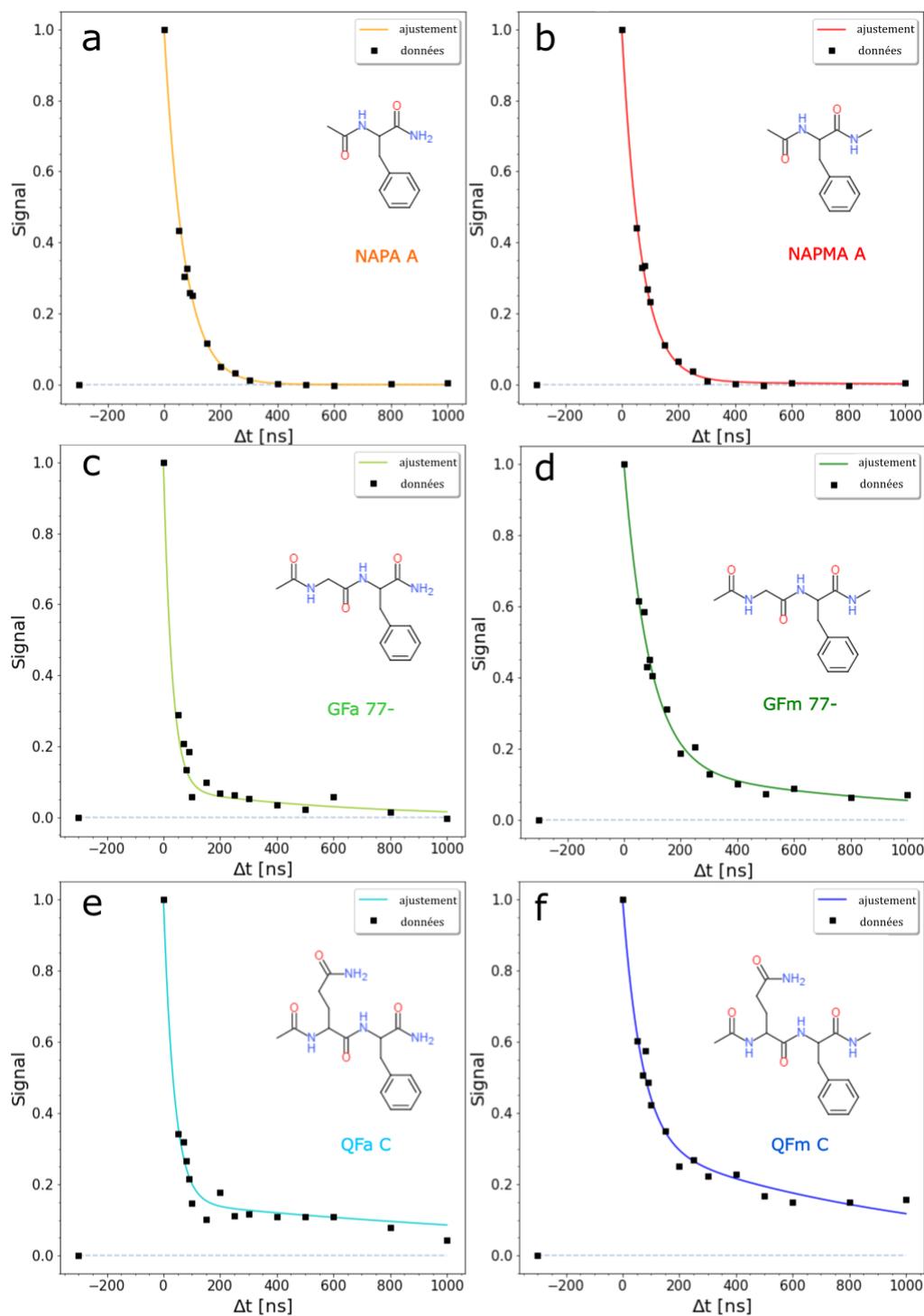


FIGURE 3.9 – Résultats expérimentaux de la détection de l'état triplet des différents peptides : NAPA, NAPMA, GFa, GFm, QFa et QFm. Les données expérimentales correspondent aux carrés noirs. Les courbes de couleur sont les ajustements des données par une double exponentielle décroissante.

que la proportion d'état triplet détectée pour les peptides reste très inférieure à celle du toluène et des alkylbenzènes. Dans le meilleur des cas (QFm), deux fois moins d'état triplet est détecté par rapport au toluène, et au pire des cas, aucun état triplet n'est observé (cas du NAPA et NAPMA).

Pour toutes ces molécules, la durée de vie de l'état triplet a été déterminée comme supérieure ou égale à $1 \mu\text{s}$. Il n'y a pas de cas de molécules et de conformères pour lesquelles un raccourcissement de la durée de vie notable est observé. A noter qu'en raison d'un trop faible rapport signal-sur-bruit des conformations mineures 77' du GFa et 55a du GFm, les mesures de dynamique n'ont pas pu être réalisées.

Cas des demi-NAPA La formation de l'état triplet après photoexcitation de l'état singulet a également été sondée pour les deux demi-NAPA. Les données expérimentales, collectées sur l'ion parent, sont présentées dans la Figure 3.10. Un comportement similaire aux séquences GF et QF est également observé pour ces deux molécules.

La durée de vie de l'état triplet est longue ($\geq 1 \mu\text{s}$) et les coefficients A_T mesurés sont très inférieurs à celui du toluène (0,07 pour le NPEA et 0,12 pour le 3PPA). Il est intéressant de noter que, malgré une taille plus petite que NAPA et NAPMA, l'état triplet est détecté dans ces molécules qui ne présentent qu'une seule liaison peptidique. De plus, aucun fragment n'a pu être mis en évidence quel que soit le délai entre les lasers.

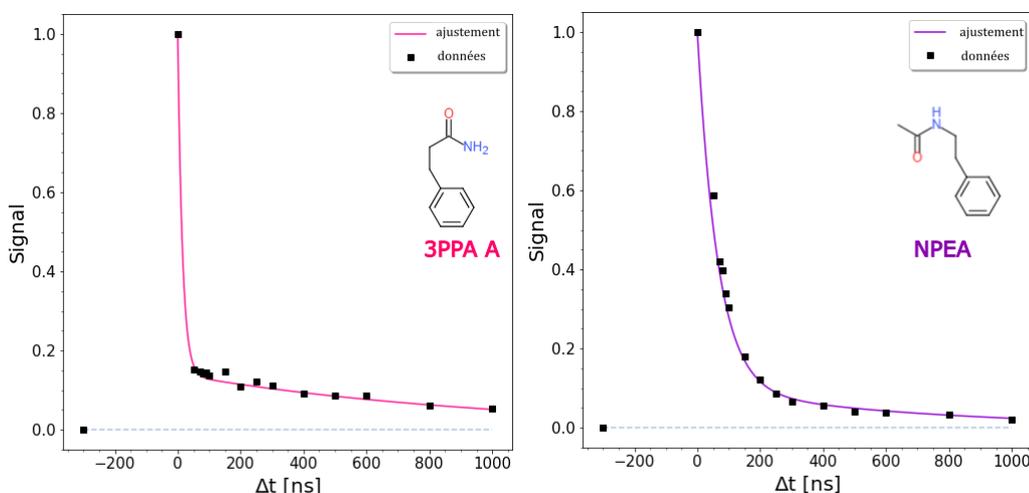


FIGURE 3.10 – Résultats expérimentaux de la détection de l'état triplet pour les deux demi-NAPA. Les données expérimentales correspondent aux carrés noirs. Les courbes de couleur sont les ajustements des données par une double exponentielle décroissante.

Cas des NAPA et NAPMA L'absence de signal provenant de l'état triplet pour le cas du NAPA et du NAPMA est surprenante. En effet, les valeurs des durées de vie de l'état singulet de ces espèces sont relativement proches de celles du toluène ($> 40 \text{ ns}$, excepté pour NAPA B) pour lequel l'ISC est un phénomène prépondérant. Ces valeurs

3.4. DÉTECTION DE L'ÉTAT TRIPLET DE MODÈLES DE CHAÎNES PEPTIDIQUES

de durée de vie de l'état S_1 nous conduisent à attendre une formation efficace d'états triplets. Leur absence de détection doit donc être expliquée. Plusieurs causes peuvent être envisagées :

- Les états triplets se formeraient effectivement mais seraient difficilement observables ($\alpha \sim 0$). La question de l'efficacité de la détection par photoionisation est en effet sensible mais dans un contexte où un signal de l'état triplet est observé aussi bien pour des molécules plus grandes (séquences GF et QF) que pour des plus petites (les demi-NAPA), il semble difficile d'invoquer un processus de photoionisation qui soit aussi dépendant de la taille de la molécule.
- Les cations parents NAPA⁺ issus de la photoionisation de l'état triplet pourraient se fragmenter et échapper à la détection dans le canal de masse de l'ion parent NAPA⁺. En effet, alors que la photoionisation à une couleur (ν_1 seule) ne conduit qu'à une fragmentation minimale (< 5 %), celle à 2 couleurs ($\nu_1 + \nu_2$) à délai nul (donc ionisation de l'état singulet) conduit à une fragmentation d'environ 30 % (Annexe E), donc bien plus marquée que la photoionisation à une couleur. Ceci n'est pas surprenant d'après les considérations développées plus haut dans la section 3.2.1 pour la photoionisation avec des photons à 193 nm. Cependant, aux délais positifs, typiquement 300 et 600 ns entre les deux lasers (donc ionisation de l'état triplet), l'examen minutieux du spectre de masse obtenu par photoionisation à deux couleurs n'a permis de détecter aucun signal mesurable, ni sur l'ion parent, ni sur un éventuel fragment. Ainsi, par exemple pour le NAPA A (Annexe E), l'intensité d'un éventuel ion fragment issu de la photoionisation de l'état triplet est estimée à moins de 1 % du signal d'ion parent issu de l'ionisation à deux couleurs et à délai nul.
- La troisième raison envisagée n'est pas liée à la détection de l'état triplet mais plutôt à sa dynamique. Si celle-ci est rapide, plus rapide que celle de l'état singulet, l'état triplet pourrait se former mais se dépeuplerait plus rapidement qu'il n'est formé : sa population resterait donc faible et en pratique non détectée. C'est cette dernière interprétation qui a notre faveur. Cette observation spécifique sur NAPA/NAPMA sera discutée en détail plus bas.

L'absence de signal pour les trois conformères de NAPA est décevante dans la mesure où l'une des motivations de cette étude était de tester le rôle de l'ISC pour les conformères de courtes durées de vie telle que celle de NAPA B. L'absence de détection d'états triplets pour le NAPA B est compatible avec l'interprétation donnée par Mališ [13, 28], à savoir, une conversion interne efficace, *i.e.* un mécanisme de désexcitation de l'état excité singulet $\pi\pi^*$ vers un état excité $n\pi_{CO}^*$ via une intersection conique. Cependant, comme pour NAPA A et C, dont les durées de vie sont compatibles avec une ISC très efficace, l'état triplet n'a pas non plus été détecté car sa durée de vie est *a priori* trop courte : on ne peut conclure sur la nature du processus à l'origine de la courte durée de vie de l'état singulet de NAPA B. Elle peut être tout aussi bien expliquée par une IC efficace ou par une ISC favorisée. La non détection d'états triplets pour le NAPMA ne permet pas non plus de conclure. Il

reste à comprendre pourquoi la population d'états triplets détectée est aussi faible dans le cas des NAPA et NAPMA.

Voie de désexcitation de l'état $T(\pi\pi^*)$ Les durées de vie des états triplets détectés sont longues, supérieures à $1 \mu\text{s}$. La dynamique de l'état triplet doit donc être contrôlée par des processus lents. Ces processus peuvent être des processus classiques tel que l'ISC depuis l'état triplet vers l'état fondamental S_0 , ou bien le processus radiatif de phosphorescence. Une autre voie est également possible. Il pourrait s'agir de la dissociation autour de la liaison $C_\alpha-C_\beta$ tel qu'elle a déjà été observée dans les alkylbenzènes [197, 198], dans des petits peptides [199] et un gros peptide protonné étudié par Rizzo et coll. [196]. Cette voie est permise à condition que le système possède suffisamment d'énergie vibrationnelle pour franchir la barrière de dissociation. Si cette voie est active, d'après les données, elle ne se produirait qu'après un délai d'au moins une μs .

Résumé des premières observations Une première analyse de ces données montre que l'état triplet $T(\pi\pi^*)$ a été détecté pour tous les peptides sauf pour NAPA et NAPMA. Pour les molécules présentant plus de deux liaisons peptidiques, un effet de taille a été observé. Plus la molécule est grosse et plus le signal provenant de l'état triplet est intense. Néanmoins, pour toutes les molécules, y compris pour les deux demi-NAPA, la quantité de molécule dans l'état triplet détectée reste très inférieure à celle observée pour le toluène. Enfin, l'état triplet détecté a une durée de vie longue suggérant que les processus de désexcitation sont des processus lents. Dans le cas de NAPA (A et C) et NAPMA, il a été conclu que la dynamique de l'état triplet est plus rapide ou au moins du même ordre de grandeur que celle de l'état singulet. Une interprétation de ces données doit maintenant être donnée.

3.4.3 Analyse quantitative

Afin d'interpréter les différentes observations des données expérimentales, une analyse quantitative, cherchant à déterminer les valeurs des rendements quantiques Q_{ISC} , est faite dans cette partie.

Rendement quantique apparent

Les coefficients A_T décrivant la proportion apparente de l'état triplet détectée sont, pour tous les peptides, bien inférieurs à celui du toluène. Puisque ces coefficients dépendent de la durée de vie des états singulet et triplet, nous avons déterminé, lorsque ces deux valeurs sont connues ou ont pu être estimées, le rendement quantique apparent αQ_{ISC} par la relation 3.14.

$$\alpha Q_{ISC} = \left(1 - \frac{\tau_S}{\tau_T}\right) A_T \quad (3.14)$$

Les durées de vie de l'état singulet sont connues exactement, soit par des expériences de type pompe-sonde avec une détection par photoionisation proche du seuil, excluant la sonde des états triplets, soit par détection de la fluorescence. Pour ce qui est de la durée de vie de l'état triplet, seule une borne inférieure de cette grandeur a pu être déterminée dans la présente expérience, comme détaillé plus haut. La valeur de αQ_{ISC} calculée est donc sous-estimée par rapport à la valeur réelle. Comme toutes les durées de vie de l'état triplet ont été mesurées comme étant supérieures $1 \mu s$, la sous-estimation du rendement quantique apparent est plus forte pour les molécules dont la durée de l'état singulet est grande. Le toluène est la molécule possédant la plus longue durée de vie de l'état singulet (86 ns). Le calcul pour le toluène donne un rendement quantique apparent αQ_{ISC} égal à 91,4 % du coefficient A_T , en supposant une durée de vie de l'état triplet égale à 1000 ns. Ainsi, les coefficients αQ_{ISC} déterminés sont au pire des cas 9 % plus faibles que les valeurs réelles. Les différents résultats sont reportés dans le Tableau 3.1. Les valeurs du rendement quantique apparent ainsi déterminées varient entre 0 et 0,30. Dans le cas de NAPA et NAPMA, où le signal de l'état triplet est si faible qu'aucune durée de vie n'a pu être mesurée, la valeur a été déterminée en supposant la durée de vie de l'état triplet très grande devant celle de l'état singulet, comme pour les autres systèmes mesurés.

Connaissant cette borne supérieure de l'erreur systématique sur la valeur de αQ_{ISC} , il doit être conclu que le rendement quantique apparent de passage à l'état triplet est, pour tous les peptides, nettement inférieur à celui du toluène. Afin de tenter d'éclaircir la situation, et notamment d'apprécier une éventuelle influence du coefficient α , nous avons cherché à obtenir une estimation alternative de Q_{ISC} .

Encadrement estimé du rendement quantique Q_{ISC} à partir de considérations générales de la photophysique de l'état singulet

Les peptides étudiés sont des molécules plus complexes que le toluène. Ainsi, la dynamique de l'état singulet peut y être différente, notamment avec l'apparition d'autres processus non-radiatifs ou bien un passage à l'état triplet plus efficace que dans le cas du toluène. La modification de la durée de vie de l'état singulet par rapport à celle du toluène en est un indice clair. Le rendement quantique est défini par la relation 3.15, où k_{ISC} est le taux de passage à l'état triplet et $k_S = \frac{1}{\tau_S}$:

$$Q_{ISC} = \frac{k_{ISC}}{k_S} \quad (3.15)$$

Les durées de vie de l'état singulet des différentes molécules étant connues expérimentalement (Tableau 3.1), des considérations simples sur la photophysique de ces molécules vont nous permettre d'encadrer Q_{ISC} , moyennant deux hypothèses extrêmes, illustrées par la Figure 3.11. Ces deux cas sont détaillés dans ce qui suit.

Tous les conformères de toutes les molécules ont une durée de vie de l'état singulet plus courte que celle du toluène. Ce raccourcissement, plus ou moins marqué suivant les

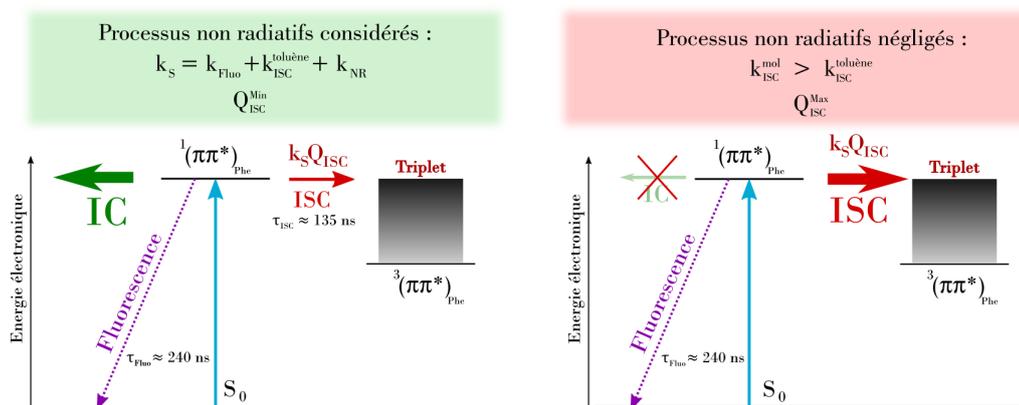


FIGURE 3.11 – Encadrement de Q_{ISC} moyennant deux situations limites. A gauche $Q_{\text{ISC}}^{\text{min}}$: des processus non-radiatifs additionnels à l'ISC et la fluorescence limitent la durée de vie de l'état S_1 . A droite $Q_{\text{ISC}}^{\text{max}}$: en absence de processus non-radiatifs, l'ISC est le processus le plus efficace et qui est responsable des différentes valeurs de durée de l'état S_1 .

conformères (τ_S allant de 1,5 ns pour le NAPA B à 80 ns pour les alkylbenzènes), peut être expliqué de deux façons différentes.

1^{er} cas La molécule se comporte comme le toluène, c'est-à-dire, que les seuls processus intervenant dans la dynamique de l'état singulet sont la fluorescence et l'ISC (partie droite de la Figure 3.11). Les autres processus non-radiatifs sont négligeables. Ainsi, la durée de vie de l'état singulet ne dépend que de k_{fluor} et de k_{ISC} .

$$k_S = \frac{1}{\tau_S} = k_{\text{fluor}} + k_{\text{ISC}} \quad (3.16)$$

La fluorescence est un processus qui est principalement dû au cycle aromatique phényle. La présence de la chaîne latérale des molécules n'intervient pas ou très peu dans la fluorescence. Ainsi, il est légitime de considérer que la durée du processus de fluorescence des différentes molécules est la même que celle du toluène. Pour le toluène, ce paramètre a été déterminé égal à 240 ns (cf partie 3.1.1). La diminution de la durée de vie de l'état singulet observée expérimentalement s'explique donc, d'après l'équation 3.16, par une augmentation de k_{ISC} et donc une diminution du temps caractéristique de ce processus. En d'autres termes, cela implique que le processus d'ISC devient plus efficace et que l'efficacité de ce processus dépend de la conformation.

Connaissant la durée de vie de l'état singulet et en considérant $\tau_{\text{fluor}} = 240$ ns, une valeur de k_{ISC} peut être déterminée pour chaque conformère. Ainsi, une première valeur du rendement quantique Q_{ISC} peut être déterminée. Il s'agit de la borne maximale de l'encadrement, notée $Q_{\text{ISC}}^{\text{max}}$.

2nd cas A l'inverse, la diminution de la durée de vie de l'état singulet peut être expliquée par l'apparition de processus non-radiatifs, possiblement imputables à la présence des

liaisons peptidiques (partie gauche de la Figure 3.11). Dans ce cas de figure, le passage à l'état triplet est supposé comme étant intrinsèque au cycle phényle et ne dépend pas de la présence d'une chaîne latérale au chromophore. Ainsi, pour cette possibilité, on considère que le passage à l'état triplet se réalise avec la même constante de temps que le toluène, à savoir $k_{ISC}^{-1} = 135$ ns. A ces processus s'ajoute également la fluorescence, dont le temps caractéristique est encore supposé égal à celui du toluène ($k_{flu}^{-1} = 250$ ns). La constante de décroissance de l'état singulet est donc égale à :

$$k_S = k_{ISC}^{toluène} + k_{flu} + k_{NR} \quad (3.17)$$

Ainsi, connaissant la durée de vie de l'état singulet, il est possible de déterminer la constante de décroissance des processus non-radiatifs et de déterminer le rendement quantique du passage à l'état triplet associé. Ce rendement quantique, du fait de la présence d'une autre voie de désexcitation, est plus petit que dans le 1^{er} cas et permet de proposer une borne inférieure du rendement quantique de passage à l'état triplet. Cette valeur est notée Q_{ISC}^{min} .

Une estimation de l'encadrement du rendement quantique pour chaque conformère de chaque molécule a ainsi pu être déterminée (Tableau 3.1). Il est à noter que pour les conformères dont la durée de vie de l'état singulet est courte (< 30 ns), l'encadrement du rendement quantique obtenu semble peu informatif car très grand, c'est-à-dire quasiment aussi large que les valeurs physiques possibles du rendement quantique (0, processus ISC non actif; 1, 100 % de la population de l'état singulet est convertie en état triplet). Cependant, la détection de l'état triplet à longue durée de vie en quantité significative permet *a priori* de donner une borne inférieure de Q_{ISC} , qui peut être plus grande (restrictive) que celle fournie par l'encadrement. Ce point sera exploité au paragraphe 3.6, qui traite des causes de la variabilité de la durée de vie de l'état S_1 dans les peptides.

Comparaison du rendement quantique apparent aux valeurs de l'encadrement

La Figure 3.12 montre la comparaison de l'encadrement du rendement quantique estimé Q_{ISC}^{est} (abscisse), comme déterminé ci-dessus, à la valeur du rendement quantique apparent αQ_{ISC} (en ordonnée), déterminé à partir des données expérimentales. Dans cette figure, seules les conformations présentant une durée de vie de l'état S_1 supérieure à 30 ns sont présentées. En effet, pour les molécules dont la durée de vie est plus courte que 30 ns, cette comparaison n'est pas pertinente. Comme les valeurs de l'encadrement couvrent, pour ces conformations, une très large plage, quasiment aussi large que l'intervalle $[0, 1]$ et que les bornes représentent des situations physiques extrêmes, cette comparaison n'apporte aucune conclusion à ces mesures, à la différence des autres molécules, comme expliqué dans la suite.

CHAPITRE 3. DÉSEXCITATION DU PREMIER ÉTAT EXCITÉ $^1\pi\pi^*$ DU RÉSIDU PHÉNYLALANINE DANS DES PEPTIDES MODÈLES

Dans ce graphe, les alkylbenzènes, représentés en gris, sont tous très proches de la droite illustrant l'égalité des deux grandeurs et proches de la valeur du toluène (en noir). Cela signifie que la dynamique de l'état triplet est la même que celle du toluène, à savoir que l'état singulet S_1 n'est contrôlé que par le processus d'ISC et de fluorescence. Par ailleurs cela signifie également que l'efficacité de détection de l'état triplet α est comparable à celle du toluène.

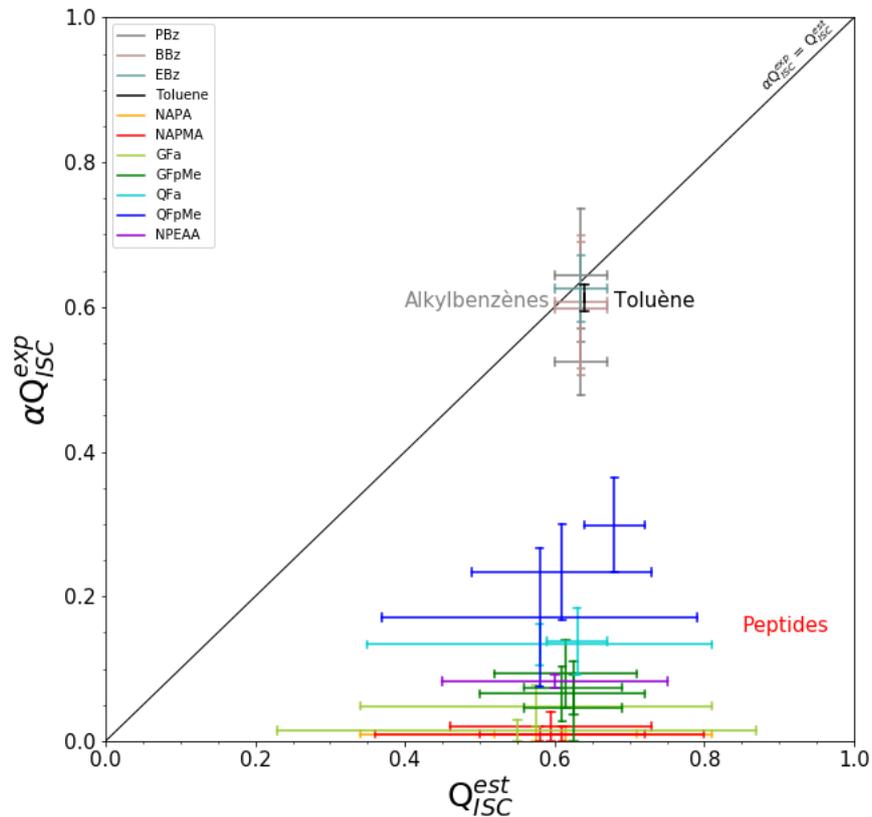


FIGURE 3.12 – Comparaison du rendement quantique apparent αQ_{ISC}^{exp} déterminé expérimentalement (barre verticale) à l'encadrement estimé du rendement quantique Q_{ISC}^{est} (barre horizontale), pour les différentes molécules. Les barres verticales correspondent à l'incertitude de mesure du coefficient A_T , nécessaire à la détermination du rendement quantique apparent. Seules les conformations dont la durée de vie de l'état singulet est supérieure à 30 ns sont représentées. Les conformères de NAPA et NAPMA (de durée de vie S_1 longue) ont été ajoutés en supposant $\tau_T \gg \tau_S$ dans la relation 3.14.

En revanche, les peptides sont tous situés très en dessous de cette droite d'égalité. Pour le demi-NAPA NPEA (en violet), seulement 9 % de la population de l'état singulet a été détectée dans l'état triplet ($\alpha Q_{ISC} = 0,09$), ce qui est six fois plus faible qu'attendu ($Q_{ISC}^{est} \in [0,45, 0,75]$). NAPA et NAPMA ne présentent pas d'états triplets à longue durée

3.4. DÉTECTION DE L'ÉTAT TRIPLET DE MODÈLES DE CHAÎNES PEPTIDIQUES

de vie mais lorsque la molécule croît en taille et en complexité, la valeur de αQ_{ISC} semble croître à nouveau. Pour toutes ces molécules, la valeur de αQ_{ISC} est toujours plus basse que la valeur de Q_{ISC} estimée par l'encadrement.

A ce stade, il convient de s'interroger de nouveau sur la question de l'efficacité de détection des états triplets à longue durée de vie des peptides, c'est-à-dire la valeur de α et sa dépendance avec la taille de la molécule. Comme déjà évoqué plus haut, il n'y a pas de raison objective pour considérer que la sonde de l'état triplet, qui est liée au statut du groupement phényle, soit notablement plus difficile pour les peptides que pour les alkylbenzènes, et surtout que l'efficacité de sonde soit faible pour les demi-NAPA, quasi nulle pour NAPA/NAPMA, puis lentement croissante avec la taille du peptide. Il paraît plus naturel de considérer que, si des états triplets à longue durée de vie se forment, nous devons les observer avec une efficacité qui, pour ne pas être nécessairement optimale ni constante le long de la série, doit néanmoins rester significative ($0 \ll \alpha < 1$).

Cette dernière considération permet donc de conclure que, pour les peptides, la quantité d'états triplets détectée est nettement inférieure à la quantité d'états triplets initialement formée par le processus d'ISC depuis l'état singulet. Il y a donc une fuite de cette population initiale d'états triplets vers un état *noir* non détecté par la photoionisation à 193 nm. Cela implique qu'il existe dans ces systèmes un processus non radiatif et très efficace, qui est subi par une partie de la population initiale d'états triplets. L'état triplet à la longue durée de vie détecté s'interprète comme étant la partie de la population de l'état triplet qui n'a pas suivi cette voie de relaxation. Dans le cas de NAPA et NAPMA, ce processus non-radiatif serait extrêmement efficace expliquant pourquoi pour ces deux molécules, aucun état triplet à longue durée de vie n'est détecté. Les variations de la quantité d'états triplets détectée en fonction de la taille de la molécule montre qu'*a priori* cette fuite est commune à tous les peptides mais dépend de façon significative de la taille du système.

3.4.4 Modélisation de la perte de la population de l'état triplet

Les conclusions du paragraphe précédent montrent que le modèle de désexcitation initialement considéré ($S \rightarrow T \rightarrow X$) n'est pas correct pour décrire le comportement des systèmes peptidiques. Il ne permet pas d'expliquer la fuite partielle ou complète de la population d'états triplets formée depuis l'état singulet.

Il est donc nécessaire d'introduire un nouveau modèle dans lequel le processus non-radiatif à l'origine de la fuite des états triplets intervient. Cependant, plusieurs schémas de désexcitation différents peuvent être imaginés (par ex. : population séquentielle de deux états triplets, avec fuite vers un état noir à partir du premier état triplet formé; population en parallèle de deux états triplets, l'un à durée de vie courte due à la fuite vers l'état noir, l'autre à durée de vie longue; etc...) Mais comme l'état *noir* vers lequel

la fuite de l'état triplet est dirigée n'est pas détecté par les mesures, il est impossible à ce stade de pouvoir départager ces différents modèles cde désexcitation.

Il est tout de même possible d'adopter une approche phénoménologique en introduisant un paramètre, noté q , qui rend compte de la fuite de la population de l'état triplet. Ce paramètre q peut être défini comme étant le rapport de branchement de la voie de relaxation intervenant dans les états triplets qui entraîne la population directe de l'état triplet à longue durée de vie détecté dans les mesures. Comme nous ne sommes pas capables de déterminer quelles étapes interviennent entre le début de la conversion intersystème et la formation de l'état triplet à longue durée de vie, nous ne sommes pas en mesure de donner la nature de l'état auquel ce rapport de branchement q se rapporte. Néanmoins, la quantité d'états triplets à longue durée de vie formée est proportionnelle au produit du rendement quantique Q_{ISC} par ce rapport de branchement q .

De plus, il est important de noter que les données expérimentales ont toutes pu être ajustées par une courbe double exponentielle décroissante, et que la durée de décroissance de l'exponentielle décrivant la population de l'état singulet correspond à la durée de vie connue de cet état. Ceci implique donc que le processus non-radiatif à l'origine de la fuite de la population de l'état triplet est très rapide et très efficace. De ce fait, le signal aux temps longs correspond uniquement à la population de l'état triplet à longue durée de vie.

D'après toutes ces considérations, en tenant compte de la fuite de l'état triplet, et que la durée de vie de l'état triplet détecté est bien plus longue que celle de l'état singulet, le coefficient A_T peut être réécrit de la sorte :

$$A_T \approx \alpha q Q_{ISC} \quad (3.18)$$

Connaissant les valeurs du coefficient A_T et grâce à l'encadrement du rendement quantique Q_{ISC} , il est possible, grâce à la relation 3.18, de quantifier la fuite de l'état triplet en déterminant les valeurs du rapport de branchement q .

Le graphe de la Figure 3.13 représente la corrélation entre le rapport de branchement apparent αq vers les états triplets à longue durée de vie et l'encadrement du rendement quantique Q_{ISC} pour chaque conformère de chaque molécule selon la relation 3.18. La barre verticale pour chaque point est due à l'incertitude de mesure du coefficient A_T , dont les valeurs sont indiquées dans le Tableau 3.1. Pour chaque conformation, le point le plus à droite correspond à la borne supérieure (Q_{ISC}^{max}) de l'estimation du rendement quantique, c'est-à-dire au cas où les processus non-radiatifs sont négligeables, comme pour le toluène. Le point le plus à gauche correspond au rapport de branchement déterminé avec la borne inférieure du rendement quantique (Q_{ISC}^{min}), c'est-à-dire en supposant les processus non-radiatifs prépondérants dans le raccourcissement de la durée de vie de l'état singulet. Pour chaque conformère, les deux points ainsi obtenus sont ensuite reliés par la fonction $Q_{ISC} \mapsto \frac{A_T}{Q_{ISC}}$.

La Figure 3.13 montre clairement que pour les conformères à courte durée de vie ($\tau_S < 30$ ns), l'incertitude sur Q_{ISC}^{est} se traduit par une incertitude énorme sur la valeur

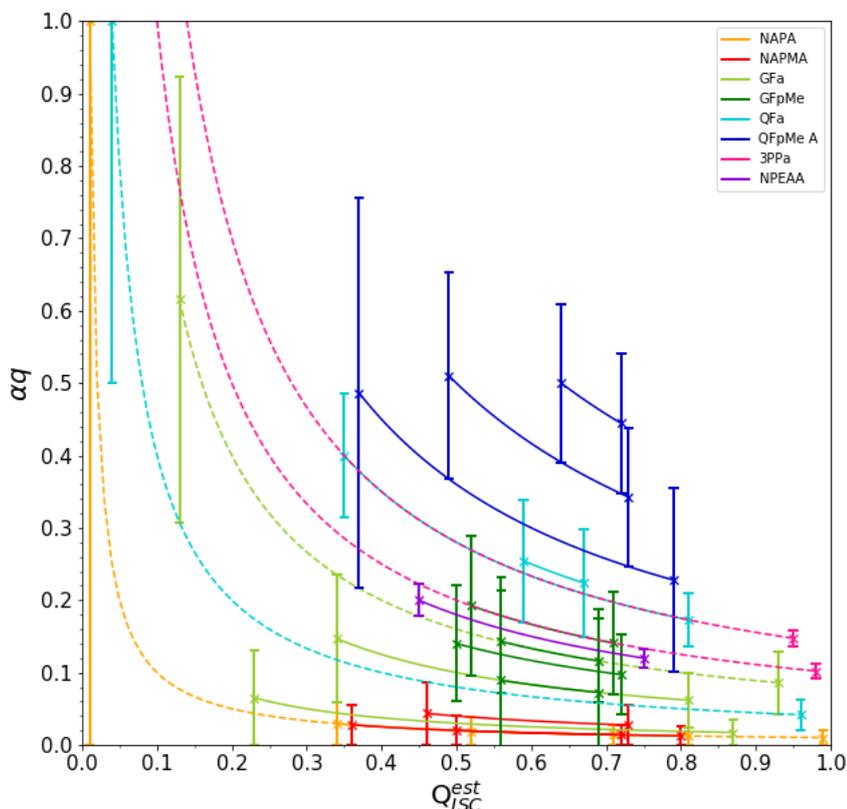


FIGURE 3.13 – Rapport de branchement apparent αq , déterminé selon la relation 3.18 en fonction du rendement quantique Q_{ISC} . Les valeurs considérées pour Q_{ISC} sont celles de l'encadrement de Q_{ISC}^{est} , obtenues à partir des considérations décrites dans la partie 3.4.3. Les courbes en pointillé correspondent aux conformations dont $\tau_S < 30$ ns.

de αq . Les résultats sur ces conformères ne sont donc pas informatifs de ce point de vue et ils ont donc été exclus de l'analyse menée ci-dessous. En revanche les valeurs élevées de αq , supérieures à 1 ne sont pas physiquement acceptables et on doit en déduire une limitation en terme de valeurs possibles de Q_{ISC} . Ce point sera exploité plus tard, dans la section 3.6 de ce même chapitre.

L'examen de la Figure 3.13 montre que, pour les espèces ayant une durée de vie de l'état S_1 longue (> 30 ns), la valeur du rapport de branchement apparent αq varie finalement assez peu dans l'intervalle du rendement quantique déterminé. Cette figure permet de montrer les tendances de variation du terme αq avec la taille des peptides. Cette variation (limitée aux espèces présentant une durée de vie grande, *i.e.*, > 30 ns), est illustrée sur les Figures 3.14 et 3.15, où sont tracés les rapports de branchement apparents αq en supposant que le terme Q_{ISC} correspond respectivement à sa borne inférieure et supérieure. Les valeurs du rapport de branchement sont données en fonction de la taille

et de la complexité des molécules.

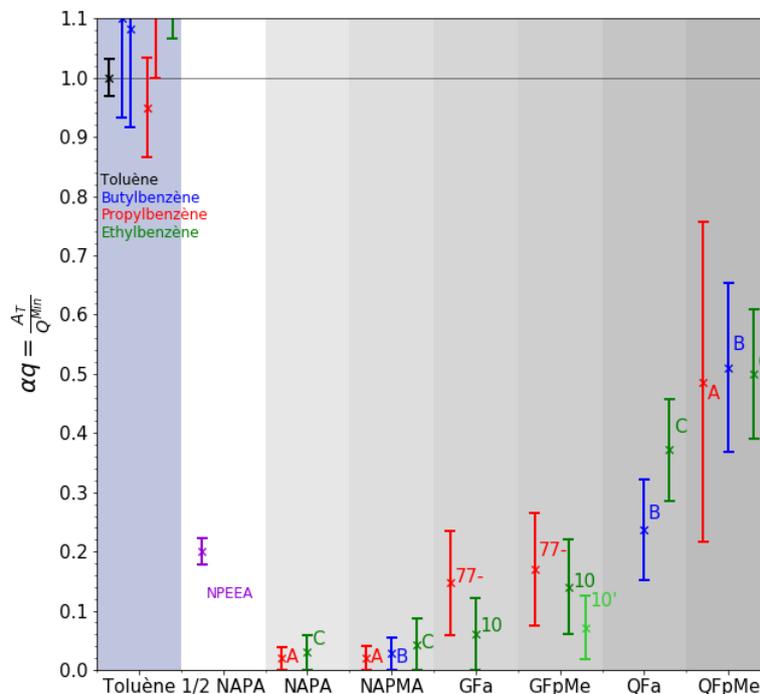


FIGURE 3.14 – Le rapport de branchement apparent αq déterminé selon la relation 3.18 avec la valeur minimale de l’encadrement du rendement quantique Q_{ISC}^{min} , c’est-à-dire lorsque la conversion interne intervient en plus de l’ISC et de la fluorescence dans la dynamique de l’état S_1 . Les molécules sont rangées par taille/complexité croissante. Seules les conformations telles que $\tau_S > 30$ ns sont représentées.

Sur ces deux graphes, les alkylbenzènes et le toluène ont été ajoutés (tout à gauche). Pour ces molécules, le rapport de branchement apparent αq est compatible avec une valeur égale à 1. Pour ces molécules, *a priori* il n’y a pas de fuite de l’état triplet. Pour les peptides, quelle que soit l’hypothèse adoptée sur la valeur du rendement quantique d’ISC, les Figures 3.15 et 3.14 montrent plusieurs tendances claires quant aux valeurs des rapports de branchement apparents αq :

- Les peptides ont des rapports de branchement apparents de formation des états triplets à longue durée de vie qualitativement plus faibles que les alkylbenzènes.
- La molécule ne présentant qu’une liaison peptidique (le demi-NAPA NPEA) montre un rapport de branchement apparent αq non nul, de l’ordre de 15 %.
- Les peptides comportant deux liaisons peptidiques, NAPA/NAPMA, ne conduisent pas à la formation d’états triplets à longue durée de vie détectables, suggérant

3.4. DÉTECTION DE L'ÉTAT TRIPLET DE MODÈLES DE CHAÎNES PEPTIDIQUES

l'existence de transitions non-radiatives efficaces, limitant la durée de vie des états triplets initialement formés.

- Dans les peptides plus gros et plus complexes en revanche les états triplets à longue durée de vie sont détectés : le rapport de branchement apparent αq croît de façon significative avec la taille de la molécule jusqu'à atteindre des valeurs plus proches de celles des alkylbenzènes.
- Les conformations d'une même molécule ont des valeurs de αq situées dans le même domaine, plaidant pour une absence d'effets de conformation.
- De façon similaire, les formes méthylées sur le C-terminal présentent des valeurs de αq qui restent proches de celles des formes non-méthylées de la même molécule, mais tendent tout de même à être plus grandes surtout dans les grandes tailles de la série, suggérant un effet de la méthylation.

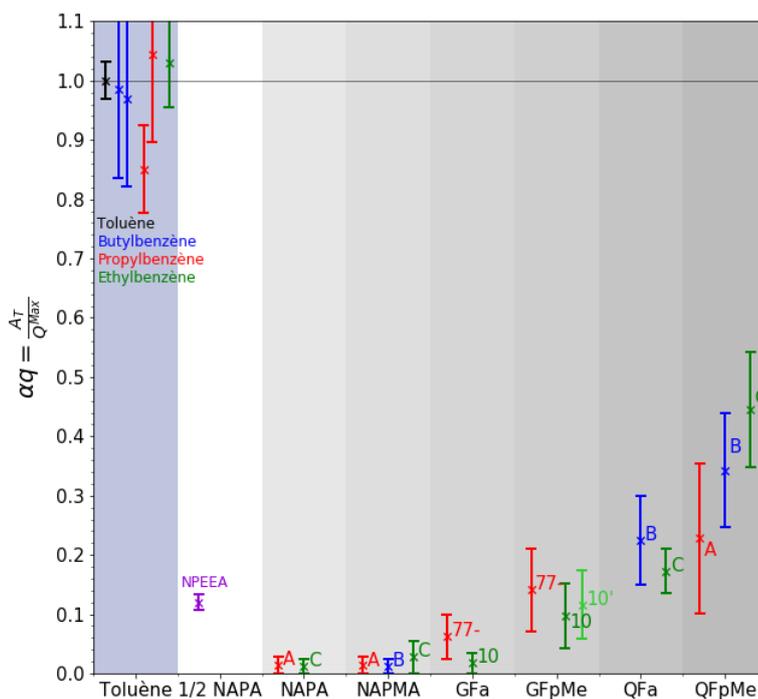


FIGURE 3.15 – Le rapport de branchement apparent αq déterminé selon la relation 3.18 avec la valeur maximale de l'encadrement du rendement quantique Q_{ISC}^{max} , c'est-à-dire lorsque seul l'ISC et la fluorescence sont considérés actifs dans la dynamique de l'état singulet. Les molécules sont rangées par taille/complexité croissante. Seules les conformations telles que $\tau_S > 30$ ns sont représentées.

