



**HAL**  
open science

# Interactions non-covalentes sondées par spectroscopie en phase gazeuse : structure, conformation, isolation et environnement contrôlé

Pierre Carcabal

► **To cite this version:**

Pierre Carcabal. Interactions non-covalentes sondées par spectroscopie en phase gazeuse : structure, conformation, isolation et environnement contrôlé. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. Université Paris Saclay, 2022. tel-03578533

**HAL Id: tel-03578533**

**<https://hal.science/tel-03578533>**

Submitted on 17 Feb 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.

Interactions non-covalentes  
sondées par spectroscopie en  
phase gazeuse : structure,  
conformation, isolation et  
environnement contrôlé.

**Habilitation à diriger des recherches  
de l'Université Paris-Saclay**

**présentée et soutenue à Orsay le 7 février 2022, par**

**Pierre Çarçabal**

**Composition du jury**

<b>Carine Clavaguéra</b> Directrice de Recherche, ICP	Rapportrice
<b>Charles Desfrancois</b> Directeur de Recherche, LPL	Rapporteur
<b>Philippe Dugourd</b> Directeur de Recherche, ILM	Rapporteur
<b>Véronique Rosilio</b> Professeure, Université Paris Saclay	Examinatrice
<b>Stéphane Coussan</b> Chargé de Recherche, PIIM	Examinateur
<b>Laurent Nahon</b> Directeur de recherche, SOLEIL	Examinateur



## Table des matières

Curriculum Vitae.....	1
Production Scientifique .....	6
Parcours .....	12
Thématiques de recherche .....	14
Etude fondamentale des interactions moléculaires sur des systèmes modèles .....	15
<i>Etude de complexes moléculaires par spectroscopie vibrationnelle à haute résolution.....</i>	<i>15</i>
<i>Spectroscopie électronique de molécules piégées dans des agrégats d'Hélium superfluide.</i> .....	<i>17</i>
<i>Conclusions : spectroscopie à haute résolution de systèmes de petite taille .....</i>	<i>19</i>
Interactions moléculaires dans les molécules biologiques : conformations et interactions des sucres .....	20
<i>Les monosaccharides et leurs complexes hydratés .....</i>	<i>21</i>
<i>Conclusions : spectroscopie en phase gazeuse des monosaccharides isolés et hydratés. ...</i>	<i>23</i>
<i>Les oligosaccharides. ....</i>	<i>24</i>
Le pentasaccharide des N-Glycans.....	24
Les antigènes de Lewis et leurs mimiques. ....	26
<i>Conclusions : spectroscopie en phase gazeuse des oligosaccharides isolés et hydratés. ....</i>	<i>33</i>
<i>Reconnaissance moléculaire : des modèles pour sonder les interactions sucres-peptides..</i>	<i>34</i>
<i>Conclusions : systèmes modèles pour l'étude des interactions sucres-peptides en phase gazeuse.....</i>	<i>36</i>
Perspectives de recherche : Interactions et conformations de systèmes modèles des processus de reconnaissance moléculaires : les complexes sucre-peptide et le rôle de l'eau.....	37
Etude des complexes Man – mRM .....	39
Développements méthodologiques .....	42
<i>Amélioration des sources de vaporisation de molécules solvatées .....</i>	<i>42</i>
Déposition par nébulisation des échantillons .....	42
Désorption résonante de glaces.....	42
<i>Spectroscopie dans l'infrarouge moyen. ....</i>	<i>43</i>
<i>Amélioration de l'exploration des paysages conformationnels. ....</i>	<i>43</i>
Références .....	45



# Curriculum Vitae

## Pierre Çarçabal

---

CNRS - Chargé de recherche  
Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay  
Bât 520 – Université Paris Saclay  
91 405 Orsay Cedex  
[pierre.carcabal@universite-paris-saclay.fr](mailto:pierre.carcabal@universite-paris-saclay.fr)  
+33 1 69 15 79 54  
né le 23 Mars 1974 à Pau (France)

---

## Titres universitaires

- 1997 – 2000 Thèse de Doctorat - Université Paris-Sud  
Soutenue le 15/12/2000 à Orsay devant M. Lecomte (Pr.), B. Howard (Rp.), N. Lacôme (Rp.), V. Brenner, J.-M. Flaud, Anita Picard-Bersellini (Dir. de thèse)  
<https://www.theses.fr/2000PA112284>
- 1996 – 1997 DEA de Physico-Chimie Moléculaire - Université Paris-Sud
- 1995 – 1996 Maîtrise de Physique Fondamentale – Université Paris XI – Effectuée dans le cadre du programme d'échange CREPUQ à l'université de Montréal et à l'Université de Mc Gill (Montréal – Canada)
- 1994 – 1995 Licence de Physique Fondamentale – Université Paris Sud
- 1991 – 1994 DEUG A - Université Paris-Sud
- 1991 Baccalauréat E – Lycée Saint Cricq (Pau)
- 

## Parcours professionnel

- Depuis 2011 [Biomolécules en phase gazeuse : Conformations, structures et interactions.](#)  
Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay (ISMO), CNRS, Orsay – Chargé de Recherches
- 2008 – 2011 [Biomolécules en phase gazeuse : radiosensibilisants sous rayonnements ionisants.](#)  
Laboratoire Collisions Agrégats et Réactivité (LCAR), CNRS, Toulouse – Mission de longue durée
- 2005 – 2008 [Biomolécules en phase gazeuse : Photofragmentation de molécules protonées.](#)  
Laboratoire de PhotoPhysique Moléculaire (LPPM), CNRS, Orsay – Chargé de Recherches
- 2003 – 2005 [Biomolécules en phase gazeuse : Conformation des sucres et de leurs hydrates.](#)  
Physical and Theoretical Chemical Laboratory, University of Oxford – Post-Doctoral Research Assistant, groupe de J.P. Simons

- 2001 – 2003 Spectroscopie de molécules piégées dans des agrégats d'Helium superfluides. Frick Chemical Laboratory, Princeton University – Post-Doctoral Research Assistant, groupe de G. Scoles et K.K. Lehmann
- 1997 – 2000 Spectroscopie à haute résolution de complexes moléculaires. Laboratoire de Photophysique Moléculaire (LPPM), CNRS, Orsay – Doctorant, groupe de A. Picard-Bersellini
- 

## Activités d'enseignement

Rapporteur de stagiaires, participation aux jurys de la NFIO, participation à des jurys de stage ou de rapports de projets.

Rapporteur pour la qualification internationale des doctorats de Dr. Imanol Usabiaga et Dr. Iciar Uriarte, Université du Pays Basque, Bilbao, Espagne.

Membre de jurys de thèse (Julie Renoud, LCAR, 28/10/2020 ; Iker Llamas, Université du Pays Basque, Bilbao, 29/11/2021)

- 1997 - 2000 TP de première année de la formation initiale de la NFIO à l'Université Paris-Sud : interférences, diffraction, propagation de la lumière, fibres optiques, interférométrie par granularité laser, holographie - 60 heures par an.
- 1998 - 2000 TP de quatrième année de la formation continue de la NFIO à l'Université Paris-Sud : laser à CO<sub>2</sub>, Yag pompé par diode, effet Hall, reconnaissance de formes par autocorrélation optique, bistabilité optique, transmission optique par cellule de Pockells - 20 heures par an.
- 1998 TD du "Projet professionnel" à l'Université Paris-Sud - 10 heures.
- 

## Activités liées à la recherche

### Financements obtenus en tant que responsable de projet

- 2011 Responsable du projet OPOSUP (RTRA Triangle de la Physique – 70 k€)
- 2012 – 2014 Coordinateur français d'une collaboration international entre Orsay, Bilbao et Oxford, financée par le programme PICS du CNRS (12 k€)
- 2014 – 2017 Coordinateur du projet ANR CARBOMIM (355 k€)
- 2020 – 2022 Coordinateur français d'une collaboration international entre Orsay et Bilbao financée par le programme PICS du CNRS (12 k€)
- 2020 Obtention d'une aide du LABEX PALM pour l'organisation de la réunion plénière du GDR EMIE (3k€)
- 2021-2023 Coordinateur du projet SPECTROMAN (Labex PALM – 120 k€)

### Collaborations scientifiques (\* = actives)

Laboratoire Interdisciplinaire de Physique, Grenoble : Dr. Marie Plazenet

Tokyo Institute of Technology, Chemistry Dept., Yokohama, Japon : professeurs Masaaki Fujii et Shun-Ichi Ishiushi

Zaozhuang University, Chemistry, Dept., Zaozhuang, Chine : Professeur Dan Mu

Basel University, Pharmacology Dept., Bâle, Suisse : Prof. Martin Smiesko, Prof. Oliver Schwardt

\* Institut Lumière Matière, Lyon : Dr. Isabelle Compagnon

\* Universidad del Pays Vasco, Dpto. Química Física, Bilbao, Espagne : Dr. Emilio J. Cocinero

\* Universidad de la Rioja, Dpto. Química, Logroño, Espagne : Dr. Francisco Cornaza Lopez

\* Oxford University, Chemistry Dept., Oxford, Royaume Uni : Professeur Ben. G. Davis

\* Université de Rennes, CNRS, Institut des Sciences Chimiques de Rennes : Prof. Vincent Ferrières, Dr. Laurent Legentil

### **Animation scientifique**

**Depuis 2020** Organisation des actions du GDR EMIE en tant que membre du bureau puis coordinateur.

**2017 – 2020** Organisation des séminaires hebdomadaires de l'ISMO (2017-2020)

**Depuis 2028** Organisation des tables rondes services techniques – équipes de recherche à l'ISMO

**2018** Animateur des ateliers de prospective de l'ISMO « Spectroscopie et Interactions Moléculaires » (2018)

**2012 – 2013** Animateur des ateliers de prospective “Systèmes biologiques” à l'ISMO (2012-2013).

**2011** Organisation du workshop “Perspectives for the study of carbohydrates in the gas phase: synthesis, experiments and theoretical developments”, 20-21 October 2011, Orsay.

### **Responsabilités collectives**

Rapporteur pour les journaux internationaux (JACS, PCCP, JCP, JPCA, JCPL...)

**2014 – 2019** Représentant de l'ISMO pour le réseau de correspondant « International – Europe » de l'INP (2014-2019)

**2016 – 2020** Représentant de l'ISMO pour le réseau de correspondant des relations internationales de l'Université Paris Sud (2016-2020)

**2019 – 2020** Membre du bureau du GDR EMIE

**Depuis 2020** Responsable de l'équipe SYSIPHE à l'ISMO

**Depuis 2020** Représentant de l'ISMO au comité technique du centre de calcul FUSION

**2021 – 2025** Coordinateur du GDR EMIE

### **Responsabilités administratives**

Gestion de projets de recherche (ANR, PICS, Triangle de la Physique, PALM).



## Gestion de l'équipe SYSIPHE à l'ISMO

### Production scientifique

37 articles dans des journaux internationaux à comité de lecture ; 2 actes de conférences à comité de lecture ; 1 chapitre de livre.

Bibliométriques (SCOPUS – 08/01/2022) : h-index=19; 1122 citations.

41 présentations dans des conférences internationales (dont 6 présentations invitées), des conférences et ateliers nationaux, et des séminaires invités

---

### Encadrement de jeunes chercheurs et stagiaires

Dan Mu : enseignante chercheuse de l'Université de Zaozhuang (Chine) (6 mois pendant un séjour sabbatique, 100% ; 1 mois en tant que MCF invitée de l'UPS, 100%, publication commune n°31).

#### Post-Doctorants

Nom	Lieu	Période (% d'encadrement)	n° de références dans la liste
Isabel Hünig	Oxford	6 mois en 2004 (50%)	11 - 15
Bo Liu	Oxford	3 mois en 2004 (50%)	14, 15
Cristina Kaposta	Oxford	3 mois en 2005 (50%)	14, 26, 27
Iben Nielsen	Orsay	2 ans en 2006-2007 (40%)	16, 17, 19, 21
Rolando Lozada-Garcia	Orsay	2 ans en 2012-2013 (100%)	31, 33
Gerard O'Connor	Orsay	1 an en 2015 (100%)	2 en préparation
Gildas Goldsztejn	Orsay	1 an en 2017 (100%)	3 en préparation + 2 à venir
Ander Camiruaga	Orsay	2 ans 2021-2023 (100%)	2 en préparation

#### Doctorants (co-encadrement)

Nom	Lieu	Période (% d'encadrement)	n° de références dans la liste
Ozgur Birer	Princeton	2001-2003 (30%)	
Paolo Moreschini	Princeton	2001-2003 (30%)	
Roman Schmiedt	Princeton	2001-2003 (30%)	6, 8
Imanol Usabiaga (Bilbao)	Bilbao	1 mois en 2012 (50%)	35
Aran Insausti (Bilbao)	Orsay	1 mois en 2019, 2020(50%)	
Ander Camiruaga (Bilbao)	Orsay	3 mois en 2020 (50%)	1 à venir

#### M2 (ou équivalent)

Nom	Lieu	Période (% d'encadrement)	n° de références dans la liste
Alexander Painter	Oxford	6 mois en 2004 (50%)	11
Theodosios Patsias	Oxford	6 mois en 2005 (50%)	14
Marie Pérot	Orsay	4.5 mois en 2007 (50%)	
Julien Rabier	Toulouse	4 mois en 2010 (30%)	20
Woon Y. Sohn (TokyoTech)	Orsay	1 mois en 2013 (50%)	28
Hikari Oba (TokyoTech)	Orsay	6 mois en 2014 (100%)	28
Ridha Elattar	Orsay	6 mois en 2019 (100%)	1 à venir
Maëlie Causse	Orsay	4.5 mois en 2020 (50%)	

Adrien Piquot-Lescop	Orsay	5 mois en 2021 (100%)	
----------------------	-------	-----------------------	--

M1

Nom	Lieu	Période (% d'encadrement)	n° de références dans la liste
Angélique Anselem	Toulouse	2 mois en 2009 (30%)	
Riham Mariam	Orsay	2 mois en 2014 (100%)	
Christian Mouawad	Orsay	2 mois en 2019 (100%)	
Arnaud Tillet	Orsay	5 mois en 20221 (100%)	

L1/L2/L3/IUT

Nom	Lieu	Période (% d'encadrement)	n° de références dans la liste
Sébastien Ragot (L3)	Orsay	2.5 mois en 2011 (100%)	
Baptiste Lesimple (L3)	Orsay	2.5 mois en 2012 (100%)	
Intissar Belaazi (L2)	Orsay	1.5 mois en 2015 (100%)	1 à venir
Ludy Picqueur (L2)	Orsay	1.5 mois en 2016 (100%)	1 en préparation
Titouan Chenuaud(IUT)	Orsay	3 mois en 2017 (100%)	
Loïc Blocquel (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2019 (100%)	
Romain Laudier (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2019 (100%)	
Nathan Chapelle (L3)	Orsay	1.5 mois en 2020 (50%)	
Chloé Pénélaud (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2020 (100%)	
Eva Remoissenet (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2020 (100%)	
Guillaume Blondy (L3)	Orsay	1.5 mois en 2021 (100%)	
James Flotte de Pouzols (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2021 (100%)	
Loic Durand-Baudet (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2021 (100%)	
Leo Bourhis (L2)	Orsay	6 ½ j. en 2021 (100%)	

# Production Scientifique

---

## Publications dans des revues internationales à comité de lecture

\* = encadrement d'un étudiant

1. "Infrared spectra of  $C_2H_2$ -HCl complexes: an experimental and ab initio study"  
P. Çarçabal, M. Broquier, M. Chevalier, A. Picard-Bersellini, V. Brenner and P. Millié, *J. Chem. Phys.* **113** (12), 4876 (2000)
2. "Anharmonic ab initio intermolecular potential of the  $C_2H_2$ -HCl hydrogen bonded complex."  
P. Çarçabal, V. Brenner, N. Halberstadt and P. Millié, *Chem. Phys. Lett.* **336** (3-4), 335 (2001)
3. "High resolution analysis of the  $\nu_6, \nu_{17}$  and  $\nu_{21}$  bands of dimethyl ether."  
L. H. Coudert, P. Çarçabal, M. Chevalier, M. Broquier, M. Hepp, and M. Herman, *J. Mol. Spectrosc.* **212**(2), 203 (2002)
4. "Infrared spectra of the  $C_2H_4$ -HCl complex."  
P. Çarçabal, N. Seurre, M. Broquier, M. Chevalier and V. Brenner, *J. Chem. Phys.* **117**(4), 1522 (2002)
5. "Neurotransmitters in the gas phase: hydrated noradrenaline."  
L.C. Snoek, T. van Mourik, P. Çarçabal, J.P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **5**, 4519 (2003)
- \*6. "Helium NanoDroplets isolation spectroscopy of Perylene and its complexes with oxygen."  
P. Çarçabal, R. Schmied, K. Lehmann, G. Scoles, *J. Chem. Phys.*, **120**(14), 6792 (2004)
7. "Probing the Glycosidic Linkage: UV and IR Ion-Dip Spectroscopy of a Lactoside."  
R.A. Jockusch, R.T. Kroemer, F.O. Talbot, J.P. Simons, L.C. Snoek, P. Çarçabal, M. Havenith, J.M. Bakker, I. Compagnon, G. Meijer, G. von Helden, *J. Amer. Chem Soc.* **126**, 5709 (2004).
- \*8. "High Resolution UV Spectra of Benzene Isotopomers in Helium Nanodroplets."  
R. Schmied, P. Çarçabal, A. M. Dokter, V.P.A. Lonij, K.K. Lehmann, G. Scoles, *J. Chem. Phys.* **121**(6), 2701 (2004).
9. "Hydrated complexes of Tryptophan: ion-dip infrared spectroscopy in the "molecular fingerprint" region, 100-2000  $cm^{-1}$ ."  
P. Çarçabal, R.T. Kroemer, L.C. Snoek, J.P. Simons, J.M. Bakker, I. Compagnon, G. von Helden, G. Meijer, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 4546 (2004).
10. "Neurotransmitters in the gas phase: a theoretical and experimental study of Adrenaline."  
P. Çarçabal, T. van Mourik, L. C. Snoek, *Mol. Phys.* **103**(11-12), 1633 (2005).
- \*11. "Adding water to sugar: A spectroscopic and computational study of alpha- and beta-phenylxyloside in the gas phase."  
I. Huenig, A.J. Painter, R.A. Jockusch, P. Çarçabal, E.M. Marzluff, L.C. Snoek, D.P. Gamblin, B.G. Davis, J.P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 2474 (2005).
- \*12. "Hydrogen bonding and cooperativity in isolated and hydrated sugars: mannose, galactose, glucose revisited and lactose."

P. Çarçabal, R.A. Jockusch, I. Hünig, R.T. Kroemer, L.C. Snoek, J.P. Simons, I. Compagnon, J. Omens, *J. Amer. Chem. Soc.*, **127**, 11414 (2005).

\*13. “Sugars in the gas phase: spectroscopy, conformation, hydration, co-operativity and selectivity.”

J.P. Simons, R.A. Jockusch, P. Çarçabal, I. Hünig, R.T. Kroemer, N.A. MacLeod, L.C. Snoek, *Int. Rev. Phys. Chem.*, **24** (3-4), 489 (2005).

\*14. “Spectral signatures and structural motifs in isolated and hydrated monosaccharides: phenyl  $\alpha$ - and  $\beta$ -L-fucopyranoside.”

Pierre Çarçabal, Theodosios Patsias, Isabel Hünig, Bo Liu, Cristina Kaposta, Lavina C. Snoek, David P. Gamblin, Benjamin G. Davis and John P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 129 (2006).

\*15. “Building-up key segments of N-glycans in the gas phase: intrinsic structural preferences of the  $\alpha(1,3)$  and  $\alpha(1,6)$  dimannosides.”

P. Çarçabal, I. Hünig, B. Liu, D.P. Gamblin, R.A. Jockusch, R.T. Kroemer, L.C. Snoek, B.G. Davis, A.J. Fairbanks and J.P. Simons, *J. Amer. Chem. Soc.*, **128**, 1976 (2006).

\*16. “Comprehensive characterization of the photodissociation pathways of protonated tryptophan.”

V. Lepère, B. Lucas, M. Barat, J. A. Fayeton, V. J. Picard, C. Jouvét, P. Çarçabal, I. Nielsen, C. Dedonder-Lardeux, G. Grégoire, A. Fujii, *J. Chem. Phys.*, **127**, 134313 (2007)

\*17. “Characterization of neutral fragments issued from the photodissociation of protonated tryptophan.”

V. Lepère, B. Lucas, M. Barat, J. A. Fayeton, V. J. Picard, C. Jouvét, P. Çarçabal, I. Nielsen, C. Dedonder-Lardeux, G. Grégoire, A. Fujii, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **9**, 5330 (2007).

18. “Statistical versus non-statistical photo-fragmentation of protonated GWG tri-peptide induced by UV excitation.”

B. Lucas, M. Barat, J.A. Fayeton, C. Jouvét, P. Çarçabal, G. Grégoire, *Chem. Phys.*, **347**, 324 (2008).

\*19. “Biradicalic excited states of zwitterionic phenol-ammonia clusters”

A. Carrera, I. B. Nielsen, P. Çarçabal, C. Dedonder, M. Broquier, C. Jouvét, W. Domcke, A. L. Sobolewski, *J. Chem. Phys.*, **130**, 024302 (2009)

\*20. “Dehalogenation of 5-halo-uracil molecules induced by 100 keV proton collisions”

J.P. Champeaux, P. Çarçabal, J. Rabier, P. Cafarelli, M. Sence, P. Moretto-Capelle, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12**, 5454 (2010)

\*21. “Evidence for catechol ring-induced conformational restriction in neurotransmitters”

H. Mitsuda, M. Miyazaki, I.B. Nielsen, P. Çarçabal, C. Dedonder, C. Jouvét, S.I. Ishiuchi, M. Fujii, *J. Phys. Chem. Lett.*, **1**, 1130 (2010)

22. “Sensing the anomeric effect in a solvent-free environment”

E.J. Cocinero, P. Çarçabal, T.D. Vaden, J.P. Simons, B.G. Davis, *Nature*, **469**, 76 (2011).

23. “A simple 'statistical' approach for fragmentation studies of doubly ionized cytosine, thymine and uracil bases”

J.P. Champeaux, P. Çarçabal, M. Sence, P. Moretto-Capelle, P. Cafarelli, *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.*, **44**, 045205 (2011)

24. “Exploring carbohydrate-peptide interactions in the gas phase: structure and selectivity in complexes of pyranosides with N-Acetylphenylalanine Methylamide”

E.J. Cocinero, P. Çarçal, T.D. Vaden, B.G. Davis, J.P. Simons, *J. Amer. Chem. Soc.*, **133**, 4548 (2011)

25. “*Binding energies of micro-hydrated carbohydrates: measurements and interpretation*”  
P. Çarçal, E.J. Cocinero, J.P. Simons, *Chem. Sci.*, **4** (4), 1830 (2013)

\*26. “*Carbohydrate-Aromatic Interactions: Vibrational Spectroscopy and Structural Assignment of Isolated Monosaccharide Complexes with p-Hydroxy Toluene and N-Acetyl L-Tyrosine Methylamide*”

E.C. Stanca-Kaposta, P. Çarçal, E.J. Cocinero, P. Hurtado, J.P. Simons, *J. Phys. Chem. B*, **117** (27), 8135 (2013)

\*27. “*‘Naked’ and Hydrated Conformers of the Conserved Core Pentasaccharide of N-linked Glycoproteins and Its Building Blocks*”

C.S. Barry, E.J. Cocinero, P. Çarçal, D.P. Gamblin, E.C. Stanca-Kaposta, S.M. Remmert, M.C. Fernandez-Alonso, S. Rudic, J.P. Simons, B.G. Davis, *J. Amer. Chem. Soc.*, **135** (45), 16895 (2013)

\*28. *UV-UV hole burning and IR dip spectroscopy of homophenylalanine by laser desorption supersonic jet technique.*

W.Y. Sohn, S. Ishiuchi, P. Carcabal, H. Oba, M. Fujii, *Chem. Phys.*, **445**, pp. 21-30, (2014)

29. *Carbohydrates.*

E.J. Cocinero, P. Çarçal, in “*GAS-PHASE IR SPECTROSCOPY AND STRUCTURE OF BIOLOGICAL MOLECULES*”, *Top. Curr. Chem.*, Springer Ed., **364**, pp. 299-333, (2015)

30. *Solvent Contribution to the Stability of a Physical Gel Characterized by Quasi-Elastic Neutron Scattering.*

S. Spagnoli, I. Morfin, M.A. Gonzalez, P. Carcabal, M. Plazanet, *Langmuir*, **31**, pp. 2554-2560, (2015)

\*31. *Molecular gels in the gas phase? Gelator-gelator and gelator-solvent interactions probed by vibrational spectroscopy.*

R. Lozada-Garcia, D. Mu, M. Plazanet, P. Carcabal, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **18**, pp. 22100-7, (2016).

32. *Using high harmonic radiation to reveal the ultrafast dynamics of radiosensitizer molecules.*

P. Çarçal, D. Descamps, S. Petit, Y. Mairesse, V. Blanchet, R. Cireasa, *Farad. Disc.*, DOI: 10.1039/C6FD00129G, 2016.

\*33. *Investigating the Conformation of the Bridged Monosaccharide Levoglucosan.*

I. Uriarte, P. Ecija, R.L. Lozada-Garcia, P. Çarçal, E.J. Cocinero, *Chem. Phys. Chem.*, **19**(6), pp. 766-773, DOI: 10.1002/cphc.201701242, 2018

34. *Molecular Recognition by a Short Partial Peptide of the Adrenergic Receptor: A Bottom-Up Approach.*

T. Sekiguchi, M. Tamura, H. Oba, P. Çarçal, R. Lozada-Garcia, A. Zehnacker-Rentien, G. Grégoire, S. Ishiuchi, M. Fujii, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **57**, 5626, 2018.

\*35. *Phenyl-beta-D-glucofuranoside and Phenyl-beta-D-galactofuranoside Dimers: Small Structural Differences but Very Different Interactions.*

I. Usabiaga, A. Camiruaga, A. Insausti, P. Carcabal, E.J. Cocinero, I. Leon, J.A. Fernandez, *Frontiers in Physics*, **6**, 3, DOI: 10.3389/fphy.2018.00003, 2018

36. *Gas phase dynamics, conformational transitions and spectroscopy of charged saccharides: the oxocarbenium ion, protonated anhydrogalactose and protonated methyl*

*galactopyranoside.*

M.P. Dvores, P. Çarçabal, P. Maître, J.P. Simons, R.B. Gerber, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **22**(7), pp. 4144-4157, DOI: 10.1039/c9cp06572e, 2020

37. *Consistent characterization of the electronic ground state of Iron (II) Phthalocyanine from valence and core-shell electron spectroscopy*

J. Laurent, J. Bozek, M. BRIANT, P. Carcabal, D. Cubaynes, A. Milosavljevic, R. Püttner, N. Shafizadeh, M. Simon, B. Soep and G. Goldsztejn, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, accepted, DOI:10.1039/D1CP04845G, 2021

---

## Publications dans des actes de conférences internationales à comité de lecture

1. *“Ionization and Fragmentation of 5-Chlorouracil induced by 100 keV protons collisions”*  
P. Cafarelli, P. Çarçabal, J.P. Champeaux, P. Moretto-Capelle, M. Sence, *“5th International Conference on Radiation Damage in Biomolecular Systems Location - Debrecen, 2008”*  
RADIATION DAMAGE IN BIOMOLECULAR SYSTEMS, *AIP Conf. Proc.*, **1080**, 71 (2008)

2. *“A VUV line at the Server Laser at the Paris-Sud University Laser Center”*  
C. Alcaraz, V. Carniato, F. Lecadre, P. Carcabal, M. Broquier, C. Dedonder-Lardeux, C. Jouvet, *“9th Colloquium on Coherent and Incoherent UV, VUV, and X Sources – Dourdan 2008”*

---

## Contributions orales dans des conférences nationales et internationales

1. *Franco-Korean Workshop : Biomolecules in the gas phase – Université d’Orsay – December 2004 – invited talk:*

“Conformation of carbohydrates out of the biological medium: What gas phase and hydrated complexes structure can tell?”

2. *Gordon Research Conference : Biomolecules in the gas phase – Bates College, Maine USA – July 2005 – invited talk:*

“Competition between intra- and intermolecular hydrogen bonding in carbohydrate structural stabilization”

3 – *International workshop on photonics and applications – Cantho, Vietnam – August 2006 – invited talk:*

“Spectroscopy of sugars in the gas phase : conformational selectivity, hydration and cooperativity”

4 – *Isolated Biomolecules and biomolecular interactions – Berlin, Germany – June 2010 – hot topic presentation:*

“100 keV proton irradiation of Halo-Uracils in the gas phase: Specific fragmentation channels revealed by coincidence measurements.”