Comme discuté plus haut, il paraît peu plausible que ces effets soient imputables

à une éventuelle variation de l'efficacité d'ionisation des états triplets α avec la taille de la molécule, sa conformation ou encore la méthylation. Il paraît plus vraisemblable d'attribuer ces observations à la dynamique des états triplets formés, ce qui nous conduit à examiner les propriétés des états triplets tels qu'ils sont décrits dans la littérature ou obtenus par des calculs de chimie quantique.

3.5 Éclairage théorique et interprétation des expériences pompe-sonde nanoseconde

Les données expérimentales pour les chaînes peptidiques nous suggèrent la présence d'un processus non-radiatif ayant pour conséquence une fuite des états triplets vers des états non détectés. Afin d'apporter une interprétation plus complète de ces résultats, des calculs de chimie quantique ont été réalisés afin de mieux appréhender la nature et l'énergétique des états triplets présents au voisinage de l'état singulet.

3.5.1 Résultats des calculs de chimie quantique

Les états triplets du benzène et du toluène ont récemment fait l'objet de quelques études théoriques menées suite à des expériences pompe-sonde avec des lasers femtoseconde [213, 214, 215, 216]. L'état triplet $^3\pi\pi^*$ du toluène est typiquement décrit comme ayant son minimum environ 1 eV plus bas que celui de l'état $S_1(^1\pi\pi^*)$.

Pour les peptides, nous nous appuyerons essentiellement sur des calculs de chimie quantique réalisés par Valérie Brenner au laboratoire, utilisant pour l'optimisation de la géométrie et le calcul des fréquences de vibration, la méthode *Coupled Clusters* à l'ordre 2 (CC2/cc-pVDZ), raffinée au niveau CC2/aug(N, O, π)-cc-pVDZ//CC2/cc-pVDZ pour l'énergétique [217]. Ces résultats, brièvement présentés dans le Tableau 3.2, sont décrits plus précisément dans l'Annexe F dans laquelle sont notamment présentées les structures des états électroniques trouvés.

La recherche systématique des minima d'états triplets localement excités sur le cycle aromatique ($^3\pi\pi^*_{cycle}$) par optimisation de géométrie réalisée sur les conformations A et B de NAPMA, montre l'existence d'une triade d'états triplets que l'on désignera collectivement sous la terminologie $T_{Tri}(^3\pi\pi^*)$. Ces états correspondent schématiquement aux trois biradicaux que l'on peut former sur le cycle aromatique en plaçant deux électrons non appariés de spins parallèles sur deux sommets opposés du cycle. D'un point de vue géométrique, ces trois minima correspondent d'ailleurs à trois déformations du cycle en lien direct avec cette représentation schématique (cf. Figures F.1 et F.2 de l'Annexe F). L'énergétique de ces minima, obtenue dans une base étendue, est conforme aux données de la littérature sur le toluène : ils se situent environ 1,1 eV plus bas que celui de l'état

3.5. ÉCLAIRAGE THÉORIQUE ET INTERPRÉTATION DES EXPÉRIENCES POMPE-SONDE NANOSECONDE

S_1 . Incidemment, il est à noter que chaque état triplet de cette triade comporte trois sous-niveaux issus de la levée de dégénérescence par le couplage spin-orbite, interaction qui n'a pas été prise en compte dans la présente analyse.

Par ailleurs, la connaissance de l'énergétique des divers états dans la géométrie de l'état S_1 (Tableau 3.2) est également intéressante puisqu'elle permet d'apprécier l'environnement de l'état S_1 initialement excité. Dans la géométrie de l'état singulet excité, plusieurs états triplets sont ainsi trouvés, dont certains beaucoup plus bas que l'état S_1 et d'autres dans une certaine proximité énergétique. On trouve des états localement excités sur le cycle, de même nature électronique que ceux de la triade obtenue par optimisation (${}^3\pi\pi^*_{cycle}$, cases vertes), des états localement excités sur une ou plusieurs liaisons peptidiques ${}^3n\pi^*_{CO}$ (excitation d'une des *lone pairs* de l'atome d'oxygène des groupements amides vers l'orbitale anti-liante π^*_{CO} de la liaison C=O, cases bleues), ou encore à des états à transfert de charge ${}^3n\pi^*_{cycle}$ ou ${}^3n\pi^*$ (cases roses) résultant d'un transfert électronique du squelette (*lone pair* de l'oxygène et/ou de l'azote des groupements amides) vers le cycle aromatique.

NAPMA A		NAPMA B		NPEA		3PPA B(<i>anti</i>)		3PPA A(<i>gauche</i>)	
${}^3\pi\pi^*$	0.873	${}^3\pi\pi^*$	0.894	${}^3\pi\pi^*$	0.906	${}^3\pi\pi^*$	0.837	${}^3\pi\pi^*$	0.905
${}^3\pi\pi^*$	0.113	${}^3\pi\pi^*$	0.127	${}^3\pi\pi^*$	0.123	${}^3\pi\pi^*$	0.044	${}^3\pi\pi^*$	0.124
${}^3\pi\pi^*$	0.079	${}^3\pi\pi^*$	0.097	${}^3\pi\pi^*$	0.096	${}^3\pi\pi^*$	0.014	${}^3\pi\pi^*$	0.095
${}^3n\pi^*_{co}$	-0.688	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.552	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.436	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.610	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.394
${}^3n\pi^*_{co}$	-0.779	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.702	${}^3\pi\pi^*$	-0.845	${}^3\pi\pi^*$	-0.940	${}^3\pi\pi^*$	-0.849
${}^3\pi\pi^*$	-0.854	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.721	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.973	${}^3n\pi^*_{co}$	-1.308	${}^3n\pi^*_{co}$	-1.120
${}^3n\pi^*_{co}$	-0.910	${}^3\pi\pi^*$	-0.815	${}^3n\pi^*$	-1.855	${}^3n\pi^*$	-2.495	${}^3n\pi^*$	-1.766
${}^3n\pi^*_{co}$	-1.012	${}^3n\pi^*_{co}$	-0.914	${}^3n\pi^*$	-2.029	${}^3n\pi^*$	-2.504	${}^3n\pi^*$	-1.961
${}^3n\pi^*$	-1.781	${}^3n\pi^*$	-1.594	${}^3n\pi^*$	-2.279	${}^3\pi\pi^*$	-2.594	${}^3n\pi^*$	-2.374
${}^3n\pi^*$	-1.835	${}^3n\pi^*$	-1.750	${}^3n\pi^*_{co}$	-2.426	${}^3n\pi^*$	-2.842	${}^3n\pi^*$	-2.444

TABLE 3.2 – Energétique (CC2/cc-pVDZ, en eV) et nature des dix premiers états triplets à la géométrie optimisée de l'état S_1 pour NAPMA A, NAPMA B, NPEA, et les deux conformères de 3PPA. Le zéro dans chaque système est l'énergie électronique (fonds de puits) de l'état S_1 . Les états soulignés sont des états pour lesquels seule la contribution majoritaire a été prise en compte pour déterminer la nature de l'état.

L'énergétique obtenue (Tableau 3.2; précision de l'ordre de 0,1 eV [217]) montre d'une part que, dans la géométrie de l'état S_1 , premièrement des états triplets ${}^3\pi\pi^*$ localement excités sur le cycle sont très proches de l'état S_1 et deuxièmement des états localement excités sur une ou plusieurs liaisons peptidiques, états ${}^3n\pi^*_{CO}$, sont également relativement proches de certains de ces états triplets ${}^3\pi\pi^*$ et d'autres part, que certains minima de ces derniers (états ${}^3n\pi^*_{CO}$) sont énergétiquement proches de ceux des ${}^3\pi\pi^*$ (Tables F.1 à F.3 de l'Annexe F) et ce quelle que soit la conformation. Cette tendance se retrouve également dans les demi-NAPA.

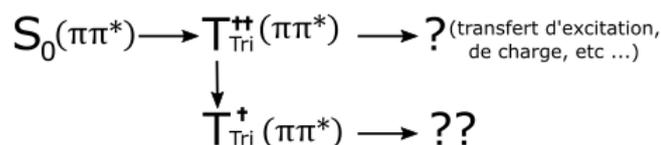
Cette proximité énergétique entre les états ${}^3\pi\pi^*$, ${}^3n\pi^*_{CO}$ et ${}^3n\pi^*$ suggère la possibilité d'une désexcitation non-radiative très efficace de ces derniers par passage au travers

d'une intersection conique. D'ailleurs ces mécanismes ont déjà été envisagés pour les systèmes NAPA/NAPMA par Mališ *et al.* [13, 28] dans l'état singulet à partir de simulations de dynamique non-adiabatique, raffinées par des calculs de chimie quantique plus poussés (respectivement mécanismes II et I décrits par Mališ *et al.*). Ces états se présentent comme des candidats possibles pour les états *noirs* dont l'existence a été suggérée plus haut.

Ces calculs sont donc très informatifs sur la possible dynamique des états triplets des systèmes étudiés. Ils permettent notamment d'avancer une interprétation des mesures réalisées.

3.5.2 Interprétation des expériences pompe-sonde

Les études théoriques présentées ci-dessus permettent de proposer un schéma cinétique qui rend compte des observations expérimentales :



La conversion intersystème de l'état singulet $S_1(\pi\pi^*)$ initialement photoexcité peuple la triade d'états triplets $T_{Tri}(^3\pi\pi^*)$ dans des états vibrationnellement très excités T_{Tri}^{++} , avec un excès d'énergie pouvant dépasser 1 eV.

La dynamique dans la triade qui s'en suit, est sans doute complexe et est illustrée sur la Figure 3.16. Comme le processus d'ISC ne concerne que le cycle aromatique, l'énergie en excès est d'abord contenue sous forme vibrationnelle dans le cycle, celui-ci pouvant se déformer considérablement. Dans le toluène, la dynamique aux temps courts se limite à cette étape. Dans les molécules plus complexes, les alkylbenzènes et *a fortiori* les peptides, la présence d'une longue chaîne, qui peut jouer le rôle d'accepteur d'énergie vibrationnelle, conduit à une redistribution vibrationnelle intramoléculaire (IVR). Une partie de l'énergie vibrationnelle initialement présente sur le cycle migre alors vers la chaîne, conférant à la molécule une certaine flexibilité, et qui éventuellement autorise les isomérisations entre conformations. Cette étape est sans doute très rapide, d'autant plus rapide que la molécule est grande, car l'IVR est régie par la densité d'états vibrationnels finale du système. Cette étape est éventuellement en compétition avec des transitions non-radiatives vers des états *noirs* non détectés par l'expérience, comme les états localement excités sur les liaisons peptidiques ou les états à transfert de charge mis en avant par les calculs présentés plus hauts. L'accès à ces états est contrôlé par une intersection conique. Il peut être considéré que, tant que l'excès d'énergie vibrationnelle est localisé sur le cycle, cela permet d'accéder facilement à l'intersection conique contrôlant le processus. Mais, en revanche, une fois que l'IVR a eu lieu, cet accès est bien plus difficile, voire irréversiblement interdit dans une

3.5. ÉCLAIRAGE THÉORIQUE ET INTERPRÉTATION DES EXPÉRIENCES POMPE-SONDE NANOSECONDE

grande molécule. Les états triplets $T_{tri}(\pi\pi^*)$ finalement formés ont alors une durée de vie longue, limitée par des processus de nature différente. La probabilité de passage vers des états *noirs* (décrite par le rapport de branchement $1 - q$) dépend de façon drastique de cet accès à l'intersection conique et de l'IVR qui peut s'y opposer.

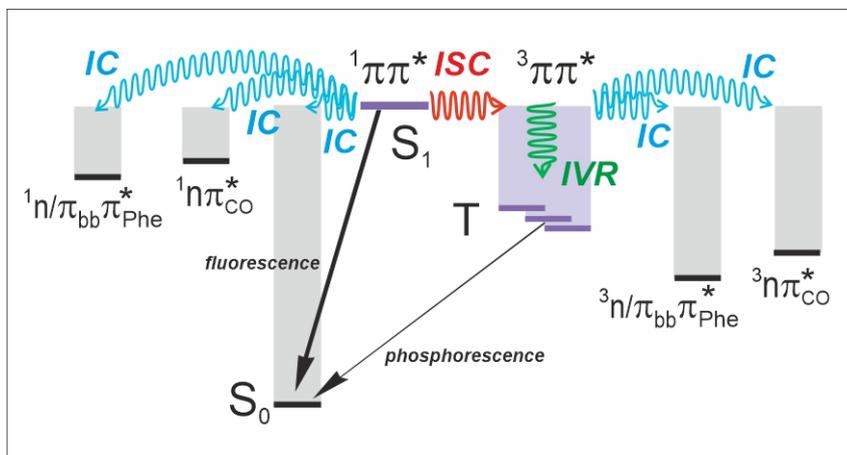


FIGURE 3.16 – Schéma des mécanismes possibles de désexcitation de l'état excité S_1 proposé d'après les résultats des calculs de chimie quantique. L'ISC permet de peupler une triade d'états triplets chauds $T_{Tri}^{\ddagger}(\pi\pi^*)$. Cette population d'états triplets peut subir ensuite une IVR permettant de peupler des états triplets $\pi\pi^*$ à longue durée de vie, ou bien, fuir vers des états à transfert de charge ou des états excités sur les liaisons peptidiques ; cette voie de conversion interne triplet-triplet étant contrôlée par une intersection conique, comparable à celles évoquées pour les processus non-radiatifs susceptibles d'intervenir dans la dynamique de l'état singulet S_1 , comme montré par Mališ et coll. [13, 28].

Un tel schéma permet de rendre compte de la faible population d'état triplet (voire de son absence) dans les peptides, comparés à celle des alkylbenzènes. De plus, la compétition entre passage de l'intersection conique et l'IVR permet, au moins qualitativement, de comprendre la remontée du rapport de branchement q avec la taille et la complexité des molécules. Le cas des NAPA/NAPMA se comprend par une grande efficacité d'accès à l'intersection conique lors de la dynamique initiale, éventuellement encore permise après IVR dans une molécule de petite taille.

La dynamique intermédiaire des demi-NAPA, avec un rapport de branchement mesurable comparé aux NAPA, peut se comprendre comme l'effet du nombre de liaisons peptidiques susceptibles d'accepter l'excitation (états $^3n\pi_{CO}^*$), moindre que dans les NAPA. En revanche, le fait que des états triplets de durée de vie longue soient détectés dans NPEA suggère qu'après l'IVR, l'intersection conique n'y est plus accessible. Cette conclusion plaide, pour ces espèces, en faveur d'un passage de l'intersection conique qui ne serait possible qu'au tout début de la dynamique des états triplets, avant que l'IVR ne dilue l'excès d'énergie dans les divers modes moléculaires. Cela pourrait être expliqué, par exemple, par le fait que des déformations du cycle (associées à des modes d'énergie moyenne $\sim 1000 \text{ cm}^{-1}$) soient nécessaires à ce passage.

Notons enfin que la même compétition entre IVR et passage de l'intersection conique permet de rationaliser qualitativement le faible effet de la méthylation observé. En effet, la plus grande densité d'états dans les formes méthylées favorise l'IVR au détriment du franchissement de l'intersection conique.

Une autre cause possible de désexcitation de la population de la triade chaude $T_{Tri}(^3\pi\pi^*)$, autre que l'IC vers les états *noirs*, pourrait être la dissociation de la liaison $C_\alpha-C_\beta$ dans les états triplets. Ce processus a déjà été évoqué, notamment par l'équipe de Lee pour les alkylbenzènes [197, 198] et par Rizzo et coll. [199] pour les peptides protonés (même si, la cassure de la liaison en question est potentiellement dommageable à la fonction biologique de la molécule). Dans le cas présent, la prédissociation vibrationnelle des états triplets conduirait à la formation d'un radical benzyl neutre $C_6H_5-CH_2\cdot$, a priori non ionisable à une couleur et donc non détectable par la sonde à 193 nm.

Cependant, un tel schéma de dissociation statistique ne semble pas compatible avec nos observations pour plusieurs raisons. Premièrement, si une telle prédissociation se produit, un effet de la taille de la molécule est attendu. On peut alors s'attendre à ce que les molécules de grande taille soient métastables, *i.e.*, qu'elles fragmentent en un temps trop long pour que le processus soit observé. Dans ce cas, les états triplets détectés présentent une durée de vie longue. En revanche, pour les petites molécules, ce temps de dissociation doit considérablement décroître avec la taille. Si ce temps passe en deçà de la durée de vie de l'état singulet, l'ion parent issu de l'ionisation de l'état triplet ne peut plus être observé à cause de la dissociation. Ceci pourrait en effet expliquer la non-observation de l'état triplet pour NAPA/NAPMA. Mais, il est difficile de justifier que le temps nécessaire à la dissociation soit de l'ordre de la nanoseconde pour NAPA/NAPMA et devienne trois ordres de grandeurs plus grand pour les plus gros peptides, dès la séquence des GF. Deuxièmement, en tout état de cause, dans la mesure où la barrière de cette dissociation n'est pas attendue comme dépendante de la présence de liaisons peptidiques, comment expliquer alors que pour le NPEA, une molécule encore plus petite que le NAPA, une quantité appréciable d'états triplets ait été détectée, qui présentent de surcroît une durée de vie longue (μs) ? Enfin, et surtout, les expériences sur les peptides protonés suggèrent que la liaison $C_\alpha-C_\beta$ n'est pas la liaison la plus fragile de la molécule. Pourquoi alors serait-ce cette liaison particulière qui casserait ? Pour l'ensemble de ces raisons, nous avons exclu l'hypothèse d'une population d'états triplets limitée par la dissociation $C_\alpha-C_\beta$, et plutôt favorisé l'hypothèse de la conversion interne vers des états *noirs* pour expliquer la dynamique des états triplets $^3\pi\pi^*$.

3.6 Considérations sur la dynamique de l'état $S_1(\pi\pi^*)$

L'une des problématiques de ce chapitre était de documenter de façon directe le passage à l'état triplet depuis l'état S_1 des peptides et notamment d'expliquer si la durée de

vie courte du conformère B de NAPA est due ou non à un passage favorisé à l'état triplet. L'hypothèse qui a été avancée par Mališ *et al.* [13, 28] est le passage vers un état singulet localement excité sur une liaison peptidique au travers d'une intersection conique. L'hypothèse alternative, un processus d'ISC favorisé pour cette conformation spécifiquement, avait été rejetée, essentiellement au motif qu'il paraissait improbable qu'un conformère ait un rendement quantique d'ISC cinquante fois plus grand que les autres conformations. Malheureusement, comme déjà expliqué dans le texte, le fait que, quelle que soit la durée de vie du conformère de NAPA sondé, aucun état triplet ne soit détecté ne permet pas d'apporter de réponses tranchées à cette problématique.

La molécule de QFa, l'autre molécule dont l'un des trois conformères (QFa A) possède une durée de vie de l'état singulet bien plus courte que les deux autres B et C (< 3 ns contre 78 ns et 47 ns, respectivement), et pour laquelle un état triplet à longue durée de vie a été observé, aurait pu apporter des éléments de réponse. Cependant, la durée de vie de l'état singulet de 3 ns conduit, dans l'hypothèse d'effets non-radiatifs prédominants, à un Q_{ISC}^{min} d'environ 4 % (Figure 3.13), ce qui est compatible avec l'observation ($\alpha Q_{ISC} \sim 0,04$). Donc ce résultat n'est pas non plus très informatif.

Seul le demi-NAPA 3PPA apporte un élément partiel de réponse. En effet, la durée de vie courte de l'état S_1 de 3PPA B (< 4 ns) conduirait, dans l'hypothèse d'effets non-radiatifs prédominants, à un Q_{ISC}^{min} de 3 % (cf. Tableau 3.1). Or, la valeur de αQ_{ISC}^{exp} observée est de 10 %, ce qui est supérieur à la valeur estimée. Pour que la valeur estimée de Q_{ISC}^{min} soit compatible avec l'observation, cela implique que la valeur de k_{ISC} doit être plus grande, donc que τ_{ISC} soit plus rapide que la valeur du toluène. En effet, pour que Q_{ISC}^{min} soit égal à αQ_{ISC}^{est} , le temps caractéristique de l'ISC, k_{ISC} , doit passer de 135 ns (valeur du toluène prise initialement en compte) à 40 ns. Cela signifie que, dans le cas de 3PPA B, le processus d'ISC pourrait être trois fois plus rapide que dans celui du toluène. Ce résultat est important car il démontre que, dans les peptides, les temps caractéristiques d'ISC peuvent varier de façon drastique par rapport au toluène.

Cependant, si ces mesures ne sont pas suffisantes pour permettre de trancher quant à un éventuel effet prépondérant de l'ISC pour expliquer les durées de vie courtes (\sim ns) de l'état S_1 de certains peptides, tels que NAPA B, elles suggèrent néanmoins que l'ISC seule peut très bien rendre compte de la variabilité observée dans les durées de vie S_1 longues observées dans les diverses conformations des peptides (domaine 30-80 ns).

3.7 Conclusion

Cette expérience de spectroscopie pompe-sonde à l'échelle ns a donc permis de mettre en évidence la formation dans les petites chaînes peptidiques d'états triplets à longue durée de vie (dans le domaine μ s), avec une efficacité qui dépend de la taille de la molécule. Elle a également mis en évidence qu'il existe pour ces chaînes peptidiques (NAPA notamment), une fuite de la population des états triplets formés, vers des états non détectés par la sonde à 193 nm. La question de la nature des phénomènes à l'origine de cette fuite

n'a pas pu être tranchée directement. Cependant, les données expérimentales, renforcées par les simulations de chimie théorique, suggèrent l'existence d'états *noirs* peuplés par conversion interne après que le passage à l'état triplet a lieu, au travers d'une intersection conique couplant l'état triplet issu de l'ISC et des états localement excités sur les liaisons peptidiques ou des états à transfert de charge entre les groupements amides et le cycle. Le rôle de la photodissociation a été a priori exclu car elle ne permet pas de rendre compte des observations le long de la série de molécules étudiées.

Il est tout de même important de noter que notre interprétation n'est pas en désaccord avec les expériences mentionnées plus haut de Ni *et al.* pour les alkylbenzènes [197, 198] et de Rizzo et ses collaborateurs pour les peptides protonés [196] à propos de la photodissociation dans l'état triplet. En effet, les premiers suggèrent que la dissociation est la voie de désexcitation principale des états triplets. Or dans leur expérience, l'excitation est réalisée à 248 nm, soit environ 2700 cm^{-1} (0,33 eV) plus haut que nous dans l'état S_1 , ce qui peut très sensiblement modifier la dynamique des états triplets ensuite formés. Dans l'expérience de Rizzo, en revanche, le type d'excitation est le même que dans le travail présent, à savoir l'excitation UV de l'état S_1 à son origine de molécules froides. Ces auteurs observent, avec une faible efficacité, la perte de la chaîne latérale de la phénylalanine (rupture de la liaison C_α - C_β) dès lors qu'ils chauffent les ions par avec un laser CO_2 , et ce pour des délais compatibles avec la formation des états triplets. De plus, ils détectent les états triplets très tardivement après l'excitation (après des dizaines de ms), ce qu'on peut imputer, comme ils le proposent, au refroidissement efficace dans le piège à ions refroidi qu'ils utilisent. Mais, résultat beaucoup plus intéressant, ils ont identifié dans la spectroscopie IR des états triplets refroidis, une bande vibrationnelle spécifique à ces états et dont l'excitation conduit à une exacerbation très marquée de la perte de la chaîne latérale de Phe. Cette augmentation de la fragmentation est mesurée 40 fois plus intense après quelques μs et persiste même après un refroidissement très efficace (facteur encore de 3 après des dizaines de ms). Un tel effet paraît donc difficilement compatible avec une dissociation statistique. En revanche il faut noter que cette absorption IR correspond à l'excitation de l'élongation NH de la liaison peptidique directement en aval du résidu Phe (côté C -terminal), qui est engagée dans une interaction $\text{NH}-^3\pi$ avec le cycle phényle. On ne peut que rapprocher ce résultat de celui du mécanisme I proposé par Mališ *et al.* [13] dans le cadre de l'étude par dynamique quantique de NAPA. Dans ce mécanisme, l'élongation de cette même liaison conduit le système vers l'intersection conique permettant une transition non-radiative vers un état dit à transfert de charge et qui serait ensuite suivi d'un transfert de proton entre la liaison NH et un des carbones du cycle, expliquant possiblement cette photo-dissociation favorisée. Il est donc tentant d'attribuer les expériences IR spectaculaires de Rizzo au déclenchement du passage de l'état triplet refroidi vers un tel état *noir*, ce qui serait cohérent avec notre interprétation. Il aurait été intéressant, à titre de contre-expérience, d'exciter non pas la vibration NH engagée dans cette interaction $\text{NH}-^3\pi$, mais n'importe quelle autre élongation NH : une absence d'exacerbation de la fragmentation pour cette autre excitation aurait été la

signature spécifique d'un processus centré sur l'interaction $\text{NH-}^3\pi$ et aurait renforcé notre interprétation. Malheureusement cette expérience n'a pas été réalisée.

Avec notre dispositif, une expérience comparable pourrait être menée pour une espèce où des états triplets sont détectés : il s'agirait d'enregistrer la spectroscopie IR de *suppression de la détection de ces états triplets*. Dans cette expérience à trois lasers (UV-IR-193 nm), le laser IR serait envoyé après le premier laser UV (qui permet de former les états triplets), avec un délai temporel adéquat à l'excitation vibrationnelle des états triplets. La longueur d'onde de ce laser serait par ailleurs balayée dans la région des vibrations NH. Si au cours de ce balayage, le signal correspondant à l'ionisation des états triplets par le laser à 193 nm diminue spécifiquement pour une signature IR correspondant à une interaction $\text{NH-}^3\pi$, cela permettrait de consolider l'hypothèse des états *noirs*. Alternativement, comme il avait été réalisé sur l'état singulet par Mališ *et al.*, un test très convaincant pour l'attribution de la dynamique à un mécanisme de type I serait de deutérer NAPA/NAPMA et de voir si la quantité d'état triplet détectée dans l'expérience est modifiée.

Enfin signalons que cette mise en évidence d'effets de conversion interne dans l'état triplet est de nature à renforcer l'attribution des courtes durées de vie de l'état singulet des peptides à de tels processus non-radiatifs, même si les mesures réalisées en particulier sur le demi-NAPA 3PPA démontrent que l'ISC pourrait être très dépendante d'une conformation à l'autre et pourrait donc participer à la variabilité observée sur les durées de vie.

Pour conclure, la mise en évidence d'états triplets à longue durée de vie dans les chaînes peptidiques suggèrent qu'il existe dans le monde biologique, des processus intermoléculaires ou des processus faisant intervenir d'autres acides aminés de la protéine (par exemple des transferts d'énergie entre différents chromophores), qui permettraient de limiter la formation de ces états triplets à longue durée de vie. Par exemple, on peut imaginer que l'agitation thermique (typiquement 300 K soit $\sim 0,26$ eV pour un milieu biologique) s'ajoute à l'énergie interne de la molécule lorsque l'ISC a lieu ($\sim 1,1$ eV d'énergie vibrationnelle) et de ce fait, cette énergie thermique pourrait faciliter le passage vers les états *noirs* et ainsi atténuer la proportion d'états triplets à longue durée de vie, dont la formation serait néfaste à la structure de la protéine.

Chapitre 4

Détection de l'état tripdoublet de deux porphyrines de cuivre

LES porphyrines sont une classe de molécules macrocycliques naturellement présentes dans les composés biologiques et qui ont un rôle très important dans les métabolismes des systèmes vivants [218, 219, 220, 221, 222]. Ces structures sont, par exemple, présentes dans les métalloprotéines telles que l'hémoglobine et la myoglobine, toutes deux contenant des molécules d'hème [43, 44, 45]. L'hème contient une porphyrine incluant en son centre un atome de fer. Les chlorophylles sont un autre exemple de molécules contenant une molécule voisine des porphyrines (chlorine) avec en leur centre un atome de magnésium [46, 47]. Les porphyrines interviennent ainsi dans de nombreux processus comme le transport d'oxygène, les transferts d'électrons, les catalyses, les étapes photochimiques initiales de la photosynthèse... Des porphyrines synthétisées sont également utilisées pour la photothérapie des cancers [223] ou bien encore le photovoltaïque [224]. Ce sont donc des molécules qui ont un fort intérêt biologique et dont la caractérisation des propriétés photo-physiques est importante.

Le squelette brut d'une porphyrine est représenté sur la Figure 4.1. Il est composé de quatre sous unités de pyrrole reliées entre elles par un pont à un carbone, le tout formant un cycle. Certaines porphyrines peuvent accommoder un atome métallique dans leur cavité centrale, moyennant l'établissement de liaisons avec les atomes d'azote ; le macrocycle étant complètement conjugué. Ces structures sont appelées les métalloporphyrines. Les porphyrines sans métal sont appelées les bases libres.

La structure d'une porphyrine peut être complexifiée par l'ajout de groupes fonctionnels sur le macrocycle. Deux exemples sont représentés dans la Figure 4.1. L'ajout de quatre groupes phényles sur les carbones α , β , γ et δ forme la famille des tétraphényle porphyrines (TPP). La présence de huit groupes éthyle sur les carbones 1 à 8 forme l'octaéthyle porphyrine (OEP). Il existe beaucoup d'autres structures plus ou moins complexes, ou dérivées comme les phthalocyanines qui sont des composés synthétiques.

Les métalloporphyrines peuvent être vues comme deux systèmes en interaction : le macrocycle, avec ses électrons π délocalisés, et le métal. L'interaction des électrons π avec

les électrons du métal de transition induit des mécanismes de relaxation très spécifiques. Ces mécanismes sont exploités dans le monde du vivant dans de nombreux processus cités précédemment. Il est donc important de comprendre comment la présence du métal influence les propriétés électroniques de ces molécules et donc les réactions possibles de ces systèmes dans leur environnement biologique.

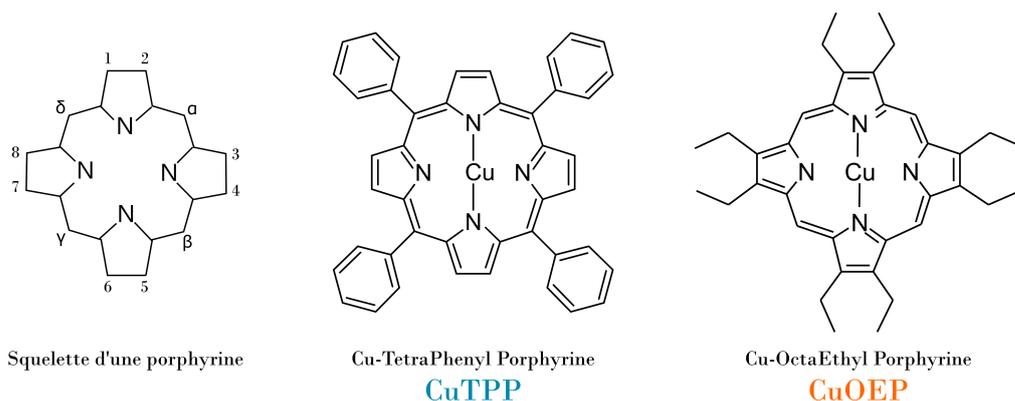


FIGURE 4.1 – Structure des porphyrines : à gauche, le squelette commun à toutes les porphyrines. Au centre et à droite, deux porphyrines au squelette complexifié, combiné à un atome de cuivre : CuTPP au centre et CuOEP à droite.

Dans cette thèse, deux porphyrines de cuivre ont été étudiées. Il s'agit de CuTPP et CuOEP (Figure 4.1). L'intérêt porté à ces deux métalloporphyrines vient de l'atome de cuivre qui, dans ce cas de figure, n'a qu'un seul électron non apparié (situé sur sa couche d), ce qui génère un schéma de relaxation particulier des états excités de ces deux molécules. En effet, l'excitation d'une des transitions $\pi\pi^*$, correspondant à l'excitation électronique du macro-cycle, est suivie par la formation très efficace d'un état triplet également localisé sur le macrocycle. Ce schéma de relaxation est dû à des transferts de charge entre le macro-cycle et l'atome de cuivre [48, 49]. La détection de cet état triplet $^3\pi\pi^*$ ainsi formé est cœur de cette étude.

Deux objectifs ont guidé ce travail sur CuTPP et CuOEP. Dans un premier temps, l'objectif a été la caractérisation de la transition $S_1(\pi\pi^*) \leftarrow S_0(\pi)$ en phase gazeuse à basse température (~ 70 K). Pour cela, la *spectroscopie d'action triplet* de ces deux molécules a été réalisée. La spectroscopie d'action est une méthode pour laquelle l'excitation électronique du système étudié est détectée au travers des conséquences qu'elle entraîne, tels qu'une réaction chimique [225], de la dissociation [226, 227] ... Dans le cas de cette étude, l'excitation de l'état singulet $S_1(\pi\pi^*)$, dont la durée de vie est inférieure à une centaine de fs, est détectée par l'ionisation de l'état triplet $^3\pi\pi^*$, formé depuis l'état S_1 et pour lequel la durée de vie est beaucoup plus longue (comme attendu pour un état triplet). L'étude du rendement d'ions formés depuis l'état triplet en fonction de la longueur d'onde du laser d'excitation permet ainsi d'enregistrer l'équivalent du spectre d'absorption de l'état fondamental.

Le second objectif de ce travail a été la caractérisation à l'échelle ns de la désexcitation de l'état triplet ${}^3\pi\pi^*$, après excitation de l'état S_1 . Une étude expérimentale antérieure, menée à l'échelle ps en phase gazeuse [48, 49] a permis une première caractérisation des schémas de relaxation de ces états $\pi\pi^*$ (singulet et triplet). Mais l'évolution de l'état triplet ${}^3\pi\pi^*$ formé n'a pas encore été caractérisée entièrement. Dans ce but, la dynamique de l'état ${}^3\pi\pi^*$ de CuTPP et CuOEP a été mesurée par des expériences de spectroscopie pompe-sonde à l'échelle ns.

Avant de présenter les résultats expérimentaux, les propriétés électroniques générales des porphyrines sont exposées. Puis les spectres d'action triplet de la bande Q (transition $S_1 \leftarrow S_0$) de CuTPP et CuOEP en phase gazeuse sont présentés et comparés à des spectres d'absorption en solution. Une interprétation des bandes et des intensités observées est discutée. Enfin, la dynamique de l'état triplet du cycle est présentée ainsi qu'une discussion sur l'attribution des déclinés observés.

4.1 Propriétés des métalloporphyrines : états électroniques et leurs dynamiques

La spectroscopie et la dynamique des états excités des molécules de la famille des métalloporphyrines sont assez bien caractérisées en phase liquide [228, 229, 230]. Le même type d'études, menées en phase gazeuse, est plus complexe d'un point de vue expérimental, notamment pour la mise en phase gazeuse des molécules de façon suffisante. Pourtant de telles données sont essentielles car elles illustrent le comportement intrinsèque des molécules sans effet de leur environnement. Néanmoins, les nombreuses études des métalloporphyrines en solution ont permis de comprendre le comportement général de ces espèces.

Ces observations ont mis en avant la très grande similitude des propriétés électroniques de toutes les métalloporphyrines et leur faible dépendance vis-à-vis de la nature du métal pour les bandes majeures qui dépendent de l'excitation des électrons du macro-cycle. La position des états électroniques excités est commune à l'ensemble des porphyrines. Elle est due à la possibilité d'exciter efficacement les électrons π délocalisés sur le macrocycle lors de deux transitions $\pi\pi^*$ communes à toutes les porphyrines [231]. A l'inverse, la relaxation des états électroniques dépend, elle, fortement de la nature du métal. Une différence de comportement est observée pour les métalloporphyrines composées d'un atome à couche d complète, tel que le zinc, et les métalloporphyrines combinées à un métal de transition.

Dans ce chapitre, les propriétés électroniques des porphyrines sont présentées et expliquées dans le cadre du modèle à quatre orbitales, proposé par Gouterman [232, 233]. Ce modèle, présenté dans la suite, explique notamment l'intensité des bandes des spectres d'absorption. La dynamique des états excités des porphyrines est, elle, abordée en fonc-

tion de la nature du métal.

4.1.1 Premiers états électroniques des porphyrines

Les porphyrines ont toutes des spectres d'absorption électroniques qui se ressemblent et qui sont dominés par deux types de bandes, situées dans deux régions principales : la région du proche UV et la région du visible [231]. Dans la région du visible, est située la bande Q, qui correspond à la transition $S_1(\pi^*) \leftarrow S_0(\pi)$. L'origine de cette bande est généralement autour 550 nm. Dans la région du proche UV se trouve la bande B, également appelée la bande de Soret, correspondant à la transition $S_2(\pi^*) \leftarrow S_0(\pi)$ dont le maximum est localisé vers 400 nm. Ces deux bandes correspondent à des transitions $\pi\pi^*$ des électrons du cycle. Il est important de remarquer que les bases libres présentent elles aussi ces mêmes bandes dans les mêmes régions que les métalloporphyrines, prouvant ainsi que les propriétés d'absorption dépendent uniquement de la nature du cycle de la porphyrine et que la présence du métal perturbe très peu leur spectroscopie d'absorption.

La bande B est généralement plus intense que la bande Q. Cette différence d'intensité a été expliquée par Gouterman en 1961 [232, 233] en proposant le modèle à quatre orbitales.

Modèle à quatre orbitales de Gouterman

Les spectres d'absorption des métalloporphyrines sont interprétés par le modèle à quatre orbitales proposé par Gouterman [232, 233]. Il fait référence aux deux orbitales moléculaires les plus hautes occupées (HOMO) et à l'orbitale la plus basse vacante (LUMO) dégénérée deux fois.

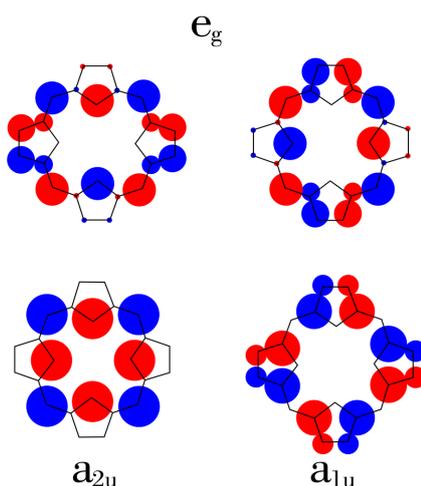


FIGURE 4.2 – Représentation des deux orbitales moléculaires HOMO de symétrie a_{1u} et a_{2u} et LUMO doublement dégénérée de symétrie e_g dans le modèle à quatre orbitales de Gouterman. Il s'agit des lobes au dessus du plan moléculaire, les deux couleurs faisant référence à des symétries des orbitales atomiques différentes.

D'après ce modèle, l'ensemble des orbitales p de l'azote et des carbones α à δ (cf Figure 4.1) sont conjuguées dans un cycle. Les propriétés électroniques principales ont été décrites dans un modèle impliquant trois orbitales moléculaires, appartenant respectivement aux représentations a_{1u} , a_{2u} et e_g (doublement dégénérée) du groupe ponctuel d_{4h} et décrites comme des combinaisons linéaires d'orbitales atomiques représentées sur la Figure 4.2. Initialement, ces orbitales ont été traitées par la méthode de Hückel ¹ [234] étendue au cas des porphyrines [232, 233]. Le spectre visible et proche UV est expliqué par le fait que les énergies des deux HOMO a_{1u} et a_{2u} sont accidentellement dégénérées, tandis que l'orbitale e_g , la LUMO, est doublement dégénérée. Dans le modèle de Hückel, la dégénérescence de ces orbitales a_{1u} et a_{2u} se produit si les orbitales p_z de l'azote sont peu couplées à celles du carbone [233]. Dans ces conditions l'excitation d'un électron dans l'orbitale e_g (doublement dégénérée) crée des états de symétrie totale E_u , que ce soit dans la configuration $a_{1u}e_g$ ou $a_{2u}e_g$. Les deux états finaux sont dédoublés par interaction de configuration, due à la répulsion électron-électron, en deux états B et Q décrits par les combinaisons symétriques et antisymétriques suivantes :

$$(B, Q) = \frac{1}{\sqrt{2}} [(a_{1u}e_g) \pm (a_{2u}e_g)] \quad (4.1)$$

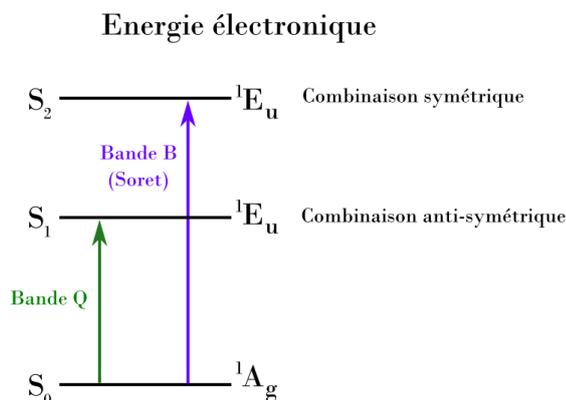


FIGURE 4.3 – Les deux états électroniques des porphyrines correspondant à une excitation des électrons du macro-cycle. La bande B correspond à la transition $S_2 \leftarrow S_0$, plus intense que la bande Q, correspondant à la transition $S_1 \leftarrow S_0$.