5 – *Isolated Biomolecules and biomolecular interactions – Les Diablerets, Switzerland – January 2012 – hot topic presentation:*

“Binding energy of singly hydrated monosaccharides: measurements vs. theory”

- 6 – *Core-to-core Symposium – Marseille – Mars 2013 – invited talk* :  
 “Conformation of the core pentasaccharide of the N-Glycans: intrinsic preferences vs. environment effects”.
- 7 – *Symposium on Biomolecular Structure and Function, Saclay – 31/10/2014*  
 “Models for sugar-peptide interactions probed in the gas phase.”
- 8 – *PAMO-JSM SFP, mini-colloque « Enjeux et impact de la caractérisation structurelle de carbohydrates. », Bordeaux, 6/7/2016*  
 “Spectroscopie IR/UV de carbohydrates neutres: glycoconjugués et glycomimiques isolés et hydratés. ”
- 9 – *High Resolution Molecular Spectroscopy Conference, Bilbao, 4/9/2018*  
 “Hydrated Lewis antigens in the gas phase: building up the environment or peeling off the solvent?”
- 10 – *Journées de la Spectroscopie Moléculaire, Rennes, 28-30/06/2021*  
 “Vibrational spectroscopy of sugars in the gas phase.”
- 11 – *Rencontres de Chimie Physique, DCP SFP-SFC, Sète, 20-23/09/2021*  
 “Sugar peptide interactions in the gas phase: structure, conformation and the role of water.”
- 

## Séminaires

- 1 & 2 – *Tunis University - November 2000* :  
 a- "Experimental and theoretical methods for the infrared study of molecular complexes".  
 b- "High resolution infrared study of the C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-HCl and C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-HCl complexes".
- 3 - *Princeton University - May 2001*:  
 “Probing intermolecular potential energy surfaces via high resolution intramolecular infrared spectroscopy of molecular complexes : C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-HCl and C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-HCl.”
- 4 - *Princeton University – March 2002* :  
 “Benzene in Helium nanodroplets – How and Why?”
- 5 - *Oxford University – March 2003* :  
 “Electronic spectroscopy of weakly fluorescent or non fluorescent molecule in superfluid Helium nanodroplets.”
- 6 – *Orsay University – April 2003* :  
 “Spectroscopie électronique du benzène dans les agrégats d’hélium superfluide - Manifestations des interactions solvant – dopant. ”
- 7 – *Lille University – January 2004* :  
 “ Molécules biologiques en phase gazeuses : importance de l’infrarouge moyen et lointain ”
- 8 – *Orsay University – January 2004* :  
 “ Molécules biologiques en phase gazeuse : importance de l’infrarouge moyen et lointain ”
- 9 – *Oxford University – February 2004* :  
 “ Hydrated clusters of biomolecules in the gas phase. How many waters in your sugar?”
- 10 – *Ecole Polytechnique – Palaiseau – April 2004* :  
 “Préférence conformationnelle des mono- et polysaccharides et de leurs agrégats hydratés en phase gazeuse.”

- 11 – Orsay University – November 2005: “Spectroscopie infrarouge des sucres en phase gazeuse : identification et utilisation des signatures spectrales. ”
- 12 – Colloque Alain Bouissy – Orsay University: “Que peut-on apprendre de l’étude de molécules biologiques en phase gazeuse?”
- 13 – Tokyo Institute of Technology, Japan – December 2006 : “A MALDI source coupled to a supersonic jet for the production of cold protonated biomolecules and complexes.”
- 14 – Sendai University, Japan – December 2006 : “ Spectroscopy of sugars in the gas phase : conformational selectivity, hydration and cooperativity”
- 15 – Paul Sabatier University– Toulouse – November 2007 : “Photofragmentation de peptides en phase gazeuse : existe-t-il un lien entre structure et la nature des fragments”
- 16 – Oncological Institute Claudius Rigaud – Toulouse – January 2009 : “La spectroscopie comme outil d’étude des effets d’irradiation de molécules radiosensibilisantes.”
- 17 – Orsay University – April 2012 : “Etude des interactions sucres-peptides en phase gazeuse.”
- 18 – Hamburg University, Germany – July 2012 : “Structure and energy of sugar-peptide complexes in the gas phase.”
- 19 – Kaiserslautern University, Germany – July 2012 : “Sugar-peptide recognition processes probed in the gas phase.”
- 20 – CEA Saclay – Laboratoire Francis Perrin – Février 2012 : “Le pentasaccharide des N-Glycans. Conformationnelles d’oligosaccharides : préférences intrinsèques vs. effets de l’environnement.”
- 21 – Séminaire LIDyL, Saclay – 28/03/2014 : Gels moléculaires physiques sondés par spectroscopie IR en phase gazeuse.
- 22 – Workshop « Sources d’agrégats et d’ions », Toulouse – 8/9/2014 : Spectroscopie des sucres en phase gazeuse.
- 23-24 – Séminaire, Nanjing University (Chine) – 26/10/2015, Zaozhuang University (Chine) – 29/10/2015 : Gas phase spectroscopy of carbohydrates: Structure and interaction.
- 25 – Séminaire Université du Pays Basque, Bilbao – 24/11/2015 : Carbohydrates: conformation and molecular recognition in the gas phase.
- 26 – Journée Scientifique de la Fédération de Chimie Physique Paris Saclay, Orsay – 24/6/2016 : Conformation de Glycomimiques isolés et hydratés en phase gazeuse.
- 27 – Réunion plénière du GDR EMIE – 13/11/2018 : Les antigènes de Lewis et ses mimiques en phase gazeuse : conformations intrinsèques et effets d’hydratation.
- 28 – Séminaire Université de Kaiserslautern – 27/11/2018 : Effects of microhydration on the conformation of Lewis X antigen and its mimics.



## Parcours

Le fil rouge qui relie les étapes de mon parcours scientifique est l'étude des systèmes moléculaires où les interactions non covalentes jouent un rôle central, en combinant des méthodes expérimentales de spectroscopie laser en phase gazeuse et des travaux de chimie théorique.

L'étude des faibles interactions entre les molécules est fondamentale pour la compréhension d'un très grand nombre de phénomènes physiques et chimiques incluant les transferts d'énergie inélastiques, la dynamique de photo-fragmentation, la liaison hydrogène ou la catalyse par adsorption sur une surface. Outre ces aspects très généraux, la liaison hydrogène joue un rôle très important dans les phénomènes de solvatation et dans les mécanismes moléculaires du vivant qui sont au centre de mes travaux. Un moyen d'investigation de ces faibles interactions est l'étude des complexes moléculaires.

Pendant ma thèse (Orsay, LPPM, Dir. A. Picard-Berselini, 1997-2000), j'ai étudié, grâce à des méthodes expérimentales et théoriques sophistiquées, des petits complexes moléculaires modèles. Grâce à la taille réduite des systèmes considérés ( $C_2H_2-HCl$  et  $C_2H_4-HCl$ ) j'ai obtenu des informations très précises sur les interactions en jeu *via* l'analyse des constantes rotationnelles et de distorsion centrifuge issues de l'analyse des expériences de spectroscopie infrarouge (IR) rovibrationnelle à haute résolution. Nous avons complété ces travaux expérimentaux avec des calculs de chimie quantique à un haut niveau de théorie et dépassant l'approximation harmonique. Nous avons ainsi pu décortiquer finement les différentes contributions (électrostatique, dispersion, polarisation) en jeu dans ces complexes modèles.<sup>1-3</sup>

Lors de ma première expérience post-doctorale (Princeton, Frick Chemical Laboratory, Prof. G. Scoles et K. K. Lehmann, 2001-2002), j'ai travaillé sur la spectroscopie de molécules piégées dans des agrégats d'Hélium, où les interactions de nature quantique (dominées par la dispersion) entre l'hélium superfluide et la molécule piégée sont responsables de nombreuses observations expérimentales qui restaient à interpréter. J'ai mis en place une technique expérimentale qui a permis l'observation du spectre du benzène en agrégat d'Hélium, puis d'autres systèmes aromatiques plus complexes.<sup>4,5</sup> Ces expériences extrêmement exigeantes, étaient probablement les plus difficiles que j'ai été appelées à mener et il y avait une vraie émulation entre les rares groupes qui maîtrisaient ces techniques à l'époque. L'observation des spectres du benzène était importante pour aller plus avant dans la spectroscopie de molécules aromatiques plus complexes.

C'est pendant mon deuxième post-doc (Oxford, Physical and Theoretical Chemical Laboratory, Prof. J. P. Simons, 2003-2005) que j'ai découvert le monde des biomolécules.<sup>6-15</sup> J'ai travaillé sur plusieurs types de biomolécules comme les acides aminés et les neurotransmetteurs. J'ai surtout eu la chance d'arriver dans cette équipe au moment où les premiers travaux de spectroscopie des sucres en phase gazeuse y étaient menés. J'ai ainsi pu contribuer à l'émergence des approches expérimentales et théoriques dédiées à ces molécules particulièrement difficiles à traiter par leur complexité et diversité structurale, conformationnelle et chimique (donc souvent disponibles uniquement en faibles quantités). En partant des monosaccharides les plus basiques, puis des premiers disaccharides, ainsi que les complexes hydratés, nous avons vite progressé dans l'exploration de ces systèmes qui sont au cœur de mes travaux et de mes projets. Leur propriétés conformationnelles sont dictées par un équilibre subtil entre flexibilité et intégrité structurale garanti par des interactions non-

covalentes essentiellement dominées par l'électrostatique, avec des contributions de polarisation (mes travaux ont mis en évidence l'importance de la coopérativité) ainsi que dispersives (notamment dans des interactions de type CH -  $\pi$ ). La finesse et la subtilité des informations moléculaires portées par les conformations des glycanes (on parle de « glycode ») leur confère des rôles fondamentaux dans les processus biologiques de reconnaissance moléculaire qui sont parmi les nombreuses fonctions des sucres, ceux qui suscitent le plus ma curiosité et motivent mes travaux actuels.

J'ai été recruté au CNRS en 2005 et j'ai rejoint le groupe de Christophe Juvet au LPPM. J'ai participé aux travaux de l'équipe sur la photofragmentation de molécules protonées,<sup>16-18</sup> notamment avec le dispositif Arc-En-Ciel, développé grâce à la réunion de l'équipe du LPPM et de celle de Jacqueline Fayeton et Michel Barat du LCAM. Avec ce dispositif unique au monde où les fragments neutres et ioniques d'un même événement de dissociation sont détectés en coïncidence, nous avons pu établir les mécanismes de photofragmentation de ces molécules. En parallèle, j'ai contribué à la création du Centre Laser de l'Université Paris Sud (CLUPS). Les premiers lasers du CLUPS ont été livrés au moment de mon recrutement et, à partir d'une page blanche, avec Christophe Juvet, Claude Dedonder-Lardeux et Michel Broquier, nous avons mis en place cet outil de mutualisation de sources laser qui a permis de nombreuses collaborations dans la communauté nationale et internationale.<sup>19,20</sup>

En 2008, dans le cadre d'une mobilité géographique et thématique, j'ai rejoint pour 2 ans le groupe de Patrick Moretto Capelle au LCAR à Toulouse où nous avons travaillé sur l'étude des mécanismes de fragmentation des HaloUracils (des radiosensibilisants utilisés dans des radiothérapies) soumis au rayonnement ionisants de haute énergie, notamment des collisions avec des protons de 100 keV. Pour la première fois, je n'utilisais plus des photons de quelques eV maximum mais des particules chargées de 100 keV qui pouvaient déposer plusieurs dizaines d'eV dans les molécules. Les mécanismes et cinématiques de fragmentation des espèces doublement chargées étaient étudiées grâce à la détection en coïncidence des fragments ioniques.<sup>21-23</sup> Cela m'a permis de découvrir les biomolécules sous de nouveaux aspects, avant de revenir vers leur spectroscopie.

En 2011, je suis retourné à l'ISMO à Orsay pour y installer le dispositif expérimental CARLOTTA que j'avais développé à Oxford lorsque j'y étais post-doctorant. CARLOTTA inclut une source de vaporisation laser de molécules non volatiles couplée à un jet supersonique et une détection par spectrométrie de masse. J'ai ainsi pu assoir mon activité de recherche propre, prenant le relais des travaux pionniers menés à Oxford et leur donnant un nouvel essor en explorant les capacités de ce dispositif, devenu très performant pour étudier par spectroscopie à double résonance IR-UV des édifices biomoléculaires. En améliorant les performances de ce dispositif, en particulier de sa source de désorption laser, j'ai étudié des oligosaccharides de plus en plus complexes,<sup>24</sup> des complexes hydratés,<sup>25</sup> des glycopeptides et des complexes formés par des sucres et des modèles de peptides.<sup>26,27</sup>

En parallèle de ces travaux qui représentent mon « cœur de métier », les performances atteintes par le dispositif CARLOTTA a suscité l'intérêt de plusieurs groupes avec lesquels je collabore. J'ai ainsi abordé d'autres types de molécules comme des neurotransmetteurs, des modèles de peptides, glycopeptides, et, plus récemment les furanosides. En dehors du contexte biologique, j'ai pu aussi appliquer l'approche expérimentale à des composants de gels moléculaires physiques ou encore des précurseurs des Covalent Organic Frameworks (COFs).

## *Thématiques de recherche*

Mes recherches portent sur l'exploration des paysages conformationnels de molécules d'intérêt biologique et l'étude de leurs interactions avec d'autres systèmes moléculaires. Ces édifices moléculaires sont flexibles et peuvent adopter un grand nombre de conformations différant les unes des autres par des réseaux d'interactions non-covalentes (liaison hydrogène, liaison de van der Waals) qui les rigidifient et gouvernent leurs propriétés structurales. En portant les systèmes moléculaires en dehors de leur environnement physiologique naturel, dans la phase gazeuse, il est possible d'interroger leurs propriétés intrinsèques (molécules isolées). L'effet de l'environnement sur ces propriétés est ensuite étudié, toujours dans la phase gazeuse, lorsque les systèmes forment des complexes de taille contrôlée avec d'autres molécules.

La spectroscopie vibrationnelle infrarouge est une sonde des structures moléculaires et fournit des signatures expérimentales des interactions non-covalentes mises en jeu. Pour étudier les molécules, l'outil principal que j'utilise est la spectroscopie vibrationnelle à double résonance en phase gazeuse, qui permet une sélectivité conformationnelle, nécessaire avec des systèmes de grande taille et flexibles, afin d'obtenir des spectres vibrationnels de chaque conformère individuellement. En complément des expériences, la modélisation moléculaire (mécanique moléculaire et chimie quantique) permet d'interpréter les résultats expérimentaux pour caractériser les conformations des systèmes observés, et interroger les interactions qui régissent les propriétés des molécules.

Au centre de mon activité se trouvent les carbohydrates – ou sucres, une importante famille de biomolécules qui reste largement inexplorée en comparaison aux autres systèmes moléculaires d'intérêt biologiques tels que les peptides ou les acides nucléiques. Au-delà de leur fonction, bien connue, de source d'énergie dans les systèmes vivants, les carbohydrates servent de médiateurs dans les processus de reconnaissance moléculaire. Grâce à leur grande variété conformationnelle, ils encodent une information très riche véhiculée par les interactions non-covalentes à l'intérieur même du carbohydrate et avec d'autres édifices bio-moléculaires, comme les peptides qui forment les protéines. Ce sujet est maintenant au centre d'une communauté très large et active, motivée notamment par la perspective de thérapies, basées sur l'utilisation des carbohydrates.

L'étude des paysages conformationnels des saccharides par spectroscopie en phase gazeuse a été initiée par le groupe de John Simons à Oxford au début des années 2000. Après avoir résolu les préférences structurales des monosaccharides les plus abondants, ces travaux se sont rapidement étendus à l'étude des complexes hydratés et de saccharides de plus grande taille (di-, tri-, et très récemment penta-saccharides). Ayant eu la chance de participer à ces travaux dès le début lors de mon post-doctorat à Oxford et de continuer à collaborer avec John Simons par la suite, j'ai acquis une expertise dans l'étude de ces systèmes et des problématiques associées, notamment grâce à plusieurs collaborations avec des glycochimistes et glycobiochimistes.

# Etude fondamentale des interactions moléculaires sur des systèmes modèles

## Etude de complexes moléculaires par spectroscopie vibrationnelle à haute résolution.

Nous avons étudié, en jet moléculaire, des complexes formés de deux molécules de petite taille liées par liaison hydrogène. Les propriétés spectroscopiques et plus particulièrement les domaines d'absorption de ces complexes dépendent de la force de l'interaction. La spectroscopie infrarouge à haute résolution est une sonde fine de la surface de potentiel de l'état électronique fondamental, donc de l'interaction.

Le dispositif expérimental que nous avons développé est l'association d'un jet moléculaire pulsé à fente avec un spectromètre à diode laser (Figure 1), couplé à une méthode de détection synchrone hétérodyne inspirée des méthodes de détection micro-ondes.

Nous avons observé les spectres rovibrationnels d'absorption infrarouge du mode intramoléculaire d'élongation H-Cl des complexes  $C_2H_2-HCl$  et  $C_2H_4-HCl$  sous différentes formes isotopiques ( $H^{35}Cl$  et  $H^{37}Cl$ ) (Figure 1). Les constantes rotationnelles issues de l'analyse spectroscopique ont confirmé une structure en T avec le H de HCl pointant vers la liaison CC du partenaire de complexation. Grâce aux constantes de distorsion centrifuge déterminées expérimentalement nous avons utilisé un modèle simple, basé sur une représentation quasi-diatomique du complexe pour inverser les constants spectroscopiques vers un potentiel intermoléculaire, pour déterminer la fréquence de la vibration intermoléculaire pour le niveau  $v=0$  et  $v=1$  de la vibration d'élongation HCl dans le complexe. La faible différence entre les deux valeurs obtenues montre que le couplage entre les vibrations intra et intermoléculaire est faible. Avec ce modèle, nous avons aussi déterminé les énergies de la liaison intermoléculaire.

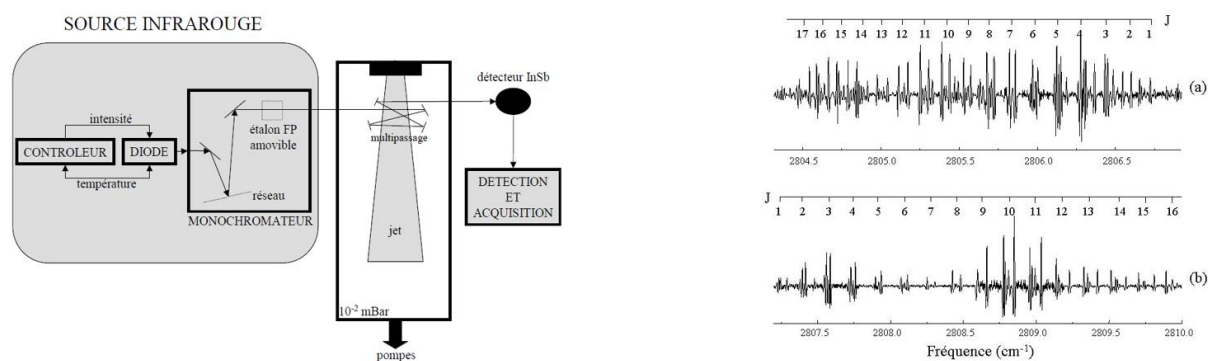


Figure 1. A gauche, schéma du dispositif expérimental du jet à fente pulsé couplé à un spectromètre à diode laser IR. A droite, sections du spectre de la bande  $v_1$  de  $C_2H_2-H^{35}Cl$  (a) branche P, (b) branche R.

En complément des expériences, j'ai entrepris, en collaboration avec Philippe Millié et Valérie Brenner du Laboratoire de Chimie Théorique du CEA Saclay, une étude de ces systèmes par chimie quantique. Pour déterminer les différentes contributions à l'énergie d'interaction (électrostatique, polarisation, dispersion et répulsion), nous avons utilisé un modèle de forces intermoléculaires basé sur la distribution multicentrique multipolaire des distributions de charges. Des calculs *ab initio* à un haut niveau de théorie (CCSD(T)/cc-pVTZ) ont donné des résultats très satisfaisants à la fois en ce qui concerne la géométrie, les fréquences et les

déplacements vibrationnels. Les résultats purement *ab initio* obtenus sur ce système simple nous ont encouragés à poursuivre les calculs théoriques en analysant trois effets différents:

- La modification de la forme de la surface d'énergie potentielle résultant de la correction de l'erreur de superposition de base.
- L'effet de l'anharmonicité de la vibration *intramoléculaire* H-Cl.
- L'anharmonicité des mouvements *intermoléculaires* et le couplage entre les mouvements *intra* et *intermoléculaires*.

Le faible nombre d'atomes du système nous a permis d'aller au-delà de l'approximation harmonique par un calcul de grille à deux dimensions sur la surface de potentiel à un niveau de théorie élevé (CCSD(T)/cc-pVTZ) (Figure 2).

Ces travaux théoriques ont montré que ces systèmes se situent entre un complexe purement van der Waals et un complexe à liaison hydrogène : la contribution de la dispersion et de la polarisation à l'énergie de liaison est du même ordre de grandeur que la contribution électrostatique (quadrupôle-dipôle). L'effet de couplage entre les mouvements d'élongation intramoléculaire et intermoléculaire est faible. Les effets de l'anharmonicité et de la correction de l'erreur de superposition de base sur le calcul du déplacement vibrationnel se compensent partiellement. Cela explique que le calcul «standard» ait donné de bons résultats pour ce déplacement. La prise en compte de toutes ces corrections fait que les résultats théoriques obtenus sont en parfait accord avec les expériences aussi bien pour la structure du complexe que pour les valeurs des fréquences de vibration.

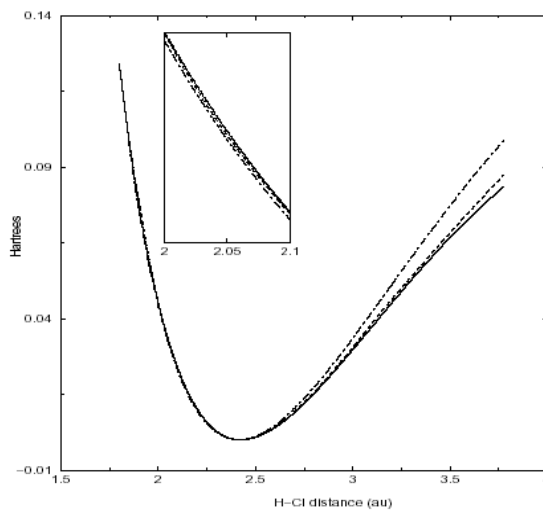


Figure 2. Surfaces d'énergie potentielle de HCl libre (.-.), du complexe C2H2-HCl (...) et du complexe C2H4-HCl (-) obtenues par le calcul de grille.

En conclusion, ce travail montre que l'étude de petits systèmes liés par de faibles interactions fournit, à partir de résultats expérimentaux sur les vibrations *intramoléculaires*, des informations précieuses sur les mouvements *intermoléculaires*. La taille de ces systèmes a aussi permis de faire des calculs de chimie quantique sophistiqués afin de tester les modèles en comparant les résultats avec nos données expérimentales très précises.

## Spectroscopie électronique de molécules piégées dans des agrégats d'Hélium superfluide.

Pour les spectroscopistes, sonder des molécules piégées dans des agrégats d'Hélium présente un double avantage : (i) la faible température atteinte (0.38 K) et, (ii) la très faible perturbation de l'environnement superfluide n'interagissant que par des forces dispersives faibles.

Les études effectuées lors de mon post-doctorat à Princeton ont porté sur la spectroscopie électronique des molécules aromatiques. Des molécules aromatiques de grande taille telles que le tétracène, le pentacène ou la phtalocyanine piégées dans des agrégats d'hélium avaient été observées et l'interprétation de leurs spectres suscitaient de nombreux débats, notamment autour du comportement de l'environnement superfluide au voisinage des molécules piégées.<sup>28-32</sup> Le benzène a longtemps échappé à la détection dans les agrégats d'hélium. Pour cela, une grande partie de mon travail a consisté à développer un nouveau dispositif expérimental avec une détection originale. La section efficace d'absorption et le rendement de fluorescence du benzène sont faibles et rendaient les techniques de détection de fluorescence inefficaces. Nous avons donc exploité les propriétés des agrégats d'Hélium pour utiliser un autre système de détection : la détection bolométrique d'atténuation de jet moléculaire.

Lorsqu'une molécule se trouve dans un état électronique excité, elle va se relaxer dans son état électronique fondamental soit par fluorescence, soit par des mécanismes non-radiatifs tels que l'IVR ou la conversion interne. Dans le cas des mécanismes non-radiatifs, l'énergie dissipée est transmise à l'agrégat qui va évaporer des atomes pour dissiper cette énergie. Il s'en suit une perte d'énergie totale du jet moléculaire détectable par un bolomètre. On comprend que moins la molécule ou le système moléculaire est fluorescent, plus ce dispositif expérimental sera performant. Grâce à ce dispositif, nous avons observé pour la première fois le spectre UV du benzène piégé dans des agrégats d'hélium (Figure 3).

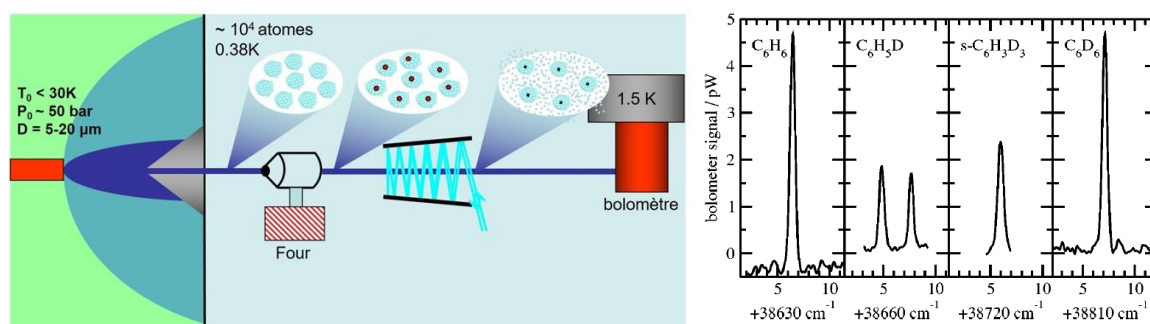


Figure 3. A gauche : représentation schématique du dispositif expérimental. Les agrégats d'hélium traversent une cellule de pick-up (four) où elles piègent les dopants avant d'être soumis au laser de spectroscopie. L'absorption résonante du laser entraîne une évaporation massive des agrégats qui est détectée comme une perte d'énergie du faisceau d'agrégats par un bolomètre cryogénique. A droite : Spectre électronique de la transition  $S_0-S_1$  du benzène sous différentes formes isotopiques dans des agrégats d'hélium superfluides.

Nous avons poussé la spécificité de notre système de détection pour étudier le phénomène d'extinction de fluorescence dû à l'Oxygène moléculaire. Pour ce faire, nous avons choisi une molécule qui possède à la fois une section efficace d'absorption et un rendement de fluorescence importants : le pérylène. Nous avons observé les spectres des complexes formés par le pérylène et l'oxygène moléculaire. Les intensités relatives du signal du monomère pérylène et des complexes pérylène-oxygène sont comparables. Cela illustre encore la spécificité du montage expérimental. Le pérylène avec son rendement de fluorescence élevé (94% de rendement de

fluorescence) est un "mauvais candidat" pour notre détection. En revanche, les complexes avec l'oxygène bien que beaucoup moins abondants puisque plus difficiles à former, sont très bien détectés car les mécanismes de relaxation non-radiatifs sont alors prédominants.

## Conclusions : spectroscopie à haute résolution de systèmes de petite taille

Ces travaux fondamentaux, sur des systèmes de petite taille permettant des mesures à haute résolution et des calculs de chimie quantiques poussés, sont ceux qui me servent toujours de base pour appréhender les interactions non-covalentes au sein des systèmes que j'étudie aujourd'hui et dont la taille ne permet pas d'atteindre le même niveau de précision.

En sondant les modes de vibration *intra*-moléculaire des modes de vibration de groupes directement impliqués dans les liaisons non-covalentes, on interroge indirectement le potentiel d'interaction *inter*-moléculaire. Les modes d'élongation des modes donneurs sont particulièrement sensibles à la nature du potentiel *inter*-moléculaire. C'est sur cette base que j'emploie maintenant la spectroscopie des modes d'élongation des groupes OH et NH dans des molécules d'intérêt biologique pour sonder les interactions gouvernant leur choix conformationnels.

Quel que soit le système considéré, qu'il soit de grande taille ou non, d'intérêt biologique ou non, j'approche les interactions non-covalentes en les considérant comme un subtil équilibre entre quatre forces de nature physique différente qui contribuent à l'interaction globale : la répulsion, la dispersion, la polarisation (ou induction) et enfin l'électrostatique. D'un cas à l'autre, suivant la nature des partenaires moléculaires en interaction, une contribution peut prendre le pas sur les autres, comme l'électrostatique dans les liaisons Hydrogènes par exemple, mais les autres contributions sont toujours présentes.

La spectroscopie à haute résolution, avec l'utilisation des structures rotationnelles et des signatures isotopiques offre un diagnostic extrêmement robuste dont l'analyse et l'interprétation peuvent se passer de calculs *ab initio*.

D'un point de vue expérimentale, les expériences que j'ai menées dans ce cadre, que ce soit le jet à fente pulsé en thèse ou les agrégats d'Hélium superfluides, ont certainement été les plus difficiles et par conséquent les plus formatrices. Les difficultés qui se sont présentées m'ont beaucoup apporté pour la suite pour aborder une expérience et un développement instrumental.

Du point de vue théorique, l'utilisation de méthodes de chimie quantique à un haut niveau de théorie m'a permis d'avoir un œil critique sur les résultats théoriques obtenus à tous niveaux de théorie, sachant que les compensations d'erreurs (comme celles liées à l'approximation harmonique et l'erreur de superposition de base) aboutissent parfois à des résultats très convaincants. Pour l'étude des systèmes de grande taille, pour lesquels les plus hauts niveaux de théorie ne sont pas accessibles et le compromis « temps de calcul – exactitude – robustesse des résultats » doit être constamment remis en question, ces compensations d'erreurs peuvent avoir des effets bénéfiques ou non, selon les systèmes étudiés et les propriétés calculées.



## Interactions moléculaires dans les molécules biologiques : conformations et interactions des sucres.

Les molécules biologiques sont des édifices moléculaires de grande taille qui peuvent adopter différentes conformations. Il existe un lien très fort entre conformation et fonction biologique. Nous cherchons à explorer le paysage conformationnel de molécules biologiques en phase gazeuse d'abord complètement isolées, puis en interaction avec quelques molécules de solvant.