L'état le plus haut en énergie (S_2) correspond à la combinaison symétrique des configurations $a_{1u}e_g$ et $a_{2u}e_g$ (Figure 4.3), tandis que le plus bas (S_1) correspond à une combinaison antisymétrique de ces deux configurations. Ainsi la bande B, dite de Soret, est attribuée à la transition $S_2 \leftarrow S_0$ et la bande Q à la transition $S_1 \leftarrow S_0$.

Pour expliquer les différences d'intensité de ces bandes, il faut examiner leur moment de transition. Ce dernier, pour les deux transitions depuis l'état fondamental, est une

1. La méthode de Hückel est une méthode de combinaison linéaire d'orbitale atomique appliquée initialement aux hydrocarbures. Cette méthode ne tient compte que des électrons π et que des termes d'interaction des voisins immédiats.

4.1. PROPRIÉTÉS DES MÉTALLOPORPHYRINES : ÉTATS ÉLECTRONIQUES ET LEURS DYNAMIQUES

combinaison symétrique (S_2) ou antisymétrique (S_1) de deux moments équivalents correspondant aux transitions $a_{1u}e_g$ et $a_{2u}e_g$. Dans le cas de S_1 , si la dégénérescence entre les deux orbitales HOMO est stricte, alors les deux moments des transitions $a_{1u}e_g$ et $a_{2u}e_g$ sont égaux. Le moment résultant de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ (bande Q) est donc nul, rendant cette transition interdite. Ceci explique pourquoi, dans les spectres des porphyrines, si la dégénérescence des deux orbitales HOMO est vérifiée, la bande Q est peu intense contrairement à la bande B qui est, elle, très intense. De plus, moins la dégénérescence des deux orbitales HOMO est marquée, et plus la bande Q devient intense, car le mélange des configurations devient moins efficace.

Ce modèle repose donc sur la dégénérescence des orbitales a_{1u} et a_{2u} , l'interaction de configuration mais également sur la symétrie de la porphyrine (d_{4h}). Il permet par ailleurs d'expliquer la corrélation observée pour les métalloporphyrines entre l'écart en énergie des bandes B et Q, et leur intensité. Plus l'écart est grand, et plus l'intensité de la bande Q est faible et celle de la bande B est importante.

4.1.2 Dynamique de ces états électroniques

Les propriétés d'absorption des métalloporphyrines sont majoritairement dominées par la structure π du macro-cycle. Par contre, la dynamique des états électroniques est différente suivant le remplissage des dernières couches du métal. Par exemple, le zinc, qui a une couche d remplie, a une dynamique moins rapide et moins complexe que celle des métaux de transition [231]. En effet, du fait de l'existence des orbitales atomiques vacantes, ces métaux de transition interagissent différemment avec le cycle de la porphyrine puisqu'il peuvent accepter un électron venant du cycle, ce que ne peut pas faire un métal comme le zinc. Une différence de comportement est également observée par rapport aux bases libres.

Cas du zinc et des bases libres

Les porphyrines de Zn(II) ont formellement la configuration où le zinc est oxydé deux fois ($3d^{10}4s^0$) et qui a son orbitale $3d$ entièrement remplie. La dynamique électronique de l'état S_1 est infiniment plus lente que celle des porphyrines contenant un métal de transition et les processus impliqués sont différents. Par exemple, des expériences de spectroscopie pompe-sonde fs en phase gazeuse sur ZnTPP [48, 235] ont montré qu'après une excitation de la bande de Soret (B), l'état S_2 se désexcite par conversion interne vers l'état S_1 en 600 ± 50 fs. Puis l'état S_1 se relaxe vers l'état S_0 ou T_1 (par fluorescence et croisement intersystème) en 3 ns. Par ailleurs, la dynamique des états excités de H₂TPP, la base libre, a également été sondée en phase gazeuse et présente un comportement similaire à ZnTPP ($S_2 \rightarrow S_1$: 110 fs, $S_1 \rightarrow T_1/S_0$: 2 ns) [49].

Cas des métaux de transition

A l'inverse, les métaux de transition des porphyrines (Fe, Co, Ni, Cu, Ru, ...), qui sont oxydés deux fois dans ces molécules, ont leur dernière orbitale d partiellement remplie. Cette orbitale d multiplie les possibilités de formation d'états électroniques excités des porphyrines, comme la formation d'états excités πd^* ou bien l'apparition d'états de transfert de charge (CT), qui accélèrent la dynamique des états électroniques.

La dynamique observée dans différentes métalloporphyrines a en effet été interprétée, d'après les travaux de Gouterman [231] et de Yu *et al.* [236], comme étant due à des transferts de charge des électrons π excités du cycle de la porphyrine vers le métal puis, des électrons d du métal vers le cycle. Cela a pour conséquence, par exemple, que la dynamique de l'état S_1 des porphyrines possédant un métal de transition est radicalement différente de celle des bases libres et des métalloporphyrines contenant un atome à couche d remplie. Dans le cas de CuTPP et CuOEP par exemple, l'état S_1 n'est pas fluorescent [232] et présente une durée de vie inférieure à la ps [48, 49].

L'implication de tels transferts de charge a, par exemple, été mise en avant dans la dynamique de l'état S_2 de huit métalloporphyrines sondées en phase gazeuse à l'échelle picoseconde [48]. Cette étude a permis de montrer que la formation d'un état de transfert de charge est très fortement impliqué dans la relaxation de l'état S_2 . Pour ces molécules, le transfert de charge impliquerait l'orbitale $d_{x^2-y^2}$ du métal et se formerait en 100 fs. Le retour vers l'état fondamental depuis cet état de transfert de charge serait également possible par un second transfert de charge inverse (métal vers porphyrine) en ~ 10 ps [235]. Ce même comportement a été mis en avant en solution [229, 236, 237]. De plus, ce schéma a aussi été observé depuis l'état S_1 pour une porphyrine de nickel en phase condensée [229, 230]. Dans ce cas, un transfert de charge rapide depuis S_1 vers l'état (d, d^*) se réalise en un temps supérieur à 350 fs. Puis cet état (d, d^*) se relaxe vers l'état fondamental en 20 ps.

Cas particulier du cuivre - Formation d'un état tripdoublet 2T

Le cuivre oxydé deux fois des porphyrines (Cu II $3d^9 4s^0$) a la particularité d'avoir un seul électron non apparié. Cet électron, localisé dans l'orbitale $d_{x^2-y^2}$, confère au cuivre un spin de 1/2. La particularité de la dynamique des porphyrines de cuivre réside dans la présence de cet électron.

Dans le cas des porphyrines de cuivre, le transfert de charge après excitation d'un état électronique est aussi invoqué (Figure 4.4) [49, 237, 238, 239, 240, 241]. Cependant le schéma de relaxation vers l'état fondamental fait intervenir des états particuliers, pour lesquels le spin total de la molécule et le spin des électrons π du cycle sont différenciés.

En effet, en première approximation, les électrons du cuivre et ceux de la porphyrine sont considérés comme deux systèmes séparés. Les transitions optiques B et Q font intervenir les électrons π du cycle de la porphyrine. Ainsi, les électrons d'un état excité du cycle peuvent former des configurations de multiplicité singulet S et de multiplicité

4.1. PROPRIÉTÉS DES MÉTALLOPORPHYRINES : ÉTATS ÉLECTRONIQUES ET LEURS DYNAMIQUES

triplet T. Or, en raison du spin du cuivre, ces configurations électroniques sont en plus couplées à celle de l'électron célibataire du cuivre. Pour décrire les états électroniques des porphyrines de cuivre, il faut donc tenir compte de ce couplage. La présence de l'électron non apparié du cuivre peut mener à la formation d'états pour lesquels le spin total de la molécule vaut 1/2 mais pour lequel le spin des électrons du cycle forme un état singulet ou un état triplet. Ces états sont nommés respectivement singdoublet 2S et tripdoublet 2T [242]. La lettre fait référence au spin des électrons du cycle et le chiffre au spin total de la molécule. Il existe même un état dont le spin total de la molécule vaut 3/2 et pour lequel les électrons π du cycle forment un état triplet T (état tripquartet 4T). En tenant compte de ce couplage entre les électrons du cycle et l'électron du cuivre, l'état fondamental peut être décrit comme un état singdoublet 2S_0 .

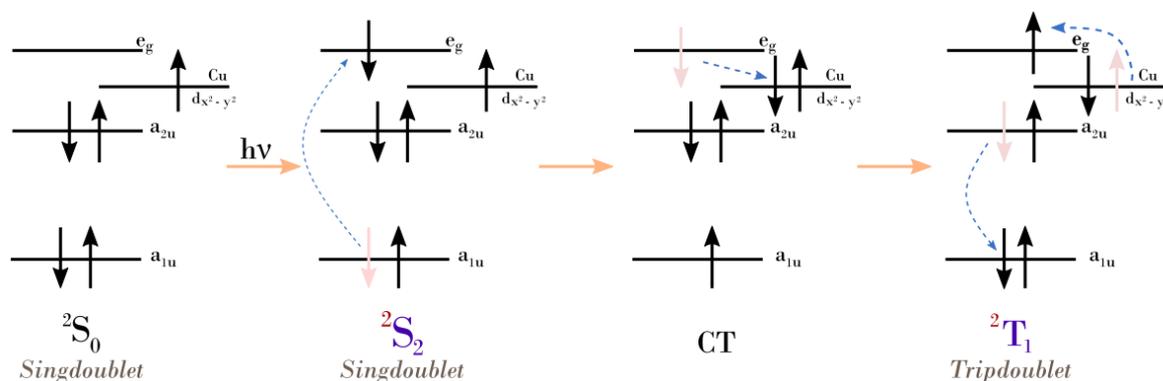


FIGURE 4.4 – Mécanisme de transfert de charge après excitation de l'état 2S_2 de CuTPP et CuOEP menant à la formation de l'état tripdoublet 2T [49].

L'état tripdoublet 2T , qui est dû au couplage du spin 1/2 du cuivre avec les électrons du cycle, est formé suite à des transferts de charge entre le cycle de la porphyrine initialement excité dans un état singdoublet et l'orbitale $d_{x^2-y^2}$ du métal (Figure 4.4). Dans le cas de CuTTP et CuOEP, la formation de cet état tripdoublet 2T a été mesurée comme étant rapide [49]. Après excitation de la bande de Soret (B), la relaxation de l'état 2S_2 vers l'état de transfert de charge est réalisée en 65 fs. Puis, l'état tripdoublet est formé depuis l'état de transfert de charge en 350 fs pour CuTPP et 2 ps pour CuOEP [49]. L'état tripdoublet se relaxe ensuite en un temps supérieur à la nanoseconde [48].

La rapidité et l'efficacité de la formation de l'état 2T peuvent s'expliquer par l'absence de changement de spin total de la molécule. L'état initial est un état pour lequel : $S_{total} = 1/2$, $S_{Cu} = 1/2$, $S_{cycle} = 0$, correspondant à un état singdoublet (2S_1). L'état final, après le transfert de charge, est un état pour lequel $S_{total} = 1/2$, $S_{Cu} = 1/2$, $S_{cycle} = 1$ (2T_1). Ce transfert de charge permet donc un croisement intersystème des électrons localisés sur le cycle très rapide car ce processus ne nécessite pas de couplage spin-orbite, contrairement aux bases libres [243, 244]. L'état 2T peut phosphorescer ou bien se relaxer ensuite vers d'autres états tel que l'état tripquartet 4T , lui-même phosphorescent [238]. L'état tripquartet 4T , pour lequel $S_{total} = 3/2$, $S_{Cu} = 1/2$, $S_{cycle} = 1$, existe en raison du

couplage entre le spin $1/2$ du cuivre et le spin égal à 1 de l'état triplet des électrons du cycle. Ce couplage permet de former deux états dont le spin total vaut soit $1/2$ (2T), soit $3/2$ (4T) [242]. L'existence de l'état tripquartet a été mise en évidence pour la première fois par la structure du spectre d'émission de phosphorescence par l'effet Zeeman sur une porphyrine de cuivre [245].

Ainsi, l'état tripdoublet est formé avec une très grande efficacité en quelques picosecondes pour CuTTP et CuOEP. Les mesures réalisées dans ce chapitre sont fondées sur la détection de cet état tripdoublet. La spectroscopie d'action triplet permet, via l'ionisation de cet état 2T , de remonter aux propriétés d'absorption de l'état 2S_1 initialement excité. Les mesures de spectroscopie pompe-sonde ns permettent de caractériser les voies de relaxation de cet état. Les spectres de spectroscopie d'action triplet de CuTPP et CuOEP sont d'abord présentés dans la partie suivante, suivie de la mesure de la dynamique de l'état 2T .

4.2 Spectroscopie d'action triplet de CuTPP et CuOEP

L'obtention des spectres d'absorption des molécules en phase gazeuse est essentielle pour déterminer précisément la position des états excités sans l'influence d'un milieu et pouvoir ainsi comparer les résultats expérimentaux aux prédictions théoriques. Pour mesurer les propriétés d'absorption des molécules en phase gazeuse, la méthode la plus immédiate est la mesure de la transmission directe de la lumière en cellule. Mais ces mesures en cellule gazeuse sont difficiles à réaliser car la mise en phase gazeuse de ces molécules sous forme neutre est délicate. Il est en effet nécessaire que le processus ne les dégrade pas et que la quantité produite soit suffisante. Cette dernière condition amène généralement au chauffage des molécules à de hautes températures, conduisant à des élargissement spectraux conséquents. Par exemple, pour obtenir les spectres d'absorption en phase gazeuse de porphyrines et de phtalocyanines, il a été nécessaire de chauffer les molécules à des températures élevées allant jusqu'à 550°C [246, 247, 248]. En raison de la forte population d'états internes des porphyrines (vibrationnels et rotationnels) les transitions mesurées sont très larges ($\Delta\lambda \sim 50$ nm pour la phtalocyanine de cuivre). Cet élargissement est problématique pour l'interprétation des spectres et notamment pour identifier la position des transitions origines. En raison de ces difficultés expérimentales que cause l'étude en phase gazeuse, ces mesures sont plutôt réalisées en solution, beaucoup plus simples à mettre en œuvre. Cependant, les spectres dépendent de la nature du solvant. L'effet du solvant peut se traduire, par exemple, par des élargissements spectraux des bandes et des décalages en longueur d'onde [246, 247, 248].

Le refroidissement des molécules en phase gazeuse est donc une étape importante pour limiter la congestion spectrale. Une des possibilités de refroidissement est l'utilisation d'un jet supersonique. Cependant, dans ces milieux dilués, la mesure des spectres d'absorption

par transmission de lumière est quasiment impossible à réaliser en raison de la faible densité de molécules dans le jet. Une autre possibilité pour caractériser l’absorption des molécules, et réalisable en jet, est de mesurer la fluorescence [249] ou la phosphorescence. Mais l’état S_1 de CuTPP et CuOEP, dont la durée de vie est de l’ordre de la dizaine de fs, ne fluoresce pas [232]. Il est donc nécessaire de sonder cette propriété d’absorption par une autre méthode. La phosphorescence aurait pu être une possibilité. Cependant, de telles mesures sont dépendantes à la fois du rendement quantique du passage au triplet et rendement quantique de phosphorescence, qui tous les deux peuvent varier en fonction de la longueur d’onde d’excitation.

Une autre alternative est de réaliser la spectroscopie d’action de ces molécules. Il s’agit alors de sonder les niveaux excités des systèmes à l’aide d’un laser de fréquence variable, tout en suivant l’effet de ce laser *via* l’évolution d’une propriété de la molécule. Dans le cadre de l’étude de CuTPP et CuOEP, cette propriété est la formation de l’état 2T après excitation du premier état singulet 2S_1 . La quantité d’état triplet détecté par ionisation depuis cet état, en fonction de la longueur d’onde d’excitation, est supposée ainsi refléter le spectre d’absorption de l’état 2S_1 . C’est pourquoi, on parle de *spectroscopie d’action triplet*. La détection par ionisation de cet état excité a l’avantage de permettre de travailler sur fond noir et ainsi permettre une grande sensibilité de la mesure. De plus, par rapport à des mesures de phosphorescence, on s’affranchit des variations du rendement de phosphorescence avec l’énergie d’excitation. Par ailleurs, la formation d’un l’état triplet étant un phénomène universel pour les molécules organiques, cette technique est susceptible d’être généralisable à d’autres systèmes que CuTPP et CuOEP.

Néanmoins, un point critique de cette méthode, et qui a toute son importance, est que, pour pouvoir affirmer que le spectre d’action triplet reflète le spectre d’absorption de l’état fondamental, cela sous-entend que le rendement quantique du passage à l’état tripdoublet (rendement quantique de conversion interne) varie peu et dépend peu de l’excès d’énergie présent dans l’état singulet. Dans le cas de CuTPP et CuOEP, il n’existe pas de preuve absolue de cette propriété. Néanmoins certaines observations vont dans le sens de cette hypothèse pour les deux molécules. En effet le processus de formation de l’état triplet, qui est le produit du transfert de charge entre le cycle de la porphyrine et les électrons du cuivre, est très rapide. L’état tripdoublet est formé en moins de 100 ps [48, 49]. Par sa rapidité, il est attendu que ce processus soit le processus majoritaire et soit très efficace. En effet, les rendements de phosphorescence après excitation de la bande Q sont élevés (0,6 pour CuOEP [239]), ce qui implique que le passage à l’état tripdoublet est au minimum aussi élevé que ce rendement quantique. Ces deux observations, même si elles ne sont pas des arguments absolus, laissent penser que le rendement de passage à l’état tripdoublet restera élevé et ce, même avec un excédant d’énergie dans l’état singulet. Afin de vérifier cette hypothèse, une comparaison avec des spectres d’absorption de la bande Q acquis en solution et en cellule gazeuse est nécessaire, et est d’ailleurs réalisée dans la suite. Cette comparaison permettra de comparer les structures des bandes observées et leur intensité relative.

Les considérations expérimentales de la spectroscopie d'action triplet sont dans un premier temps exposées. Puis les spectres acquis de CuTTP et CuOEP sont présentés. Une discussion et une comparaison avec des spectres d'absorption en phase liquide sont ensuite données.

4.2.1 Considérations expérimentales

La spectroscopie d'action triplet est obtenue grâce à la méthode spectroscopique IR2P-2C (décrite en détail dans le Chapitre 1). Le principe de cette spectroscopie, appliquée au cas de CuTPP et CuOEP, est illustré sur la Figure 4.5. La longueur d'onde de la première impulsion laser est balayée dans la région entre 500 et 600 nm correspondant à la région de la bande Q des porphyrines (transition $S_1 \leftarrow S_0$). L'absorption d'un photon de l'impulsion pompe permet ainsi d'exciter les molécules dans un état vibronique de l'état 2S_1 . Une seconde impulsion laser, de longueur d'onde 193 nm et recouvrant spatialement le premier faisceau, est émise avec un retard de quelques nanosecondes par rapport à la première impulsion. L'état singulet, initialement excité, se désexcite vers l'état 2T en quelques picosecondes [49]. Ainsi, lorsque la deuxième impulsion laser illumine les molécules, cette impulsion n'interagit pas avec l'état 2S_1 mais avec l'état 2T vibrationnellement excité, formé depuis l'état 2S_1 .

Se pose alors la question de l'énergie de photon nécessaire pour que cette deuxième impulsion forme un ion. En effet, la position en énergie de l'état 2T est connue de manière peu précise par les spectres de phosphorescence. Cependant, il s'est avéré que des mesures de spectroscopie pompe-sonde (fs), après excitation de l'état 2S_2 et avec un laser de sonde à 266 nm (4,66 eV) ne permettaient pas de détecter l'état 2T [49]. L'énergie de ces photons est insuffisante pour ioniser cet état. Cette même étude a montré par ailleurs que l'absorption de quatre photons pompes à 800 nm (1,55 eV) ionise l'état 2T . En tenant compte du seuil d'ionisation des deux molécules qui est de 6,49 eV [250], nous avons donc opté pour un laser à 193 nm (6,42 eV). L'état 2T étant à environ 2 eV de l'état S_0 , l'absorption d'un de ces photons à 193 nm (6,42 eV) par la molécule excitée mène à l'ionisation de cette dernière de façon efficace avec un excès d'énergie de plus d'un eV. De plus, cette longueur d'onde a l'avantage de très peu ioniser l'état fondamental en raison de la valeur du seuil d'ionisation des deux molécules [251] et ainsi de limiter les composantes parasites du signal.

Par ailleurs, pour couvrir la totalité des plages spectrales par les lasers sur lesquelles les spectres d'action ont été acquis, l'utilisation de plusieurs colorants a été nécessaire. Cela a entraîné des variations d'intensité au passage d'une zone spectrale couverte par un colorant à une autre. Les spectres présentés ont donc été corrigés de ces variations d'intensité et raccordés aux longueurs d'onde de recouvrement. De plus, pour une même plage spectrale sondée par un colorant, la variation d'intensité due à la nature du colorant a également été prise en compte et corrigée.

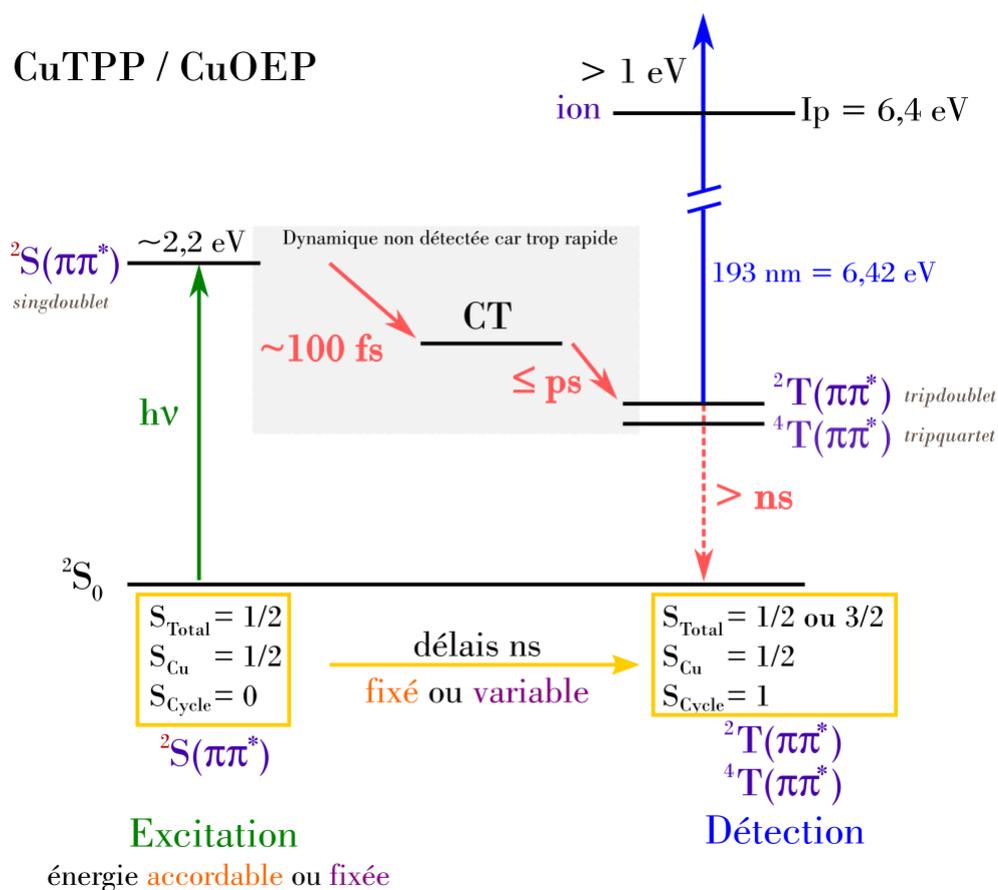


FIGURE 4.5 – Principe de la spectroscopie d'action triplet et de la spectroscopie pompe-sonde ns, appliquées à CuTPP et CuOEP. Une première impulsion laser interagit avec les molécules permettant d'exciter la molécule sur le premier état singulet (bande Q). La longueur d'onde des photons est soit accordable (spectroscopie d'action), soit fixée (spectroscopie pompe-sonde pour mesurer les durées de vie). Puis une seconde impulsion laser permet d'ioniser les molécules depuis l'état tripdoublet 2T . Dans le cas de la spectroscopie d'action, le délai appliqué entre les deux lasers est fixe (quelques ns) tandis que pour les mesures de dynamique par spectroscopie pompe-sonde, le délai varie entre -200 ns et 1000 ns. Les photons du laser ionisant ont une énergie de 6,42 eV, permettant d'ioniser efficacement l'état 2T . La formation de l'état 2T étant plus rapide que la nanoseconde, ce processus n'est pas visible dans les données enregistrées.

4.2.2 Résultats expérimentaux : spectres d'action triplet

Les spectres d'action triplet de la bande Q de CuOEP et CuTPP ont été réalisés en balayant la région spectrale entre 500 à 600 nm. Ces deux spectres sont présentés sur la Figure 4.6. Le spectre (a) correspond au cas de CuTPP. La courbe rouge correspond au spectre d'action triplet. La courbe noire en pointillés représente le spectre d'absorption de CuTPP en solution de toluène à température ambiante. Le spectre (b) correspond au cas de CuOEP avec en rouge le spectre d'action triplet, en noir le spectre d'absorption

en solution de toluène à température ambiante, en vert en solution dans le CH_2Cl_2 et en bleu au spectre d'absorption en phase gazeuse à 654 K, issue de la publication [248] avec l'autorisation des auteurs. Une description des spectres est dans un premier temps donnée, suivie d'une discussion de ces résultats.

Les spectres d'action triplet en phase gazeuse

Pour les deux molécules, deux structures distinctes sont visibles dans ces spectres. Une première bande, peu intense, présente dans le rouge, est attribuée à la bande origine Q_{00} , dont le maximum est situé à 558 nm pour CuTPP et 570 nm pour CuOEP. Une seconde structure, notée Q_v , est également visible et est attribuée à une excitation verticale. Pour CuTPP, le maximum de cette bande, qui est asymétrique, est situé à 530 nm. Pour CuOEP, le maximum de la bande Q_v est autour de 540 nm. Pour les deux molécules, la distance entre les bandes Q_{00} et Q_v est similaire, de l'ordre de 1000 cm^{-1} . Ce résultat est cohérent avec le cas de la porphyrine de cuivre CuP dont l'absorption a été mesurée à 4,2 K [252]. Cependant, le rapport d'intensité de ces deux bandes est inversé pour CuTPP et CuOEP. Dans le cas de CuTPP, la bande Q_{00} est à peine visible et ne se distingue bien que grâce à l'agrandissement (x8) de cette région spectrale présent dans la Figure 4.6. Pour CuOEP, la bande origine est à l'inverse bien plus intense que la bande d'excitation verticale. Le spectre de CuOEP est très similaire, tant sur la position des bandes que leur diffusion, à celui de la proto porphyrine de cuivre obtenu par IR2P en jet supersonique [240].

Ces bandes sont par ailleurs larges, bien plus larges que ce qui est attendu en jet supersonique. La bande Q_{00} de CuOEP est élargie d'environ 390 cm^{-1} à mi-hauteur. Un élargissement similaire est observé pour celle de CuTPP. Une explication possible de cette observation est discutée un peu plus loin.

Les spectres d'absorption en phase liquide

La comparaison avec les spectres d'absorption en solution est intéressante. Les solutions de toluène (courbes noires) et de CH_2Cl_2 (courbe verte) sont des solutions dites non-coordonantes, c'est-à-dire, des solutions qui interagissent peu avec les molécules dissoutes. La structure des bandes observées en solution est semblable à celle observée en phase gazeuse (courbes rouges). Les bandes Q_{00} et Q_v y sont aussi présentes, avec des intensités relatives comparables, et ce pour les deux molécules. L'écart entre les bandes en solution est également semblable à celui observé en phase gazeuse.

En revanche, des décalages en longueur d'onde sont observés par rapport à la phase gazeuse. Les différents maxima des bandes observées en solution et en phase gazeuse sont résumés dans le Tableau 4.1. Pour CuTPP, les bandes sont décalées vers le rouge. La bande Q_v est décalée de 450 cm^{-1} . En solution, cette bande, dont le maximum est à 540 nm, apparaît symétrique en raison de l'élargissement spectral dû au solvant. La bande Q_{00}

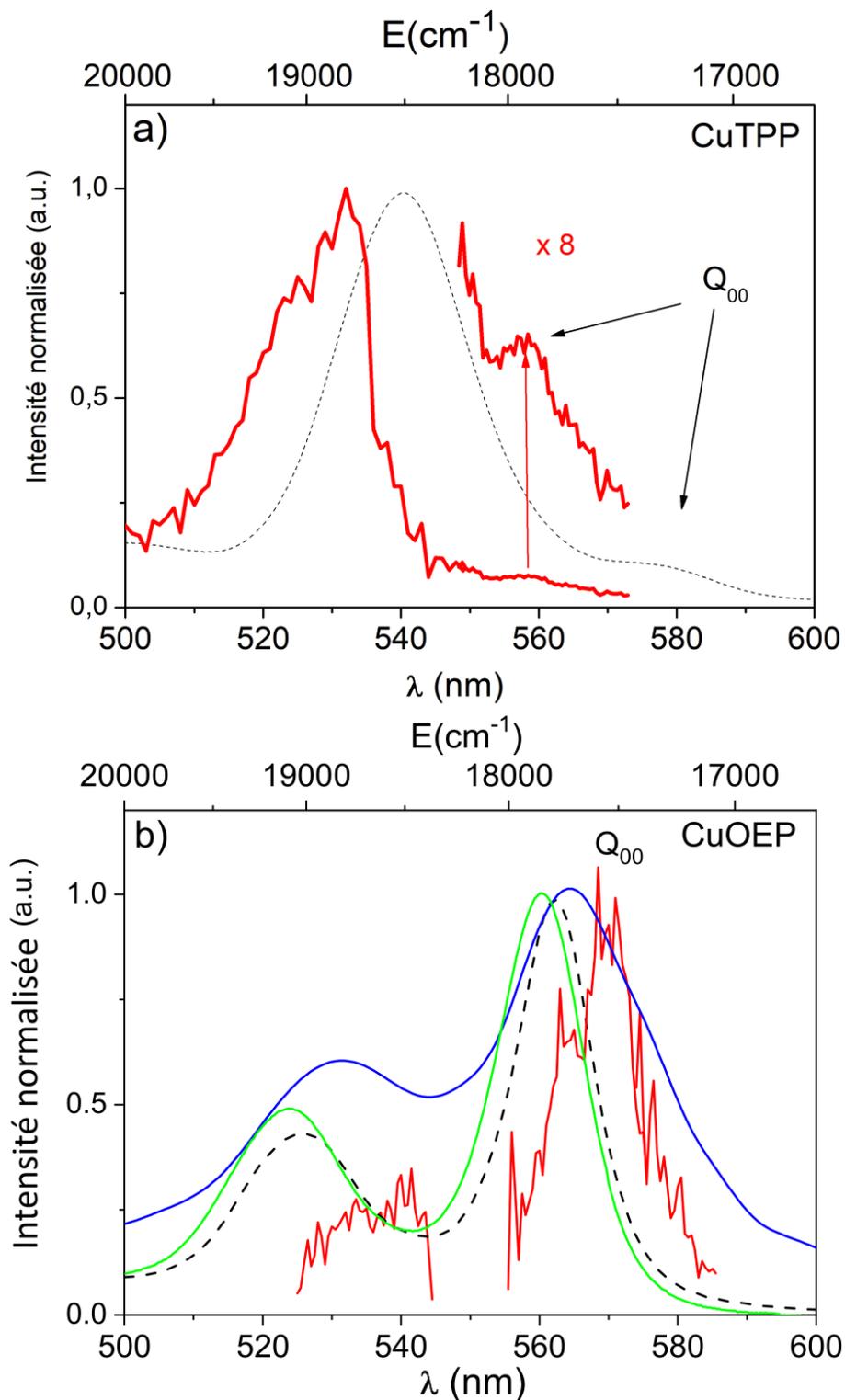


FIGURE 4.6 – Spectres d'action triplet (courbe rouge) de la bande Q de CuTPP (panneau a) et du CuOEP (panneau b). Spectre d'absorption en solution de toluène à température ambiante (courbes noires pour CuOEP et CuTPP) et en solution de CH_2Cl_2 (courbe verte pour CuOEP). La courbe bleue dans le panneau (b) représente le spectre d'absorption en cellule gazeuse à 654 K [248] de CuOEP.

est décalée de 680 cm^{-1} vers le rouge (maximum à 580 nm). Pour CuOEP, un décalage vers le bleu de ces bandes est observé en solution. Dans le cas du toluène, ce décalage est d'environ 200 cm^{-1} pour la bande Q_{00} et de 500 cm^{-1} pour Q_v . Le décalage est un peu plus grand en solution de CH_2Cl_2 .

Les bandes ont la même largeur spectrale que l'on soit en phase gazeuse ou en solution. Il est à noter, que bien qu'il s'agisse de solutions non-coordonnantes, une différence de largeur spectrale était attendue. Ce point sera discuté un peu plus loin.

		Q_{00}		Q_v		ΔQ
		nm	cm^{-1}	nm	cm^{-1}	cm^{-1}
CuTPP	Phase gazeuse	558	17 920	530	18 870	~ 950
	Solution de Toluène	580	17 240	540	18 520	~ 1300
CuOEP	Phase gazeuse	568	17 600	540	18 520	~ 900
	Solution de Toluène	562	17 790	525	19 050	~ 1250
	Solution de CH_2Cl_2	560	17 860	521	19 200	~ 1350
	Cellule gazeuse	565	17 700	532	18 800	~ 1100

TABLE 4.1 – Récapitulatif des maxima des bandes observées en phase gazeuse et en solution.

4.2.3 Discussion

Les observations décrites dans le paragraphe précédents sont discutées dans cette partie.

Intensité des bandes - Modèle à quatre orbitales

Les intensités relatives des bandes Q_{00} et Q_v peuvent être expliquées par le modèle à quatre orbitales proposé par Gouterman [232, 233] et présenté dans la partie 4.1.1. CuTPP et CuOEP sont toutes les deux des molécules du groupe de symétrie D_{4h} . La dégénérescence des orbitales HOMOs a_{1u} et a_{2u} est presque parfaite pour CuTPP. D'après le modèle à quatre orbitales, la dégénérescence des deux orbitales HOMOs de CuTPP implique que la bande Q_{00} est une transition quasiment interdite et donc très peu intense (tandis que la bande B est elle très intense). D'un point de vue expérimental, la bande origine est effectivement très peu intense. Les transitions verticales (bande Q_v), qui correspondent à des excitations vibrationnelles de l'état 2S_1 , sont plus intenses. Leur intensité est expliquée par le fait que ces transitions *empruntent* leurs forces d'oscillateur à la bande B qui n'est pas très éloignée en énergie [242]. Il s'agit d'un couplage vibronique de type Herzberg-Teller [253]. Ainsi la bande Q_{00} apparaît encore un peu plus écrasée dans le spectre.

Pour CuOEP, le comportement observé est plus proche de la plupart des porphyrines [232], pour lesquelles la dégénérescence des orbitales HOMO est moins marquée. La

présence des groupes éthyles attachés aux groupes pyrroles pourrait expliquer pourquoi, pour cette molécule, la bande Q_{00} est plus intense. Ces groupes alkyles pourraient, en effet, injecter des électrons dans les orbitales π adjacentes des groupes pyrroles de configuration a_{1u} [232] (Figure 4.2). Ainsi, ce phénomène pourrait élever en énergie l'orbitale a_{1u} sans avoir d'effets sur l'orbitale a_{2u} . La présence des groupes alkyles lèverait donc partiellement la dégénérescence des deux HOMOs. Dans ce cas, la bande Q gagnerait en intensité car le mélange des configurations n'est plus aussi efficace.

Élargissement spectral de la bande origine

La bande Q_{00} de CuTPP et celle de CuOEP sont élargies spectralement. Ce résultat est surprenant pour des mesures réalisées en jet supersonique. Cependant, un tel élargissement a également été observé pour d'autres porphyrines [240]. Cet élargissement est sans doute dû à deux contributions : la durée de vie de l'état S_1 et la température vibrationnelle des molécules.

La courte durée de vie de l'état S_1 , qui est de l'ordre de 70 fs [48, 49], est à l'origine d'un élargissement homogène d'environ 80 cm^{-1} .

La température vibrationnelle des porphyrines atteinte au cours de la détente supersonique peut être suffisamment élevée pour permettre de façon importante la population des modes de basse fréquence ($< 100 \text{ cm}^{-1}$). Connaître le refroidissement vibrationnel atteint par les molécules au cours de la détente est donc un paramètre nécessaire pour aider à l'interprétation des spectres. Il est souvent difficile de pouvoir déterminer cette température. Cette valeur a néanmoins pu être estimée grâce à l'étude de ZnTPP. En effet, la durée de vie de cette porphyrine étant bien plus longue que CuTPP et CuOEP ($\sim \text{ns}$ [48]), les bandes d'excitation sont plus fines et plus résolues, si bien que des bandes vibrationnelles séparées spectralement de la bande origine peuvent être observées [254]. L'observation de ces bandes a permis ainsi de déterminer que la température vibrationnelle atteinte au cours de la détente, dans les mêmes conditions expérimentales que celles de l'étude de CuTPP et CuOEP, est d'environ 70 K ². Étant donné que l'atome de métal perturbe peu la structure globale de la molécule, il peut être considéré que CuTPP, et à défaut CuOEP, atteignent cette même température vibrationnelle au cours de la détente supersonique.

Avec une telle température, beaucoup de modes de basse fréquence peuvent être peuplés et générer des séquences de bandes si les transitions sont optiquement permises. Par exemple, pour les tétraphényles porphyrines, des progressions vibrationnelles des modes correspondant aux torsions des phényles (0-1 et 0-2) ont été observées en jet supersonique d'hélium et identifiées à 22 et 45 cm^{-1} de la bande origine [254, 255]. Ces modes de torsions des phényles doivent également contribuer à l'élargissement de la bande Q_{00} par la présence de bandes chaudes telles que Q_{11} ou Q_{22} ($\Delta v = 0$).

Pour CuOEP, les modes de basse fréquence responsables de l'élargissement de la bande

2. Il s'agit de mesures réalisées avec le montage Edelweiss.

Q_{00} ne sont pas identifiées. Un mode de vibration envisageable, possible également pour CuTPP, est la vibration de grande amplitude de l'atome métallique hors du plan de la porphyrine accompagnée d'une petite déformation des cycles pyrroles [256]. Des calculs de chimie quantique seraient nécessaires pour identifier les modes actifs. Il est intéressant de remarquer que le spectre d'absorption de CuOEP à 674 K (courbe bleue du graphe b) de la Figure 4.6 est deux fois plus large que celui acquis en jet supersonique. Ce spectre montre bien que la bande Q_{00} est élargie par des séquences de bandes et des bandes chaudes et illustre l'évolution vibrationnelle en fonction de la température. En jet, on peut également observer un épaulement de la bande Q_{00} de CuOEP à $\sim 200 \text{ cm}^{-1}$ dans le bleu, qui n'est pas observé en solution. Cet épaulement est sans doute dû au bruit de la mesure. Mais il n'est pas impossible non plus que cet épaulement soit une transition vibrationnelle autre que la transition origine partiellement résolue.

Origine de la bande Q_v

Comme expliqué plus haut, la bande Q_v emprunte son intensité à la bande B. De manière générale, pour qu'un tel couplage puisse être possible, il est nécessaire que la symétrie de la vibration considérée soit la même que la transition électronique qui donne sa force d'oscillateur [253]. Les modes de vibration à l'origine de cette bande Q_v doivent donc respecter cette contrainte.

L'écart en énergie de la bande Q_v avec la bande Q_{00} est d'environ 1000 cm^{-1} . Cela serait compatible avec des modes d'élongation C=C de la cage. D'ailleurs, des calculs réalisés pour la base libre de la porphine montrent que des modes de respirations de la cage de la molécule vibreraient autour de 950 cm^{-1} [257].

Comparaison des spectres acquis en phase gazeuse avec les spectres acquis en solution

La comparaison des spectres acquis dans des milieux différents (phase gazeuse, solvant) est importante car elle permet de vérifier si les intensités relatives du spectre d'action sont cohérentes mais également de comprendre l'effet du solvant sur les états électroniques des molécules.

Les structures des bandes observées en phase gazeuse sont similaires à celles observées en phase liquide (à la bande satellite près de la bande origine de CuOEP). Dans les deux cas, les rapports d'intensité sont cohérents entre eux et s'expliquent par le modèle à quatre orbitales. La position des bandes est certes décalée, mais les décalages sont faibles comme indiqué dans le Tableau 4.1. Cette comparaison permet donc d'argumenter en faveur de l'hypothèse initiale, qui est de considérer que le rendement quantique de formation de l'état 2T varie peu avec la longueur d'onde d'excitation et ainsi que le spectre d'action triplet reflète bien le spectre d'absorption des molécules sondées.

Le décalage des bandes Q_{00} et Q_v en solution n'est pas observé dans le même sens

pour CuTPP et CuOEP. Pour CuTPP, les bandes sont décalées vers le rouge. Un tel décalage pour une transition $\pi\pi^*$ est commun et est d'ailleurs observé pour la plupart des porphyrines [240, 246, 247, 254, 258]. Ce décalage est expliqué par le fait que le solvant stabilise davantage l'état excité $\pi\pi^*$ plus diffus que l'état fondamental. Cependant, pour CuOEP, ce décalage a lieu vers le bleu, que ce soit en solution de toluène ou de CH_2Cl_2 . Observer ce décalage pour une transition $\pi\pi^*$ est moins habituel, même s'il a été observé pour d'autres octaléthyl porphyrines métalliques telle que ZnOEP et également chez certaines étio porphyrines [248]. Généralement ce sont les transitions $n\pi^*$ qui montrent des déplacements vers le bleu en solution car ces états excités sont moins stabilisés par le solvant que l'état fondamental. Ce décalage vers le bleu de l'état $\pi\pi^*$ peut être expliqué, tout comme le rapport d'intensité des bandes Q_{00} et Q_v , par la présence des groupes alkyles qui peuvent injecter des électrons dans les groupes pyrroles, expliquant pourquoi l'état fondamental serait mieux stabilisé par le solvant que l'état excité. La comparaison du comportement électronique en solution non-coordonnante et en phase gazeuse d'autres formes de porphyrines serait nécessaire pour élucider ce surprenant effet de solvant observé pour certaines porphyrines.

4.2.4 Conclusions

Premièrement, au vu de la comparaison des différents spectres réalisés dans le cadre de cette thèse et les différentes données de la littérature, la technique de spectroscopie d'action triplet semble être une méthode efficace et fiable pour remonter aux propriétés d'absorption d'une molécule neutre dont l'état électronique excité a une très courte durée de vie et fluoresce peu. Les spectres obtenus avec cette technique sont en effet en accord qualitatif avec les données déjà connues en phase liquide et les quelques données en phase gazeuse. De plus, le modèle à quatre orbitales de Gouterman permet de rendre compte des rapports d'intensité observés. Cette méthode, dans le cas de CuTPP et CuOEP est donc validée. Ensuite, la comparaison des spectres en phase gazeuse avec ceux obtenus en solution ont par ailleurs permis de mettre en avant l'effet du solvant sur ces transitions. Cette comparaison permet de mieux appréhender cet effet. Les différentes observations notées dans les spectres, telles que la différence d'intensité des bandes Q_{00} et Q_v et le décalage des bandes, trouvent leur origine dans la présence des groupes phényles ou éthyles. La structure générale des spectres est conforme au fait que les propriétés électroniques des porphyrines dépendent de la nature du cycle.

La mesure des spectres d'action triplet a donc permis de déterminer l'origine ($v=0$) de la transition $S_1 \leftarrow S_0$. Il est intéressant maintenant de sonder la dynamique de l'état 2T formé après excitation de la bande Q et de mesurer la durée de vie de cet état en fonction de la nature du cycle (TPP ou OEP).

4.3 Dynamique des états 2T formés après excitation de la bande Q de CuTPP et CuOEP

La dynamique de l'état 2T des porphyrines de cuivre est très peu, voire pas du tout, caractérisée en phase gazeuse. Malgré tout, des mesures préliminaires en phase gazeuse de dynamique ultra rapide (fs), dont l'objectif était de suivre la dynamique de l'état 2S_2 de CuTPP et CuOEP, ont permis d'observer le début de la dépopulation de l'état 2T [48, 49]. Dans ces mesures, il a été possible de suivre le déclin de l'état 2S_2 vers l'état de transfert de charge, lui-même suivi par le déclin de cet état vers l'état 2T . Ces mesures ont permis d'estimer que le temps de déclin de cet état triplet est supérieur à la nanoseconde. Cependant, le temps caractéristique nécessaire à ces molécules pour revenir à l'état fondamental n'a pas pu être déterminé précisément.

L'étude de la phosphorescence de ces porphyrines de cuivre est également une autre façon d'appréhender la relaxation de ces états à longue durée de vie. En effet, même si ces dernières ne fluorescent pas [232], la phosphorescence de ces deux molécules en phase condensée a été observée [239, 242]. Des études théoriques [242] et expérimentales se sont intéressées à la luminescence de CuTPP et CuOEP (ainsi que d'autres porphyrines de cuivre) dans différents solvants et à différentes températures. Elles ont montré des comportements différents pour ces deux molécules. Par exemple, en solution de toluène, la durée de vie de luminescence du CuOEP a été mesurée égale à 105 ns à 300 K et à 1,2 μs à 200 K, tandis que pour CuTPP, cette grandeur ne semble pas être influencée par la température et a été mesurée entre 30 et 40 ns [259]. De même, un comportement différent a été observé à 77 K en solution pour ces deux molécules [239]. La durée de luminescence de CuOEP a été mesurée à 80 μs tandis que pour CuTPP, une décroissance non exponentielle est observée avec des durées associées de 610/145/25 μs . De plus dans le cas de CuTPP, la luminescence proviendrait non pas de l'état 2T mais de l'état tripquartet 4T [260], ce qui est différent *a priori* pour CuOEP. De manière générale, la température et la nature du solvant ont un effet à la fois sur le rendement quantique de luminescence des porphyrines de cuivre et sur la durée de luminescence [232, 259, 260]. L'interprétation de ces résultats n'est pas encore comprise entièrement. Une des possibilités qui expliquerait cette dépendance en température, serait l'écart en énergie entre l'état 2T et l'état 4T , qui est plus ou moins élevé selon la nature du cycle [242]. Il semblerait qu'en solution, un équilibre thermique soit possible entre ces états [259, 260, 261]. Holten *et al.* ont même avancé l'existence d'un autre état à transfert de charge pour expliquer cette différence de comportement entre CuTPP et CuOEP [241].

Il n'existe *a priori* pas dans la littérature de données sur la phosphorescence de ces molécules en phase gazeuse. Afin d'apporter des éléments supplémentaires à la compréhension des voies de relaxation de l'état 2T , il semblait intéressant de mesurer la dynamique de l'état 2T en phase gazeuse avec une fenêtre temporelle adaptée à cette dynamique. C'est pourquoi des mesures de spectroscopie pompe-sonde ns ont été réalisées sur les deux porphyrines CuTPP et CuOEP. La comparaison de ces deux molécules au squelette

4.3. DYNAMIQUE DES ÉTATS 2T FORMÉS APRÈS EXCITATION DE LA BANDE Q DE CUTPP ET CUOEP

différent est en effet d'autant plus intéressante que ces molécules pourraient montrer un comportement différent, comme le suggèrent les mesures de phosphorescence en solution.

Le but de ces mesures a donc été de caractériser la vitesse de relaxation de l'état 2T de CuTPP et CuOEP après excitation de la bande Q (S_1). Les déclinés mesurés par spectroscopie pompe-sonde ns ainsi qu'une discussion de ces résultats sont présentés à la suite d'un exposé des conditions expérimentales.

4.3.1 Considérations expérimentales

Le principe de la spectroscopie pompe-sonde est décrit dans le Chapitre 1 et illustré, dans le cas des mesures réalisées sur CuTPP et CuEOP par la Figure 4.5. Dans ces mesures, des lasers ns sont utilisés. La longueur d'onde du laser de pompe est choisie pour exciter les molécules sur l'état 2S_1 . Différentes mesures ont été réalisées à différentes longueurs d'ondes correspondant au maximum des bandes Q_{00} et Q_v . La dynamique de l'état 2S_1 étant très rapide, l'état 2T est formé (en moins d'une dizaine de ps) bien avant que le deuxième laser n'interagisse avec les molécules. Ainsi, la dynamique sondée avec les lasers ns correspond bien à la relaxation de l'état 2T . Cette relaxation se manifeste par une décroissance du signal en fonction du délai temporel Δt appliqué entre les lasers.

Dans une telle configuration, tous les états pouvant être ionisés par le laser à 193 nm sont détectés. Ainsi, il est éventuellement possible de sonder séquentiellement les différents états par lesquels passe le système le long de sa relaxation. Dans la mesure où la probabilité d'ionisation dépend de la nature de l'état électronique sondé et des rendements quantiques des voies de relaxation, l'existence d'un état intermédiaire se traduira par une forme multi-exponentielle du déclin mesuré.

Pour les différentes mesures de dynamique présentées dans ce chapitre, le signal d'ion de la molécule est tracé en fonction du délai Δt appliqué entre les lasers en ns.

4.3.2 Déclin de l'état 2T

Les mesures de dynamique ns de l'état 2T formé après excitation de l'état 2S_1 sont présentées dans cette partie.

Déclin de l'état 2T de CuTPP

La mesure du déclin de l'état 2T de CuTPP a été réalisée à différentes longueurs d'ondes d'excitation de 2S_1 . Les résultats sont représentés sur la Figure 4.7. Pour le graphique (a), la longueur d'onde du laser de pompe est de 532 nm, correspondant au maximum de la bande Q_v . Le graphique (b) correspond à une longueur d'onde d'excitation de 558 nm, donc au maximum de la bande Q_{00} . Les données expérimentales sont représentés par des points rouges.

Ces deux séries de mesures donnent des résultats identiques. Aux temps courts (entre 0 et 200 ns) une première décroissance exponentielle est observée. Puis, à partir de 300 ns,

le signal forme un plateau décroissant très lentement. A 500 ns, un signal est toujours observé. La première décroissance correspond à la relaxation de l'état 2T . La seconde composante du signal est caractéristique de la détection d'un second état, peuplé à partir de l'état 2T .

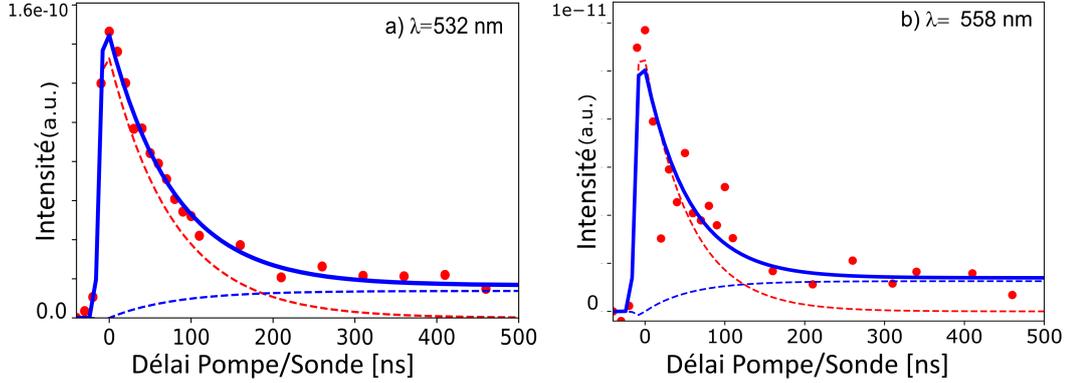


FIGURE 4.7 – Déclin de CuTPP après excitation de l'état 2S_1 à 532 (bande Q_v) (a) et à 558 nm (bande Q_{00}) (b). Les données expérimentales sont représentées par les points rouges. Les courbes en pointillés correspondent aux deux composantes séquentielles avec une durée de décroissance de 70 ns pour la composante rouge (2T) et $\gg 5 \mu s$ pour la composante bleue. La courbe pleine correspond à la convolution d'une gaussienne de largeur 1/e de 10 ns (fonction d'appareil) avec la double exponentielle décroissante. Le schéma cinétique attribué à cette observation est : ${}^2T \rightarrow {}^4T \rightarrow S_0$.

Pour analyser les données et extraire les durées de vie des décroissances observées, un ajustement des données expérimentales par une double exponentielle décroissante convoluée par une gaussienne de largeur de 10 ns à 1/e est réalisée. La convolution par la gaussienne permet de tenir compte de la largeur temporelle des impulsions lasers dans les données expérimentales. L'ajustement est de la forme :

$$\mathcal{F}(t) = Ae^{-\left(\frac{t}{l}\right)^2} \otimes \left[(A_1 - A_2 k_{t_{12}}) e^{-\frac{t}{\tau_1}} + A_2 k_{t_{12}} e^{-\frac{t}{\tau_2}} \right] \quad (4.2)$$

avec :

$$k_{t_{12}} = \frac{\frac{1}{\tau_1}}{\frac{1}{\tau_1} - \frac{1}{\tau_2}}$$

où A , A_1 et A_2 sont des constantes, l correspond à la largeur 1/e de la gaussienne (10 ns) et τ_1 et τ_2 correspondent respectivement à la durée de vie de l'état 2T et à celle du second état détecté. L'évolution de la première exponentielle décroissante est représentée en pointillés rouges sur la Figure 4.7. La courbe en pointillés bleus représente l'évolution de la population du second état, qui se forme à mesure que l'état 2T se relaxe et qui décroît ensuite très lentement. L'ajustement correspondant à la convolution de la gaussienne et de la double exponentielle décroissante correspond à la courbe bleue en trait plein.

Les résultats de l'ajustement donnent : $\tau_1 = 70$ ns et $\tau_2 \gg 5 \mu s$, avec un rapport des

4.3. DYNAMIQUE DES ÉTATS 2T FORMÉS APRÈS EXCITATION DE LA BANDE Q DE CUTPP ET CUOEP

intensités de 10 %, et ceci pour les deux longueurs d'onde du laser de pompe. Ainsi, les durées de vie mesurées ne semblent pas dépendre de façon notable du niveau vibrationnel de 2S_1 excité.

Déclin de l'état 2T de CuOEP

Le déclin de l'état 2T de CuOEP après une excitation au maximum de la bande Q_{00} à 573 nm est présenté sur la Figure 4.8.

Les données expérimentales de CuOEP sont qualitativement différentes de celles de CuTTP, puisque pour CuOEP une seule décroissance est observée. Dans la fenêtre temporelle sondée, le signal finit par disparaître, à la précision de l'expérience près. Les données expérimentales sont ajustées par une simple exponentielle décroissante convoluée par une gaussienne de largeur 1/e de 10 ns. La durée de décroissance du signal a été estimée à 300 ± 30 ns.

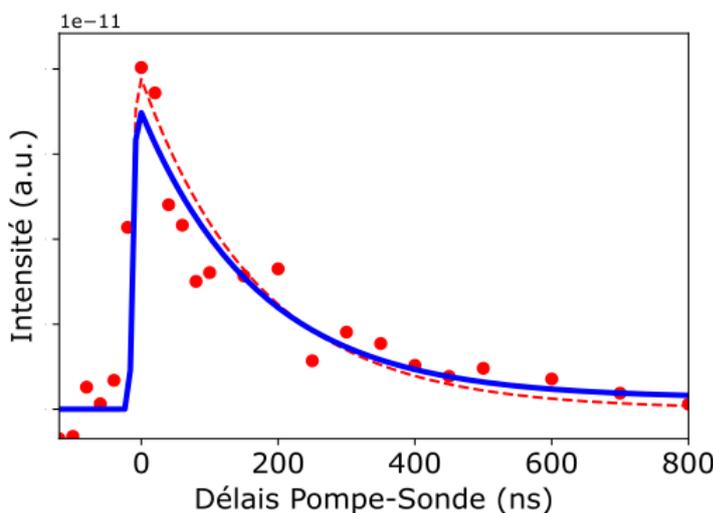


FIGURE 4.8 – Déclin de l'état 2T de CuOEP après une excitation de la bande Q_{00} à 573 nm. Les données expérimentales correspondent aux points rouges. La courbe en pointillés rouges correspond à l'exponentielle décroissante avec un temps de décroissance estimé à 300 ± 30 ns. La convolution de cette courbe par la gaussienne de largeur 1/e de 10 ns est représentée en trait plein bleu.

4.3.3 Discussion

Les déclins observés pour CuTTP et CuOEP sont donc différents. Une discussion et une interprétation de ces résultats sont données dans cette partie.

L'état tripdouplet de CuTTP et CuOEP, formé suite à l'excitation de l'état 2S_1 , est dû à l'interaction du spin 1/2 du cuivre avec les électrons π du cycle [242]. L'état 2T est peuplé directement suite au transfert de charge. Cependant, l'interaction du spin des

électrons du cycle avec le spin du cuivre forme également un second état triplet pour lequel le spin total de la molécule vaut $3/2$ [238, 242]. Il s'agit de l'état *tripquartet*, noté 4T ($S_{total} = 3/2$, $S_{Cu} = 1/2$ et $S_{TPP} = 1$). L'état 4T correspond à l'état triplet le plus bas en énergie et a été caractérisé pour la première fois dans le cas de la porphyrine de cuivre (CuP) par des expériences de spectroscopie Zeeman à 4,2 K [245]. Cet état est peuplé indirectement après excitation de l'état 1S_1 , par ISC depuis l'état 2T .

L'écart en énergie entre l'état tripdouplet 2T et l'état tripquartet 4T des porphyrines de cuivre dépend de la nature du cycle de la porphyrine [242]. Pour CuOEP l'écart est de ~ 200 à 400 cm^{-1} [241, 259]. Pour CuTPP, l'écart est plus grand et est de 600 à 1000 cm^{-1} [241, 259]. Il est donc important de noter que l'état 4T est énergétiquement ionisable par les photons à 193 nm, avec un excédent d'énergie supérieur à 1 eV au-dessus du seuil d'ionisation.

De plus, le retour vers l'état fondamental depuis l'état 4T nécessite un changement du spin total de la molécule, contrairement à l'état 2T . On s'attend donc à ce que sa durée de vie soit plus longue que celle de l'état tripdouplet.

A partir de ces considérations, le double déclin de CuTPP peut être attribué au schéma de relaxation suivant : $^2T \rightarrow ^4T \rightarrow X$, X étant un état inconnu. La dépopulation de l'état $^2T(\pi\pi^*)$ vers $^4T(\pi\pi^*)$ serait ainsi réalisée en 70 ns. La seconde décroissance, beaucoup plus lente, peut être attribuée à la dépopulation de l'état 4T avec une durée supérieure à $5 \mu\text{s}$. Ce schéma de relaxation peut être en concurrence avec celui-ci : $^2T \rightarrow ^2S_0$, où 90 % de la population initiale de 2T emprunterait cette voie (Figure 4.9).

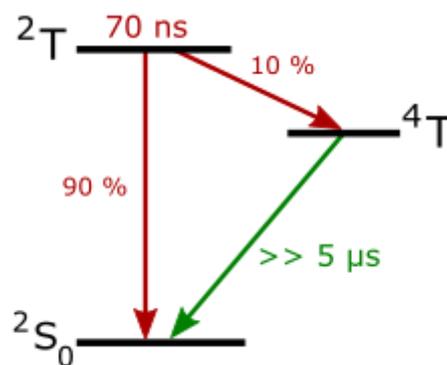


FIGURE 4.9 – Schéma de relaxation séquentielle du déclin de l'état 2T vers l'état fondamental de CuTPP.

Il est intéressant de noter que les deux durées de relaxation mesurées en phase gazeuse sont conformes aux mesures de décroissance de la luminescence mesurés en solution. A 300 K, la durée de luminescence a été mesurée entre 30 et 40 ns [259], correspondant à l'ordre de grandeur du déclin de 2T vers 4T en phase gazeuse. A 77 K, cette durée de luminescence est mesurée supérieure à $100 \mu\text{s}$ et est supposée provenir de l'état 4T [239, 260].

4.3. DYNAMIQUE DES ÉTATS 2T FORMÉS APRÈS EXCITATION DE LA BANDE Q DE CUTPP ET CUOEP

Cette durée correspond tout à fait à la relaxation de 4T telle que mesurée en jet. De plus, des mesures d'absorption de l'état fondamental de CuTPP après excitation à 532 nm en solution ont permis de mesurer le taux de repopulation de cet état en solution [241]. Au dessus de 150 K, la repopulation est mono-exponentielle avec une durée de repopulation mesurée entre 30 et 40 ns. En dessous de 150 K, la repopulation de l'état fondamental est réalisée en deux temps : une première repopulation est faite en 40 ns tandis que 10 % de la population initialement excitée retourne à l'état fondamental avec une constante de temps de 5 μ s. Ces mesures en solution montrent clairement un effet de température sur la population des deux états 2T et 4T . De plus, ces études montrent également que, dans le schéma de relaxation observé en phase gazeuse, l'attribution la plus vraisemblable de l'état X, est l'état fondamental. Ces études sont de plus en accord avec un schéma séquentiel parallèle où 90 % de la population de l'état 2T passe directement au fondamental.

Pour CuOEP l'interprétation est plus délicate, étant donné qu'il n'y a qu'une seule décroissance de 300 ns. Plusieurs interprétations peuvent être avancées et sont illustrées sur la Figure 4.10.

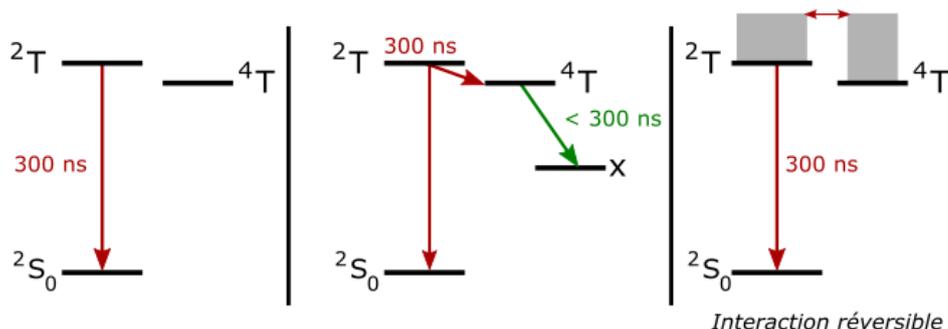


FIGURE 4.10 – Les différentes interprétations du mono déclin de 300 ns mesuré pour CuOEP : 1) l'état 4T n'est pas formé, 2) l'état 2T se relaxe vers l'état 4T qui lui même se relaxe vers un état inconnu en moins de 300 ns, 3) les états 2T et 4T sont en interaction réversible.

La première possibilité est que, à la différence de CuTPP, l'état 4T n'est pas détecté. Le schéma de relaxation serait alors $^2T \rightarrow X$, où l'état X serait très possiblement l'état fondamental. Le fait que l'état triplet ne soit pas détecté peut être dû à deux raisons : soit parce qu'il n'est pas ionisé, soit parce qu'il n'est pas formé. La première solution peut être écartée. En effet, dans le cas de CuOEP, l'écart en énergie entre les états 2T et 4T est plus faible que pour CuTPP, pour laquelle a priori cet état est ionisé. De plus, l'état 4T est également un état $\pi\pi^*$ pour lequel on suppose que l'efficacité d'ionisation est proche de celle de l'état $^2T(\pi\pi^*)$ et l'énergie des photons sondes a été choisie pour ioniser bien au-dessus du seuil d'ionisation de ces deux molécules. Par ailleurs, des mesures de repopulation de l'état fondamental de CuOEP par mesure d'absorption de cet état après excitation à 532 nm [241] montrent également un comportement mono-exponentiel, avec

une durée de repopulation variant entre 100 ns et 10 μ s en fonction de la nature du solvant et de sa température. Il semble donc difficile de penser que l'état 4T de CuOEP, s'il est formé, ne soit pas ionisé. La deuxième possibilité, à savoir que l'état 4T ne soit pas peuplé lors de la relaxation de l'état 2T , semble également difficile à envisager étant donné le faible écart en énergie des deux états 2T et 4T qui a été estimé entre 200 et 400 cm^{-1} pour cette molécule [241, 259] et que cet état est formé pour d'autres porphyrines de cuivre dont l'écart est plus grand comme par exemple CuTPP ou bien CuP [245].

La deuxième interprétation pourrait être que, tout comme CuTPP, le schéma de relaxation observé est $^2T \rightarrow ^4T \rightarrow X$, avec une dépopulation de l'état 4T plus rapide que celle de l'état 2T . Dans ce cas, seul le déclin de 2T est observé. Cette possibilité implique que l'état 4T se dépeuple vers un état autre que l'état fondamental. En effet, dans ce cas, le spin de la molécule doit être changé, ce qui est un processus généralement long. Or le schéma de relaxation observé pour CuOEP implique que l'ISC devrait être plus rapide que 300 ns, ce qui semble court. La question serait alors de savoir qu'elle est la nature de l'état peuplé par 4T . Il n'existe pas de preuve dans la littérature concernant l'existence d'un tel état. Holten *et al.* invoquent la participation d'un autre état à transfert de charge dans la relaxation de CuTPP et CuOEP mais sans preuve véritable de l'existence de cet état [241].

Enfin, la troisième interprétation possible est que les états 2T et 4T sont en *interaction réversible*. Ce terme d'interaction réversible fait écho au terme d'*équilibre thermique* employé dans les articles traitant des états tripdoublet et tripquartet de porphyrines de cuivre en solution [241, 259, 260, 262]. Étant donné la proximité en énergie des deux états, il a été avancé que, dès que l'équilibre vibrationnel à la température du solvant est établi, un équilibre de la population entre les deux états 2T et 4T vibrationnellement excités se réalise. Ainsi, l'état 4T deviendrait un état réservoir qui repeuple l'état 2T . La dynamique observée serait donc la dynamique de ces deux états en équilibre thermique. De cette façon, la dépendance en température de la durée de phosphorescence des porphyrines de cuivre peut être expliquée et notamment la raison de la présence d'un déclin mono-exponentiel ou double-exponentiel. En effet, de manière générale, plus un état excité est vibrationnellement peuplé, et plus sa durée de vie est courte en raison des couplages vibroniques qui sont de plus en plus efficaces. Ainsi plus la température du solvant augmente et plus hauts sont les états vibrationnels peuplés et plus courte est la durée de vie observée. Ceci explique la plus courte durée de vie pour des températures hautes des solvants. Dans le cas des porphyrines de cuivre, un second paramètre entre en jeu qui est l'écart en énergie des états 2T et 4T . En fonction de cet écart d'énergie, il existe une température limite pour laquelle l'équilibre thermique entre les deux états n'est plus possible et en dessous de laquelle, un double déclin est observé. Ce double déclin correspond à la dépopulation de l'état tripdoublet et de l'état tripquartet, qui ne sont plus en équilibre thermique. Plus cet écart est grand, et plus la température limite est élevée. Par exemple, pour la porphyrine de cuivre (CuP), dont l'écart d'énergie est intermédiaire entre CuTPP et CuOEP, le double déclin apparaît à partir de 77 K [239], alors que pour CuTPP il apparaît autour

de 150 K [241].

Parler d'équilibre thermique dans le cas d'étude en phase raréfiée n'a pas de sens car, contrairement au cas de la solution, l'énergie vibrationnelle de l'état 2T acquise lors du passage ${}^2S_1 \rightarrow {}^2T$ est conservée (~ 1 eV) car les molécules sont isolées et n'échangent pas d'énergie interne. Mais étant donné la grande proximité des états 2T et 4T pour CuOEP, il peut très bien être envisagé que la densité d'états vibrationnels soit quasiment la même pour ces deux états avec 1 eV d'excédent d'énergie. Ainsi, les deux états pourraient communiquer et un échange de population pourrait s'opérer (d'où le terme d'*interaction réversible*), à condition bien sûr que ce processus soit plus rapide que les durées de relaxation des états. Dans ce cas, les deux états ne seraient plus dissociables et un seul déclin serait observé. Dans le cas de CuTPP, dont l'écart entre 2T et 4T est plus grand, cet interaction réversible ne serait pas aussi efficace que pour CuOEP dans les conditions du jet, expliquant l'observation du double déclin.

Il est difficile d'aller plus loin dans l'interprétation avec les données actuelles. Il pourrait être intéressant de faire ce type de mesure en jet supersonique sur d'autres porphyrines de cuivre afin observer l'effet du squelette de la molécule sur la dynamique de l'état 2T et notamment la formation de l'état 4T . En effet, comme l'écart entre les états tripdouplet et tripquartet dépend du squelette de la porphyrine, il pourrait être intéressant d'observer si une corrélation existe entre l'écart en énergie des états 2T et 4T et l'observation d'un ou de deux déclins. Il pourrait être également imaginé des méthodes en phase gazeuse qui permettraient de refroidir vibrationnellement l'état 2T et ainsi défavoriser l'interaction réversible entre les deux états 2T et 4T . Cela pourrait être, par exemple, d'isoler CuOEP dans des agrégats d'hélium (0,4 K) ou d'argon (30 K) et de mesurer ensuite le déclin de l'état 2T par spectroscopie pompe-sonde. Si l'interaction entre la molécule et l'agrégat est suffisante et si le temps d'interaction de la molécule avec l'agrégat est suffisamment court pour que le refroidissement vibrationnel de 2T se produise avant que l'interaction réversible ne puisse se faire, un double déclin pourrait être observé. Une autre méthode pourrait être de mesurer la phosphorescence dans des matrices de néon ou de para-hydrogène, où l'interaction entre la molécule et le milieu serait très efficace. Cependant, l'étude dans de tels milieux impliquerait des élargissements de bande, des décalages mais également des effets de site. De plus les porphyrines sont des molécules relativement grosses, ce qui pourraient limiter leur étude dans de tels milieux. Le but de ces différentes expériences serait de vérifier la validité de l'existence de cette interaction réversible entre l'état tripdouplet et tripquartet en phase gazeuse.

4.4 Conclusion

Dans ce chapitre, la spectroscopie électronique et la dynamique des états excités correspondants ont été réalisées sur deux métalloporphyrines de cuivre, CuTPP et CuOEP.

L'électron non apparié du cuivre de ces molécules est à l'origine de la formation de l'état tripdoublet 2T après excitation de l'état singulet 2S_1 . Les mesures en phase gazeuse réalisées par l'ionisation de l'état tripdoublet ont permis d'acquérir l'équivalent d'un spectre d'absorption de la bande Q de ces molécules mais également de compléter le schéma de relaxation de l'état 2S_1 vers l'état fondamental 2S_0 .

Les spectres d'action triplet de CuTPP et CuOEP sont en accord avec les différents résultats connus dans la littérature. Le positionnement des bandes Q_{00} et Q_v ainsi que leurs intensités relatives sont cohérents avec les données des autres métalloporphyrines et le modèle à quatre orbitales de Gouterman. De plus, l'élargissement des bandes spectrales observées s'explique à la fois par la durée de vie de l'état S_1 et par la température vibrationnelle des molécules. L'ensemble des spectres ne présente aucun résultat inattendu et reflète bien le spectre d'absorption de l'état 2S_0 .

Ainsi, la spectroscopie d'action triplet, combinée au refroidissement en jet supersonique, semble être un outil spectroscopique efficace pour enregistrer l'équivalent d'un spectre d'absorption de molécules neutres très peu fluorescentes. Cette technique permet de s'affranchir de la difficulté due à la courte durée de vie de l'état électronique sondé (2S_1) par la détection de l'état formé (2T) suite à la relaxation très rapide de ce premier initialement excité, tout en minimisant les effets d'élargissement spectral. De plus, l'obtention de tels spectres en phase gazeuse est essentiel afin de comprendre les effets des solvants, observés lors des expériences réalisées en phase liquide. Cette méthode expérimentale pourrait être appliquée à d'autres systèmes que les métalloporphyrines, dans la mesure où la formation d'états triplets est un processus très fréquent dans les systèmes organiques, à la condition que ces molécules aient un rendement de passage à l'état triplet quasi constant à l'échelle de la mesure. De plus, les longues durées de vie des états triplets favorisent ce type de mesure.

La dynamique de l'état 2S_1 étudiée par spectroscopie pompe-sonde ns a montré des comportements différents dans la désexcitation de l'état 2T de CuTPP et CuOEP. Dans le cas de CuTPP, la relaxation de l'état tripdoublet vers l'état fondamental est indirecte *via* la formation de l'état tripquartet 4T en 70 ns. Ce dernier état se relaxe ensuite vers l'état fondamental en un temps supérieur à la microseconde. Pour CuOEP, un seul déclin de 300 ns a été observé et attribué à une possible interaction entre l'état 2T et l'état 4T , dont l'écart en énergie est plus petit que pour CuTPP. Cette interaction permettrait à l'état 4T d'être un réservoir repeuplant l'état 2T . Les états seraient ainsi indissociables pour la mesure. Cependant, cette interprétation n'est pas certaine et nécessite d'autres séries de mesures. Une comparaison de ces données avec la dynamique obtenue en phase liquide semble être compliquée car la relaxation de l'état 2T est fortement influencée par la nature et la température du solvant. Des mesures complémentaires en phase gazeuse, telles que celles menées dans ce chapitre, sur d'autres porphyrines de cuivre pourraient renseigner sur cet effet. En effet, le squelette de la porphyrine semble être un facteur important dans la dynamique de l'état tripdoublet, notamment à cause de l'influence qu'il a sur l'écart

d'énergie entre les états 2T et 4T .

Il pourrait également être très intéressant de réaliser ces mêmes mesures (spectre d'action triplet et dynamique pompe-sonde) en excitant la bande B (400 nm) de ces molécules. Ces résultats permettraient d'apporter des éléments comparatifs pour les spectres d'absorption en solution, mais également de sonder l'effet de l'énergie initiale dans la dynamique de l'état 2T .

Enfin, notons que la formation de l'état tripdoublet et tripquartet n'est pas spécifique aux porphyrines de cuivre. Dans ces dernières, ce processus est particulièrement intéressant et important car l'interaction du macro-cycle avec le métal intervient avec le seul électron non apparié de la couche $3d$ du cuivre. Pour les autres métalloporphyrines, la formation de l'état tripdoublet est aussi possible. Cependant d'autres processus de relaxation peuvent également intervenir, et être plus efficaces, du fait d'un remplissage différent de la dernière couche électronique de ces métaux par rapport au cuivre. Cette différence ouvre davantage de possibilités d'interaction entre les électrons du macro-cycle et les électrons de la couche d partiellement remplie, complexifiant les schémas de relaxation de ces porphyrines.

Conclusion

DEUX problématiques générales ont guidé l'ensemble des travaux présentés dans cette thèse, qui s'est intéressée à l'étude de modèles de molécules biologiques sondés vibrationnellement et/ou électroniquement en phase gazeuse.

Le premier objectif de cette thèse a été de définir la structure de quelques modèles de molécules biologiques, avec un intérêt porté notamment sur des systèmes permettant de mieux appréhender la structure des protéines. Ces informations sont cruciales car elles permettent dans un premier temps de modéliser les interactions intra- et intermoléculaires ainsi que les propriétés thermodynamiques des protéines. Ces différentes propriétés sont à l'origine des structures des protéines et par conséquent influencent leur fonction au sein du monde biologique. Ces informations sont également importantes car elles constituent la première étape de la compréhension des propriétés photo-physiques de ces systèmes complexes. Ces propriétés peuvent en effet être à l'origine des mécanismes régissant le monde biologique ou bien d'effets néfastes pour les organismes.

La deuxième problématique de cette thèse a été d'étudier la dynamique électronique des premiers états excités de modèles de molécules biologiques dans le but de comprendre les mécanismes photo-induits intramoléculaires à l'origine de leur détérioration. Dans ce but, un intérêt majeur a été porté à la formation d'états triplets après l'absorption d'un photon UV par ces systèmes. L'intérêt porté aux états triplets s'explique par le fait que ces états, en raison de leur caractère biradicalaire et de leur longue durée de vie, sont des états qui peuvent plus facilement être impliqués dans des voies réactives néfastes à la structure. Il est donc essentiel de sonder la formation de tels états dans les systèmes biologiques et d'identifier les processus de relaxation de ces états.

Pour mener ces différentes études, une combinaison d'études théoriques, par des calculs de chimie quantique, et expérimentales, menées en phase gazeuse sur des modèles de molécules biologiques isolées soit dans un jet supersonique ou soit dans des agrégats d'hélium, a été réalisée. Les principales conclusions de ces études sont résumées dans la suite.

Études sur la structure

Les deux études structurales menées dans le cadre de cette thèse se sont intéressées particulièrement à deux acides aminés : l'histidine (His) et la phénylalanine (Phe).

L'étude de la molécule modèle du 4(5)-méthylimidazole (4(5)-MeIm) et de ses hydrates, sondés par spectroscopie IR en agrégat d'hélium, a permis de caractériser les propriétés du cycle imidazole présent dans l'acide aminé histidine, notamment ses propriétés de tautomérisation et sa faculté à jouer le rôle de donneur ou d'accepteur de proton. Dans un premier temps, après avoir caractérisé spectralement les deux tautomères du MeIm par leur vibration d'élongation NH, la constante de tautomérisation K_T a été mesurée en agrégats d'hélium ($K_T = 5,3 \pm 0,8$). Cette mesure est supposée représenter l'équilibre tautomérique de la phase gazeuse avant le dépôt des molécules dans les agrégats. Cependant, deux fois moins de 5-MeIm a été détecté par rapport à ce que les calculs de DFT-D ont prédit ($K_T = 2,5$). Au vu de cet écart surprenant, des calculs de chimie quantique supplémentaires ont été réalisés dans le but de déterminer l'énergie nécessaire à l'isomérisation 5→4-MeIm. Ces calculs ont montré que l'isomérisation du MeIm isolé est impossible car elle requiert une énergie supérieure à 2 eV, ce qui exclut qu'elle puisse se passer lors du piégeage par l'agrégat d'hélium. Ainsi, il a été conclu que la valeur mesurée en agrégats d'hélium reflétait plus vraisemblablement les populations tautomériques issues de l'échantillon chauffé, possiblement hors équilibre pour des raisons cinétiques. Dans un second temps, les hydrates du 4(5)-MeIm ont été formés dans les agrégats et caractérisés par spectroscopie IR. Seuls les complexes formés avec le 4-MeIm ont été observés ; le signal issu de ceux formés avec le 5-MeIm étant trop faible. Comme attendu, le cycle imidazole permet de former deux types de complexes, sans que la présence du méthyle ne perturbe la formation d'un de ces complexes : ceux où le cycle est accepteur d'un hydrogène de l'eau (liaison OH...N) et ceux dont le cycle imidazole est donneur d'un hydrogène à l'eau (liaison NH...O). Ces différentes données permettent de documenter le processus de tautomérisation et permettent une approche originale du phénomène d'hydratation de la chaîne latérale de l'acide aminé His dans les chaînes de protéines.

L'étude de petites chaînes peptidiques contenant une liaison peptidique et la chaîne latérale du résidu Phe, les molécules de 3PPA et NPEA, a eu pour but dans un premier temps d'identifier les structures les plus stables de ces systèmes flexibles formées parmi leur très large paysage conformationnel. Ces petites chaînes peptidiques, du fait de la présence des liaisons peptidiques présentes dans la chaîne latérale, permettent de mimer l'environnement proche de l'acide aminé Phe tel qu'il le serait au cœur des protéines. L'identification des conformères observés dans le jet supersonique, deux pour le 3PPA et un seul pour le NPEA, a permis ensuite de mesurer la durée de vie du premier état singulet excité $S_1(\pi\pi^*)$ pour chaque conformère observé. Des effets de conformation pour le 3PPA ont été enregistrés et des comportements différents pour les deux molécules dans

la relaxation de cet état électronique ont été mis en avant (durées de vie significativement différentes : < 10 ns pour le 3PPA et ~ 60 ns pour le NPEA). L'identification des structures ainsi que la mesure de la durée de vie étaient deux étapes nécessaires à l'étude s'intéressant à la formation d'états triplets dans ces systèmes.

Études de dynamique électronique : détection d'états triplets à longue durée de vie

Deux familles de systèmes ont été au coeur de cette problématique : des chaînes peptidiques contenant le résidu phénylalanine et deux porphyrines de cuivre.

L'étude des petits peptides contenant le résidu phénylalanine a été motivée par le fait que la molécule de toluène possède un rendement de passage à l'état triplet élevé, où 64 % des molécules excitées dans leur état singulet $S_1(\pi\pi^*)$ forment un état triplet à longue durée de vie ($> \mu s$) [41]. La question était alors de savoir si, dès lors que le chromophore phényle est environné par des liaisons peptidiques et d'autres acides aminés, la formation d'états triplets après l'absorption d'un photon UV restait aussi élevée ou si d'autres processus, comme la conversion interne dans les états singulets [13, 28], pouvaient intervenir de façon plus ou moins efficace suivant la conformation. Pour cela, des états triplets ${}^3\pi\pi^*$ à longue durée de vie d'une série de petits peptides, de taille et de complexité différentes, contenant le résidu Phe, ont été sondés avec un laser à 193 nm.

Des états triplets à longue durée de vie ($> 1 \mu s$) ont en effet été détectés. Mais leur abondance observée dépend de la taille et de la complexité de la molécule : plus la molécule est grande et plus la quantité d'états triplets détectée augmente, avec le cas particulier de NAPA/NAPMA où la quantité d'états triplets est presque nulle. Dans tous les cas, la quantité détectée est bien moindre par rapport à ce qui devrait être observé en comparant au cas de la molécule de toluène.

Les mesures, appuyées par des calculs de chimie quantique, ont ainsi permis de mettre en avant l'existence d'une voie de relaxation interne aux états triplets, qui permet de limiter la formation d'états triplets à longue durée de vie en peuplant des états *noirs* non détectés. Cette voie correspondrait à de la conversion interne entre une triade d'états triplets ${}^3\pi\pi^*$ chaude (avec ~ 1 eV d'énergie vibrationnelle) et des états localement excités sur une ou plusieurs liaisons peptidiques ${}^3n\pi_{co}$ ou des états à transfert de charge ${}^3n\pi_{cycle}$. Cependant, cette voie de conversion interne, qui est contrôlée par une intersection conique, est de moins en moins efficace avec la taille et la complexité de la molécule car cette voie est en compétition avec l'IVR. On peut imaginer alors que dans le cadre des protéines, où la taille et la complexité augmentent considérablement, des états triplets à longue durée de vie soient formés efficacement après l'absorption d'un photon UV. Or, une fois formés, ces états triplets ouvrent la voie à des processus néfastes comme la photo-oxydation [10, 193]. Il faut donc compter, dans le milieu biologique, sur d'autres mécanismes pour limiter la formation de ces états triplets comme le bain thermique à 300 K de la cellule qui facili-

terait la conversion interne triplet-triplet, des transferts d'énergie singulet-singulet entre les différents acides aminés des protéines ou bien encore, l'existence de filtres susceptibles d'absorber ce rayonnement avant les protéines, et limitant de fait, l'exposition du résidu Phe.

La dernière étude de cette thèse s'est portée sur la détection de la formation de l'état tripdoublet 2T de deux porphyrines de cuivre, CuTPP et CuOEP. Dans ces macromolécules possédant un atome de cuivre, la formation très efficace de l'état tripdoublet après excitation du premier état singulet excité $S_1(\pi\pi^*)$, est assurée par des transferts de charge entre les électrons π^* du cycle initialement excité et l'électron non apparié de la couche d du cuivre [48, 49].

L'ionisation de cet état triplet particulier a permis, dans un premier temps, d'enregistrer les propriétés d'absorption en phase gazeuse de ces deux molécules, données qui étaient jusqu'à ces mesures, difficiles à obtenir dans ce milieu en raison de la très courte durée de vie de l'état S_1 non fluorescent [232]. Puis, elle a permis de suivre la relaxation de cet état tripdoublet vers l'état fondamental. Les mesures ont montré que la relaxation de l'état tripdoublet est différente suivant la nature du squelette de la porphyrine. Pour CuOEP, la relaxation de l'état tripdoublet est monoexponentielle (300 ns) tandis que pour CuTPP un double déclin (70 ns et $> 1 \mu s$) a été observé, attribué à la relaxation de l'état 2T vers l'état tripquartet 4T . Cette différence de comportement a été expliquée par l'écart en énergie entre les états tripdoublet 2T et tripquartet 4T de ces deux molécules, plus ou moins grand suivant la nature du squelette. Dans le cas de CuOEP, pour lequel l'écart est le plus faible, les populations des deux états communiqueraient, rendant ces deux populations indiscernables.