Les molécules sont vaporisées par désorption laser. Elles sont ensuite entraînées par une détente supersonique, idéale pour des études spectroscopiques de molécules isolées et de leurs complexes non-covalents, les systèmes sont détectés par ionisation résonante à 2 photons (R2PI) dans un spectromètre à temps de vol. Nous utilisons la spectroscopie à double résonance UV-UV pour différencier les spectres électroniques de chaque conformère présent dans la détente puis IR-UV pour obtenir les spectres IR de chacun de ces conformères. Grâce à cette spectroscopie sélective en conformation et résolue en masse, on peut caractériser les structures des différents conformères en comparant les spectres expérimentaux avec les spectres calculés pour tous les conformères possibles par des méthodes de chimie théorique.<sup>33</sup>

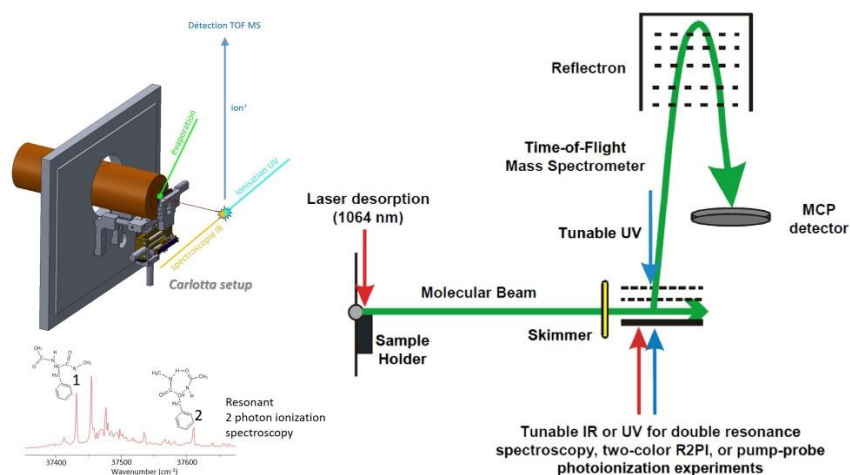


Figure 4. Le dispositif expérimental Carlotta. Le spectre en bas à gauche illustre la sélectivité conformationnelle que permet la spectroscopie R2PI dans le cas de la Phenylalanine (AcPheNHMe). Selon qu'on ajuste la longueur d'onde du laser UV sur la transition 1 ou 2, on sondera la conformation ouverte ou fermée, respectivement, de la molécule.

Les sucres – ou carbohydrates – représentent une des principales familles de molécules biologiques qui remplissent énormément de fonctions biologiques comme en témoigne le titre – un peu provocateur – d'un article de revue par Varki : « Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct ». <sup>34</sup> Ils se distinguent des autres biomolécules par une très grande diversité et flexibilité conformationnelle qui leur donne un fort potentiel pour coder une information très complète et précise. C'est pourquoi, ces molécules jouent un rôle très important dans les processus de reconnaissance moléculaire et le concept d'un code biologique utilisant les sucres – le glycode – a émergé. <sup>35-39</sup>

Les conformations des sucres sont définies par les orientations relatives de leurs nombreux groupes polaires (essentiellement OH et quelques NH) qui vont interagir entre eux et avec leur environnement par des interactions non-covalentes pour optimiser leur stabilité. L'exemple de deux conformations du phenyl-mannose est donné sur la Figure 5. A l'échelle des oligosaccharides, les monosaccharides sont reliés par la liaison glycosidique dont la grande

flexibilité permet des orientations relatives des monosaccharides très variées, conduisant aussi à l'augmentation de la richesse conformationnelle de ces molécules. Une ample description de la zoologie et des conformations des sucres se trouve dans un chapitre de revue consacré à la spectroscopie vibrationnelle en phase gazeuse de ces espèces.<sup>40</sup>

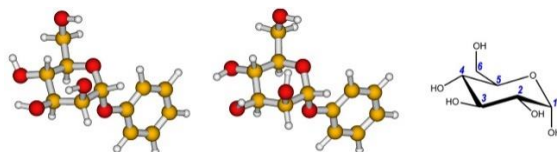


Figure 5. Deux conformations du phenyl-mannose. D'une conformation à l'autre, les groupes OH engagent des réseaux de liaisons hydrogène intramoléculaires différents. La représentation à droite du glucose permet d'établir la numérotation des différents groupes des pentoses en général.

La combinaison de données expérimentales issues de travaux de RMN avec des modélisations utilisant des champs de force était pendant longtemps la seule stratégie pour aborder le problème complexe de la détermination de la conformation de ces molécules.<sup>41</sup> Cependant, c'est à cause de ce qui les rend particulièrement intéressants – leur grande flexibilité conformationnelle – que cette approche est parfois limitée, la RMN conduisant à des structures moyennées sur les différentes conformations pouvant s'interconvertir sur des temps courts. Toujours à cause de la flexibilité de ces molécules, les données cristallographiques sont rares à cause de la difficulté de former des cristaux homogènes permettant de se prêter à cette technique d'analyse.

La communauté des glyco biologistes exprime donc un besoin d'obtenir d'autres informations expérimentales sur les différentes conformations des sucres et sur l'influence que leur environnement peut avoir sur ce paysage conformationnel. Les travaux en phase gazeuse visant à identifier les forces élémentaires contrôlant la conformation des carbohydrates et de leurs agrégats hydratés, peuvent répondre à ce besoin.

### Les monosaccharides et leurs complexes hydratés

Les monosaccharides sont les éléments de base dans la hiérarchie des glycans. Dans un premier temps, nous avons cherché à identifier les structures des monosaccharides les plus abondants dans la nature : glucose, galactose, mannose, xylose et fucose.<sup>7,9,13,15</sup> Ce sont les briques à partir desquelles la plupart des oligosaccharides sont construits. Ces études montrent qu'au niveau des monosaccharides isolés, il n'est pas possible d'identifier de règles générales sur le paysage conformationnel : d'un monosaccharide à un autre, les conformations les plus stables sont différentes (Figure 6).

Les complexes hydratés de ces monosaccharides sont plus difficiles à observer expérimentalement ainsi qu'à modéliser. Nous avons néanmoins mis en évidence que les paysages conformationnels de ces complexes (Figure 6) sont largement simplifiés par rapport à ceux des molécules isolées. C'est le phénomène de coopérativité des réseaux de liaisons hydrogènes rigidifiant les conformations des complexes qui favorise ces conformations. La coopérativité est le renforcement inductif des réseaux de liaisons hydrogène (aussi bien *intra*-qu'*inter*moléculaires) qui permet une augmentation de la stabilité des structures puisque l'interaction totale est supérieure à la somme de chaque interaction individuelle. Plus le nombre de groupes OH impliqués dans les liaisons hydrogènes en tant que donneur et accepteur est grand, plus l'effet coopératif sera grand.<sup>9</sup>

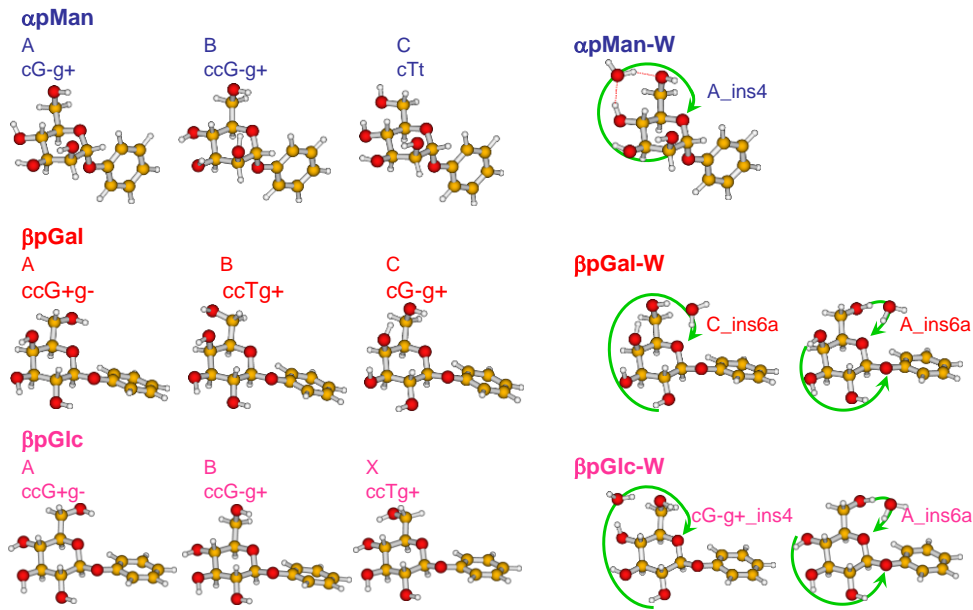


Figure 6. Conformation des conformations observées en phase gazeuse pour le mannose ( $\alpha$ Man), le galactose ( $\beta$ pGal) et le glucose ( $\beta$ pGlc) isolés et hydratés ( $\alpha$ Man-W,  $\beta$ pGal-W,  $\beta$ pGlc-W). Les formes hydratées favorisent les conformations coopératives où sont formés les plus longs réseaux ininterrompus de liaisons hydrogènes (représentés par les flèches vertes).

Une fois la structure et la conformation des complexes hydratés connues, l'énergie de liaison des complexes est une grandeur importante à connaître pour caractériser les interactions non-covalentes. Par des expériences à 2 couleurs UV-UV (ou 1 couleur VUV), il est possible de déterminer expérimentalement l'énergie de liaison d'un complexe à partir de la différence entre le seuil d'ionisation du chromophore isolé et de la limite de dissociation du complexe cation.<sup>42,43</sup> La Figure 7 compare les énergies de liaisons des différents complexes hydratés considérés avec celles calculées par la méthode de la DFT corrigée de la dispersion B97-D. Une excellente corrélation entre les énergies expérimentales et calculées est mise en évidence et les structures coopératives montrent effectivement une plus grande stabilité que les autres.<sup>25</sup>

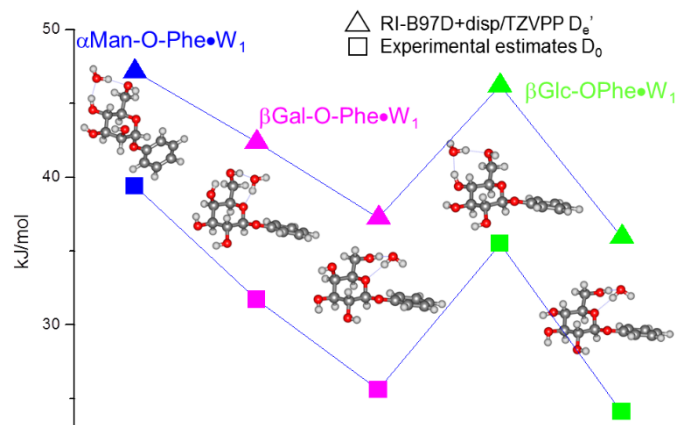


Figure 7. Comparaison entre les énergies de liaison mesurées (carrés) et calculées (triangle) des complexes hydratés d'une série de monosaccharides.

## Conclusions : spectroscopie en phase gazeuse des monosaccharides isolés et hydratés.

Ces travaux ont permis d'identifier des signatures spectrales et des tendances conformationnelles dans les éléments de bases de la hiérarchie des glycanes.

S'il est difficile d'extraire des préférences conformationnelles d'un monosaccharide isolé à l'autre, nous avons pu identifier cinq règles dans le cas des monosaccharides hydratés qui sont suivies par tous les systèmes :

- i. Les structures coopératives où les plus longues chaînes d'OH en interaction peuvent être créées sont favorisées et la première molécule d'eau liée remplace l'interaction intramoléculaire la plus faible par deux interactions intermoléculaires fortes.
- ii. Lorsqu'un groupe N-acétyle est présent (GlcNAc, GalNAc)<sup>27</sup>, les molécules d'eau s'y fixent.
- iii. En l'absence de groupe N-acétyle, le groupe hydroxyméthyle (OH6)\* est sélectionné et les premières molécules d'eau s'insèrent préférentiellement entre OH4 et OH6 lorsque OH4 est équatorial ou entre OH6 et O5 lorsque OH4 est axial (suivant règle i).
- iv. Si aucun de ces groupes n'est présent (pour les déoxy-monosaccharides Xyl, Fuc), les molécules d'eau cherchent à obéir au plus près à la règle i. « coopération + maillon le plus faible » et s'intercalent pour remplacer les groupes hydroxyles « manquants ».

Ces règles peuvent servir de guides pour faciliter les recherches conformationnelles sur des systèmes plus difficiles et de plus grande taille.

Les travaux sur les monosaccharides restent d'actualité avec des études sur des systèmes plus exotiques que les éléments les plus abondants que j'ai décrits ici. Par exemple, nous sommes en train d'élucider les préférences conformationnelles et l'influence de quelques molécules d'eau de glycolipides ou encore des très flexibles furanosaccharides.

\* La numérotation des groupe des hexoses est représentée Figure 5.

## Les oligosaccharides.

### Le pentasaccharide des N-Glycans.

Un des motifs les plus importants en glycobiologie est le pentasaccharide central des N-glycans. Il se trouve toujours lié à la glycoprotéine par une asparagine (Asn) dans une séquence bien précise (Figure 8).

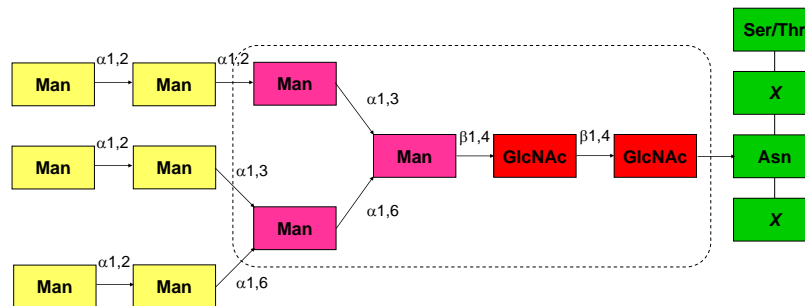


Figure 8. Représentation schématique du pentasaccharide central (encadré) des N-glycans. Les cases vertes représentent les acides aminés de la glycoprotéine. Les monosaccharides en jaune représentent le glycan qui se développe à partir du pentasaccharide.

Nous avons adopté une stratégie « pas-à-pas » (« bottom-up ») pour étudier ce système par spectroscopie en phase gazeuse dans l'espoir de fournir des éléments de réponse sur ses préférences conformationnelles et la raison de son omniprésence. Nous avons tout d'abord étudié les différents monosaccharides qui le composent (Man et GlcNAc)<sup>44-46</sup>, les disaccharides (Man- $\alpha$ -1,3-Man,<sup>14</sup> Man- $\beta$ -1,6-Man,<sup>14</sup> Man- $\beta$ -1,4-GlcNAc<sup>24</sup> et GlcNAc- $\beta$ -1,4-GlcNAc<sup>24</sup>), puis les trisaccharides (le trimannose de branchement<sup>47</sup> – en violet sur la Figure 8, et Man-di-GlcNAc<sup>24</sup>) avant d'aborder finalement, le pentasaccharide dans son ensemble.<sup>24</sup>

Cette étude de longue haleine a commencé à Oxford et nous avons pu finir les expériences de spectroscopie à Orsay sur le dispositif CARLOTTA. J'ai eu la chance de contribuer à ce travail depuis les premières mesures sur le Mannose à Oxford en 2004, jusqu'aux dernières expériences conduites à Orsay sur les trisaccharides et le pentasaccharide, permettant de la mener à terme. Ce projet a représenté un challenge pour la mise en phase gazeuse et l'observation spectroscopique de ces espèces mais aussi pour leur synthèse. Les glycochimistes du groupe de Ben Davis à Oxford avec lequel nous travaillons ont mis en place des moyens impressionnants pour fournir des quantités de composés suffisantes pour nos expériences. Du point de vue spectroscopique, il s'est avéré possible d'obtenir des spectres UV et IR des mono-, di- et tri-saccharides que nous avons pu exploiter pour définir les conformations adoptées. En revanche, le pentasaccharide représente sans doute la limite de l'approche expérimentale puisque nous avons pu observer les spectres UV et IR de cette espèce mais ils ne présentent aucune structure permettant de remonter directement aux informations structurales. Les spectres observés avec le dispositif CARLOTTA sont représentés Figure 9.