Ces mesures montrent donc que la structure de la porphyrine est un élément important pour limiter les possibles effets délétères dus aux états triplets car elle peut limiter la formation d'états triplets à longue durée de vie. La nature doit ainsi certainement privilégier certaines formes de porphyrines présentes dans le monde biologique dans ce but. Par ailleurs, il est à noter que pour les autres métalloporphyrines constituées de métaux différents, il existe d'autres voies de relaxation en compétition avec la formation des états triplets [48]. De plus, tout comme pour les protéines, il existe des mécanismes intermoléculaires qui permettent de *quencher* les états triplets, limitant ainsi leur capacité à réagir avec l'environnement, comme cela a été mis en avant dans les bactéries photo-synthétiques dont l'antenne de ces systèmes est composée d'une série de porphyrines [263, 264].

Pour conclure, ces différentes études ont donc permis de mettre en avant que les deux problématiques, la structure et la dynamique électronique, sont liées l'une à l'autre. La structure peut en effet avoir des conséquences sur la dynamique électronique, par exemple par des effets de conformation mais aussi en favorisant des chemins de relaxation différents. La dynamique électronique peut elle, avoir des effets sur la structure, soit directement par de la dissociation par exemple, ou soit indirectement, par la formation d'états triplets à

longue durée de vie qui peuvent par la suite participer à des réactions chimiques aux effets délétères sur la structure (comme la photo-activation de l'oxygène [265]). La nature doit donc favoriser les structures qui réduisent autant que possible ces effets délétères tout en favorisant celles utiles à la fonction de la molécule. Bien sûr, des processus externes à ces molécules sont également présents dans le milieu biologique afin de limiter les effets néfastes aux organismes et l'apparition de désordres fonctionnels graves.

Annexe A

Calculs de l'enthalpie libre du 4(5)-MeIm

DES calculs supplémentaires ont été réalisés afin de déterminer les énergies du 4(5)-MeIm : l'enthalpie à 0 K et l'enthalpie libre à 43°C. Le niveau des calculs ainsi que les énergies trouvées sont présentés dans le Tableau A.1. Pour chaque calcul, les géométries ont été optimisées soit au niveau DFT-D (les deux premières lignes du Tableau A.1), soit au niveau CCSD (lignes 3 à 8) ou soit au niveau CCSD(T) (lignes 9 à 11), avec, à chaque fois, la base TZVPPD. Certains calculs (ceux dont la mention *Full* n'apparaît pas) ont été menés en gelant les électrons de cœur, c'est-à-dire en ne prenant pas en compte les excitations des orbitales de cœur vers les orbitales virtuelles. Dans le cas du MeIm, les électrons de cœur correspondent aux électrons des orbitales 1s des atomes C et N.

Peu importe la méthode de calcul, les énergies trouvées sont toutes très proches

Niveau de calcul	ΔH (0 K)	ΔG (43°C)
CCSD(T)/TZVPPD//DFT-D/TZVPPD	2,19	2,51
Full-CCSD(T)/TZVPPD//DFT-D/TZVPPD	2,24	2,56
CCSD(T)/TZVPPD//CCSD/TZVPPD	2,15	2,47
Full-CCSD(T)/TZVPPD//CCSD/TZVPPD	2,20	2,52
Full-CCSD(T)/TZVPPD//Full-CCSD/TZVPPD	2,20	-
Full-CCSD(T)/QZVPP//CCSD/TZVPPD	2,23	2,55
Full-CCSD(T)/QZVPPD//CCSD/TZVPPD	2,15	2,47
CCSD(T)/TZVPPD	2,15	2,44
CCSD(T)/QZVPPD//CCSD(T)/TZVPPD	2,19	2,48
Full-CCSD(T)/QZVPPD//CCSD(T)/TZVPPD	2,13	2,43

TABLE A.1 – Différence de l'enthalpie à 0 K (ΔH) et de l'enthalpie libre à 43°C (316 K) (ΔG) du 4(5)-MeIm en $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Les valeurs ont été déterminées en prenant pour référence le 4-MeIm, qui est le tautomère le plus stable. Le terme *Full* indique que les électrons de cœur ont été pris en compte dans le calcul.

Annexe B

Isomérisation du 5→4-MeIm : une approche *via* la chimie quantique

A FIN d'apporter des éléments éclairants sur la signification de la valeur expérimentale de la constante de tautomérisation K_T mesurée en agrégat d'hélium, des calculs complémentaires ont été réalisés au laboratoire par Jean-Michel MESTDAGH. Les résultats principaux ont été donnés dans le Chapitre 2 sans que le détail des calculs n'ait été introduit. Cela est réalisé dans cette annexe.

Le groupement imidazole situé sur une chaîne latérale de l'histidine possède deux atomes d'azote en position (1) et (3) qui, l'un et l'autre, peuvent se protoner ou se déprotoner en solution aqueuse. Cette propriété acide-base est en grande partie responsable du rôle, considéré comme essentiel de l'histidine, comme site actif de nombreuses enzymes. En ce qui concerne une forme substituée de l'imidazole, le méthylimidazole, cette propriété acide-base en solution aqueuse est l'origine d'un équilibre tautomérique entre le 5- et le 4-méthylimidazole. Eu égard à son intérêt biologique, cette tautomérisation a très tôt, suscité beaucoup d'attention sur le plan théorique (voir Refs. [147, 148, 266] pour ne citer que les travaux les plus anciens).

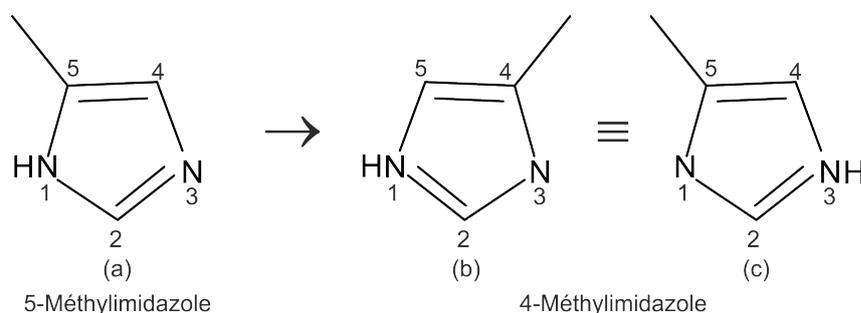


FIGURE B.1 – Schéma du 5- et du 4-méthylimidazole.

Les molécules de 5- et 4-méthylimidazole sont représentées Figure B.1 (schémas (a) et

(b), respectivement) selon la convention de numérotation des atomes recommandée par l'IUPAC¹. Formellement, le passage d'un isomère à l'autre se fait par la transposition du groupe méthyle (CH₃) entre les atomes C(5) et C(4). Le schéma de droite (c) de la Figure B.1 représente également la molécule de 4-méthylimidazole. Il s'agit de l'image de (b) dans un miroir mais nous avons changé la numérotation des atomes pour que le groupe méthyle soit toujours porté par C(5). Cela fait apparaître clairement que le passage du 5- au 4-méthylimidazole peut aussi se concevoir comme un changement de position de l'atome d'hydrogène (proton en milieu aqueux) entre les deux atomes d'azote. C'est le point de vue qu'il faut adopter pour traiter théoriquement la réaction de tautomérisation évoquée ci-dessus.

Le processus de tautomérisation n'a plus cours sous la forme évoquée ci-dessus quand une unique molécule de méthylimidazole est isolée, que ce soit en phase gazeuse ou dans une gouttelette d'hélium. En effet, dans la tautomérisation en milieu aqueux, ce n'est généralement pas le même proton qui quitte l'atome N(1) et qui s'attache à l'atome N(3) alors qu'en situation d'isolement du méthylimidazole, c'est nécessairement le même atome d'hydrogène qui passe d'un atome d'azote à l'autre. Nous parlerons alors d'isomérisation plutôt que de tautomérisation car nous anticipons que ce transfert d'hydrogène implique une barrière assez haute.

Nous voulons connaître la hauteur de cette barrière pour savoir à quel équilibre chimique relier le rapport d'abondance entre le 5- et le 4-méthylimidazole que nous avons mesuré par spectroscopie infrarouge du mélange 5-MeIm/4-MeIm déposé dans des gouttelettes d'hélium : est-ce un équilibre à la température et dans les conditions d'isolement des gouttelettes (0.4 K) ou est-ce un équilibre dans l'échantillon solide avant vaporisation ? En l'absence de données expérimentales sur la hauteur de cette barrière, nous allons l'estimer par des calculs de chimie quantique.

B.1 Stratégie de calcul

De façon très générale en chimie quantique, déterminer l'énergie et la géométrie d'un état de transition entre deux isomères A et B d'une même molécule, en d'autres termes rechercher un point selle sur une surface de potentiel, pose des problèmes d'ordre numérique dès que le système comporte plusieurs dizaines de degrés de liberté. Caractériser cet état de transition est pourtant la seule possibilité pour estimer numériquement la hauteur d'une barrière d'isomérisation.

L'isomérisation entre le 5- et le 4-méthylimidazole fait intervenir 30 (3*12 atomes - 6) degrés de liberté. Face aux problèmes de convergence attendus, il nous a semblé difficile de rechercher directement l'état de transition correspondant en tant que tel. Nous avons

1. International Union of Pure and Applied Chemistry,
https://www.acdlabs.com/iupac/nomenclature/93/r93_691.htm.

préférée faire une minimisation sous contrainte qui nous fasse suivre une coordonnée réactionnelle qui connecte les deux isomères. L'état de transition apparaît alors simplement comme le point de plus haute énergie rencontré le long de cette trajectoire. Pour faire cela, nous avons recherché un système de coordonnées où l'une d'elles permet facilement de faire passer un atome d'hydrogène d'un atome d'azote à l'autre sans trop nuire à l'optimisation des autres coordonnées. Après quelques tâtonnements, nous avons opté pour le système de coordonnées intrinsèques décrit ci-après.

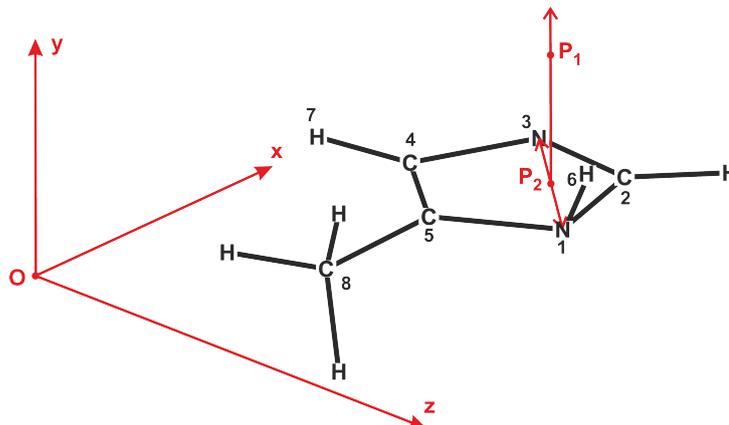


FIGURE B.2 – Système de coordonnées utilisé pour représenter la transposition d'un atome d'hydrogène responsable de la tautomérisation 5-méthylimidazole (a)→ 4-méthylimidazole(b) selon la numérotation de la Figure (B.1).

B.2 Système de coordonnées

La molécule de méthylimidazole est décrite selon un système redondant de coordonnées intrinsèques (Z-matrix) suggéré sur la Figure B.2 : deux points P_1 et P_2 définissent un axe perpendiculaire au plan défini par les atomes $N(1)$, $C(2)$ et $N(3)$ de la molécule de méthylimidazole. Les atomes $N(1)$ et $N(3)$ sont disposés à égale distance, de part et d'autre du point P_2 . Chaque atome de la molécule est localisé par trois coordonnées intrinsèques : une distance, un angle et un angle dièdre qui sont pris soit à partir des points P_1 et P_2 , soit à partir d'atomes déjà mis en place. L'atome $H(6)$ est celui dont le mouvement est responsable de l'isomérisation 5→4-méthylimidazole. Nous avons trouvé commode de le positionner par rapport au point P_2 et les atomes $C(2)$ et $N(1)$ *via* la distance $H(6)-P_2$, l'angle $H(6)-P_2-C(2)$ et l'angle dièdre Φ entre les plans $H(6)-P_2-C(2)$ et $P_2-C(2)-N(1)$. Notons que $\Phi=0^\circ$ (resp. $\Phi=180^\circ$) pour le 5-méthylimidazole (resp. 4-méthylimidazole). C'est cet angle que nous allons utiliser ci-dessous pour conduire l'atome d'hydrogène le long de la coordonnée réactionnelle qui relie le 5- au 4-méthylimidazole.

B.3 Conduite du calcul

Les calculs sont conduits avec la suite de programmes *ab-initio* MOLPRO 2010.1 [267]. Ils se divisent en plusieurs étapes. La première consiste à optimiser l'ensemble des coordonnées du 5-méthylimidazole pour servir de point de départ à la recherche de la coordonnée de réaction. L'énergie à minimiser est obtenue par un calcul CASSCF (Complete Active Space Self-Consistent Field) [149, 150]. L'espace actif est construit à partir des orbitales p_y des atomes qui forment le cycle, à savoir 4 électrons distribués dans les 4 orbitales qui, avant optimisation par le calcul CASSCF apparaissent comme HOMO-1, HOMO, LUMO et LUMO+1 dans un calcul RHF. Dans tous ces calculs, les fonctions d'ondes sont projetées sur la base aug-cc-pVDZ (augmented correlation-consistent basis sets) [155].

Les étapes suivantes du calcul sont intégrées dans une boucle de calcul qui échantillonne l'angle dièdre Φ entre 0 et 180° par pas de 3,6°.

Ces étapes comportent en premier lieu deux optimisations de géométrie au niveau CAS(4,4)/aug-cc-pVDZ. Toutes deux utilisent le programme d'optimisation automatique des géométries (OPTG) qui est intégré à MOLPRO. Dans la première, nous bloquons les coordonnées qui définissent et positionnent le groupe méthyle ainsi que celles qui positionnent H(7). La seconde optimisation part de la géométrie optimale qui vient d'être trouvée et libère les coordonnées qui étaient bloquées dans l'optimisation précédente. L'angle Φ et les coordonnées qui définissent les points P₁ et P₂ ainsi que le plan N(1)-C(2)-N(3) sont bloqués dans les deux optimisations, évidemment. Le recours à deux optimisations successives limite, malheureusement sans les éliminer totalement (voir ci-dessous), les situations où l'atome d'hydrogène qui migre d'un atome d'azote à l'autre se perd vers des positions non réalistes.

Une fois que la géométrie optimale est trouvée, le calcul CAS(4,4)/aug-cc-pVDZ qui ne prend en compte que la corrélation électronique statique est complété par un calcul RS2C (Multireference Rayleigh Schrödinger Perturbation Theory) [151] et par un calcul MRCI (Multiconfiguration reference internally contracted configuration interaction) [152, 153]. Ceci donne accès aux effets de corrélation dynamique. Un calcul "closed shell" CCSD(T) a également été mené à cette même géométrie. Il inclut la contribution des excitations triples [154]. Les trois étapes de calcul RS2C, MRCI et CCSD sont intégrées à la boucle de calcul qui échantillonne l'angle Φ .

Pour pallier aux problèmes de convergence évoqués plus haut, nous avons conduit deux calculs : l'un comme décrit ci-dessus pour explorer la coordonnée réactionnelle qui va du 5- au 4-méthylimidazole ; l'autre échantillonne Φ entre 180 et 0° pour explorer la même coordonnée réactionnelle dans l'autre sens, entre le 4- et le 5-méthylimidazole. Pour une même valeur de Φ , les deux calculs devraient évidemment conduire à la même valeur de l'énergie. En pratique des différences sont observées. Elles peuvent atteindre quelques centièmes de Hartree pour certaines valeurs de Φ . Ces différences ne sont pas imputables à un défaut de convergence des calculs d'énergie. Elles révèlent des insuffisances dans la recherche des géométries optimales. Les résultats présentés ci-après sont construits en

Molécule	CAS(4,4)		RS2C		MRCI		CCSD (T)	
	Hartree	eV	Hartree	eV	Hartree	eV	Hartree	eV
5-MIM	-263.939385	0	-264.785948	0	-264.811788	0	-264.863433	0
4-MIM	-263.939593	-0.0057	-264.786799	-0.0232	-264.812431	-0.0175	-264.864228	-0.0216

TABLE B.1 – Energies absolues (Hartree) et relatives (eV) des 5- et 4-méthylimidazole à plusieurs niveaux de calculs.

retenant pour chaque valeur de Φ celui des deux calculs qui conduit à l'énergie la plus basse, c'est à dire à la géométrie qui a été la mieux optimisée.

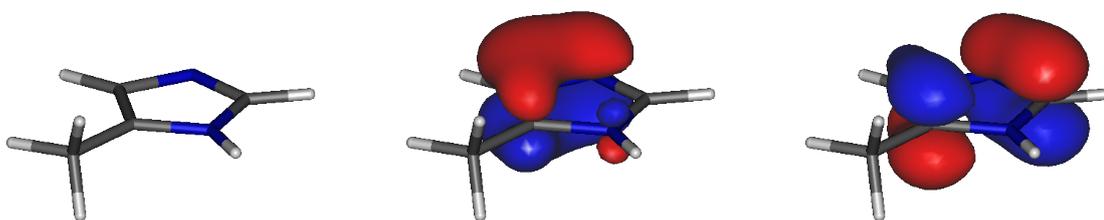


FIGURE B.3 – Géométrie du 5-méthylimidazole, optimisée par un calcul CAS(4,4)/aug-cc-pVDZ (caisson de gauche). Les orbitales HOMO-1 (milieu) et HOMO (à droite) sont obtenues au même niveau de calcul.

B.4 Résultats et discussion

La géométrie optimale que nous avons trouvée pour le 5-méthylimidazole est représentée Figure B.3 (caisson de gauche). Elle reproduit quantitativement celle trouvée par Ph. Millié et coll. à 0.005Å près sur les distances et 2° sur les angles[268]. C'est également le cas pour le 4-méthylimidazole. Conformément à l'intuition chimique, le squelette de ces deux molécules est plan.

Les énergies absolues et les énergies relatives que nous avons trouvées pour ces deux molécules sont données Tableau B.1. L'amélioration de qualité dans le traitement du problème électronique entre le calcul CAS(4,4) et le calcul CCSD(T) apparaît nettement par abaissement de l'énergie absolue le long de la chaîne CAS(4,4), RS2C, MRCI et CCSD(T). Quel que soit le niveau de calculs, le 4-méthylimidazole est légèrement plus stable que le 5-méthylimidazole. Le calcul CCSD(T), a priori le plus précis donne une sur-stabilité de 0.0216 eV=174 cm⁻¹. Cette valeur est en accord qualitatif (0.0216 eV *versus* 0.011 eV) avec le calcul de M. Meyer conduit au niveau MP2 sur une base plus réduite (6-31G*) que celle utilisée ici (aug-cc-pVDZ).

La Figure B.3 montre également les orbitales HOMO-1 (caisson du milieu) et HOMO

(caisson de droite) du 5-méthylimidazole. Là encore le résultat est conforme à l'intuition. Ce sont les orbitales liantes formées à partir des orbitales atomiques p_y des cinq atomes du cycle. L'orbitale HOMO-1 est nettement délocalisée. Quand les orbitales LUMO et LUMO+1 (non montrées sur la figure) sont visualisées, elles présentent bien le caractère antiliant attendu.

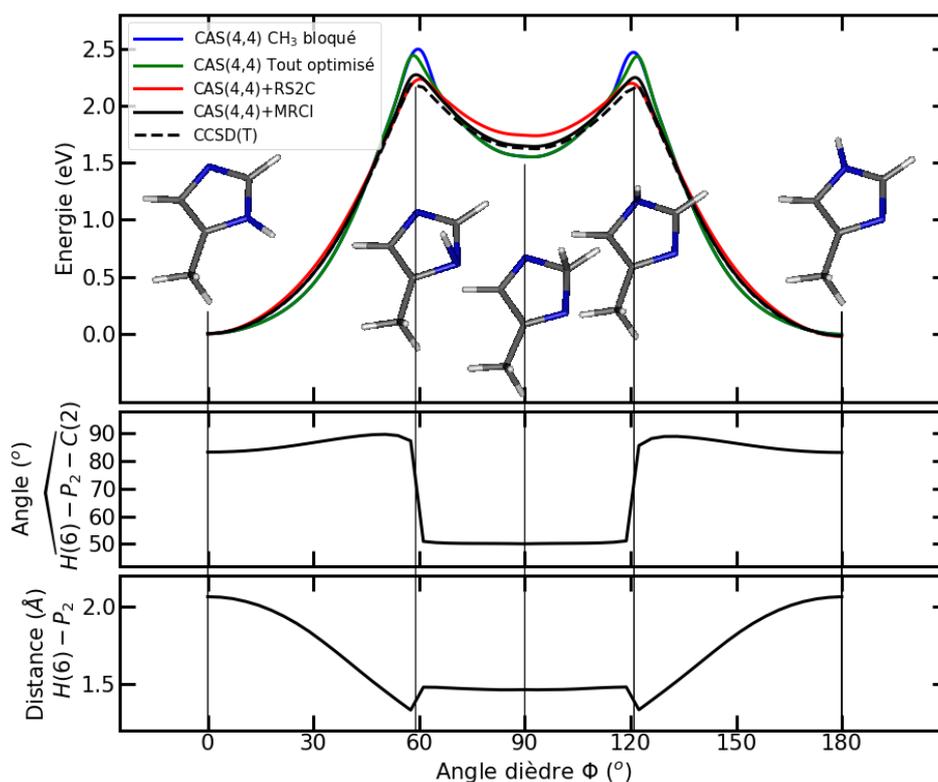


FIGURE B.4 – Energie potentielle (caisson du haut) de la molécules de méthylimidazole en fonction de l'angle dièdre ϕ , le long de la coordonnée réactionnelle allant du 5-méthylimidazole (côté gauche de la figure) au 4-methyl imidazole (côté droit). Les deux caissons du bas décrivent la coordonnée réactionnelle (voir texte pour les détails). Les inserts montrent la géométrie du méthylimidazole à des points remarquables le long de cette coordonnée.

Les résultats concernant la coordonnée réactionnelle qui suit l'isomérisation 5- → 4-méthylimidazole ainsi que l'énergétique qui lui est attachée sont résumés Figure B.4. L'axe horizontal, commun aux trois caissons de la figure, est l'angle dièdre ϕ entre les plans H(6)-P₂-C(2) et P₂-C(2)-N(1) qui a été défini Figure B.2. L'angle $\widehat{H(6) - P_2 - C(2)}$ (caisson du milieu) et la distance H(6) – P₂ (caisson du bas) qui sont représentés en fonction de ϕ définissent la coordonnée réactionnelle qui va du 5-méthylimidazole (côté gauche de la figure) au 4-méthylimidazole (côté droit).

Le caisson du haut de la figure montre la variation de l'énergie potentielle le long de

la coordonnée réactionnelle. La même tendance est observée quel que soit le niveau de calcul CAS(4,4), RS2C, MRCI ou CCSD(T) : l'hydrogène H(6) qui effectue la réaction de transposition passe au dessus du plan moléculaire et forme un intermédiaire réactionnel haut en énergie (2,2 à 2,4 eV selon le niveau de calcul) en se liant au carbone C(2). Curieusement, le squelette de cet intermédiaire est plan comme celui de la molécule de méthylimidazole alors même que l'hybridation sp^2 du carbone C(2) semble rompue. Cet intermédiaire est relié au 5- et au 4-méthylimidazole par deux états de transition où l'atome H(6) est au dessus du plan moléculaire, lié à N(1) ou à N(3).

Annexe C

Étude conformationnelle de deux peptides QFa et QFm, contenant les résidus Glutamine et Phénylalanine

DANS le cadre de l'étude des états triplets de petites chaînes peptidiques contenant la phénylalanine, deux peptides ont notamment été étudiés. Il s'agit de peptides protégés contenant les résidus phénylalanine (Phe) et glutamine (Qln) :

- ◆ Ac-Qln-Phe-amide, noté QFa
- ◆ Ac-Qln-Phe-méthylamide, noté QFm.

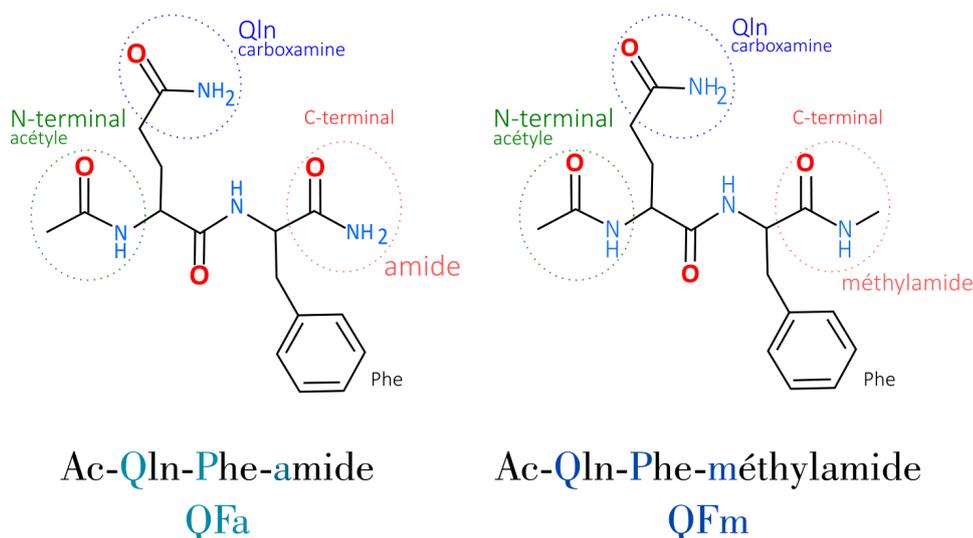


FIGURE C.1 – Formules semi-développées de QFa et QFm.

Ces deux chaînes sont représentées sur la Figure C.1. Elles diffèrent par le groupement substituant leur *C*-terminal.

Avant de réaliser les mesures de détection de l'état triplet après excitation du premier état singulet $S_1(\pi\pi^*)$ par spectroscopie pompe-sonde (Chapitre 3), les différentes conformations formées dans l'état fondamental au cours de la détente supersonique doivent être identifiées. Pour cela, la stratégie expérimentale et théorique employée est identique à celle présentée et utilisée pour l'étude conformationnelle des molécules 3PPA et NPEA dans le Chapitre 2. Les méthodes spectroscopiques utilisées sont expliquées dans le Chapitre 1. Elle est rappelée ici :

- Les molécules sont dans un premier temps refroidies au cours d'une détente supersonique d'un gaz d'hélium et de néon (70/30 %). Cela permet de former efficacement les conformations les plus basses en énergie.
- Le spectre UV, mesuré par spectroscopie IR2P-1C, permet ensuite d'enregistrer les signatures vibroniques de l'état S_1 des différentes conformations formées lors du refroidissement dans le jet.
- Pour chaque bande vibronique enregistrée, le spectre IR est ensuite acquis par la méthode de double résonance IR/UV. Cette étape permet d'identifier le nombre de conformations observées et de leur associer les bandes vibroniques correspondantes. En effet, peu importe l'énergie vibrationnelle présente dans l'état excité, le spectre IR enregistré, qui correspond à l'excitation vibrationnelle de l'état fondamental, sera identique pour un même conformère.
- Des calculs de chimie quantique au niveau DFT-D sont ensuite réalisés afin de déterminer les structures géométriques des molécules les plus stables dans l'état fondamental et de calculer leurs fréquences de vibration ainsi que leur intensité.
- Une comparaison des spectres IR expérimentaux avec les spectres IR simulés des conformations les plus basses en énergie est ensuite faite. Cette étape permet ainsi d'identifier les structures des différentes conformations observées dans le jet.
- La mesure de la durée de vie de la bande origine de l'état S_1 par spectroscopie pompe-sonde avec un laser de sonde à 532 nm est ensuite réalisée pour chaque conformère observé. Cette mesure permet de mettre en avant des effets de conformation dans la dynamique électronique du premier état singulet $S_1(\pi\pi^*)$. Cette mesure est préliminaire et nécessaire à l'étude du passage à l'état triplet excité, présentée dans le Chapitre 3.

Les mesures ont été réalisées avec le montage expérimental SBM, décrit dans le Chapitre 1. Les résultats et l'interprétation des spectres et des calculs sont d'abord présentés pour le QFa, puis pour le QFm.

C.1 Etude conformationnelle du peptide QFa

Les résultats et l'attribution de l'étude conformationnelle de QFa sont donnés dans cette partie.

C.1.1 Le spectre UV

Le spectre UV, correspondant à l'excitation $S_1 \leftarrow S_0$ de QFa est représenté sur la Figure C.2. On observe une quinzaine de bandes vibroniques pour cette molécule. L'acquisition des spectres IR a permis de déterminer la présence de trois conformères, labellisés A, B et C. Le Tableau C.1 donnent la position des différentes bandes vibroniques pour chaque conformère.

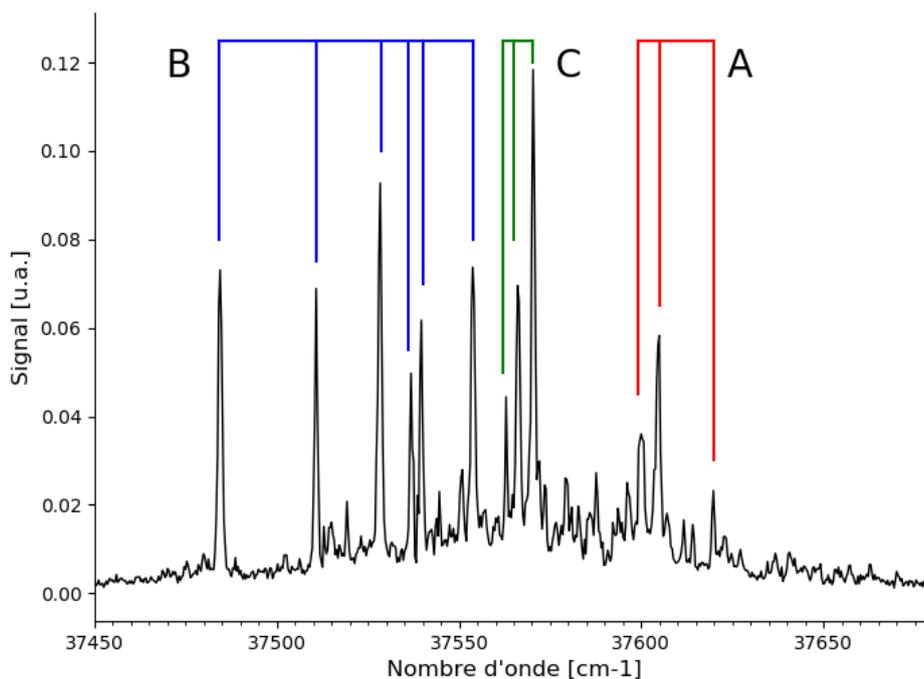


FIGURE C.2 – Spectre UV de la transition $S_1(\pi^*) \leftarrow S_0(\pi)$ de QFa, où trois conformères A, B et C sont observés.

C.1.2 Détermination des conformations

Spectre IR

Pour déterminer les structures des conformations observées, le spectre IR de l'état fondamental a été acquis pour chaque conformère. La région sondée est comprise entre

C.1. ETUDE CONFORMATIONNELLE DU PEPTIDE QFA

Conformère	B	C	A
cm^{-1}	37 484,4	37 562,9	37 600,0
	37 510,8	37 566,1	37 604,9
	37 528,4	37 570,3	37 619,8
	37 536,8		
	37 539,7		
	37 553,7		

TABLE C.1 – Energie des différentes bandes vibroniques de l'état S_1 des trois conformères observés de QFa.

3200 et 3600 cm^{-1} , qui correspond à la région des vibrations des liaisons NH. Ces données sont représentées dans la colonne de gauche de la Figure C.3.

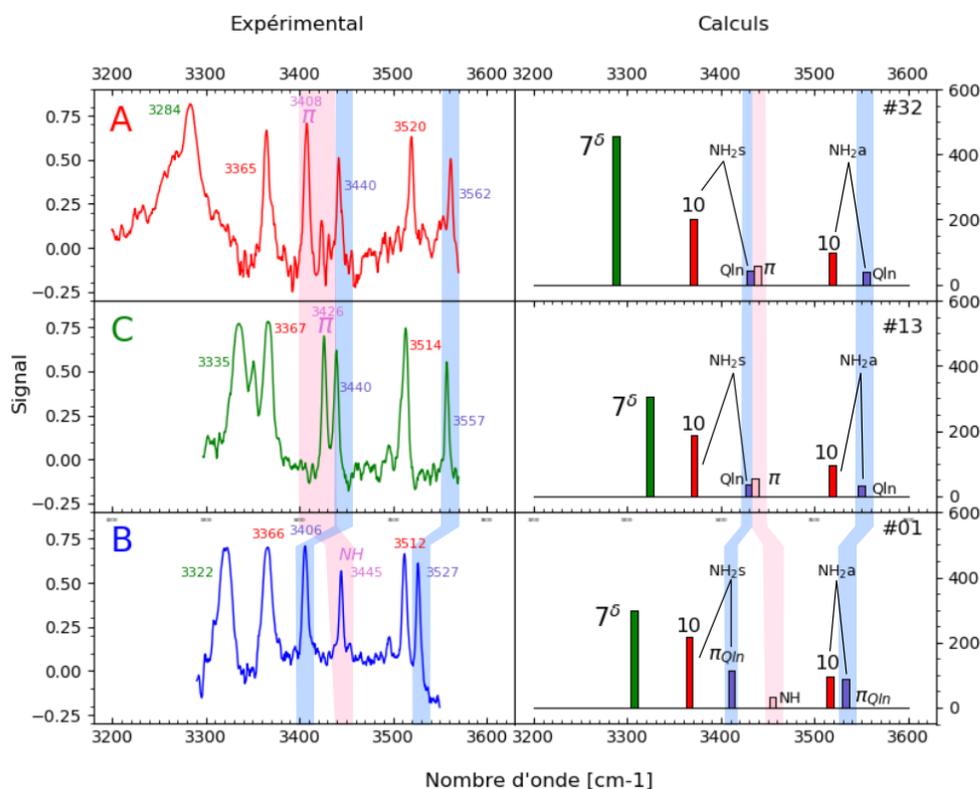


FIGURE C.3 – A gauche, spectres IR expérimentaux des trois conformères de QFa. A droite, spectres IR calculés à partir des structures optimisées les plus basses en énergie de QFa et dont les positions des bandes décrivent le mieux les résultats expérimentaux. Les fréquences calculées données sont les fréquences harmoniques corrigées par les facteurs d'échelle pertinents.

Pour les trois conformères, six bandes vibrationnelles sont observées. La position des différentes bandes pour chaque conformère est résumée dans le Tableau C.2 et indiquée sur la Figure C.3.

Pour le QFa, six signatures vibrationnelles sont attendues pour les vibrations NH. En effet, le QFa présente deux liaisons NH et deux groupes amine, possédant chacun d'eux un mode de vibration symétrique et antisymétrique. Ces différentes liaisons NH peuvent former des liaisons intramoléculaires, définissant ainsi la structure de la conformation. La présence de liaisons intramoléculaires induit des décalages spectraux des modes de vibrations NH considérés et modifie leur intensité. Ainsi, le fait d'obtenir six vibrations bien distinctes implique que les structures observées présentent des liaisons intramoléculaires. Pour déterminer ces liaisons, il est nécessaire de s'aider des calculs de chimie quantique.

Les calculs

Les fréquences de vibration des structures optimisées les plus basses en énergie ont été calculées. Le niveau de calcul utilisé pour le QFa est : RI-B97-D3/def2-TZVPP(m4). Les fréquences de vibration ont ensuite été corrigées par des facteurs d'échelles, afin de corriger les erreurs dues à la base, à la fonctionnelle et à l'approximation harmonique. Les différents spectres IR simulés ont ensuite été comparés aux données expérimentales afin de trouver les conformations dont les spectres IR sont les plus proches des données acquises en jet. Sur la partie droite de la Figure C.3, sont représentés les trois spectres IR ainsi sélectionnés. Les valeurs des fréquences calculées et corrigées sont présentées dans le Tableau C.2. Ces trois spectres correspondent aux structures représentées sur la Figure C.4.

Vibration [cm ⁻¹]	Conformère A		Conformère C		Conformère B	
	Exp.	Calculée	Exp.	Calculée	Exp.	Calculée
7 ^δ	3284	3289	3335	3325	3322	3308
10 sym.	3365	3371	3367	3372	3366	3367
NH-π ou libre	3408	3432	3426	3430	3445	3456
NH ₂ sym.	3440	3440	3440	3437	3406	3412
10 anti.	3520	3521	3514	3520	3512	3517
NH ₂ anti.	3562	3554	3557	3551	3527	3534

TABLE C.2 – Valeurs des fréquences IR des vibrations NH mesurées et calculées des trois conformations du QFa. Les fréquences calculées indiquées sont corrigées par les facteurs d'échelles.

Les trois conformations sont stabilisées par une liaison intramoléculaire C₁₀ (noté 10), une liaison 7^δ et une liaison NH-π. La liaison intramoléculaire 10 correspond à la liaison entre un des NH du groupe amine du N-terminal avec l'oxygène de la liaison C=O du groupe acétyle du C-terminal. Cette liaison permet un premier repliement de la molécule. La liaison 7^δ correspond à la liaison entre la liaison NH du N-terminal et l'oxygène de la liaison C=O du groupement acétamide présent dans la chaîne latérale de la glutamine. Ces deux liaisons intramoléculaires, C₁₀ et 7^δ, sont communes aux trois conformations. Les conformations A et C présentent toutes les deux une liaisons NH-π formée à partir

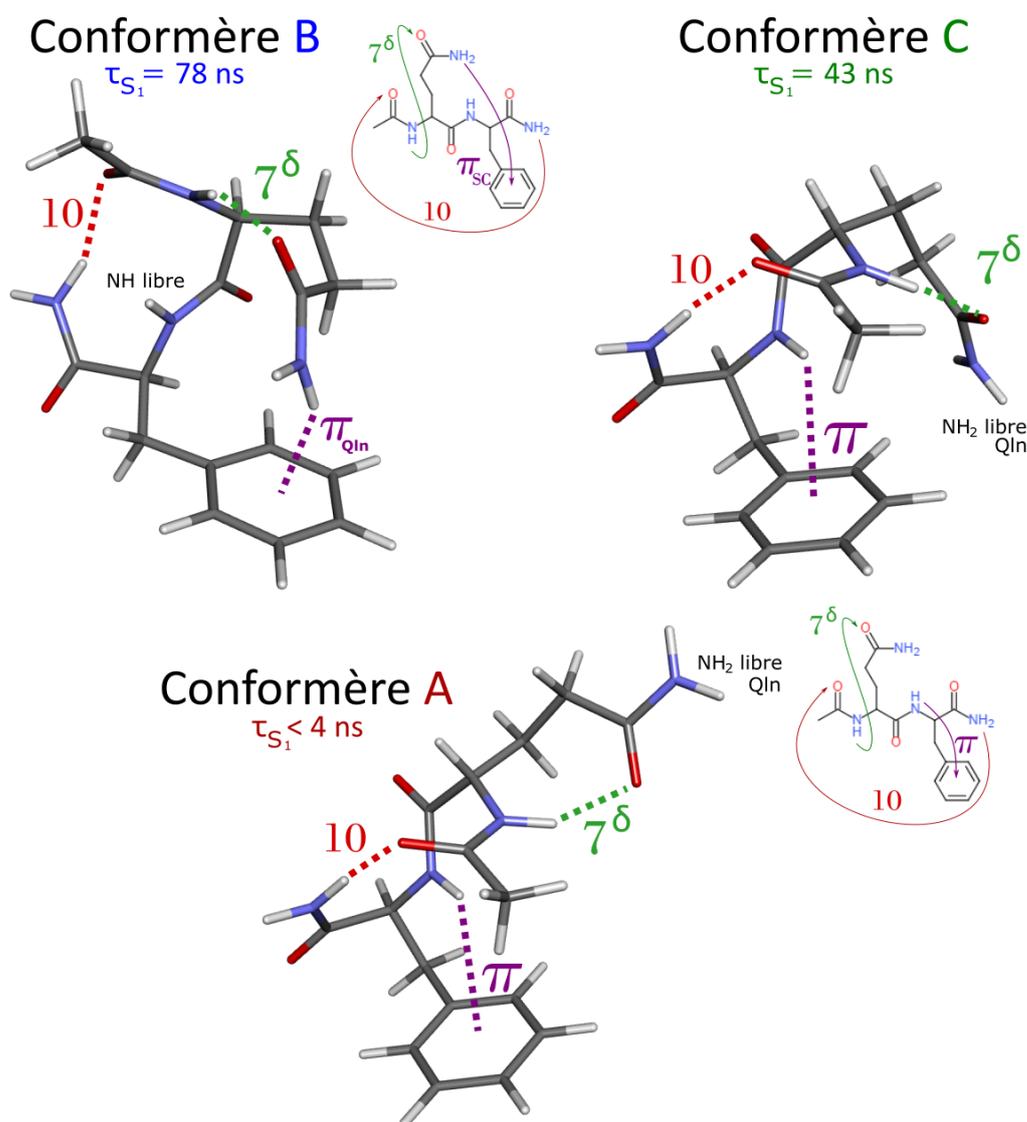


FIGURE C.4 – Les trois conformères observés de QFa : structures optimisées par DFT-D, dont les spectres IR décrivent le mieux les données IR expérimentales. Pour chaque conformère, la valeur de la durée de vie de l'état S_1 mesurée est indiquée.

de la liaison NH de la liaison peptidique reliant les deux résidus, pointant vers le cycle phényle. Les conformères A et C se distinguent par l'orientation de la chaîne latérale du glutamine par rapport au reste de la molécule. Le conformère A a une forme étendue tandis que le conformère C est davantage replié sur lui-même. Le conformère B présente lui aussi une liaison NH- π mais dans ce cas, cette liaison est formée par une des liaisons NH de l'amine de la glutamine pointant vers le cycle du phényle. Cette liaison est désignée par π_{Qln} . La liaison NH de la chaîne principale est libre pour ce conformère.

Attribution de bandes vibrationnelles

Etant donné que les conformations A et C sont très proches et que les mêmes liaisons NH sont présentes dans les deux structures, il est attendu que les deux spectres IR soient très similaires, ce qui est en effet observé. Les deux conformations se distinguent cependant par la fréquence de vibration 7^δ , qui est plus ou moins perturbée par la proximité du squelette de la molécule. Pour les conformations A et C, les calculs prédisent que la vibration NH- π soit légèrement plus dans le bleu que la vibration antisymétrique de l'amine libre du glutamine (vibration notée Qln). Cependant, le rapport d'intensité des bandes expérimentales indique l'inverse et une vibration commune à A et C a été mesurée à 3440 cm^{-1} , très proche de la valeur théorique pour le mode antisymétrique de l'amine. Ces deux observations laissent penser qu'en réalité la vibration NH- π est située dans le rouge par rapport à la vibration antisymétrique Qln. Cette attribution n'est pas surprenante dans la mesure où l'écart en fréquence de la bande π entre la valeur expérimentale et théorique reste dans l'intervalle d'incertitude des calculs. De plus les liaisons NH- π sont généralement moins bien décrites par les calculs et un écart en énergie plus important entre la valeur théorique et expérimentale est très souvent observé pour ces vibrations, et ce malgré les facteurs correctifs qui tendent à minimiser cet écart.

Le conformère B se démarque principalement des conformères A et C par la position des vibrations symétrique et antisymétrique de l'amine du glutamine (π_{Qln}). Cette amine forme en effet une liaison NH- π pour ce conformère. Ainsi les deux modes de vibrations sont décalés dans le rouge par rapport à l'amine libre des conformations A et C.

C.1.3 Mesure de la durée de vie de l'état S_1

Une fois les configurations déterminées, la durée de vie de la bande origine de l'état $S_1(\pi\pi^*)$ des trois conformères a été mesurée. Ces mesures ont été réalisées avec la technique de spectroscopie pompe-sonde ns, avec une énergie de sonde à 532 nm. Avec une telle énergie de sonde, seul l'état singulet peut être ionisé. La Figure C.5 représente le déclin de l'état S_1 du conformère B (en bleu). La courbe en noire représente un ajustement des données par une exponentielle décroissante. La même procédure a été appliquée à QFa C. Les durées de vies ainsi mesurées sont $78 \pm 3\text{ ns}$ pour le QFa B et $47 \pm 5\text{ ns}$ pour le QFa C.

La même mesure a été réalisée pour le conformère A. Le déclin est représenté sur la Figure C.6 par les points noirs. Cependant, ce déclin est beaucoup plus rapide que pour les deux autres conformères. La durée de vie mesurée par l'ajustement d'une exponentielle décroissante donne $\sim 10\text{ ns}$. A une aussi courte durée de vie, il est nécessaire de prendre en compte l'effet du profil temporel des lasers dans les données enregistrées. Ce profil temporel, qui a été acquis en enregistrant simultanément le profil temporel des deux impulsions lasers pompe et sonde sur une photo-diode, est représenté sur la Figure C.6 par la courbe en pointillés noirs. Pour déterminer la durée de vie de l'état électronique

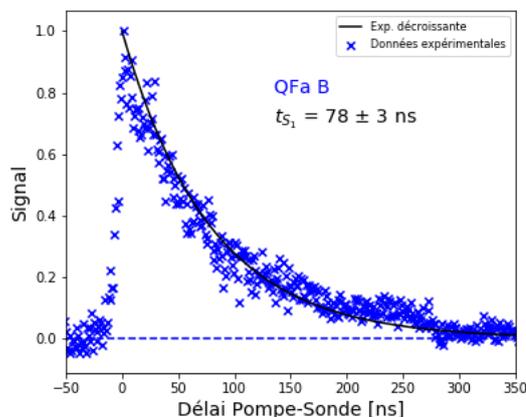


FIGURE C.5 – Mesure de la durée de vie de la bande origine de l'état S_1 de QFa B. Les données expérimentales sont représentées par des croix de couleurs. L'ajustement des données par une exponentielle décroissante est représenté par une courbe noire. La durée de vie est déduite de cet ajustement.

sondé, ce profil temporel a été convolué à une exponentielle décroissante. Le temps de déclin de l'exponentielle a été modifié jusqu'à trouver une valeur dont la fonction issue de la convolution décrit le déclin mesuré. Trois courbes obtenues par la convolution entre le profil temporel et une exponentielle de durée de déclin de 5 ns (bleu), 6 ns (vert) et 7 ns (rouge) sont présentées dans cette figure. Cette comparaison permet de conclure que la durée de vie du **conformère A** est < 5 ns. Pour pouvoir déterminer la durée de vie exacte, il serait nécessaire de faire la mesure avec des lasers ps.

Ainsi, trois conformations de QFa ont donc été observées. Ces trois conformations présentent des durées de vie du premier état singulet $S_1(\pi\pi^*)$ différentes. Les conformères B et C ont des durées de vie comparables à celle du toluène (86 ns [41]). Le QFa A se distingue de QFa B et C avec une durée de vie au moins dix fois plus rapide.

C.2 Étude conformationnelle du peptide QFm

Les résultats et l'attribution de l'étude conformationnelle de QFm est donnée dans cette partie. Etant donné la très grande similitude entre QFa et QFm, de très grandes ressemblances devraient être observées dans les conformations peuplées au cours de la détente supersonique.

C.2.1 Le spectre UV

Le spectre UV correspondant à l'excitation $S_1 \leftarrow S_0$ de QFm est représenté dans la Figure C.7. Le spectre est très semblable à celui de QFa. Cependant, moins de bandes

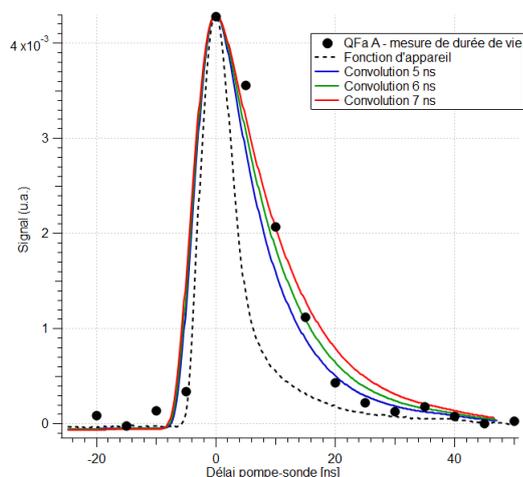


FIGURE C.6 – Pour déterminer la courte durée de vie de QFa A (données expérimentales : points noirs), il est nécessaire de convoluer le profil temporel des lasers (courbe en pointillé) avec une exponentielle décroissante, dont le temps de déclin est varié. Les courbes en couleur sont le produit de la cette convolution avec des temps de déclin de 5 ns (bleu), 6 ns (vert) et 7 ns (rouge).

vibroniques sont observées et le fond présent dans le spectre de QFa est absent dans celui de QFm. Cette dernière observation est expliquée en partie par un meilleur refroidissement au cours de la détente supersonique dans le cas de QFm.

L'acquisition des spectre IR ont permis de déterminer la présence de trois conformations de QFm dans ce spectre, labellisés A, B et C. La position des bandes vibroniques de chaque conformation est donnée dans le Tableau C.3.

Conformère	B	C	A
cm^{-1}	37 479,8	37 546,2	37 597,0
	37 507,2	37 550,6	37 598,8
	37 523,8	37 554,2	
	37 535,2		

TABLE C.3 – Energie des différentes bandes vibroniques de l'état S_1 des trois conformères observés de QFm.

C.2.2 Détermination des conformations

Spectre IR

Le spectre IR de l'état fondamental des trois conformères de QFm sont donnés dans la partie gauche de la Figure C.8. La région spectrale sondée, 3200 à 3600 cm^{-1} , correspond à la région des vibrations NH.

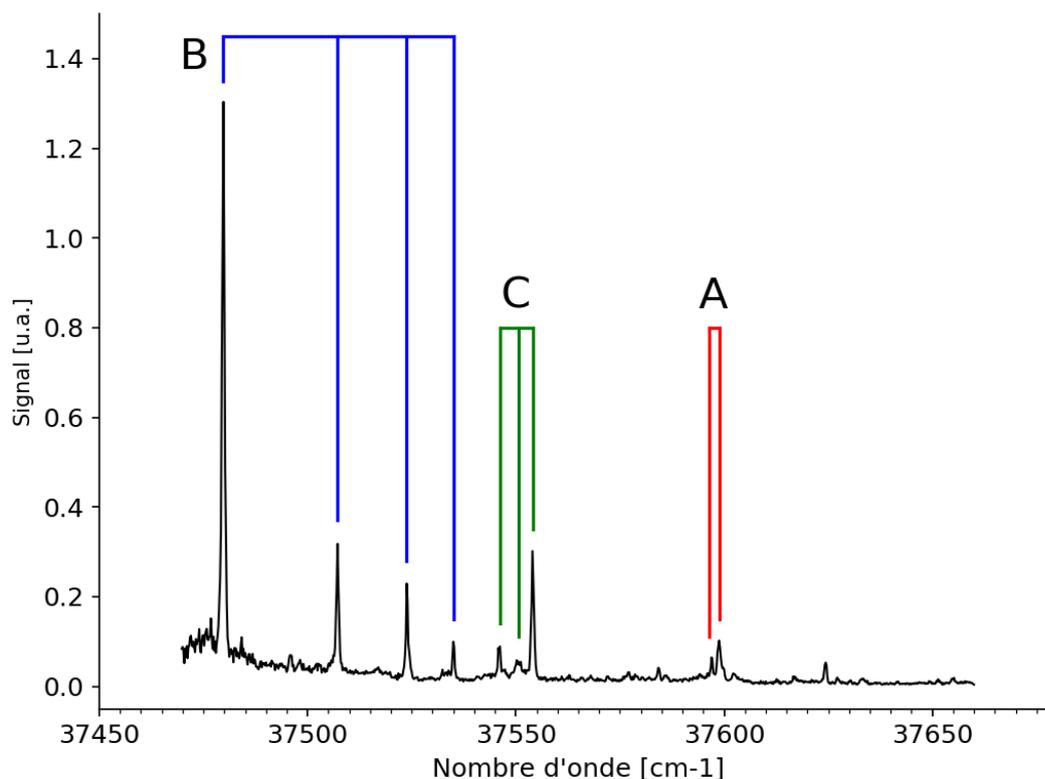


FIGURE C.7 – Spectre UV de la transition $S_1 \leftarrow S_0$ de QFm. Trois conformations A, B et C sont observées.

Pour les trois conformères, cinq signatures vibrationnelles sont mesurées. En effet, contrairement à QFa, QFm présente trois liaisons NH libres et un seul groupe amine. Tout comme QFa, le profil des spectres IR indiquent que les structures observées présentent des liaisons intramoléculaires. Les positions des vibrations sont répertoriées dans le Tableau C.4.

Les calculs

Pour déterminer les structures des conformations observées, la même stratégie que pour QFa a été employée. Le niveau de calcul utilisé pour QFm est : RI-B97-D3(BJabc)/def2-TZVPPD(m3). Les trois spectres IR simulés par les calculs et qui ont été corrigés, décrivant le mieux les données expérimentales sont représentés sur la partie de droite de la Figure C.8. Ces trois spectres correspondent aux structures représentées sur la Figure C.9. Les fréquences de vibration calculées et corrigées de ces trois structures sont répertoriées dans le Tableau C.4.

Les structures observées sont identiques à celles de QFa. Les structures sont toutes les

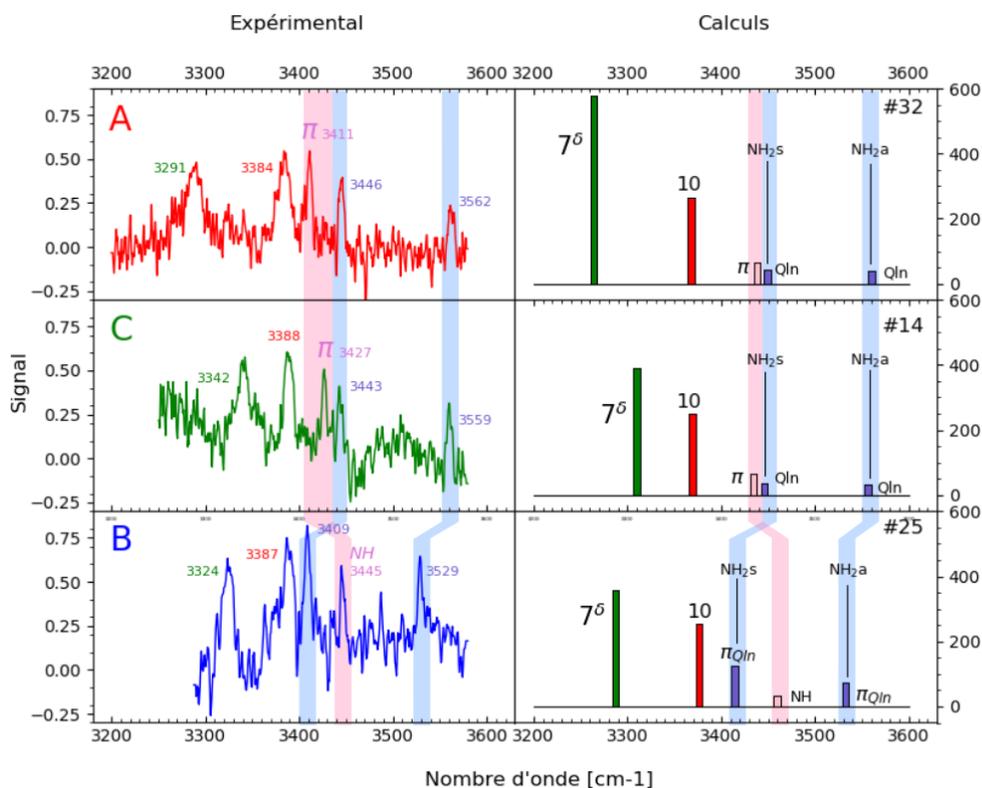


FIGURE C.8 – A gauche, spectres IR expérimentaux des trois conformères de QFm. A droite, spectres IR calculés à partir des structures optimisées les plus basses en énergie de QFm et dont la position des bandes décrit le mieux les résultats expérimentaux. Les valeurs données correspondent aux fréquences harmoniques corrigées par les facteurs d'échelle pertinents.

Vibration [cm ⁻¹]	Conformère A		Conformère C		Conformère B	
	Expe	Calculée	Exp	Calculée	Exp	Calculée
7 ^δ	3391	3265	3342	3311	3324	3288
10	3384	3369	3388	3370	3387	3377
NH-π ou libre	3411	3439	3427	3435	3445	3415
NH ₂ sym	3446	3450	3443	3448	3409	3460
NH ₂ anti	3562	3561	3559	3557	3529	3533

TABLE C.4 – Valeurs des fréquences IR des vibrations NH mesurées et calculées des trois conformations de QFm. Les fréquences calculées indiquées sont corrigées par les facteurs d'échelles.

trois stabilisées par les liaisons C₁₀, 7^δ et par une liaison NH-π. L'attribution des bandes vibrationnelles observées (cf. Tableau C.4 et Figure C.8) dans le cas de QFm est plus directe que dans le cas de QFa.

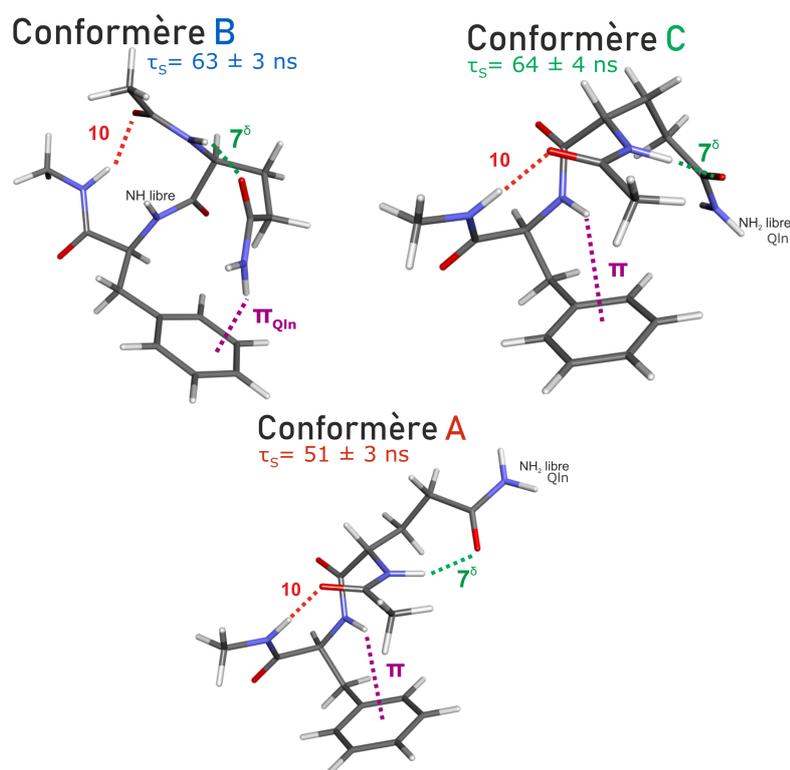


FIGURE C.9 – Les trois conformères de QFm : structures optimisées au niveau DFT-D, dont les spectres IR décrivent le mieux les données IR expérimentales.

C.2.3 Mesure de la durée de vie de l'état S_1

La mesure de la durée de vie du premier état singulet des trois conformations a été faite par spectroscopie pompe-sonde avec un laser de pompe à 532 nm. La Figure C.10 représente le déclin de la bande origine l'état S_1 des trois conformères. Les courbes en noir sont des ajustements des données expérimentales (représentées par des points rouges pour QFa A, bleus pour QFm B et verts pour QFa C), avec une exponentielle décroissante. Les durées de vie ainsi mesurées sont :

- pour QFm A : 51 ± 3 ns
- pour QFm B : 63 ± 3 ns
- pour QFm C : 64 ± 4 ns

Pour les trois conformères, la durée de vie est du même ordre de grandeur que la durée de vie du toluène. Il y a pour QFm, tout comme pour QFa, un effet de conformation dans la dynamique électronique de l'état S_1 . Il est intéressant de noter par ailleurs que, lorsque la molécule est protégée par un groupe méthylamine, cela a un effet conséquent sur la durée de vie car celle-ci passe de < 5 ns pour QFa A à 51 ns pour QFm A.

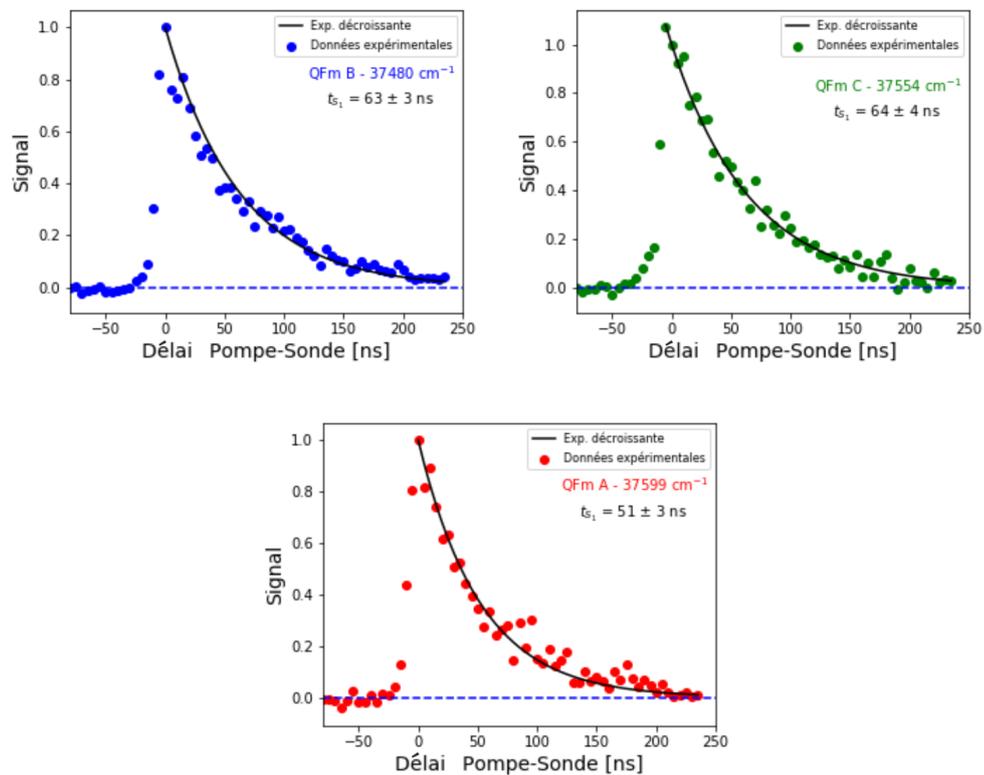


FIGURE C.10 – Mesure de la durée de vie de la bande origine de l'état S_1 des trois conformères de QFm. Les données expérimentales sont représentées par les points de couleur. La durée de vie de l'état électronique est déduite par un ajustement des données expérimentales avec une exponentielle décroissante.

Annexe D

Structure et nomenclature des conformations de Ac-Gly-Phe-NH₂ (GFa) et Ac-Gly-Phe-NHMe (GFm)

L'EXPLORATION du paysage conformationnel des deux molécules GFa et GFm au niveau DFT-D (RI-B97-D2/TZVPP) [176] conduit à l'existence de trois types de conformations les plus stables (Figure D.1) :

- des conformations constituées d'une succession de coudes- γ , présentant différentes chiralités (formes 77 et 77-),
- une conformation étendue (forme 55a),
- deux conformations globalement repliées (coudes β) (formes 10 et 10').

Sont considérées dans la présente étude, les conformations identifiées dans le Tableau D.1. La colonne Notation correspond à la nomenclature de ces structures, utilisée dans le Chapitre 3. Les lettres de la colonne Spectre UV correspondent aux notations utilisées dans la Figure D.2. Ces structures sont représentées sur la Figure D.1. La spectroscopie UV (Figure D.2) permet l'excitation sélective des diverses conformations peuplées dans le jet supersonique.

Molécule	Conformère	Notation	Spectre UV
GFa	f-7 _L -7 _L (g-)	77-	A
	f-7 _D -7 _L (g-)	77'	A'
	f- π -10I (g+)	10	B
	f- π -10II' (g+)	10'	B'
GFm	f-7 _L -7 _L (g-)	77-	A
	f- π -10I (g+)	10	B
	f- π -10II' (g+)	10'	B'
	5-5- π (a)	55a	C

TABLE D.1 – Les conformères considérés dans le Chapitre 3, identifiés selon la troisième colonne.

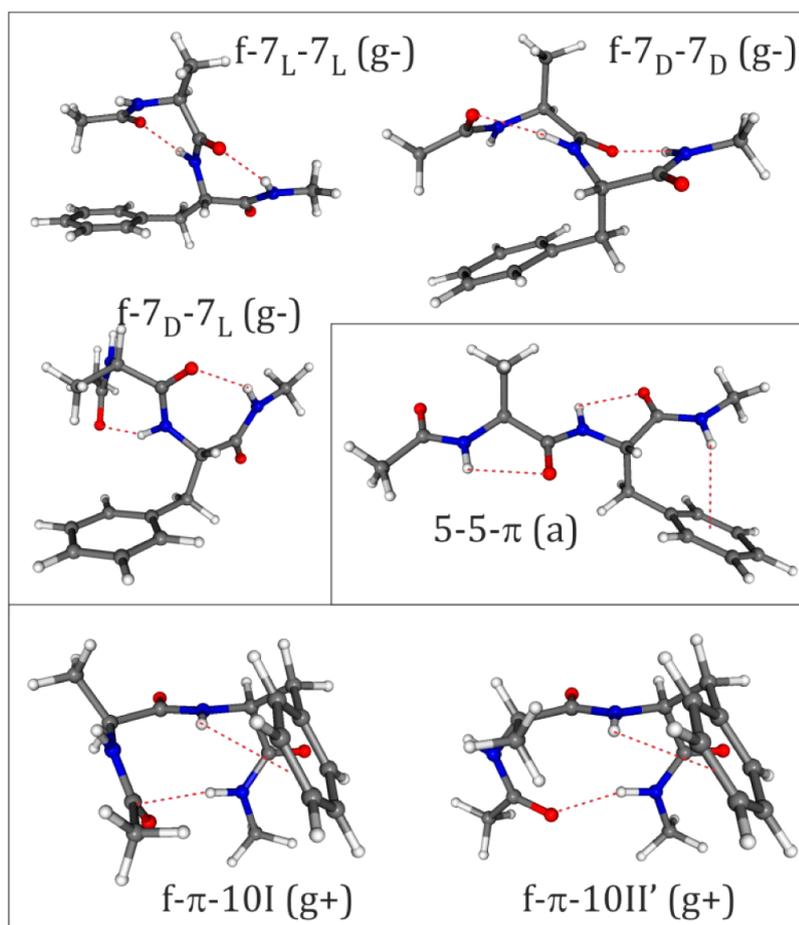


FIGURE D.1 – Structures de minima remarquables obtenus par chimie quantique (niveau RI-B97-D2/TZVPP) pour GFa. Des structures très similaires sont obtenues pour la forme méthylée GFm.

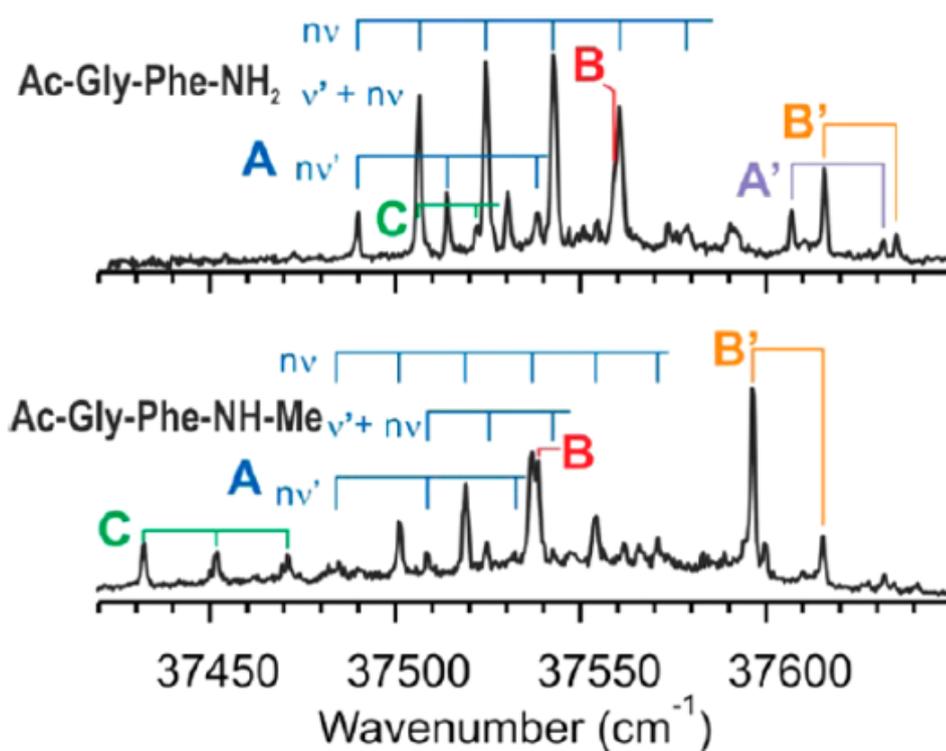


FIGURE D.2 – Spectroscopie UV de GFa et GFm dans la région de l'origine de la première transition $S_1 \leftarrow S_0$ de Phe, avec l'attribution des différents systèmes de bandes aux diverses conformations (A-C) peuplées dans le jet supersonique tel qu'obtenu par l'interprétation de la spectroscopie de double résonance IR/UV, dans le domaine des elongations NH (Figure adaptée de l'article [176]). Les lettres A-C font référence à l'attribution des bandes dans la spectroscopie UV de GFa et GFm (cf. Tableau D.1).

Annexe E

Étude de la fragmentation post-ionisation suite à la photoionisation pompe-sonde de NAPA A avec la sonde à 193 nm

AFIN d'apprécier l'ampleur de la fragmentation à l'état ionique, subséquent à la photoionisation résonante à deux photons, à une- ou deux-couleurs (1C ou 2C), les spectres de masse de NAPA A correspondant à diverses situations ont été enregistrés avec le laser UV (laser de pompe ; $\nu_1 \simeq 266$ nm) et le laser à excimère (laser de sonde ; $\nu_2 = 193$ nm). Il est à remarquer que ces expériences sont délicates dans la mesure où :

- i) le dispositif de désorption doit être aussi stable que possible,
- ii) l'intensité du laser de désorption ne doit pas être trop importante afin que seule la molécule désorbée soit présente dans le jet (un excès de puissance laser favorise les processus de fragmentation durant la désorption, conduisant à la formation de molécules neutres plus petites comme l'éthylbenzène ou le toluène dans le jet, qui peuvent être photoionisés de façon résonante ou non-résonante),
- iii) les signaux à une couleur seule 1C[ν_1] et 1C[ν_2] ne sont pas négligeables et doivent être soustraits ou pris en compte.

De plus, comme les données ont été acquises en jet supersonique avec un spectromètre de masse à temps de vol, si un délai temporel non nul est appliqué entre les deux lasers, deux paquets d'ions apparaissent dans le spectre de masse, en raison des contributions 1C non nulles des deux lasers. Comme les mesures ont été réalisées en déclenchant l'acquisition du spectre de masse par le tir du laser de pompe, le signal d'ions provenant de l'ionisation par les photons ν_1 est fixe dans le spectre et celui issu de l'ionisation par le laser de sonde ν_2 se décale dans le spectre de masse par rapport au signal ν_1 , avec une différence de temps de vol égale au délai temporel appliqué entre les deux lasers. Le signal fixe correspond au signal 1C[ν_1], c'est-à-dire au processus l'IR2P-1C[ν_1]. Le signal qui se déplace peut être la

somme de différents processus suivant le délai appliqué. Si $\Delta t < 0$, il s'agit uniquement du signal $1C[\nu_2]$. Si $\Delta t > 0$ ce signal correspond aux contributions $1C[\nu_2]$ et $2C[\nu_1 + \nu_2]$ qui sont superposées. Si le délai temporel entre les deux lasers est nul, alors un seul signal d'ion est observé et est la somme des signaux $1C[\nu_1]$, $1C[\nu_2]$ et $2C[\nu_1 + \nu_2]$. Ainsi pour corriger les spectres de masse des composantes non utiles ($1C[\nu_1]$ et $1C[\nu_2]$), il faut tenir compte de ces considérations et décaler temporellement le spectre de masse de référence avec le délai adéquat, comme cela est expliqué dans la suite.

Fragments issus de l'ionisation $1C[\nu_1]$ et $1C[\nu_2]$

L'IR2P- $1C[\nu_1]$ sur NAPA A conduit à l'ion $\frac{m}{z} = 206$ (l'ion parent) et ne produit pas de fragments significatifs (fragments $< 1\%$). En revanche, l'ionisation à deux photons $1C[\nu_2]$ (non résonante donc) produit une quantité substantielle de fragments de $NAPA^+$: un fragment avec la masse 162 (= perte de 44 uma) ainsi que les masses 120, 106, 92 et 91 qui peuvent correspondre soit à des fragments de $NAPA^+$, soit à de l'ionisation non résonante de molécules produites par la désorption.

Dans tous les cas, le signal IR2P- $2C[\nu_1 + \nu_2]$ doit être débarrassé de ces signaux $1C$ pour être exploité et s'assurer que si des fragments sont observés, ils proviennent bien de l'interaction $\nu_1 + \nu_2$. Pour cela, et afin d'optimiser l'acquisition, un spectre de masse a été acquis où les deux lasers ν_1 et ν_2 sont injectés mais avec un délai temporel négatif ($\Delta t = -300$ ns ; laser de sonde en avance sur le laser de pompe). De cette manière, le spectre de masse comporte les contributions $1C[\nu_1]$ et $1C[\nu_2]$, sans que le signal $2C[\nu_1 + \nu_2]$ ne soit présent. Ce spectre $1C$ *hybride* a ensuite servi de référence pour corriger les spectres de masse.

Fragments issus de l'ionisation $2C[\nu_1 + \nu_2]$ à $\Delta t = 0$ ns

Le spectre de masse présenté sur la Figure E.1 a été obtenu en injectant les deux lasers ν_1 et ν_2 avec $\Delta t = 0$. Pour éliminer les composantes non utiles ($1C[\nu_1]$ et $1C[\nu_2]$), le spectre $1C$ *hybride* a été soustrait deux fois au signal : une fois sans décalage temporel pour supprimer la contribution $1C[\nu_1]$ et une autre fois avec un décalage de +300 ns pour corriger de la contribution $1C[\nu_2]$. De cette façon, les ions observés sur la Figure E.1 correspondent uniquement à l'ionisation IR2P- $2C[\nu_1 + \nu_2]$.

Le résultat (Figure E.1) montre un pic de masse principal à $\frac{m}{z} = 206$ assorti des masses fragment principales à 147, 162 et 106, correspondant respectivement pour les deux premières à la perte des masses 59 (CH_3-CONH_2 , partie *N*-terminale $+H$ de la chaîne principale) et 44 ($-CONH_2$, partie *C*-terminale de la chaîne principale). L'interprétation de la masse 106 est plus délicate car elle ne correspond pas à un fragment évident de $NAPA^+$; elle peut de plus correspondre au *para*-xylène ($CH_3-C_6H_4-CH_3$), présent comme impureté dans les tuyaux de l'expérience.

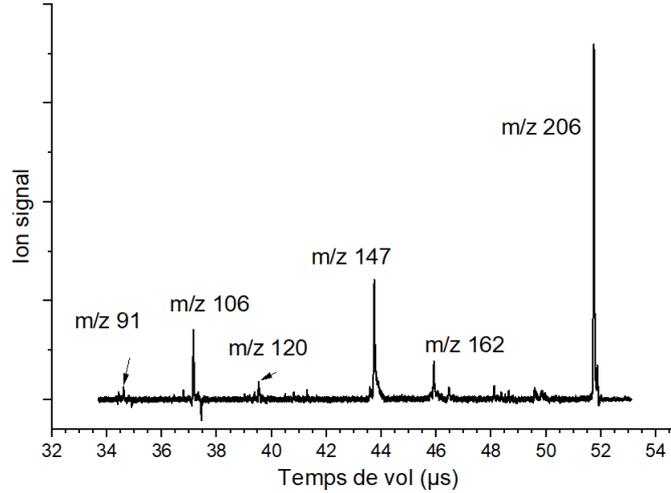


FIGURE E.1 – Spectre de temps de vol (la masse associée est indiquée à côté de chaque pic) montrant les fragmentations dues au processus d'IR2P-2C[$\nu_1 + \nu_2$] à Δt nul, après soustraction des contributions 1C[ν_1] et 1C[ν_2] (voir texte).

Fragments issus de l'ionisation 2C[$\nu_1 + \nu_2$] aux temps longs

Le but de ces différentes mesures est de chercher si une fragmentation depuis l'état triplet (donc intervenant dans le domaine temporel de la μs) est observée. Dans ce but, la présence d'un signal d'ions issus de la sonde ν_2 a été vérifiée pour différents délais Δt . Les deux graphes suivant (Figures E.2 et E.3) n'ont pas été corrigés de la composante 1C[ν_2]. Or, comme le signal d'ion formé par la sonde ν_2 peut provenir du processus d'ionisation à deux photons 1C[ν_2] et/ou du processus d'IR2P-2C [$\nu_1 + \nu_2$], il faut donc tenir compte de l'intensité du signal 1C[ν_2] dans les spectres

Les fragments de masse 147 et 162 La Figure E.2 montre l'évolution du signal d'ion des fragments 147 et 162 pour différents délais temporels. La courbe noire correspond au cas où seule la contribution 1C[ν_2] est présente ($\Delta t < 0$). Pour des délais entre 0 (courbe rouge) et 300 ns (courbe verte), le signal observé de ces fragments est dû aux processus d'ionisation 1C[ν_2] et 2C[$\nu_1 + \nu_2$]. Au delà de 400 ns, le signal de ces fragments est aussi élevé que le signal obtenu à délai négatif (courbe noire) et donc ne provient, à partir de ce délai, que du processus 1C[ν_2]. Ainsi, ces mesures montrent l'absence d'un signal 2C[$\nu_1 + \nu_2$] pour ces fragments aux grands délais imputables à la sonde de l'état triplet.

Le fragment de masse 106 Le signal d'ions issu de la sonde ν_2 aux temps longs a également été recherché sur la masse 106, correspondant à la masse du xylène. La même procédure que précédemment a été utilisée mais en plus, la part de signal $\frac{m}{z}=106$ venant de xylène présent dans l'appareillage a cherché à être estimée. Pour cela les mêmes mesures en absence de la désorption laser ont été réalisées (courbes en pointillé de la Figure E.3) et comparées aux mesures lorsque la désorption est en fonctionnement (courbes en trait plein).

Le graphe de la Figure E.3 montre ainsi qu'à $\Delta t = 0$ ns, une part non négligeable

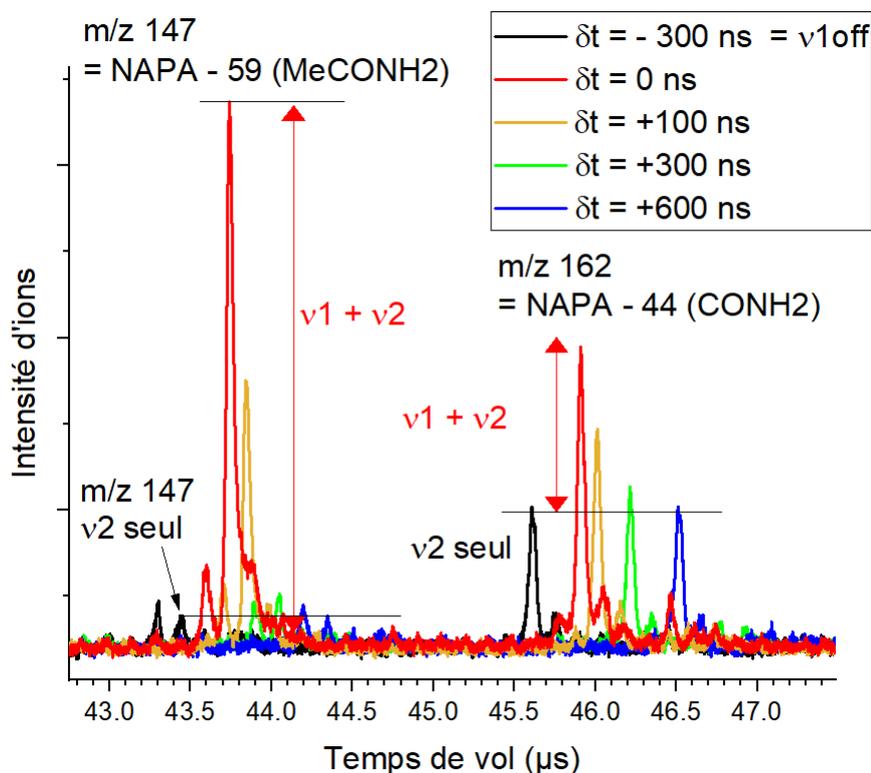


FIGURE E.2 – Portion du spectre de temps de vol, correspondant aux fragments $\frac{m}{z}=147$ et 162, obtenu pour divers délais Δt . Les spectres ayant été obtenus en déclenchant l’oscilloscope sur la première couleur ne se superposent pas temporellement. Au-delà de 400 ns le signal atteint le niveau correspondant à la seconde couleur seule ($1C[\nu_2]$; courbe noire), montrant l’absence de signal aux grands délais imputable à la sonde d’états triplets.

du signal d’ion lorsque la désorption est ON, provient du xylène présent dans l’enceinte (cf. comparaison des courbes rouges). De plus, lorsque l’on prend en compte l’intensité du signal $1C[\nu_2]$ quand la désorption est en fonctionnement (courbe noire) et celle du signal $1C[\nu_2]$ à 600 ns quand la désorption est coupée (courbe en pointillés bleus), il reste une petite partie du signal à $\Delta t = 600$ ns (courbe bleue) provenant du processus $2C[\nu_1 + \nu_2]$. Ce signal très faible correspond à environ 1 % du signal total d’ions. Le même constat est fait pour le délai à 300 ns. Ce signal aux temps longs pourrait avoir deux origines. Il pourrait s’agir de l’état triplet des molécules de xylène formées par la désorption laser ou bien de l’état triplet de NAPA. Ces mesures ne permettent pas d’exclure la première possibilité. Mais en tout état de cause, s’il s’agissait de fragments issus de l’excitation et de la sonde de NAPA, ce signal issu de l’état triplet de cette molécule serait au plus égal à 1 % du signal de sonde $\nu_1 + \nu_2$ à Δt nul. Cela n’expliquerait donc pas entièrement les résultats du Chapitre 3.