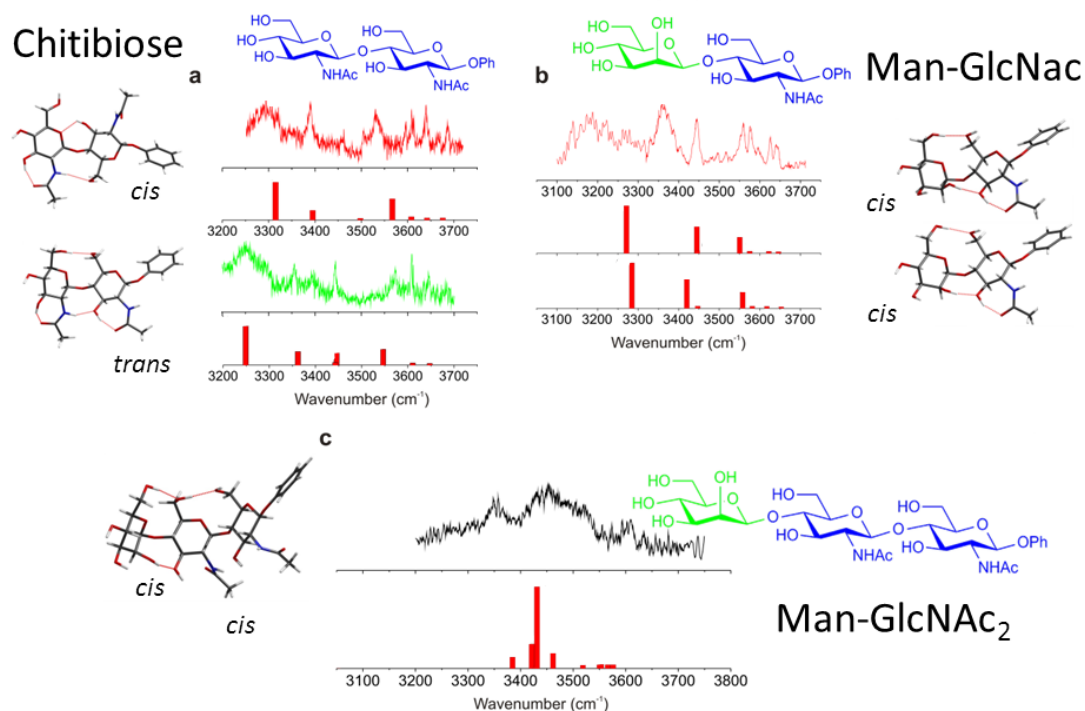


Figure 9. Spectres observés dans le cadre de l'approche bottom-up du pentasaccharide central des N-Glycans.

Malgré les difficultés présentées par ces systèmes, grâce à l'approche « bottom-up », nous avons pu identifier des signatures spectrales utiles. Par exemple, il apparaît que la section GlcNac-GlcNac (en rouge sur la Figure 8) adopte une conformation étendue rigidifiée par des liaisons hydrogènes inter-saccharide alors que le trimannose se trouve dans une conformation beaucoup moins contrainte. Si on voulait adopter une analogie mécanique, on pourrait comparer la section GlcNac-GlcNac à une entretoise qui empêche le glycan de s'effondrer sur la protéine à laquelle il est attaché et le trimannose à une rotule qui rend sa flexibilité au glycan.

Dans le cas du pentasaccharide, pour compenser le manque d'information que les expériences pouvaient fournir, nous avons eu recours à la modélisation moléculaire. La taille du système (130 atomes, masse de 986 Daltons) empêchait une description de son paysage conformationnel par des calculs de chimie quantique qui aurait été de toutes façons inutiles puisque les spectres observés n'auraient pas permis de les valider. Nous avons opté pour l'utilisation de champs de force. Nous avons utilisé deux types de champs de force différents : GLYCAM06, un champ de force spécifiquement paramétré pour les carbohydrates en solution, et OPLS2005, un champ de force plus « généraliste ». Pour tester la pertinence de ce dernier, nous l'avons testé sur les sous-systèmes du pentasaccharide pour lesquels les mesures de spectroscopie permettaient de déterminer leur préférence conformationnelle (Man-GlcNac, GlcNac-GlcNac). Avec ces deux champs de force, nous avons exploré l'espace conformationnel du pentasaccharide dans trois cas : (i) la molécule in vacuo, (ii) la molécule explicitement hydratée par trois molécules d'eau, et (iii) la molécule implicitement hydratée dans un solvant aqueux. Les deux champs de force ont donné les mêmes résultats qualitativement, représentés dans la Figure 10.

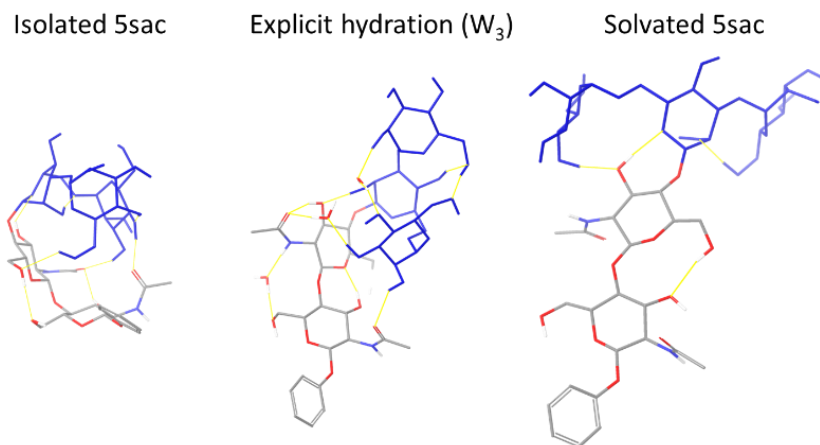


Figure 10. Conformations représentatives issues du champs de force OPLS2005 dans les trois cas considérés pour l'étude des effets de l'environnement sur la structure du pentasaccharide. A gauche, le pentasaccharide isolé, au centre, en interaction explicite avec trois molécules d'eau, et à droite dans un continuum représentant un solvant aqueux.

La molécule isolée (cas i) peut emprunter de nombreuses conformations différentes, dites « recroquevillées », où le nombre de liaisons hydrogène entre les différents monosaccharides est maximisé. De telles conformations sont compatibles avec le spectre observé en phase gazeuse qui présente une absorption sans structure qui peut être interprété comme la superposition des 14 groupes modes de vibration OH et 2 vibrations des groupes NH, élargis par des interactions intra-moléculaires moyennes et fortes. Dès que l'interaction avec quelques molécules d'eau est prise en compte (cas ii), le système a tendance à se déplier et « l'entretorse » formée par GlcNac-GlcNac adopte une conformation rigide, renforcé par la présence d'une molécule d'eau qui sert de verrou entre ces deux monosaccharides. Cette tendance se confirme lorsqu'un solvant aqueux implicite est introduit dans les simulations (cas iii) et les conformations les plus fréquentes du système sont à la fois étendues et rigides avec un important nombre de groupes OH exposés au solvant. Ces indications sont en accord avec l'interprétation de mesures de RMN sur des oligosaccharides qui attribue un manque de flexibilité du pentasaccharide à la présence de molécules d'eau liées au système, servant de « ciment conformationnel ». Cette notion sur le rôle de l'eau dans le pentasaccharide est illustrée sur la Figure 11 dans une représentation schématique extrapolée des résultats de la phase gazeuse.

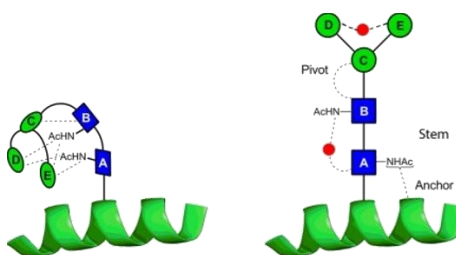


Figure 11. Illustration de l'effet des molécules d'eau structurales sur le pentasaccharide, extrapolée des résultats de l'étude en phase gazeuse. Sans ces molécules d'eau (à gauche), le pentasaccharide adoptera une conformation recroquevillée tandis qu'avec un nombre limité de molécules d'eau (représentées par les cercles rouges), il adopte une structure dépliée qui sert de base aux glycanes qui peuvent se développer à partir du branchement constitué du tri-mannose (CDE).

Les antigènes de Lewis et leurs mimiques.

La glycothérapie cherche à exploiter les propriétés des sucres en développant des molécules glycoconjugués et/ou glycomimiques qui exploitent l'efficacité des carbohydrates pour atteindre leur cible (reconnaissance moléculaire), tout en leur donnant une meilleure efficacité

thérapeutique (stabilité dans le site actif, interaction avec la cible...).<sup>48</sup> Un des challenges est de créer des systèmes avec une identité conformationnelle assez robuste pour être conservée dans les divers environnements qu'un médicament peut rencontrer, depuis sa fabrication jusqu'à ce qu'il rencontre sa cible thérapeutique *in vivo*. La spectroscopie vibrationnelle en phase gazeuse, très bonne sonde des interactions non-covalentes, et l'exploration des paysages conformationnels par des méthodes de chimie théorique permettent d'établir les préférences conformationnelles de ces molécules libres de toute interaction, puis de suivre l'évolution de ces préférences lors de la micro-hydratation avec un nombre limité de molécules d'eau.

Dans le cadre d'une collaboration internationale avec le groupe de Martin Smiesko et Oliver Schwardt (Pharmacologie Moléculaire, Université de Bâle), nous avons proposé d'étudier les choix conformationnels des sucres naturels isolés (Lewis A et Lewis X) et l'influence de quelques molécules d'eau sur ces choix, avant de les comparer à des glycomimiques synthétisés par le groupe de Basel pour le développement de nouveaux produits actifs en glycothérapie. L'enjeu de la synthèse de glycomimiques à des fins thérapeutiques est d'obtenir des molécules qui présentent des propriétés conformationnelles similaires à celles des carbohydrates naturels et si possible peu influencées par l'environnement. L'étude de la conformation des molécules naturelles et synthétiques dans la phase gazeuse et l'influence de quelques molécules de solvant peut offrir des informations précieuses.

Nous avons donc d'abord entrepris l'étude des conformations des antigènes de Lewis X (LeX) et Lewis A (LeA) (Figure 12) et de leurs complexes hydratés (LeX-W et LeA-W).

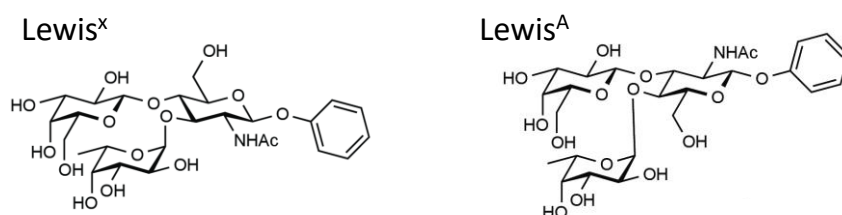


Figure 12. Les antigènes de Lewis LeX et LeA.

Ces deux antigènes de Lewis sont des trisaccharides composés des mêmes monosaccharides (N-acétyl-Glucose, Galactose et Fucose), connectés différemment.

La Figure 13 montre les résultats obtenus pour LeA et son complexe hydraté.



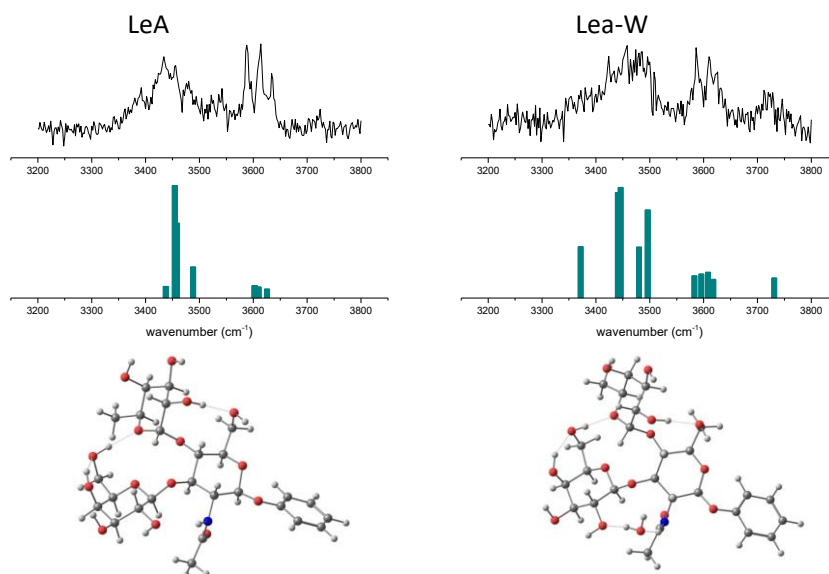


Figure 13. Spectres infrarouge de LeA et de son complexe hydraté LeA-W comparés aux spectres théoriques des conformations les plus stables.

La correspondance entre les spectres observés et les spectres calculés des conformères les plus stables de LeA et LeA-W permet l'attribution des conformations observées.

LeA isolé adopte une conformation stabilisée par des liaisons hydrogène intramoléculaires formant un réseau coopératif tout autour du système. Des liaisons hydrogène entre les trois monosaccharides qui composent LeA rigidifie le système et limite sa flexibilité. Lorsqu'il est en interaction avec une molécule d'eau, la conformation de LeA est très peu perturbée. L'eau vient interagir avec le NH du groupe N-acetyl, ce qui est un comportement typique, et renforce le réseau coopératif par deux liaisons hydrogènes intermoléculaires.

Le spectre vibrationnel de LeX est comparé aux spectres calculés des conformations les plus stables sur la Figure 14.