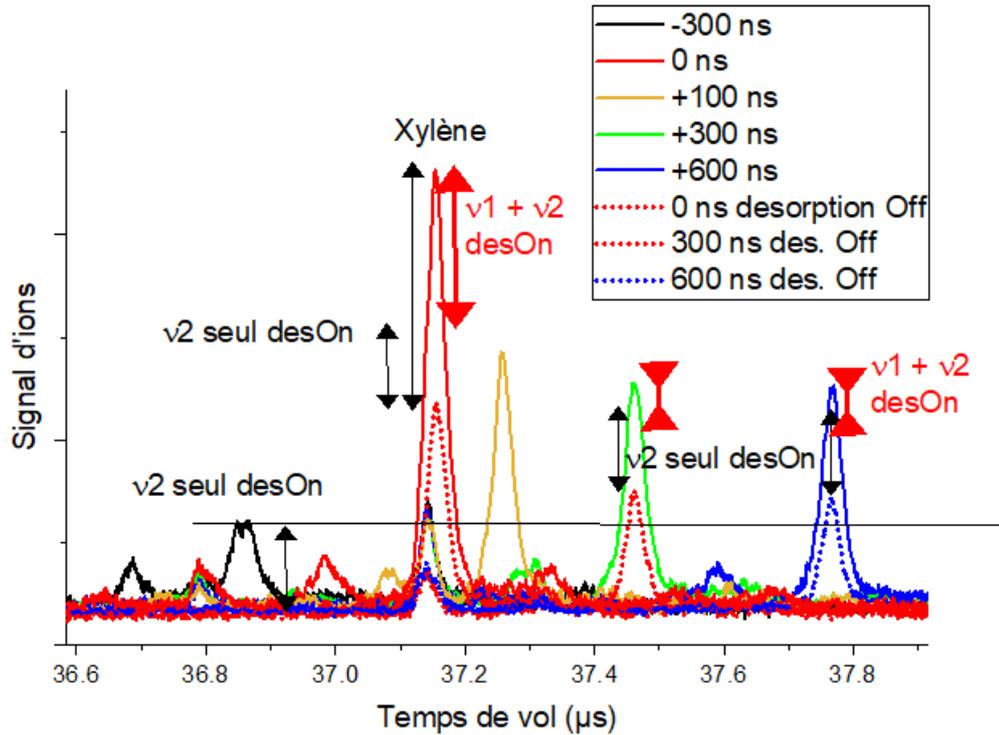


FIGURE E.3 – Portion du spectre de temps de vol, correspondant à la masse 106, obtenu pour divers délais Δt , en absence (traits pointillés) ou en présence (traits pleins) de la désorption laser. Les spectres ayant été obtenus en déclenchant l'oscilloscope sur la première couleur ne se superposent pas temporellement. Le signal pertinent pour l'interprétation de ces mesures, indiqué par les flèches rouges, correspond pour un délai Δt donné, au signal $2C[\nu_1 + \nu_2]$ avec désorption ON (traits pleins) moins le signal $2C[\nu_1 + \nu_2]$ désorption OFF (pointillés) moins le signal $1C[\nu_2]$ seul (courbe noire) ; ce dernier étant donné par le niveau du pic aux délais négatifs.

Annexe F

États excités de conformations remarquables de NAPMA, 3PPA et NPEA

DES calculs de chimie quantique à l'état excité ont été réalisés au laboratoire par Valérie Brenner. Les géométries des états excités et leurs fréquences harmoniques de vibration ont été obtenues au niveau CC2/cc-pVDZ. L'énergétique a été obtenue au niveau CC2/aug(N, O, π)-cc-pVDZ sur les structures CC2/cc-pVDZ (single point). Les détails du calcul sont donnés dans la référence [217]. L'incertitude absolue sur l'énergétique est estimée à 0,1 eV. Les calculs ont été réalisés pour les conformations A et B de NAPMA et pour les deux demi-NAPA, 3PPA et NPEA.

Dans les pages suivantes de la présente annexe, sont données pour chacune des molécules les énergies des structures des états triplets de nature différente ($\pi\pi^*$, $n\pi_{CO}^*$ et à transfert de charge) trouvées par les calculs ainsi que leur géométrie associée.

On notera les distorsions du cycle dans la triade des états triplets $T_1 - T_3$, ainsi que les distorsions des liaisons peptidiques dans les états localement excités sur les liaisons peptidiques $n\pi_{CO}^*$.

Dans les trois molécules, les fonds de puits des états triplets localement excités sur les liaisons peptidiques sont isoénergétiques de la triade des états triplets $\pi\pi^*$ (différences d'énergie de l'ordre de 0,1 eV), suggérant la possibilité de conversion interne par passage au travers d'une intersection conique.

ANNEXE F : ÉTATS EXCITÉS DE CONFORMATIONS REMARQUABLES DE NAPMA, 3PPA ET NPEA

	Conformation A			Conformation B	
	E (E_{S_0})	$E_{corrZPVE}$ (eV)		E (E_{S_0})	$E_{corrZPVE}$ (eV)
S_0	0 (0)	0	S_0	0 (0)	0
S_1	4,895 (0,180)	4,728	S_1	4,938 (0,165)	4,769
T_1	3,835 (0,988)	3,673	T_1	3,833 (1,673)	3,686
T_2	3,898 (2,250)	3,758	T_2	3,907 (2,221)	3,756
T_3	3,866 (2,301)	3,721	T_3	4,007 (2,484)	3,881
TMII	4,019 (1,797)	3,940	TMIIb	3,774 (2,387)	3,681
TMIII	3,953 (2,685)	3,873	TMIIc	3,782 (2,589)	3,689
			TMII f	3,890 (2,076)	3,797
			TMII a	3,839 (2,670)	3,746

TABLE F.1 – Énergétique des différents états pertinents de NAPMA A et B, au niveau CC2/aug(N,O, π)-cc-pVDZ//CC2/cc-pVDZ. Les valeurs entre parenthèses indiquent l'énergie de l'état fondamental dans la géométrie de l'état excité considéré.

	E (E_{S_0})	$E_{corrZPVE}$ (eV)
S_0	0 (0)	0
S_1	4,950 (0,159)	4,788
T_1	3,794 (1,720)	3,658
T_2	3,858 (2,334)	3,719
T_3	3,887 (2,426)	3,749
T'_1	3,922 (2,219)	3,785
T'_2	3,988 (2,308)	3,839
T'_3	3,988 (2,347)	3,839
$T_{n\pi^*co}$ (1)	4,030 (1,782)	3,942
$T_{n\pi^*co}$ (2)	3,910 (2,554)	3,822

TABLE F.2 – Énergétique des différents états pertinents de NPEA, au niveau CC2/aug(N,O, π)-cc-pVDZ//CC2/cc-pVDZ. Les valeurs entre parenthèses indiquent l'énergie de l'état fondamental dans la géométrie de l'état excité considéré.

NAPMA Conformation étendue(A)

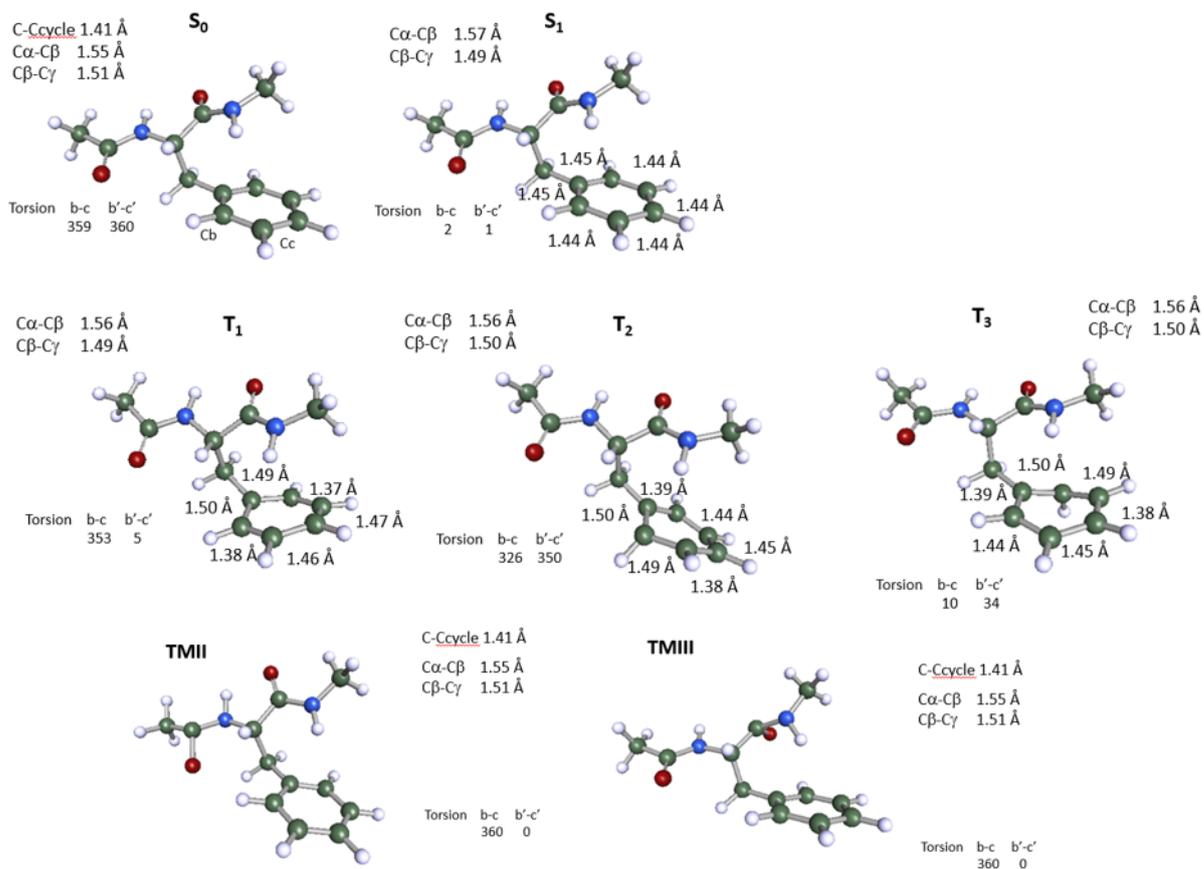


FIGURE F.1 – Structures des minima des divers états électroniques de NAPMA A. Première ligne : S_0 et S_1 . Deuxième ligne : triade d'états triplets $T(\pi\pi^*)$, notés T_1 - T_3 . Troisième ligne : états localement excités sur les liaisons peptidiques (mécanisme II de Malis *et al.* [13, 28]), sur la première et la deuxième liaison peptidique.

NAPMA Conformation repliée (B)

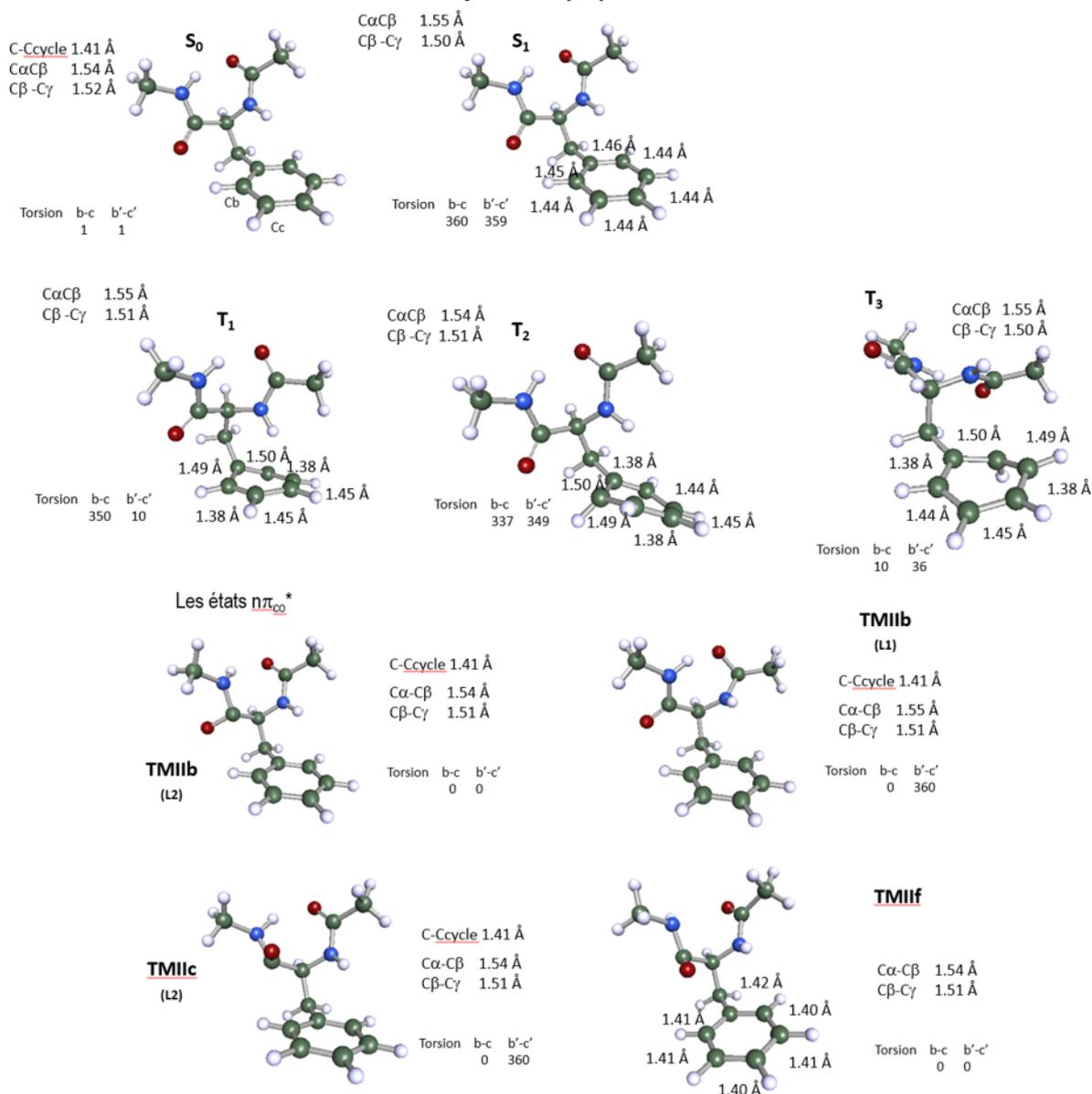


FIGURE F.2 – Structures des minima des divers états électroniques de NAPMA B. Première ligne : S₀ et S₁. Deuxième ligne : Triade d'états triplets T(ππ*), notés T₁-T₃. Troisième et quatrième ligne : états localement excités sur les liaisons peptidiques (mécanisme II de Malis *et al.* [13, 28]), sur la première et la deuxième liaison peptidique.

ANNEXE F : ÉTATS EXCITÉS DE CONFORMATIONS REMARQUABLES DE
NAPMA, 3PPA ET NPEA

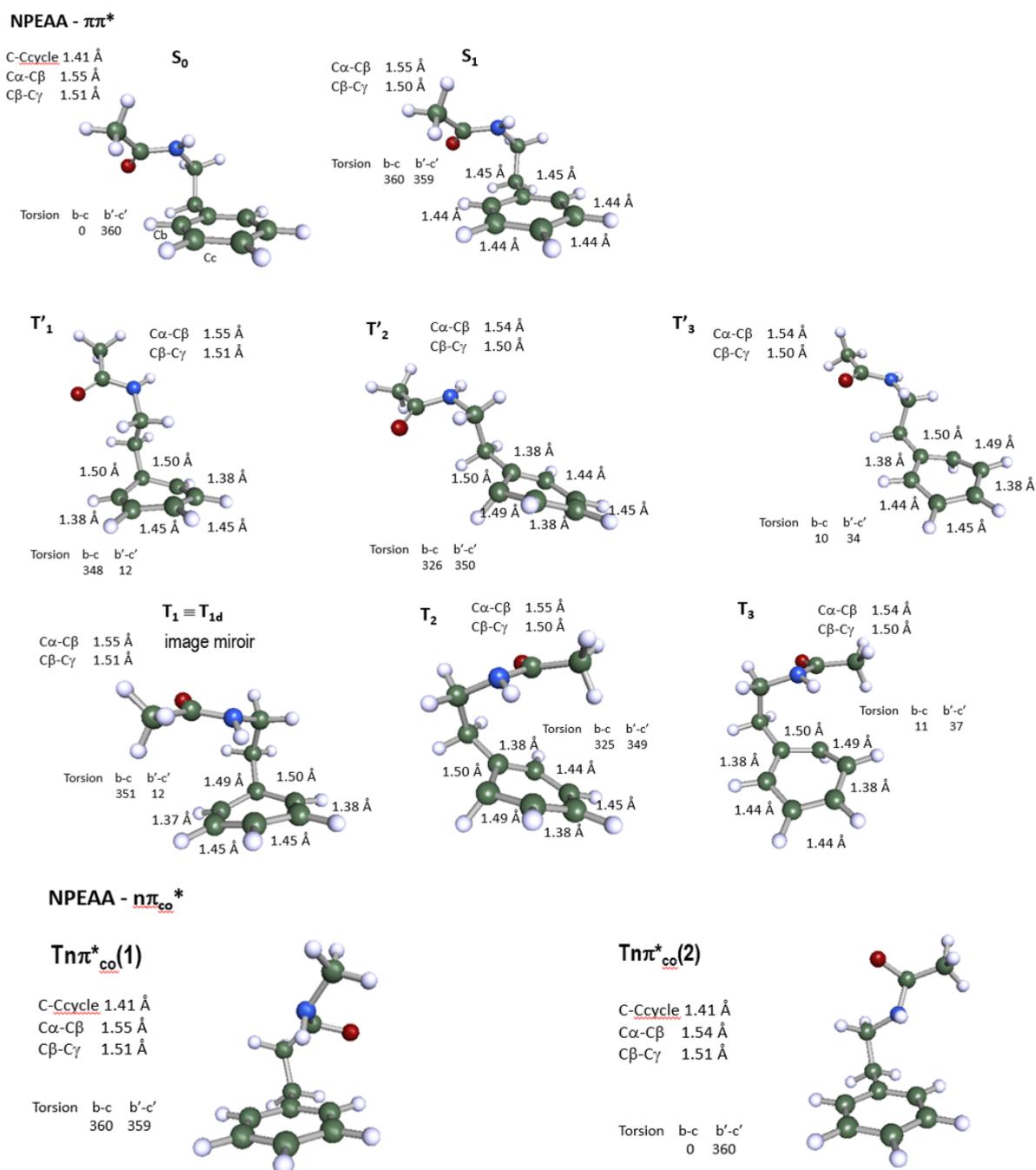


FIGURE F.3 – Structures des minima des divers états électroniques de NPEA. Première ligne : S₀ et S₁. Deuxième ligne : triade d'états triplets T($\pi\pi^*$), notés T'₁-T'₃, présentant une chaîne peptidique en position *anti*. Troisième ligne, triade d'états triplets T($\pi\pi^*$), notés T₁-T₃, présentant une chaîne peptidique en position *gauche*. Quatrième ligne : états localement excités sur les liaisons peptidiques (mécanisme II de Malis *et al.* [13, 28]).

ANNEXE F : ÉTATS EXCITÉS DE CONFORMATIONS REMARQUABLES DE
NAPMA, 3PPA ET NPEA

	E (E_{S0})	$E_{corrZPVE}$ (eV)		E (E_{S0})	$E_{corrZPVE}$ (eV)
S_0	0,112	0,096	S_{0g}	0	0
S_1	5,093 (0,270)	4,914	S_{1g}	4,947 (0,160)	4,783
T_1	3,926 (2,222)	3,783	T_{1g}	3,830 (2,087)	3,768
T_2	3,993 (2,339)	3,834	T_{2g}	3,862 (2,296)	3,723
T_3	3,918 (2,152)	3,780	T_{3g}	3,904 (2,369)	3,768
			$T_{n\pi_{co}^*}$ (1)	3,807 (2,105)	3,709
			$T_{n\pi_{co}^*}$ (2)	3,886 (2,198)	3,778
			$T_{n\pi_{co}^*}$ (3)	3,873 (2,242)	3,765
			$T_{n\pi_{co}^*}$ (4)	3,882 (1,830)	3,773

TABLE F.3 – Énergétique des différents états pertinents de 3PPA, au niveau CC2/aug(N,O, π)-cc-pVDZ//CC2/cc-pVDZ. Les valeurs entre parenthèses indiquent l'énergie de l'état fondamental dans la géométrie de l'état excité considéré.

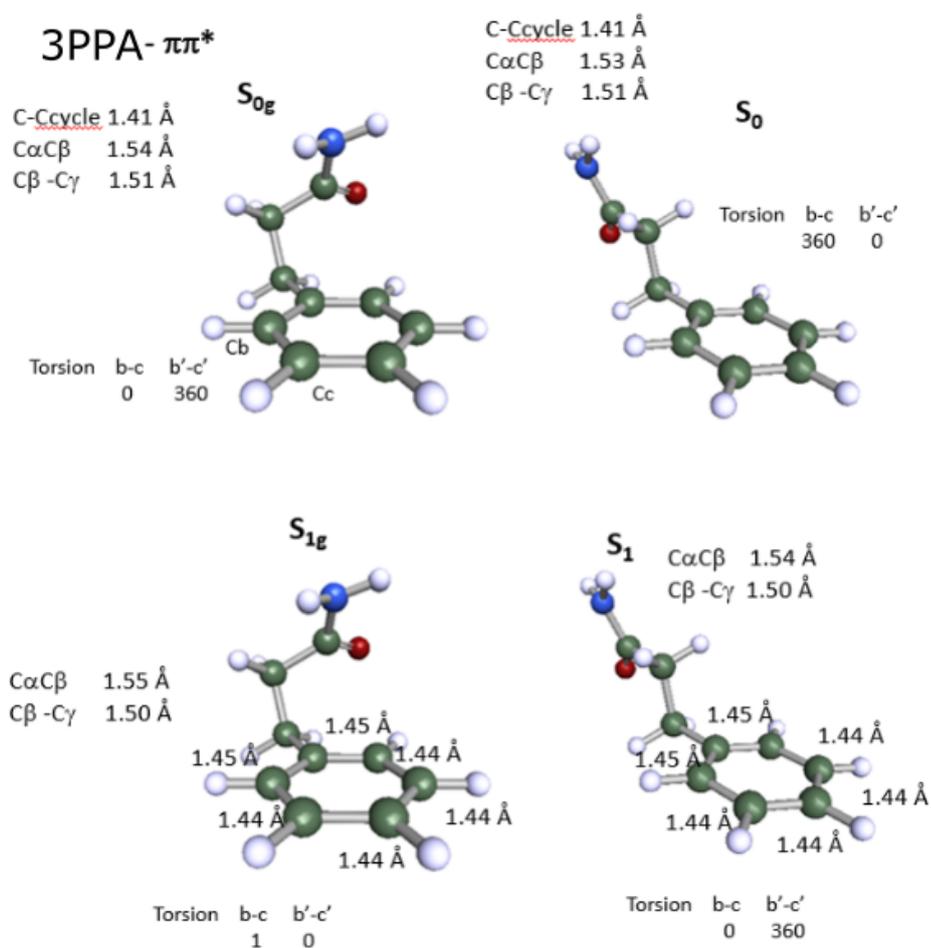


FIGURE F.4 – Structures des minima des divers états électroniques de 3PPA. Les indices *g* indiquent des chaînes latérales du cycle en conformation *gauche*. Première et deuxième ligne : S_0 et S_1 . Troisième à cinquième ligne (Figure F.5) : triade d'états triplets $T(\pi\pi^*)$, notés T_1 - T_3 , présentant une chaîne peptidique en position *anti* et notés T_{1g} - T_{3g} , présentant une chaîne peptidique en position *gauche*. Sixième et septième : états localement excités sur la liaison peptidique (mécanisme II de Malis *et al.* [13, 28]).

ANNEXE F : ÉTATS EXCITÉS DE CONFORMATIONS REMARQUABLES DE NAPMA, 3PPA ET NPEA

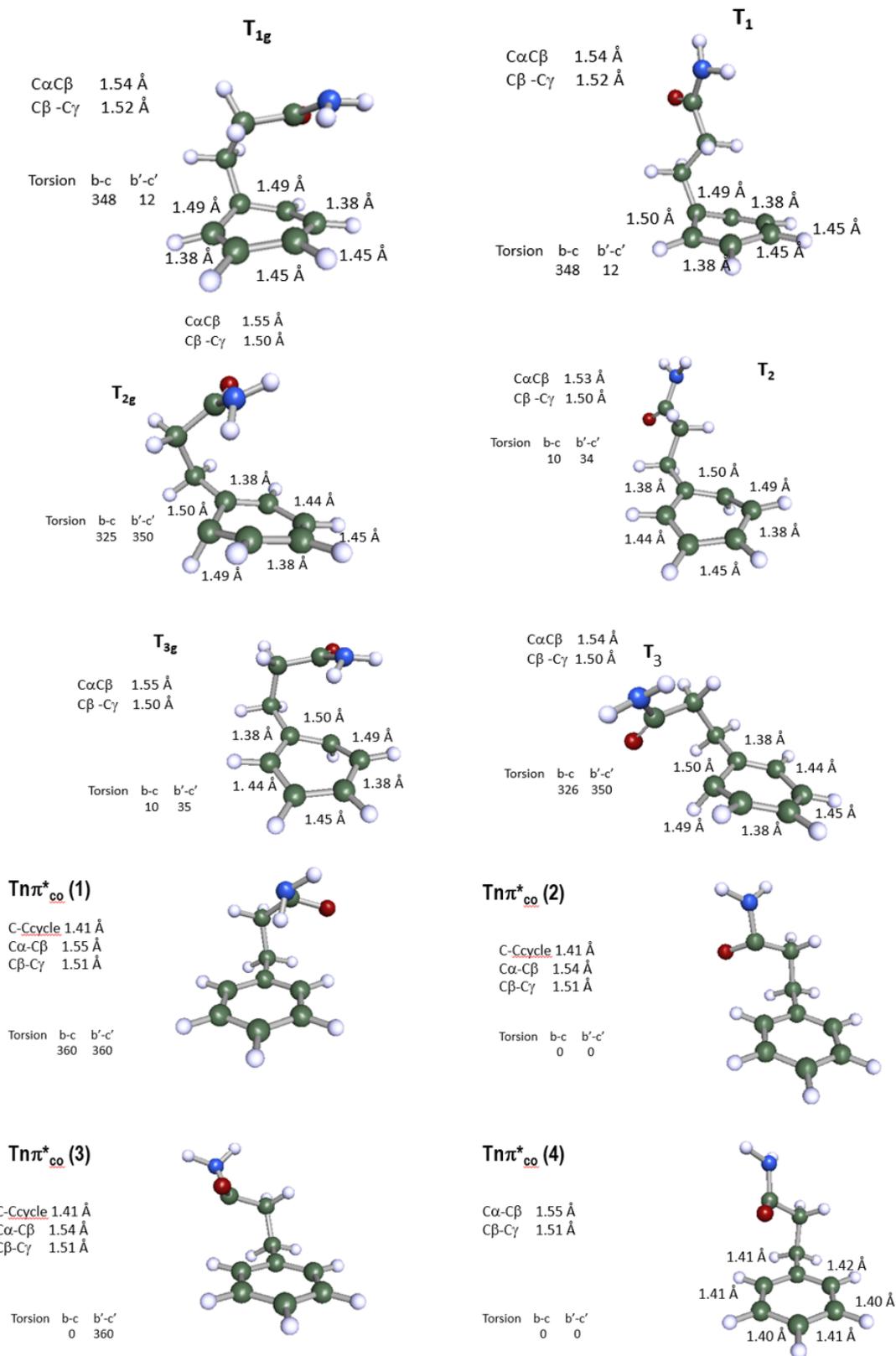


FIGURE F.5 – 3PPA suite - Même légende que la Figure F.4

Bibliographie

- [1] Y. Bordon. The many sides of Paul Ehrlich. *Nature Immunology*, 17(1) :S6–S6, 2016.
- [2] J. Koshland and E. Daniel. The key–lock theory and the induced fit theory. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 33(23-24) :2375–2378, 1995.
- [3] E. Gloaguen, M. Mons, K. Schwing, and M. Gerhards. Neutral peptides in the gas phase : conformation and aggregation issues. *Chemical Reviews*, 120(22) :12490–12562, 2020.
- [4] E. Vass, M. Hollósi, F ; Besson, and R. Buchet. Vibrational spectroscopic detection of β -and γ -turns in synthetic and natural peptides and proteins. *Chemical Reviews*, 103(5) :1917–1954, 2003.
- [5] H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov, and P. E. Bourne. The protein data bank, 2000. *Nucleic Acids Research*, 28 : 235-242.
- [6] C. M. Dobson. Protein misfolding, evolution and disease. *Trends in biochemical sciences*, 24(9) :329–332, 1999.
- [7] N. B. Bolshette, K. K. Thakur, A. P. Bidkar, C. Trandafir, P. Kumar, and R. Gogoi. Protein folding and misfolding in the neurodegenerative disorders : a review. *Revue neurologique*, 170(3) :151–161, 2014.
- [8] X. Yang, M. Wang, and M. C. Fitzgerald. Analysis of protein folding and function using backbone modified proteins. *Bioorganic chemistry*, 32(5) :438–449, 2004.
- [9] R. E. Blankenship. *Molecular mechanisms of photosynthesis*. John Wiley & Sons, 2021.
- [10] M. J. Davies and R. J. W. Truscott. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 63(1-3) :114–125, 2001.
- [11] J. D. Spikes and M. L. MacKnight. Dye-sensitized photooxidation of proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 171(1) :149–162, 1970.
- [12] T. Hashimoto, Y. Takasu, Y. Yamada, and T. Ebata. Anomalous conformer dependent S_1 lifetime of *L*-phenylalanine. *Chemical Physics Letters*, 421(1-3) :227–231, 2006.
- [13] M. Mališ, Y. Loquais, E. Gloaguen, H. S. Biswal, F. Piuizzi, B. Tardivel, V. Brenner, M. Broquier, C. Jouvet, M. Mons, N. Došlić, and I. Ljubić. Unraveling the mechanisms of nonradiative deactivation in model peptides following photoexcitation of a phenylalanine residue. *Journal of the American Chemical Society*, 134(50) :20340–20351, 2012.
- [14] Y. Loquais, E. Gloaguen, M. Alauddin, V. Brenner, B. Tardivel, and M. Mons. On the near UV photophysics of a phenylalanine residue : conformation-dependent $\pi\pi^*$ state deactivation revealed by laser spectroscopy of isolated neutral dipeptides. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16(40) :22192–22200, 2014.

- [15] Y. Inokuchi, Y. Kobayashi, T. Ito, and T. Ebata. Conformation of *L*-tyrosine studied by fluorescence-detected UV-UV and IR-UV Double-Resonance Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 111(17) :3209–3215, 2007.
- [16] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, and H. Krieg. A consistent and accurate *ab initio* parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H- π . *The Journal of Chemical Physics*, 132(15) :154104, 2010.
- [17] Y. C. Martin. Let's not forget tautomers. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 23(10) :693–704, 2009.
- [18] L. Antonov. *Tautomerism : methods and theories*. John Wiley & Sons, 2013.
- [19] A. R. Katritzky, C. D. Hall, B. El-D. M. El-Gendy, and B. Draghici. Tautomerism in drug discovery. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 24(6) :475–484, 2010.
- [20] H. Shi, B. Kang, and J. Y. Lee. Tautomeric effect of histidine on the monomeric structure of amyloid β -peptide (1–40). *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(44) :11405–11411, 2016.
- [21] M. Berenbrink. Evolution of vertebrate haemoglobins : histidine side chains, specific buffer value and bohr effect. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 154(1-2) :165–184, 2006.
- [22] S. Goyal, D. L. Schutt, and G. Scoles. Vibrational spectroscopy of sulfur hexafluoride attached to helium clusters. *Physical Review Letters*, 69(6) :933, 1992.
- [23] J. P. Toennies and A. F. Vilesov. Spectroscopy of atoms and molecules in liquid helium. *Annual Review of Physical Chemistry*, 49 :1–41, 1998.
- [24] J. P. Toennies and A. F. Vilesov. Superfluid helium droplets : A uniquely cold nanomatrix for molecules and molecular complexes. *Angewandte Chemie-International Edition*, 43(20) :2622–2648, 2004.
- [25] J. Cadet, S. Mouret, J.-L. Ravanat, and T. Douki. Photoinduced damage to cellular DNA : direct and photosensitized reactions. *Photochemistry and Photobiology*, 88(5) :1048–1065, 2012.
- [26] M. Barbatti, A. C. Borin, and S. Ullrich. *Photoinduced Phenomena in Nucleic Acids*, volume 355. Springer, 2015.
- [27] C. Baudouin, M. Charveron, R. Tarroux, and Y. Gall. Environmental pollutants and skin cancer. *Cell Biology and Toxicology*, 18(5) :341–348, 2002.
- [28] M. Mališ, Y. Loquais, E. Gloaguen, C. Jouvét, V. Brenner, M. Mons, I. Ljubič, and N. Došlic. Non-radiative relaxation of UV photoexcited phenylalanine residues : probing the role of conical intersections by chemical substitution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16(6) :2285–2288, 2014.
- [29] G. Grégoire, B. Lucas, M. Barat, J. A. Fayeton, C. Dedonder-Lardeux, and C. Jouvét. UV photoinduced dynamics in protonated aromatic amino acid. *The European Physical Journal D*, 51(1) :109–116, 2009.
- [30] S. Soorkia, C. Jouvét, and G. Grégoire. UV photoinduced dynamics of conformer-resolved aromatic peptides. *Chemical Reviews*, 120(7) :3296–3327, 2020.
- [31] C. E. Crespo-Hernández, B. Cohen, P. M. Hare, and B. Kohler. Ultrafast excited-state dynamics in nucleic acids. *Chemical Reviews*, 104(4) :1977–2020, 2004.
- [32] N. J. Turro. The triplet state. *Journal of Chemical Education*, 46(1) :2, 1969.
- [33] M. A. El-Sayed. Triplet state. Its radiative and nonradiative properties. *Accounts of Chemical Research*, 1(1) :8–16, 1968.

- [34] S. K. Lower and M. A. El-Sayed. The triplet state and molecular electronic processes in organic molecules. *Chemical Reviews*, 66(2) :199–241, 1966.
- [35] S. P. McGlynn, T. Azumi, and M. Kinoshita. *Molecular spectroscopy of the triplet state*. Prentice-Hall, Inc., 1969.
- [36] G. N. Lewis and M. Kasha. Phosphorescence and the triplet state. *Journal of the American Chemical Society*, 66(12) :2100–2116, 1944.
- [37] P.-S. Song and W. H. Gordon III. Spectroscopic study of the excited states of coumarin. *The Journal of Physical Chemistry*, 74(24) :4234–4240, 1970.
- [38] C. M. Marian. Spin-orbit coupling and intersystem crossing in molecules. *Wiley Interdisciplinary Reviews : Computational Molecular Science*, 2(2) :187–203, 2012.
- [39] T. J. Penfold, E. Gindensperger, C. Daniel, and C. M. Marian. Spin-vibronic mechanism for intersystem crossing. *Chemical Reviews*, 118(15) :6975–7025, 2018.
- [40] C. E. Otis, J. L. Knee, and P. M. Johnson. Nonradiative processes in the channel three region of the S_1 state of ultracold benzene. *Journal of Physical Chemistry*, 87(12) :2232–2239, 1983.
- [41] T. G. Dietz, M. A. Duncan, and R. E. Smalley. Time evolution studies of triplet toluene by two-color photoionization. *Journal of Physical Chemistry*, 76(3) :1227–1232, 1982.
- [42] C. G. Hickman, J. R. Gascooke, and W. D. Lawrance. The S_1 - S_0 (1B_2 - 1A_1) transition of jet-cooled toluene : Excitation and dispersed fluorescence spectra, fluorescence lifetimes, and intramolecular vibrational energy redistribution. *Journal of Chemical Physics*, 104(13) :4887–4901, 1996.
- [43] T. L. Poulos. Heme enzyme structure and function. *Chemical Reviews*, 114(7) :3919–3962, 2014.
- [44] N. Shafizadeh, M. E. Crestoni, A. de la Lande, and B. Soep. Heme ligation in the gas phase. *International Reviews in Physical Chemistry*, 40(3) :365–404, 2021.
- [45] P. Krishnamurthy, T. Xie, and J. D. Schuetz. The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis. *Pharmacology & Therapeutics*, 114(3) :345–358, 2007.
- [46] I. Fleming. Absolute configuration and the structure of chlorophyll. *Nature*, 216(5111) :151–152, 1967.
- [47] G. R. Seely. The energetics of electron-transfer reactions of chlorophyll and other compounds. *Photochemistry and Photobiology*, 27(5) :639–654, 1978.
- [48] S. Sorgues, L. Poisson, K. Raffael, L. Krim, B. Soep, and N. Shafizadeh. Femto-second electronic relaxation of excited metalloporphyrins in the gas phase. *The Journal of Chemical Physics*, 124(11) :114302, 2006.
- [49] M.-H. Ha-Thi, N. Shafizadeh, L. Poisson, and B. Soep. An efficient indirect mechanism for the ultrafast intersystem crossing in copper porphyrins. *The Journal of Physical Chemistry A*, 117(34) :8111–8118, 2013.
- [50] E. Gloaguen, H. Valdes, F. Pagliarulo, R. Pollet, B. Tardivel, P. Hobza, F. Piuze, and M. Mons. Experimental and theoretical investigation of the aromatic-aromatic interaction in isolated capped dipeptides. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114(9) :2973–2982, 2010.
- [51] A. M. Rijs and J. Oomens. *Gas-phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules*, volume 364. Springer, 2015.
- [52] W. Radloff, T. Freudenberg, H. H. Ritze, V. Stert, F. Noack, and I. V. Hertel. Lifetime of the benzene dimer in the S_2 electronic state. *Chemical Physics Letters*, 261(3) :301–306, 1996.

- [53] M. A. Duncan, T. G. Dietz, M. G. Liverman, and R. E. Smalley. Photo-ionization measurement of the triplet lifetime of benzene. *Journal of Physical Chemistry*, 85(1) :7–9, 1981.
- [54] C. E. Otis, J. L. Knee, and P. M. Johnson. The identification of channel 3 in isolated benzene. *Journal of Chemical Physics*, 78(4) :2091–2092, 1983.
- [55] A. Kantrowitz and J. Grey. A high intensity source for the molecular beam. Part I. Theoretical. *Review of Scientific Instruments*, 22(5) :328–332, 1951.
- [56] R. E. Smalley, L. Wharton, and D. H. Levy. Molecular optical spectroscopy with supersonic beams and jets. *Accounts of Chemical Research*, 10(4) :139–145, 1977.
- [57] G. Scoles, D. Bassi, U. Buck, and D. Laine. *Atomic and Molecular Beam Methods*, volume 1. Oxford University Press New York, 1988.
- [58] G. Meijer, M. S. De Vries, H. E. Hunziker, and H. R. Wendt. Laser desorption jet-cooling of organic molecules. *Applied Physics B*, 51(6) :395–403, 1990.
- [59] J. Deckers and J. B. Fenn. High intensity molecular beam apparatus. *Review of Scientific Instruments*, 34(1) :96–100, 1963.
- [60] R. Campargue. High intensity supersonic molecular beam apparatus. *Review of Scientific Instruments*, 35(1) :111–, 1964.
- [61] R. Campargue. Progress in overexpanded supersonic jets and skimmed molecular-beams in free-jet zones of silence. *Journal of Physical Chemistry*, 88(20) :4466–4474, 1984.
- [62] F. Grollau, C. Pothier, M.-A. Gaveau, M. Briant, N. Shafizadeh, and B. Soep. Action spectroscopy of spin forbidden states in the gas phase : A powerful probe for large non-luminescent molecules. *Journal of Chemical Physics*, 152(14), 2020.
- [63] J. Grotemeyer and E. W. Schlag. Biomolecules in the gas phase : multiphoton ionization mass spectrometry. *Accounts of Chemical Research*, 22(11) :399–406, 1989.
- [64] S. A. Darke and J. F. Tyson. Interaction of laser radiation with solid materials and its significance to analytical spectrometry. A review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8(2) :145–209, 1993.
- [65] F. Piuze, I. Dimicoli, M. Mons, B. Tardivel, and Q. Zhao. A simple laser vaporization source for thermally fragile molecules coupled to a supersonic expansion : application to the spectroscopy of tryptophan. *Chemical Physics Letters*, 320(3-4) :282–288, 2000.
- [66] W. C. Wiley and I. H. McLaren. Time-of-flight mass spectrometer with improved resolution. *Review of Scientific Instruments*, 26(12) :1150–1157, 1955.
- [67] B. A. Mamyurin. Time-of-flight mass spectrometry (concepts, achievements, and prospects). *International Journal of Mass Spectrometry*, 206(3) :251–266, 2001.
- [68] B. A. Mamyurin, V. I. Karataev, D. V. Shmikk, and V. A. Zagulin. Mass-reflectron a new nonmagnetic time-of-flight high-resolution mass-spectrometer. *Zhurnal Eksperimentalnoi I Teoreticheskoi Fiziki*, 64(1) :82–89, 1973.
- [69] National Instruments. Système de développement professionnel de labview ; [http : //www.ni.com/labview/](http://www.ni.com/labview/).
- [70] E. Gloaguen, C. Sanz Sanz, M. Collier, M.-A. Gaveau, B. Soep, O. Roncero, and J.-M. Mestdagh. Transition-state spectroscopy of the photoinduced Ca+CH₃F reaction. 3. Reaction following the local excitation to Ca (⁴s³d¹d). *The Journal of Physical Chemistry A*, 112(7) :1408–1420, 2008.

- [71] S. Soorkia, C. Pothier, J. M. Mestdagh, B. Soep, and J. Liévin. Reactions of laser-ablated zirconium atoms within a supersonic expansion : insertion versus radical mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114(18) :5655–5665, 2010.
- [72] E.W. Becker, R. Klingelhöfer, and P. Lohse. Strahlen aus kondensiertem Helium im Hochvakuum. *Zeitschrift für Naturforschung A.*, 16(11) :1259–1259, 1961.
- [73] J. P. Toennies, A. F. Vilesov, and K. B. Whaley. Superfluid helium droplets : An ultracold nanolaboratory. *Physics Today*, 54(2) :31–37, 2001.
- [74] F. Stienkemeier and K. K. Lehmann. Spectroscopy and dynamics in helium nanodroplets. *Journal of Physics B-Atomic Molecular and Optical Physics*, 39(8) :R127–R166, 2006.
- [75] A. Mauracher, O. Echt, A. M. Ellis, S. Yang, D.K. Bohme, J. Postler, A. Kaiser, S. Denifl, and P. Scheier. Cold physics and chemistry : collisions, ionization and reactions inside helium nanodroplets close to 0K. *Physics Reports*, 751 :1–90, 2018.
- [76] F. Luo, G. C. McBane, G. Kim, C. F. Giese, and W. R. Gentry. The weakest bond : Experimental observation of helium dimer. *The Journal of Chemical Physics*, 98(4) :3564–3567, 1993.
- [77] R. E. Grisenti, W. Schollkopf, J. P. Toennies, G. C. Hegerfeldt, T. Kohler, and M. Stoll. Determination of the bond length and binding energy of the helium dimer by diffraction from a transmission grating. *Physical Review Letters*, 85(11) :2284–2287, 2000.
- [78] AirLiquide - <https://encyclopedia.airliquide.com/>.
- [79] G. T. Pullen, P. R. Franke, Y.-P. Lee, and G. E. Douberly. Infrared spectroscopy of propene in solid para-hydrogen and helium droplets : The role of matrix shifts in the analysis of anharmonic resonances. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 354 :7–14, 2018.
- [80] M. Hartmann, R. E. Miller, J. P. Toennies, and A. Vilesov. Rotationally resolved spectroscopy of SF₆ in liquid-helium clusters - A molecular probe of cluster temperature. *Physical Review Letters*, 75(8) :1566–1569, 1995.
- [81] C. E. Klots. Temperatures of evaporating clusters. *Nature*, 327(6119) :222–223, 1987.
- [82] J. Farges, M.F. De Feraudy, B. Raoult, and G. Torchet. Noncrystalline structure of argon clusters. I. Polyicosahedral structure of Ar N clusters, 20 < N < 50. *The Journal of Chemical Physics*, 78(8) :5067–5080, 1983.
- [83] M. Hartmann, J. P. Toennies, A. F. Vilesov, and G. Benedek. Spectroscopic evidence for superfluidity in liquid He droplets. *Czechoslovak Journal of Physics*, 46 :2951–2956, 1996.
- [84] K. von Haeften, T. Laarmann, H. Wabnitz, T. Moller, and K. Fink. Size and isotope effects of helium clusters and droplets : Identification of surface and bulk-volume excitations. *Journal of Physical Chemistry A*, 115(25) :7316–7326, 2011.
- [85] S. A. Chin and E. Krotscheck. Systematics of pure and doped He₄ clusters. *Physical Review B*, 52(14) :10405–10428, 1995.
- [86] A. Courty, M. Mons, I. Dimicoli, F. Piuze, V. Brenner, and P. Millié. Ionization, energetics, and geometry of the phenol-S complexes (S= H₂O, CH₃OH, and CH₃OCH₃). *The Journal of Physical Chemistry A*, 102(25) :4890–4898, 1998.
- [87] M. Briant, E. Mengesha, P. de Pujo, M. A. Gaveau, B. Soep, J. M. Mestdagh, and L. Poisson. Large amplitude motion of the acetylene molecule within acetylene-neon complexes hosted in helium droplets. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(24) :16414–16422, 2016.

- [88] T. E. Gough, M. Mengel, P. A. Rowntree, and G. Scoles. Infrared-spectroscopy at the surface of clusters - SF₆ on Ar. *Journal of Chemical Physics*, 83(10) :4958–4961, 1985.
- [89] R. M. P. Tanyag, Al. J. Feinberg, S. M. O’Connell, and A. F. Vilesov. Disintegration of diminutive liquid helium jets in vacuum. *The Journal of Chemical Physics*, 152(23) :234306, 2020.
- [90] O. F. Hagena. Nucleation and growth of clusters in expanding nozzle flows. *Surface Science*, 106(1-3) :101–116, 1981.
- [91] G. Torchet, J. Farges, M. F. De Feraudy, and B. Raoult. Structural study of CH₄, CO₂ and H₂O clusters containing from several tens to several thousands of molecules. *Annales de Physique*, 14(2) :245–260, 1989.
- [92] J. W. Brady, J. D. Doll, and D. L. Thompson. Cluster dynamics - a classical trajectory study of $A_N^* \rightarrow A_N^{-1} + A$. *Journal of Chemical Physics*, 74(2) :1026–1028, 1981.
- [93] G. L. Griffin and R. P. Andres. Microscopic capillarity approximation - free-energies of small clusters. *Journal of Chemical Physics*, 71(6) :2522–2530, 1979.
- [94] M. R. Hoare, P. Pal, and P. P. Wegener. Argon clusters and homogeneous nucleation - comparison of experiment and theory. *Journal of Colloid and Interface Science*, 75(1) :126–137, 1980.
- [95] M. Rao, B. J. Berne, and M. H. Kalos. Computer simulation of the nucleation and thermodynamics of microclusters. *The Journal of Chemical Physics*, 68(4) :1325–1336, 1978.
- [96] V. Vinš, J. Hrubý, and B. Planková. Droplet and bubble nucleation modeled by density gradient theory–cubic equation of state versus soft model. In *EPJ Web of Conferences*, volume 25, page 02028. EDP Sciences.
- [97] O. F. Hagena and W. Obert. Cluster formation in expanding supersonic jets - effect of pressure, temperature, nozzle size, and test gas. *Journal of Chemical Physics*, 56(5) :1793–, 1972.
- [98] Bernhard Schilling. *Molekularstrahlexperimente mit Helium-Clustern*. PhD thesis, Max-Planck-Inst. für Strömungsforschung, 1993.
- [99] J. Vigué, P. Labastie, and F. Calvo. Evidence for N^{1/3} dependence of the sticking cross-section of atoms on small and medium-size van der Waals clusters. *European Physical Journal D*, 8(2) :265–272, 2000.
- [100] G. D. Stein. Cluster beam sources - predictions and limitations of the nucleation theory. *Surface Science*, 156 :44–56, 1985.
- [101] C. E. Klots. Entropy production in sonic-nozzle expansions. *Chemical Physics Letters*, 118(2) :186–187, 1985.
- [102] C. E. Klots. Enthalpy conversion in sonic-nozzle expansions. *Chemical Physics Letters*, 137(4) :353–354, 1987.
- [103] J. M. Mestdagh, M. A. Gaveau, C. Gee, O. Sublemontier, and J. P. Visticot. Cluster isolated chemical reactions. *International Reviews in Physical Chemistry*, 16(2) :215–247, 1997.
- [104] A. Scheidemann, J. P. Toennies, and J. A. Northby. Capture of Neon atoms by He₄ clusters. *Physical Review Letters*, 64(16) :1899, 1990.
- [105] M. Lewerenz, B. Schilling, and J. P. Toennies. Successive capture and coagulation of atoms and molecules to small clusters in large liquid-helium clusters. *Journal of Chemical Physics*, 102(20) :8191–8207, 1995.
- [106] Inc. WaveMetrics. Igor pro ; <https://www.wavemetrics.com/>, 1998-2018.

-
- [107] P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous electron gas. *Physical Review*, 136(3B) :B864, 1964.
- [108] W. Kohn and L. J. Sham. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Review*, 140(4A) :A1133, 1965.
- [109] R. G. Parr. Density Functional Theory. *Annual Review of Physical Chemistry*, 34(1) :631–656, 1983.
- [110] S. Grimme. Accurate description of van der waals complexes by density functional theory including empirical corrections. *Journal of Computational Chemistry*, 25(12) :1463–1473, 2004.
- [111] C. Morgado, M. A. Vincent, I. H. Hillier, and X. Shan. Can the DFT-D method describe the full range of noncovalent interactions found in large biomolecules? *Physical Chemistry Chemical Physics*, 9(4) :448–451, 2007.
- [112] Y. Bouteiller, J.C. Pouilly, C. Desfrancois, and G. Grégoire. Evaluation of MP2, DFT, and DFT-D methods for the prediction of infrared spectra of peptides. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113(22) :6301–6307, 2009.
- [113] S. Grimme. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. *Journal of Computational Chemistry*, 27(15) :1787–1799, 2006.
- [114] D. Rappoport and F. Furche. Property-optimized gaussian basis sets for molecular response calculations. *The Journal of Chemical Physics*, 133(13) :134105, 2010.
- [115] M. Sierka, A. Hogekamp, and R. Ahlrichs. Fast evaluation of the Coulomb potential for electron densities using multipole accelerated resolution of identity approximation. *The Journal of Chemical Physics*, 118(20) :9136–9148, 2003.
- [116] A development of University of Karlsruhe and Forschungszentrum Karlsruhe GmbH. Turbomole; <http://www.turbomole.com>, 1989-2007.
- [117] E. Gloaguen, B. De Courcy, J.-P. Piquemal, J. Pilmé, O. Parisel, R. Pollet, H.S. Biswal, F. Piuizzi, B. Tardivel, and M. Broquier. Gas-phase folding of a two-residue model peptide chain : on the importance of an interplay between experiment and theory. *Journal of the American Chemical Society*, 132(34) :11860–11863, 2010.
- [118] M. A. S. Hass, D. F. Hansen, H. E. M. Christensen, J. J. Led, and L. E. Kay. Characterization of conformational exchange of a histidine side chain : Protonation, rotamerization, and tautomerization of his61 in plastocyanin from *anabaena variabilis*. *Journal of the American Chemical Society*, 130(26) :8460–8470, 2008.
- [119] W. W. Cleland and M. M. Kreevoy. Low-barrier hydrogen-bonds and enzymatic catalysis. *Science*, 264(5167) :1887–1890, 1994.
- [120] P. A. Frey, S. A. Whitt, and J. B. Tobin. A low-barrier hydrogen-bond in the catalytic triad of serine proteases. *Science*, 264(5167) :1927–1930, 1994.
- [121] M. Charton. Electrical effects of ortho substituents in imidazoles and benzimidazoles. *Journal of Organic Chemistry*, 30(10) :3346–, 1965.
- [122] W. F. Reynolds, I. R. Peat, M. H. Freedman, and J. R. Lyerla. Determination of tautomeric form of imidazole ring of l-histidine in basic solution by ^{13}C magnetic-resonance spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 95(2) :328–331, 1973.
- [123] E. Bergmann and A. Pullman. *Molecular and Quantum Pharmacology : Proceedings of the Seventh Jerusalem Symposium on Quantum Chemistry and Biochemistry Held in Jerusalem, March 31st–April 4th, 1974*, volume 7. Springer Science & Business Media, 2012.

- [124] E. P. Papadopoulos and U. Hollstein. ^{13}C NMR-studies of tautomerism in some 2-substituted imidazoles and benzimidazoles. *Organic Magnetic Resonance*, 19(4) :188–191, 1982.
- [125] E. Pedroso, A. Grandas, M. D. Ludevid, and E. Giralt. Determination of the preferred tautomeric form of 4-nitrohistidine. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 23(3) :921–924, 1986.
- [126] S. Bhattacharya, S. F. Sukits, K. L. MacLaughlin, and J. T. J. Lecomte. The tautomeric state of histidines in myoglobin. *Biophysical Journal*, 73(6) :3230–3240, 1997.
- [127] M. Kurzepa, J. C. Dobrowolski, and A. P. Mazurek. Theoretical studies on tautomerism and ir spectra of C-5 substituted imidazoles. *Journal of Molecular Structure*, 565 :107–113, 2001.
- [128] R. M. Claramunt, M. D. Santa Maria, L. Infantes, F. H. Cano, and J. Elguero. The annular tautomerism of 4(5)-phenylimidazole. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, (3) :564–568, 2002.
- [129] F. Milletti, L. Storchi, G. Sforna, S. Cross, and G. Cruciani. Tautomer enumeration and stability prediction for virtual screening on large chemical databases. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(1) :68–75, 2009.
- [130] J. A. Vila, Y. A. Arnautova, Y. Vorobjev, and H. A. Scheraga. Assessing the fractions of tautomeric forms of the imidazole ring of histidine in proteins as a function of pH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(14) :5602–5607, 2011.
- [131] J. Catalán and J. Elguero. Basicity of azoles. Part 2. Theoretical study of the basicity of methylpyrazoles and methylimidazoles. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (9) :1869–1874, 1983.
- [132] M. Y. Choi and R. E. Miller. Four tautomers of isolated guanine from infrared laser spectroscopy in helium nanodroplets. *Journal of the American Chemical Society*, 128(22) :7320–7328, 2006.
- [133] W. Y. Sohn, S. Habka, E. Gloaguen, and M. Mons. Unifying the microscopic picture of His-containing turns : from gas phase model peptides to crystallized proteins. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(26) :17128–17142, 2017.
- [134] G. S. Li, M. F. Ruiz-Lopez, M. S. Zhang, and B. Maigret. Ab initio calculations of tautomer equilibrium and protonation enthalpy of 4- and 5-methylimidazole in the gas phase : basis set and correlation effects. *Theochem-Journal of Molecular Structure*, 422 :197–204, 1998.
- [135] M. Y. Choi and R. E. Miller. Infrared laser spectroscopy of imidazole complexes in helium nanodroplets : Monomer, dimer, and binary water complexes. *Journal of Physical Chemistry A*, 110(30) :9344–9351, 2006.
- [136] M. Y. Choi and R. E. Miller. Imidazole dimer and its water complexes formed in superfluid helium nanodroplets : Infrared spectroscopic studies of free oh vibrational stretching modes. *Chemical Physics Letters*, 477(4–6) :276–280, 2009.
- [137] A. Ahn, S. J. Lee, S. Lee, A. Min, Y. Kim, H. J. Jung, S. M. Hong, J. H. Lee, M. Y. Choi, and R. E. Miller. Imidazole trimer-water complexes in superfluid helium nanodroplets : Water stretching modes. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(4) :1407–1410, 2011.
- [138] Y. Kwon, P. Huang, M. V. Patel, D. Blume, and K. B. Whaley. Quantum solvation and molecular rotations in superfluid helium clusters. *The Journal of Chemical Physics*, 113(16) :6469–6501, 2000.
- [139] R. E. Zillich, Y. Kwon, and K. B. Whaley. Roton-rotation coupling of acetylene in ^4He . *Physical Review Letters*, 93(25) :250401, 2004.

- [140] R. E. Zillich, F. Paesani, Y. Kwon, and K. B. Whaley. Path integral methods for rotating molecules in superfluids. *Journal of Chemical Physics*, 123(11) :114301, 2005.
- [141] R. J. Donnelly and P. H. Roberts. A theory of temperature-dependent energy levels : Thermodynamic properties of He II. *Journal of Low Temperature Physics*, 27(5) :687–736, 1977.
- [142] O. Bünermann and F. Stienkemeier. Modeling the formation of alkali clusters attached to helium nanodroplets and the abundance of high-spin states. *The European Physical Journal D*, 61(3) :645–655, 2011.
- [143] A. Gutiérrez-Quintanilla, M. Briant, E. Mengesha, M.-A. Gaveau, J.-M. Mestdagh, B. Soep, C. Crépin, and L. Poisson. A HELium NanoDroplet Isolation (HENDI) investigation of the weak hydrogen bonding in the propyne dimer (CH₃CCH)₂. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20(45) :28658–28666, 2018.
- [144] F. L. Pyman. CCCXV—orientation of the 1 : 4- and 1 : 5-dimethylglyoxalines. Mode of fission of 5-aminoglyoxalines. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 121 :2616–2626, 1922.
- [145] R. E. Wasylishen and G. Tomlinson. Applications of long-range ¹³C, H nuclear spin-spin coupling constants in the study of imidazole tautomerism in *L*-histidine, histamine, and related compounds. *Canadian journal of biochemistry*, 55(5) :579–582, 1977.
- [146] I. I. Schuster and J. D. Roberts. ¹⁵N nuclear magnetic-resonance spectroscopy - effects of hydrogen-bonding and protonation on nitrogen chemical-shifts in imidazoles. *Journal of Organic Chemistry*, 44(22) :3864–3867, 1979.
- [147] G. A. Worth, P. M. King, and W. G. Richards. Theoretical calculation of tautomer equilibria in solution 4(5)-Methylimidazole. *Biochimica et Biophysica Acta*, 993(1) :134–136, 1989.
- [148] G. S. Li, M. F. Ruiz-López, and B. Maigret. Ab initio study of 4(5)-methylimidazole in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry A*, 101(42) :7885–7892, 1997.
- [149] P. J. Knowles and H.-J. Werner. An efficient second-order MC SCF method for long configuration expansions. *Chemical Physics Letters*, 115(3) :259–267, 1985.
- [150] H.-J. Werner and P. J. Knowles. A second order multiconfiguration SCF procedure with optimum convergence. *Journal of Chemical Physics*, 82(11) :5053–5063, 1985.
- [151] P. Celani and H.-J. Werner. Multireference perturbation theory for large restricted and selected active space reference wave functions. *Journal of Chemical Physics*, 112(13) :5546–5557, 2000.
- [152] H. J. Werner and P. J. Knowles. An efficient internally contracted multiconfiguration-reference configuration interaction method. *Journal of Chemical Physics*, 89(9) :5803–5814, 1988.
- [153] P. J. Knowles and H.-J. Werner. An efficient method for the evaluation of coupling coefficients in configuration interaction calculations. *Chemical Physics Letters*, 145(6) :514–522, 1988.
- [154] C. Hampel, K. A. Peterson, and H.-J. Werner. A comparison of the efficiency and accuracy of the quadratic configuration interaction (QCISD), coupled cluster (CCSD), and Brueckner coupled cluster (BCCD) methods. *Chemical Physics Letters*, 190(1-2) :1–12, 1992.
- [155] T. H. Dunning Jr. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. *The Journal of chemical physics*, 90(2) :1007–1023, 1989.

- [156] R. Frochtenicht, M. Kaloudis, M. Koch, and F. Huisken. Vibrational spectroscopy of small water complexes embedded in large liquid helium clusters. *Journal of Chemical Physics*, 105(15) :6128–6140, 1996.
- [157] C. M. Lindsay, G. E. Douberly, and R. E. Miller. Rotational and vibrational dynamics of H₂O and HDO in helium nanodroplets. *Journal of Molecular Structure*, 786(2-3) :96–104, 2006.
- [158] K. E. Kuyanov, M. N. Slipchenko, and A. F. Vilesov. Spectra of the $\nu(1)$ and $\nu(3)$ bands of water molecules in helium droplets. *Chemical Physics Letters*, 427(1-3) :5–9, 2006.
- [159] K. Kuyanov-Prozument, M. Y. Choi, and A. F. Vilesov. Spectrum and infrared intensities of OH-stretching bands of water dimers. *Journal of Chemical Physics*, 132(1), 2010.
- [160] A. Gutberlet, G. Schwaab, and M. Havenith. High-resolution IR spectroscopy of dimers of HDO with H₂O in helium nanodroplets. *Journal of Physical Chemistry A*, 115(23) :6297–6305, 2011.
- [161] R. Schwan, M. Kaufmann, D. Leicht, G. Schwaab, and M. Havenith. Infrared spectroscopy of the $\nu(2)$ band of the water monomer and small water clusters (H₂O)_(n=2,3,4) in helium droplets. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(34) :24063–24069, 2016.
- [162] G. E. Douberly, R. E. Miller, and S. S. Xantheas. Formation of exotic networks of water clusters in helium droplets facilitated by the presence of neon atoms. *Journal of the American Chemical Society*, 139(11) :4152–4156, 2017.
- [163] C. M. Dobson. Protein folding and misfolding. *Nature*, 426(6968) :884–890, 2003.
- [164] E. Agorogiannis, G. Agorogiannis, A. Papadimitriou, and G. M. Hadjigeorgiou. Protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 30(3) :215–224, 2004.
- [165] G. Goldsztejn, V. R. Mundlapati, V. Brenner, E. Gloaguen, M. Mons, C. Cabezas, I. León, and J. L. Alonso. Intrinsic folding of the cysteine residue : competition between folded and extended forms mediated by the–SH group. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 22(36) :20284–20294, 2020.
- [166] J. A. Dickinson, P. W. Joireman, R. T. Kroemer, E. G. Robertson, and J. P. Simons. Conformationally induced transition moment rotations in the $S_1 \leftarrow S_0$ electronic spectra of *n*-propylbenzene and *n*-butylbenzene. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions*, 93(8) :1467–1472, 1997.
- [167] W. Y. Sohn, V. Brenner, E. Gloaguen, and M. Mons. Local NH- π interactions involving aromatic residues of proteins : influence of backbone conformation and $\pi\pi^*$ excitation on the π H-bond strength, as revealed from studies of isolated model peptides. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(43) :29969–29978, 2016.
- [168] S. J. Martinez, J. C. Alfano, and D. H. Levy. The electronic spectroscopy of tyrosine and phenylalanine analogs in a supersonic jet - acidic analogs. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 145(1) :100–111, 1991.
- [169] P. W. Joireman, R. T. Kroemer, D. W. Pratt, and J. P. Simons. Conformationally induced rotation of a molecular electronic transition moment. *Journal of Chemical Physics*, 105(14) :6075–6077, 1996.
- [170] J. A. Dickinson, P. W. Joireman, R. W. Randall, E. G. Robertson, and J. P. Simons. Conformational structures of 3-phenyl-1-propionic acid, its p-hydroxy derivative, and its hydrated clusters. *Journal of Physical Chemistry A*, 101(4) :513–521, 1997.
- [171] V. A. Shubert, E. E. Baquero, J. R. Clarkson, W. H. James, J. A. Turk, A. A. Hare, K. Worrel, M. A. Lipton, D. P. Schofield, K. D. Jordan, and T. S. Zwier.

- Entropy-driven population distributions in a prototypical molecule with two flexible side chains : O-(2-acetamidoethyl)-*N*-acetyltyramine. *Journal of Chemical Physics*, 127(23), 2007.
- [172] K. Sakota, S. Harada, and H. Sekiya. Infrared spectroscopy of hydrated *N*-(2-phenylethyl)acetamide clusters : The electron-redistribution within the solute weakens local hydrogen bond. *Chemical Physics*, 419 :138–144, 2013.
- [173] S. Sun and E. R. Bernstein. Spectroscopy of neurotransmitters and their clusters .1. Evidence for five molecular conformers of phenethylamine in a supersonic jet expansion. *Journal of the American Chemical Society*, 118(21) :5086–5095, 1996.
- [174] J. Yao, H. S. Im, M. Foltin, and E. R. Bernstein. Spectroscopy of neurotransmitters and their clusters : Phenethylamine and amphetamine solvation by nonpolar, polar, and hydrogen-bonding solvents. *Journal of Physical Chemistry A*, 104(26) :6197–6211, 2000.
- [175] J. A. Dickinson, M. R. Hockridge, R. T. Kroemer, E. G. Robertson, J. P. Simons, J. McCombie, and M. Walker. Conformational choice, hydrogen bonding, and rotation of the $S_1 \leftarrow S_0$ electronic transition moment in 2-phenylethyl alcohol, 2-phenylethylamine, and their water clusters. *Journal of the American Chemical Society*, 120(11) :2622–2632, 1998.
- [176] Y. Loquais, E. Gloaguen, S. Habka, V. Vaquero-Vara, V. Brenner, B. Tardivel, and M. Mons. Secondary structures in Phe-containing isolated dipeptide chains : Laser spectroscopy vs quantum chemistry. *Journal of Physical Chemistry A*, 119(23) :5932–5941, 2015.
- [177] E. G. Robertson, M. R. Hockridge, P. D. Jelfs, and J. P. Simons. IR-UV ion-depletion and fluorescence spectroscopy of 2-phenylacetamide clusters : hydration of a primary amide. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 3(5) :786–795, 2001.
- [178] H. K. Muller and G. M. Woods. Ultraviolet radiation effects on the proteome of skin cells. *Radiation Proteomics*, pages 111–119, 2013.
- [179] M. J. Davies. The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1703(2) :93–109, 2005.
- [180] J. L. King and T. H. Jukes. Non-darwinian evolution. *Science*, 164(3881) :788–, 1969.
- [181] H.-D. Belitz, W. Grosch, and P. Schieberle. Food Chemistry, 2009.
- [182] J. R. Lakowicz. *Topics in fluorescence spectroscopy : principles*, volume 2. Springer Science and Business Media, 1992.
- [183] M. A. Duncan, T. G. Dietz, and R. E. Smalley. Two-color photo-ionization of naphthalene and benzene at threshold. *Journal of Chemical Physics*, 75(5) :2118–2125, 1981.
- [184] H. G. Lohmannsroben, K. Luther, and M. Stuke. Lifetimes of vibrationally excited triplet alkylbenzenes studied by 2-color photoionization. *Journal of Physical Chemistry*, 91(13) :3499–3503, 1987.
- [185] T. A. Stephenson and S. A. Rice. Vibrational-state dependence of radiationless processes in $^1B_{2u}$ benzene. *Journal of Chemical Physics*, 81(3) :1073–1082, 1984.
- [186] K. G. Spears and S. A. Rice. Study of lifetimes of individual vibronic states of isolated benzene molecule. *Journal of Chemical Physics*, 55(12) :5561–and, 1971.
- [187] J. W. Hager, D. R. Demmer, and S. C. Wallace. Electronic spectra of jet-cooled indoles : evidence for the 1L_a state. *Journal of Physical Chemistry*, 91(6) :1375–1382, 1987.
- [188] R. J. Lipert, G. Bermudez, and S. D. Colson. Pathways of S_1 decay in phenol, indoles, and water complexes of phenol and indole in a free jet expansion. *Journal of Physical Chemistry*, 92(13) :3801–3805, 1988.

- [189] C. S. Burton and W. A. Noyes Jr. Electronic energy relaxation in toluene vapor. *Journal of Physical Chemistry*, 49(4) :1705–1714, 1968.
- [190] S. J. Martinez, J. C. Alfano, and D. H. Levy. The electronic spectroscopy of tyrosine and phenylalanine analogs in a supersonic jet - basic analogs. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 158(1) :82–92, 1993.
- [191] L. C. Snoek, E. G. Robertson, R. T. Kroemer, and J. P. Simons. Conformational landscapes in amino acids : infrared and ultraviolet ion-dip spectroscopy of phenylalanine in the gas phase. *Chemical Physics Letters*, 321(1-2) :49–56, 2000.
- [192] Y. P. Lee, J. Jung, B. Kim, P. Butz, L. C. Snoek, R. T. Kroemer, and J. P. Simons. Alanyl side chain folding in phenylalanine : conformational assignments through ultraviolet rotational band contour analysis. *Journal of Physical Chemistry A*, 108(1) :69–73, 2004.
- [193] D. V. Bent and E. Hayon. Excited-state chemistry of aromatic amino-acids and related peptides. 2. Phenylalanine. *Journal of the American Chemical Society*, 97(10) :2606–2612, 1975.
- [194] I. Weinryb and R. F. Steiner. *The luminescence of the aromatic amino acids*, pages 277–318. Springer, 1971.
- [195] F. Bishai, E. Kuntz, and L. Augenstein. Intra- and intermolecular factors affecting the excited states of aromatic amino acids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 140(3) :381–394, 1967.
- [196] A. V. Zabuga, M. Z. Kamrath, O. V. Boyarkin, and T. R. Rizzo. Fragmentation mechanism of UV-excited peptides in the gas phase. *Journal of Chemical Physics*, 141(15), 2014.
- [197] C. L. Huang, J. C. Jiang, S. H. Lin, Y. T. Lee, and C. K. Ni. Photodissociation of ethylbenzene at 248 nm. *Journal of Chemical Physics*, 116(18) :7779–7782, 2002.
- [198] C. L. Huang, J. C. Jiang, Y. T. Lee, and C. K. Ni. Photodissociation of ethylbenzene and n-propylbenzene in a molecular beam. *Journal of Chemical Physics*, 117(15) :7034–7040, 2002.
- [199] C.-M. Tseng, M.-F. Lin, Y. L. Yang, Y ; C. Ho, C.-K. Ni, and J.-L. Chang. Photostability of amino acids : photodissociation dynamics of phenylalanine chromophores. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(19) :4989–4995, 2010.
- [200] P. T. Whiteside, A. K. King, J. A. Davies, K. L. Reid, M. Towrie, and P. Matousek. Photoelectron spectroscopy of S₁ toluene : II. Intramolecular dynamics of selected vibrational levels in S₁ toluene studied by nanosecond and picosecond time-resolved photoelectron spectroscopies. *Journal of Chemical Physics*, 123(20) :204317, 2005.
- [201] T. G. Dietz, M. A. Duncan, A. C. Pulu, and R. E. Smalley. Pyrazine and pyrimidine triplet decay in a supersonic beam. *Journal of Physical Chemistry*, 86(20) :4026–4029, 1982.
- [202] M. Kayano, T. Ebata, Y. Yamada, and N. Mikami. Picosecond IR–UV pump–probe spectroscopic study of the dynamics of the vibrational relaxation of jet-cooled phenol. II. Intracuster vibrational energy redistribution of the oh stretching vibration of hydrogen-bonded clusters. *Journal of Chemical Physics*, 120(16) :7410–7417, 2004.
- [203] R. B. Cundall and T. F. Palmer. The photosensitized isomerization of butene-2. *Transactions of the Faraday Society*, 56(8) :1211–1224, 1960.
- [204] W. A. Noyes and D. A. Harter. Photochemistry of xylenes - discussion of method. *Journal of Physical Chemistry*, 75(18) :2741–, 1971.
- [205] J. Prochorow, W. Hopewell, and M. A. Elsayed. Alpha-substitution effect, intramolecular or medium induced. *Chemical Physics Letters*, 65(3) :410–412, 1979.

- [206] J. B. Hopkins, D. E. Powers, and R. E. Smalley. Vibrational-relaxation in jet-cooled alkyl benzenes. *Journal of Chemical Physics*, 72(4) :2905–2906, 1980.
- [207] J. B. Hopkins, D. E. Powers, and R. E. Smalley. Vibrational-relaxation in jet-cooled alkylbenzenes. 1. Absorption-spectra. *Journal of Chemical Physics*, 72(9) :5039–5048, 1980.
- [208] D. R. Borst, P. W. Joireman, D. W. Pratt, E. G. Robertson, and J. P. Simons. High resolution electronic spectroscopy of three *n*-alkylbenzenes : ethyl-, propyl-, and butylbenzene. *Journal of Chemical Physics*, 116(16) :7057–7064, 2002.
- [209] J. B. Hopkins, D. E. Powers, S. Mukamel, and R. E. Smalley. Vibrational-relaxation in jet-cooled alkylbenzenes. 2. Fluorescence spectra. *Journal of Chemical Physics*, 72(9) :5049–5061, 1980.
- [210] S. S. Panja and T. Chakraborty. Conformationally induced vibronic transitions in $S_0 \leftarrow S_1$ spectra of *n*-propylbenzene. *Journal of Chemical Physics*, 119(18) :9486–9490, 2003.
- [211] X. Tong, M. S. Ford, C. E. H. Dessent, and K. Muller-Dethlefs. The effect of conformation on the ionization energetics of *n*-butylbenzene. I. A threshold ionization study. *Journal of Chemical Physics*, 119(24) :12908–12913, 2003.
- [212] J. B. Hopkins, D. E. Powers, and R. E. Smalley. Vibrational-relaxation in jet-cooled alkyl benzenes. 3. Nanosecond time evolution. *Journal of Chemical Physics*, 73(2) :683–687, 1980.
- [213] A. B. Stephansen and T. I. Solling. Distortion dependent intersystem crossing : A femtosecond time-resolved photoelectron spectroscopy study of benzene, toluene, and *p*-xylene. *Structural Dynamics*, 4(4), 2017.
- [214] R. S. Minns, D. S. N. Parker, T. J. Penfold, G. A. Worth, and H. H. Fielding. Competing ultrafast intersystem crossing and internal conversion in the *channel 3* region of benzene. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(48) :15607–15615, 2010.
- [215] S. Cogan, Y. Haas, and S. Zilberg. Intersystem crossing at singlet conical intersections. *Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry*, 190(2-3) :200–206, 2007.
- [216] T. J. Penfold and G. A. Worth. The effect of molecular distortions on spin-orbit coupling in simple hydrocarbons. *Chemical Physics*, 375(1) :58–66, 2010.
- [217] M. S. Dupuy, E. Gloaguen, B. Tardivel, M. Mons, and V. Brenner. CC2 benchmark for models of phenylalanine protein chains : 0-0 transition energies and IR signatures of the $\pi\pi^*$ excited state. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 16(1) :601–611, 2020.
- [218] A. Goldoni. Porphyrins : fascinating molecules with biological significance. *ELECTRA highlights*, 2001 :64–65, 2002.
- [219] J.D. Spikes. Porphyrins and related compounds as photodynamic sensitizers. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 244(1) :496–508, 1975.
- [220] U. Muller-Eberhard and W. T. Morgand. Porphyrin-binding proteins in serum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 244(1) :624–649, 1975.
- [221] D. C. Hodgkin, J. Kamper, M. Mackay, J. Pickworth, K. N. Trueblood, and J. G. White. Structure of vitamin B12. *Nature*, 178(4524) :64–66, 1956.
- [222] K. M. Kadish, R. Guilard, and K. M. Smith. *Handbook Of Porphyrin Science : With Applications To Chemistry, Physics, Materials Science, Engineering, Biology And Medicine (Volumes 16-20)*, volume 4. World Scientific, 2012.
- [223] L. G. Arnaut. Design of porphyrin-based photosensitizers for photodynamic therapy. *Advances in Inorganic Chemistry*, 63 :187–233, 2011.

- [224] L. Alibabaei, M. Wang, R. Giovannetti, J. Teuscher, D. Di Censo, J.-E. Moser, P. Comte, F. Pucciarelli, S. M. Zakeeruddin, and M. Grätzel. Application of Cu(II) and Zn(II) coproporphyrins as sensitizers for thin film dye sensitized solar cells. *Energy & Environmental Science*, 3(7) :956–961, 2010.
- [225] J. Mikosch, H. Kreckel, R. Wester, R. Plasil, J. Glosik, D. Gerlich, D. Schwalm, and A. Wolf. Action spectroscopy and temperature diagnostics of H^{3+} by chemical probing. *The Journal of Chemical Physics*, 121(22) :11030–11037, 2004.
- [226] S. B. Nielsen and J. A. Wyer. *Photophysics of ionic biochromophores*. Springer, 2013.
- [227] E. L. Derro, C. Murray, T. D. Sechler, and M. Lester. Infrared action spectroscopy and dissociation dynamics of the HOOO radical. *The Journal of Physical Chemistry A*, 111(45) :11592–11601, 2007.
- [228] J. Rodriguez and D. Holten. Ultrafast vibrational dynamics of a photoexcited metalloporphyrin. *Journal of Chemical Physics*, 91(6) :3525–3531, 1989.
- [229] J. Rodriguez, C. Kirmaier, and D. Holten. Optical-properties of metalloporphyrin excited-states. *Journal of the American Chemical Society*, 111(17) :6500–6506, 1989.
- [230] C. M. Drain, C. Kirmaier, C. J. Medforth, J. Nurco, K. M. Smith, and D. Holten. Dynamic photophysical properties of conformationally distorted nickel porphyrins. 1. Nickel(II) dodecaphenylporphyrin. *Journal of Physical Chemistry*, 100(29) :11984–11993, 1996.
- [231] D. Dolphin. *The Porphyrins V7 : Biochemistry, Part B*. Elsevier, 2012.
- [232] M. Gouterman. Spectra of porphyrins. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 6(1) :138–1961, 1961.
- [233] M. Gouterman, G. H. Wagnière, and L. C. Snyder. Spectra of porphyrins : Part II. Four orbital model. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 11(1-6) :108–127, 1963.
- [234] K. Yates. *Hückel molecular orbital theory*. Elsevier, 2012.
- [235] N. Shafizadeh, L. Krim, S. Sorgues, and B. Soep. Observation and decay of free and ligated metalloporphyrins in the gas phase. *Chemical Physics Letters*, 357(1-2) :37–44, 2002.
- [236] H. Z. Yu, J. S. Baskin, B. Steiger, C. Z. Wan, F. C. Anson, and A. H. Zewail. Femtosecond dynamics of metalloporphyrins : electron transfer and energy redistribution. *Chemical Physics Letters*, 293(1-2) :1–8, 1998.
- [237] D. Jeong, D. Kang, T. Joo, and S. K. Kim. Femtosecond-resolved excited state relaxation dynamics of Copper (II) Tetraphenylporphyrin (CuTPP) after Soret band excitation. *Scientific reports*, 7(1) :1–8, 2017.
- [238] B. E. Smith and M. Gouterman. Quartet luminescence from copper porphyrins. *Chemical Physics Letters*, 2(8) :517–519, 1968.
- [239] D. Eastwood and M. Gouterman. Porphyrins : XII. Luminescence of copper complexes at liquid nitrogen temperature. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 30(1-3) :437–458, 1969.
- [240] J. M. Beames, A. J. Hudson, T. D. Vaden, and J. P. Simons. Double-resonance spectroscopy of the jet-cooled free base and Cu (II) complex of protoporphyrin IX. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(42) :14076–14081, 2010.
- [241] X. W. Yan and D. Holten. Effects of temperature and solvent on excited-state deactivation of copper(II) Octaethylporphyrin and Tetraphenylporphyrin - Relaxation via a ring-to-metal charge-transfer excited-state. *Journal of Physical Chemistry*, 92(21) :5982–5986, 1988.

- [242] R. L. Ake and M. Gouterman. Porphyrins XIV. Theory for the luminescent state in VO, Co, Cu complexes. *Theoretica Chimica Acta*, 15(1) :20–42, 1969.
- [243] V. S. Chirvonyi, E. I. Sagun, and B. M. Dzhagarov. Quantum yield of intersystem crossing to the triplet state of tetraphenylporphin in acidic solution. *Journal of Applied Spectroscopy*, 27(1) :948–950, 1977.
- [244] J. S. Baskin, H.-Z. Yu, and A. H. Zewail. Ultrafast dynamics of porphyrins in the condensed phase : I. Free base tetraphenylporphyrin. *The Journal of Physical Chemistry A*, 106(42) :9837–9844, 2002.
- [245] W. G. Van Dorp, G. W. Canters, and J. H. Van der Waals. The lowest quartet state of copper porphin : Zeeman experiments at 4.2 K. *Chemical Physics Letters*, 35(4) :450–456, 1975.
- [246] L. Edwards and M. Gouterman. Porphyrins. Vapor absorption spectra and stability. Phthalocyanines. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 33(2) :292–, 1970.
- [247] L. Edwards, D. H. Dolphin, M. Gouterman, and A. D. Adler. Porphyrins XVII. Vapor absorption spectra and redox reactions : tetraphenylporphins and porphin. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 38(1) :16–32, 1971.
- [248] L. Edwards, D. H. Dolphin, and M. Gouterman. Porphyrins : XVI. Vapor absorption spectra and redox reactions : Octalkylporphins. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 35(1) :90–109, 1970.
- [249] U. Even, J. Magen, J. Jortner, J. Friedman, and H. Levanon. Isolated ultracold porphyrins in supersonic expansions. 1. Free-base tetraphenylporphyrin and Zn-Tetraphenylporphyrin. *Journal of Chemical Physics*, 77(9) :4374–4383, 1982.
- [250] S. C. Khandelwal and J. L. Roebber. The photoelectron spectra of tetraphenylporphine and some metallotetraphenylporphyrins. *Chemical Physics Letters*, 34(2) :355–359, 1975.
- [251] A. C. Jones, M. J. Dale, G. A. Keenan, and P. R.R. Langridge-Smith. Photoionisation and photodissociation of laser-vaporised metallotetraphenylporphyrins. *Chemical Physics Letters*, 219(3-4) :174–180, 1994.
- [252] M. Noort, G. Jansen, G. W. Canters, and J. H. Van der Waals. High resolution spectra of palladium, platinum and copper porphins in n-octane crystals. *Spectrochimica Acta Part A : Molecular Spectroscopy*, 32(6) :1371–1375, 1976.
- [253] A. C. Albrecht. Forbidden character in allowed electronic transitions. *The Journal of chemical physics*, 33(1) :156–169, 1960.
- [254] U. Even and J. Jortner. Isolated ultracold porphyrins in supersonic expansions. III. Free-base porphine. *The Journal of Chemical Physics*, 77(9) :4391–4399, 1982.
- [255] U. Even, Y. Magen, J. Jortner, and H. Levanon. Electronic excitations of magnesium tetraphenylporphyrin in supersonic expansions. *The Journal of Chemical Physics*, 76(12) :5684–5692, 1982.
- [256] B. Minaev and H. Agren. Theoretical dft study of phosphorescence from porphyrins. *Chemical Physics*, 315(3) :215–239, 2005.
- [257] X. Y. Li and M. Z. Zgierski. Porphine force field : in-plane normal modes of free-base porphine ; comparison with metalloporphines and structural implications. *The Journal of Physical Chemistry*, 95(11) :4268–4287, 1991.
- [258] K. Alston and C. B. Storm. Copper (II) protoporphyrin IX as a reporter group for the heme environment in myoglobin. *Biochemistry*, 18(20) :4292–4300, 1979.
- [259] M. Asano, Y. Kaizu, and H. Kobayashi. The lowest excited states of copper porphyrins. *The Journal of Chemical Physics*, 89(11) :6567–6576, 1988.

- [260] M. Gouterman, R. A. Mathies, B. E. Smith, and W. S. Caughey. Porphyrins. 19. tripdouplet and quartet luminescence in Cu and V complexes. *Journal of Chemical Physics*, 52(7) :3795–, 1970.
- [261] D. Kim, D. Holten, and M. Gouterman. Evidence from picosecond transient absorption and kinetic-studies of charge-transfer states in copper(II) porphyrins. *Journal of the American Chemical Society*, 106(10) :2793–2798, 1984.
- [262] T. Kobayashi, D. Huppert, K. D. Straub, and P. M. Rentzepis. Picosecond kinetics of copper and silver protoporphyrins. *Journal of Chemical Physics*, 70(4) :1720–1726, 1979.
- [263] T. G. Monger, R. J. Cogdell, and W. W. Parson. Triplet states of bacteriochlorophyll and carotenoids in chromatophores of photosynthetic bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 449(1) :136–153, 1976.
- [264] J. M. Ho, E. Kish, D. D. Méndez-Hernández, K. WongCarter, S. Pillai, G. Kodis, J. Niklas, O. G. Poluektov, D. Gust, and T. A. Moore. Triplet–triplet energy transfer in artificial and natural photosynthetic antennas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(28) :E5513–E5521, 2017.
- [265] R. Schmidt. Photosensitized generation of singlet oxygen. *Photochemistry and Photobiology*, 82(5) :1161–1177, 2006.
- [266] J. Catalan, J. L. G. De Paz, M. Yanez, R. M. Claramunt, C. Lopez, J. Elguero, F. Anvia, J. H. Quian, M. Taagepera, and R. W. Taft. A theoretical and experimental study of the intrinsic basicities of methyldiazoles. *Journal of the American Chemical Society*, 112(4) :1303–1312, 1990.
- [267] H. J. Werner, P. J. Knowles, G. Knizia, F. R. Manby, M. Schütz, et al. Molpro, version 2010.1, a package of *ab-initio* programs - see <http://www.molpro.net>.
- [268] M. Majoube, P. Millié, and G. Vergoten. Vibrational-spectra of 4-methylimidazole - assignment of modes and calculation of Raman and resonance Raman intensities at the *ab-initio* 6-31g level. *Journal of Molecular Structure*, 344(1-2) :21–36, 1995.