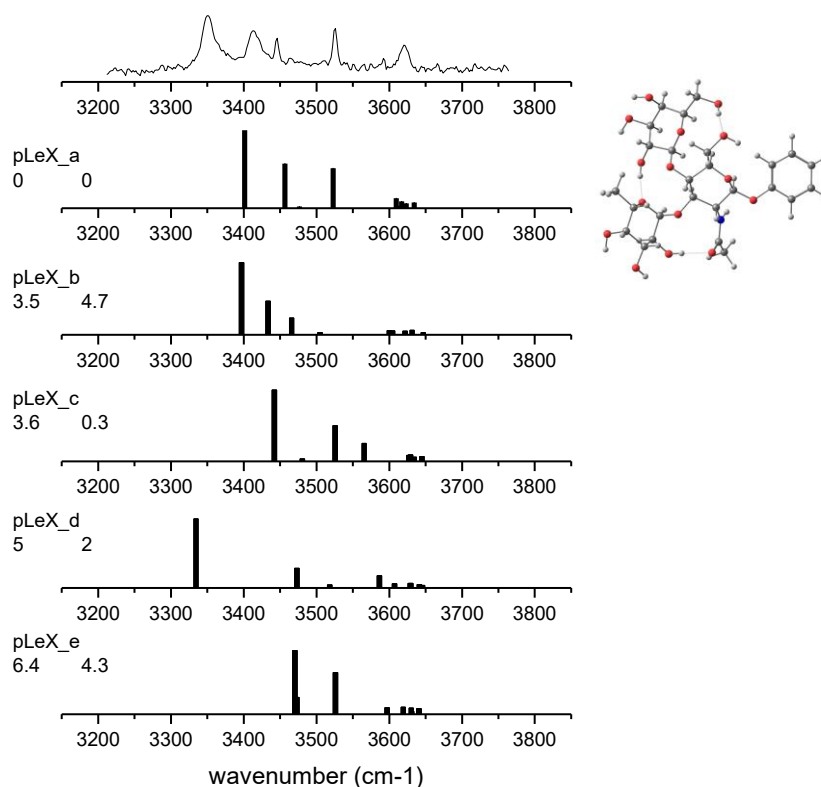


Figure 14. Comparaison du spectre expérimental de LeX avec les spectres calculés pour les cinq conformères calculés les plus stables. Pour chaque conformère, leur énergie relative à 0K (à gauche) et à 300 K est indiquée en kJ/mol.

Le conformère le plus stable (pLeX\_a) présente un spectre calculé qui permet de reproduire le spectre expérimental de façon satisfaisante. La conformation adoptée par LeX en phase gazeuse est beaucoup plus désordonnée que celle de LeA. Il existe des liaisons hydrogènes entre les trois monosaccharides mais il n'y a pas de réseau de liaison hydrogène coopératif qui assurerait un renforcement de la robustesse de la conformation du système. D'autre part, cette conformation est très différente de la conformation bio-active de LeX en solution, identifiée par des études RMN (Figure 15).<sup>49</sup>

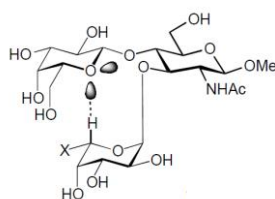


Figure 15. Conformation bio-active de Lewis X en solution. Dans cette conformation, les deux monosaccharides Galactose et Fucose sont superposés en « stacking ». Cet arrangement est stabilisé par une interaction CH > O.<sup>49</sup>

Dans cette conformation bioactive, c'est-à-dire celle qui permet l'interaction entre LeX et ses récepteurs protéiques, les monosaccharides Fucose et Galactose sont empilés (forme en « stacking ») alors que ce n'est pas le cas dans la conformation que nous avons observée en phase gazeuse.

L'interprétation du spectre de LeX-W est moins facile. La comparaison du spectre expérimental avec les spectres calculés des conformères de plus basse énergie est présentée Figure 16.

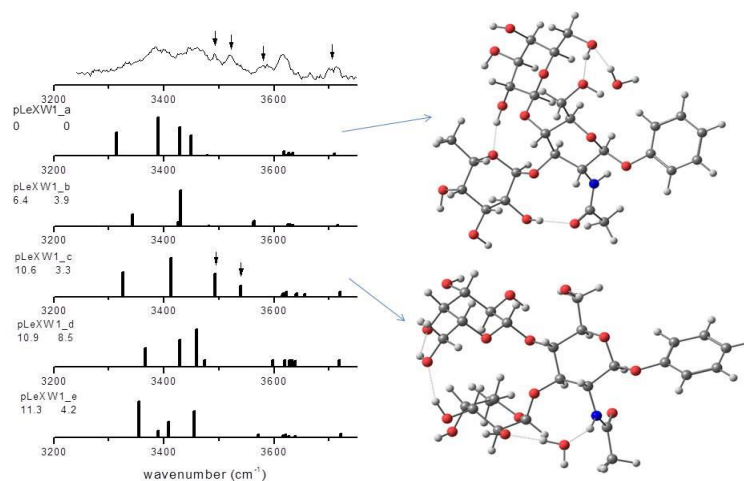


Figure 16. Spectre expérimental de LeX-W et spectres calculés des cinq conformères calculés les plus bas en énergie.

Aucun des spectres calculés ne permet à lui seul de reproduire l'ensemble des bandes présentes dans le spectre observé. Le spectre du conformère pourrait reproduire la plupart des composantes du spectre observé mais les bandes marquées par une flèche ne sont reproduites que par le spectre du 3eme conformère. D'autre part, la largeur de la bande autour de  $3720\text{ cm}^{-1}$  indique soit la superposition de plusieurs conformères soit la contamination du spectre par des agrégats hydratés de grande taille. En effet, cette bande caractéristique de l'élongation OH libre de l'eau insérée doit présenter une largeur très fine dans le cas d'un conformère unique. Suite à ces observations, nous proposons que nous avons observé la superposition des spectres du conformère le plus stable et du troisième conformère dans l'ordre des énergies relatives.

Pour essayer d'éclaircir cette situation complexe nous avons alors observé le spectre de LeX-D<sub>2</sub>O afin de séparer spectralement les contributions provenant des élongations OH de LeX de celles des élongations OD de l'eau lourde. Le spectre de LeX-D<sub>2</sub>O est représenté figure 14.

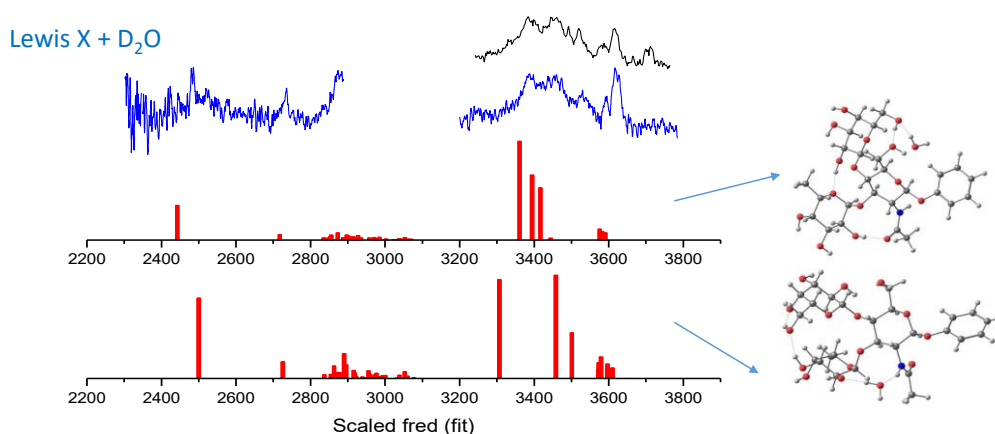


Figure 17. Spectre infrarouge de LeX-D<sub>2</sub>O (en bleu) comparé au spectre de LeX-W (en noir) et aux spectres calculés des deux conformères identifiés plus haut, dans le cas de D<sub>2</sub>O.

Si nous observons uniquement des spectres de LeX en interaction avec une seule molécule de D<sub>2</sub>O, nous ne devrions observer que deux bandes d'absorption dans la région des élongations OD ( $2200\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ ). Nous observons au moins 5 bandes. Cela confirme que nous peuplons

plusieurs conformères des agrégats hydratés de LeX. Les deux conformères initialement proposés permettent d'interpréter qualitativement les spectres observés.

Un résultat marquant de ce travail est l'observation du conformère de plus haute énergie qui présente une organisation du Galactose et du Fucose en stacking. C'est une conformation similaire à celle qui est stabilisée en solution et qui est bio-active. Il est probable que cette conformation soit stabilisée par des agrégats hydratés de grande taille qui s'évaporent lors de leur ionisation. En effet, nous avons pu observer les spectres vibrationnels des complexes hydratés de Lewis X avec jusqu'à 3 molécules d'eau (Figure 18) et leur structure, même si elle est de plus en plus difficile à apprécier à cause de la dégradation du rapport signal/bruit, reste similaire à celle observée pour le complexe simplement hydraté.

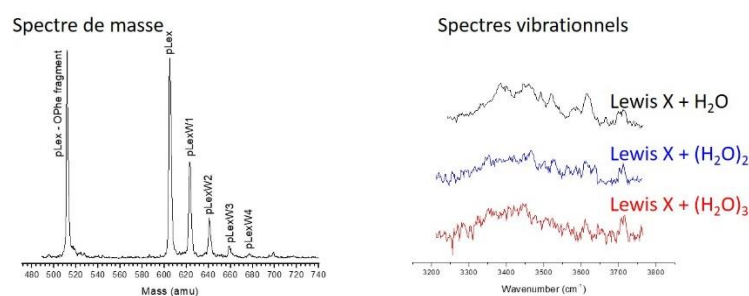


Figure 18. A gauche : spectre de masse des complexes hydratés de Lewis X. A droite les spectre vibrationnels observés pour  $Lewis X - (H_2O)_{n=1-3}$ .

Il est donc probable que le signal enregistré dans le canal de masse de Lewis X – H<sub>2</sub>O soit issu de complexes de plus grande taille qui s'évaporent suite à l'ionisation UV. Il est probable que des agrégats hydratés de plus grande taille soient peuplés mais échappent à la détection à cause de ce phénomène d'évaporation. Nous avons donc peut-être là une illustration d'une « micro-solvatation » dans le sens inverse de ce que l'on entend fréquemment. Au lieu de reconstruire le solvant molécule par molécule, ici il est possible que Lewis X soient au moins partiellement solvaté par un nombre significatif de molécule qui s'évaporent suite aux absorptions des photons IR et UV.

Différents glycomimiques de Lewis X ont été synthétisés (Figure 19) par nos collègues glycochimistes de l'Université de Basel.

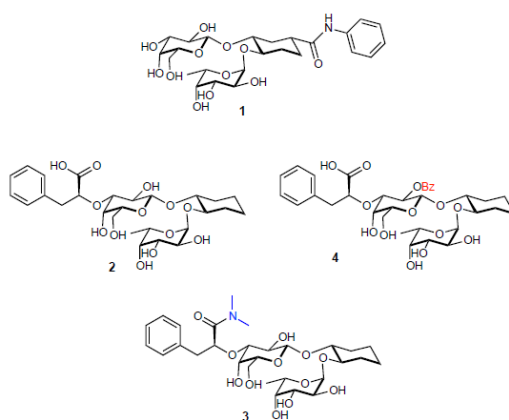


Figure 19. Les glycomimiques de Lewis X étudiées.

Nous avons observé les spectres de toutes ces molécules et des complexes hydratés des composés 1 (MIMIC1) et 2 (MIMIC2). Les paysages conformationnels de ces molécules de synthèses se sont avérés extrêmement complexes et les recherches de conformation conduisent à des milliers de conformations possibles. Le tri parmi ces conformations, nécessaire pour rendre les calculs de chimie quantique possible est particulièrement difficile. A ce jour, seule la conformation de MIMIC1 a pu être attribuée après quatre années de travaux et de calculs.

## Conclusions : spectroscopie en phase gazeuse des oligosaccharides isolés et hydratés.

Lorsqu'on progresse des monosaccharides vers la complexité des oligosaccharides pour mener des études spectroscopie vibrationnelle en phase gazeuse d'espèces froides, on se trouve très vite confronté à des difficultés qui mettent en évidence la limite de l'approche.

D'un point de vue de la synthèse, il n'est possible de produire ces composés qu'en quantité très faible, à la limite de ce qui est nécessaire pour les expériences. Cela entraîne une grosse pression sur les expériences avec certains systèmes pour lesquels seulement une ou deux demi-journées de mesure sont possibles. Indépendamment de la quantité d'échantillons disponibles, le refroidissement par les collisions dans le jet supersonique est bien moins efficace pour ces molécules. Il devient très difficile de tirer profit de la sélectivité conformationnelle des de la spectroscopie à double résonance pour observer des spectres résolus qui permettent une attribution conformationnelle robuste.

L'exploration théorique des paysages conformationnels de ces systèmes conduit à des quantités quasiment ingérables de conformères à traiter. Dans le cas des mimiques de Lewis X, nous travaillons maintenant depuis plusieurs années à reproduire les données expérimentales et nous venons juste d'arriver à une attribution satisfaisante de MIMIC1, après avoir considéré des centaines de conformations au niveau quantique.

Malgré ces difficultés, grâce à l'approche « bottom-up » et à la synergie expérience-théorie, il a été possible d'obtenir de précieuses informations sur les tendances conformationnelles de ces édifices moléculaires. En particulier, nous avons pu identifier le rôle et la position de certaines molécules d'eau, localisées à des endroits « stratégiques » de la molécule, pour stabiliser des formes particulières. Ce sont des pistes à suivre pour synthétiser des molécules artificielles visant à reproduire les molécules naturelles. Ces molécules d'eau structurales ne sont pas à proprement parler des molécules du solvant, au sens macroscopique du terme. Elles en sont retirées pour remplir leur fonction structurale. Plutôt que de prétendre identifier des « effets de solvants » ou d'aller vers la phase solvatée, je préfère croire que les études des complexes hydratés de tailles contrôlées permettent d'accéder à ces molécules d'eau structurales dont le rôle est reconnu pour être central sur les fonctions biologique et en particulier sur les processus de reconnaissance moléculaire, même si ce rôle reste à comprendre et rationaliser.

Lorsque nous avons commencé les travaux sur les oligosaccharide, leur étude par spectroscopie et spectrométrie de masse étaient balbutiantes. Depuis, une communauté autour de la glycomique s'est établie avec la mise au point de méthodes très sophistiquées de spectrométrie de masse (comme la dérive d'ions par exemple), souvent couplées au diagnostic optique dans le domaine UV ou IR. Ces travaux permettent d'avoir des informations très précieuses sur les différents isomères et séquences de glycans très complexes.<sup>50-57</sup>

Malgré la difficulté de l'étude spectroscopique des grosses molécules neutres en phase gazeuse, nous profitons de l'expérience emmagasinée lors de ces premiers travaux pour continuer à investiguer des systèmes de grande taille comme des modèles de glycoprotéines antigél, toujours en s'attachant à respecter l'approche « pas à pas », garante de la validité des résultats sur les modèles de plus grande taille.

## Reconnaissance moléculaire : des modèles pour sonder les interactions sucres-peptides.

Les sucres encodent une information très riche véhiculée par le biais des liaisons non-covalentes à l'intérieur même du carbohydrate et avec d'autres édifices biomoléculaires, comme les protéines. Dans le cas des interactions sucres-peptides, la nature des forces intermoléculaires mises en jeu est très diverse et couvre toute la gamme des interactions non-covalentes.<sup>34</sup> Les groupes OH du carbohydrate peuvent engager des interactions de type liaison hydrogène (dominées par des forces électrostatiques) avec les groupes CO, NH et OH de la chaîne peptidique. Il peut aussi exister des interactions de type Van der Waals (dominées par la dispersion) entre les CH du carbohydrate et, par exemple, les résidus aromatiques du peptide. Dans le but de sonder en phase gazeuse ces différentes interactions au cœur des processus de reconnaissance moléculaire, nous avons entamé l'étude systématique de complexes formés par des monosaccharides et des modèles moléculaires. Les modèles moléculaires choisis (Figure 20) permettent d'interroger les différentes interactions soit indépendamment, soit en compétition dans un même complexe.<sup>26,27,58,59</sup>

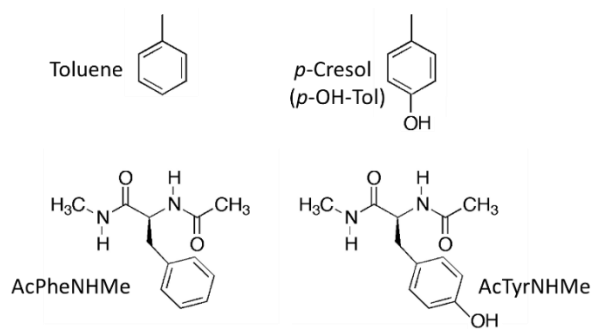


Figure 20. Les différents modèles moléculaires considérés pour l'étude des interactions carbohydrate-peptide.<sup>26,27,58,59</sup>

Les spectres de complexes entre ces modèles et les anomères  $\alpha$  et  $\beta$  du glucose et du galactose ont été observés (Figure 21).

Dans le cas des complexes formés par des monosaccharides et la tyrosine (AcTyrNHMe), la présence du groupe OH phénolique de la tyrosine a des conséquences importantes sur la nature des interactions par rapport aux complexes formés avec la phenylalanine (AcPheNHMe). Ce groupe OH cherche à engager des interactions avec les autres groupes OH du monosaccharide et il en résulte des structures où le monosaccharide se retrouve, presque « accidentellement », à proximité du cycle aromatique de la tyrosine. Sur la Figure 21, on peut comparer les spectres et les structures et conformations associées des complexes du  $\beta$ -O-Methyl-Galactose avec AcPheNHMe et AcTyrNHMe.

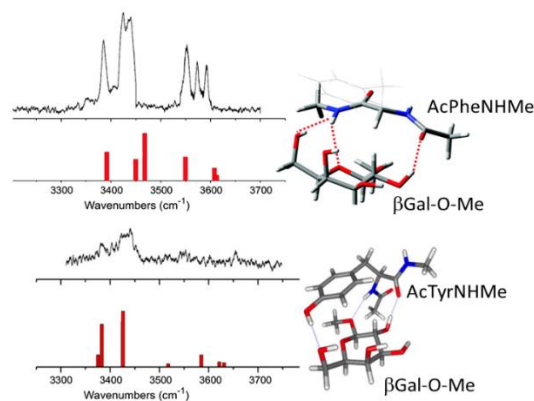


Figure 21. Complexes formés par le  $\beta$ -O-Methyl-Galactose avec AcPheNHMe (en haut) et AcTyrNHMe (en bas).

Ce comportement est comparable à la différence entre les structures des complexes entre les monosaccharides et soit le toluène, soit le crésol. La différence entre ces deux molécules modèles est, comme entre AcPheNHMe et AcTyrNHMe, la présence dans le crésol d'un groupe OH, absent pour le toluène. Dans le cas des complexes avec le toluène, les monosaccharides interagissent quasi-exclusivement par le biais d'interaction dispersive CH- $\pi$  (Figure 22). Le Crésol donne naissance à des complexes où son OH vient s'insérer dans la chaîne de liaison hydrogènes intra-moléculaires du sucre pour donner naissance à des conformations renforcées par la coopérativité (Figure 22), de façon tout à fait comparable aux complexes monosaccharides-eau.



Figure 22. A gauche, le complexe fucose-toluène adopte une structure empilée avec une interaction dispersive CH- $\pi$ . A droite, dans le complexe galactose-crésol, le crésol s'insère dans le réseau de liaisons hydrogène du sucre dans une structure coopérative.



## Conclusions : systèmes modèles pour l'étude des interactions sucres-peptides en phase gazeuse.

Jusqu'à présent, l'étude des interactions sucres-peptide en phase gazeuse s'est concentrée sur des systèmes modèles pour identifier quelques tendances et établir la possibilité d'observer des signatures spectrales claires permettant d'accéder à la détermination des structures des complexes et à la conformation des molécules à l'intérieur de ces édifices. En comparaison des oligosaccharides qui atteignent assez rapidement la limite de l'approche « phase gaz », les complexes permettent de garder une belle résolution vibrationnelle puisque leur stabilisation en jet supersonique suggère un refroidissement des espèces, chacune de taille raisonnable, qui a pour conséquence l'observation de spectres avec une résolution vibrationnelle claire. Grâce à cette résolution vibrationnelle, on identifie chaque liaison non-covalente *intra-* et *inter-*moléculaire qui contribue la stabilité des complexes.

Dans le cadre d'études liées à la reconnaissance moléculaire en phase gazeuse, des travaux sur les associations de peptides,<sup>60,61</sup> de protéines-ligands,<sup>62</sup> ou de peptides et neurotransmetteurs<sup>63</sup> ont été menées en utilisant les méthodes d'évaporation par électrospray couplées à la spectrométrie de masse et à la spectroscopie optique. Ces travaux se concentrent sur les interactions avec des espèces chargées. Dans le cas d'interactions entre molécules neutres, et en particulier entre sucres et peptides, les forces en jeu sont plus faibles et l'équilibre entre les différentes contributions (électrostatique, dispersion, polarisation, répulsion) peut-être précaire et finement modulé par la présence de molécules d'eau ou par des substitutions au sein des partenaires de complexation. C'est sur ces sujets que je propose de concentrer mes travaux dans les années à venir.

## Perspectives de recherche : Interactions et conformations de systèmes modèles des processus de reconnaissance moléculaires : les complexes sucre-peptide et le rôle de l'eau.

La grande diversité conformationnelle des sucres leur fait jouer un rôle central dans les processus biologiques de reconnaissance moléculaire. Les nombreux de groupes polaires permettant d'engager des interactions non-covalentes avec des molécules voisines, un fort degré de liberté de ces groupes polaires autour de mouvements de torsion entraînant une grande flexibilité conformationnelle leur permettant de s'adapter à leur environnement, et une stabilisation forte de conformations spécifiques grâce à des réseaux de liaisons hydrogènes coopératifs sont autant d'atouts qui font des sucres des vecteurs de choix pour véhiculer l'information moléculaire *via* le « glycode »<sup>35-39</sup> et l'échanger avec des partenaires biomoléculaires tels que les protéines. Ces propriétés des sucres font émerger des travaux pour les exploiter dans le cadre de la glycothérapie, cherchant à utiliser les sucres dans des médicaments.<sup>64,65</sup>

Dans la communication non-covalente sucre-peptide, la reconnaissance est d'abord une « reconnaissance de forme » où les conformations du sucre et du peptide peuvent « s'emboîter » comme illustré sur la Figure 23. Une bonne connaissance des bases structurales de ces interactions est donc un requisite pour leur étude détaillée.

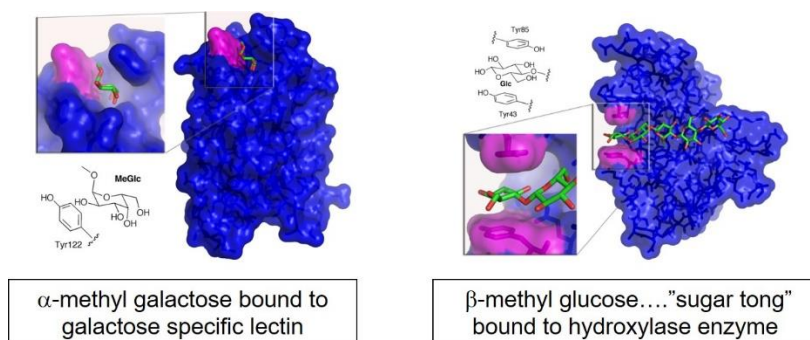


Figure 23. Représentation de deux cas d'interactions sucre-peptide en biologie.

Les systèmes de la Figure 23 sont beaucoup trop étendus et compliqués pour être soumis aux méthodes de physico-chimistes de la phase gazeuse. En revanche, avec un regard de physico-chimiste de la phase gazeuse, cherchant à identifier les ingrédients minimum d'un processus moléculaire, et identifier des modèles pour comprendre plutôt que reproduire, on remarque sur la Figure 23 que les domaines qui participent à l'interaction sont de taille assez limitée, ce qui souligne le caractère local des forces mises en jeu dans les interactions sucre-peptide et ces interactions peuvent être représentées de façon simplifiée sur la Figure 24.

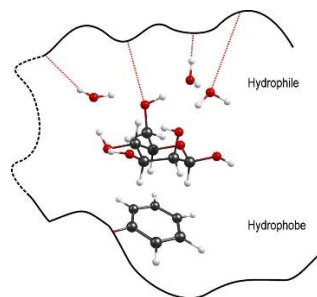


Figure 24. Représentation des fondamentaux des interactions sucre-peptide.

Dans cette représentation, on retrouve tous les ingrédients des interactions mises en jeu entre les sucres et les peptides. Dans les domaines hydrophiles, on trouve des interactions électrostatiques de type liaison Hydrogène, soit entre les groupes polaires du sucre et du peptide, soit par le biais de molécules d'eau structurales intercalées entre les molécules. Dans les domaines hydrophobes on peut voir des interactions dispersives de type CH- $\pi$ , moins directionnelles mais tout aussi importantes parce que toujours attractives et additives. Depuis le début de ma carrière, ces interactions ont été mon terrain de jeu et j'ai utilisé différentes approches expérimentales et théoriques, toutes basées sur la spectroscopie de systèmes modèles en phase gazeuse pour les étudier. En particulier, j'ai étudié différents complexes entre des monosaccharides et des modèles de peptides par spectroscopie vibrationnelle.<sup>26,27,59</sup> Ces premiers travaux ont montré la pertinence de l'approche et la capacité à observer les spectres de ces complexes, les interpréter et en tirer des informations fondamentales sur la base structurale des interactions sucre-peptide.

Dans les études initiales, les modèles moléculaires étaient sélectionnés d'une part pour leur simplicité conformationnelle et d'autre part pour échantillonner les différents types d'interaction. Par ailleurs, aucun des complexes étudiés n'incluaient de molécules d'eau, pourtant centrales puisqu'elles peuvent influencer les conformations des molécules et prendre une part active en s'intercalant entre deux partenaires de complexation.<sup>66-68</sup> Je propose maintenant de m'intéresser à des systèmes modèles choisis pour leur signification dans des processus biomédicaux importants. En particulier, les interactions entre le Mannose (Man) et des modèles de Récepteurs à Mannose (mRM) qui sont utilisés en Thérapie Photo Dynamique (PDT)<sup>69,70</sup> seront au centre de ce projet, mené en collaboration avec Véronique Rosilio de l'Institut Galien Paris Saclay à Chatenay-Malabry, qui utilise des expériences de physico-chimie des surfaces pour des applications pharmacologiques, et le groupe de Michel Mons (CEA) et Eric Gloaguen (CNRS) du LYDIL à Saclay, spécialistes de la spectroscopie des peptides en phase gazeuse. Par ailleurs il est important de sonder du point de vue structural et conformationnel le rôle de l'eau dans les interactions spécifiques et dans les processus de reconnaissance moléculaire.<sup>71,72</sup> Dans le cadre de ces projets qui s'échelonnent sur du moyen et long terme, je souhaite mettre en place de nouvelles méthodologies, du point de vue expérimental et aussi pour l'exploration théorique des paysages conformationnelles.

## Etude des complexes Man – mRM

A l'échelle moléculaire, la PDT repose sur 3 processus physico chimiques fondamentaux : (1) attachement sélectif de photosensibilisateurs (PS) vers des récepteurs cibles ; (2) population de l'état triplet du PS par photoexcitation du chromophore ; (3) interaction entre l'état triplet du PS et de l'oxygène moléculaire pour générer des espèces fortement réactives qui vont entraîner une avalanche de dénaturations biomoléculaires conduisant à la mort des cellules pathogènes. Deux exemple de PS sont présentés sur la Figure 25. Ce sont des chromophores TetraPhenylPorphyrines (TPP) décorés de différents arrangements de mannoses.

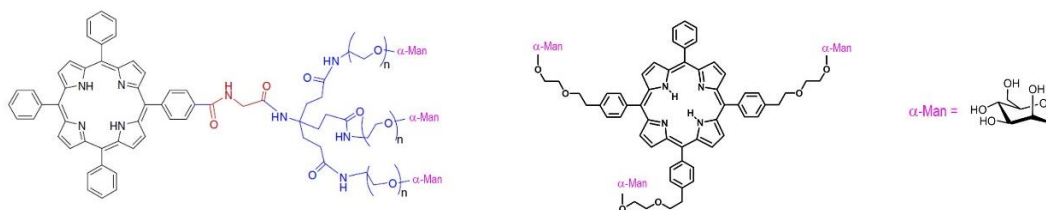


Figure 25. Exemple de PS mannosylés utilisés en PDT pour le traitement du rétinoblastome. <sup>69</sup>

Les processus (2) et (3) reposent sur la photophysique et photochimie des chromophores et constituent le cœur du projet de Gildas Goldsztejn, recruté au sein de l'équipe SYSIPHE en 2019, qui va utiliser son expertise en spectroscopie Auger pour les sonder de façon dynamique. Pour interroger le processus (1), gouverné par les interactions spécifiques sucre-peptide, nous allons utiliser la spectroscopie vibrationnelle en phase gazeuse des complexes Man-mRM.

Plusieurs récepteurs à Man (RM) avec différents sites de liaison au Man peuvent être surexprimés dans les cellules tumorales.<sup>73,74</sup> Par exemple dans le cas du rétinoblastome, MRC2 et DC-SIGN sont des récepteurs qui peuvent être ciblés.<sup>75</sup> De nombreuses questions posées par le monde médical restent sans réponse : Est-ce que le PS interagit avec un seul ou les deux RM? Comment éviter que Man ne se lie aux cellules non-pathogènes qui contiennent aussi MRC2 ? Quel est l'impact des propriétés structurales du sucre sur l'interaction et sa spécificité ?

Une priorité pour le développement de nouveaux PSs est d'améliorer la spécificité. Pour quantifier les interactions PS-RM, le groupe de Véronique Rosilio utilise des membranes artificielles contenant les RM pour révéler quelles combinaisons de sucres sur le PS conduit à de la reconnaissance spécifique.<sup>76</sup> Ces informations reposent sur des expériences macroscopiques de type AFM pour mesurer la force entre le PS et le RM, ou sur la mesure de taux d'association à la membrane par Microbalance à Quartz ou par Plasmon de Surface Résonant.<sup>76-79</sup> Ces travaux ont besoin d'être complétés par une investigation détaillée de l'interaction locale entre le Mannose et le site de liaison. Cette information manquante pourra être apportée par nos expériences de spectroscopie en phase gazeuse de complexes formés par Man et par des mRM inspirés par les séquences identifiées dans les sites de liaison naturels des RM.<sup>26,27,63</sup> Notre approche fournit des informations sur l'interaction qui ne peuvent pas être obtenues autrement. Grâce à la résolution vibrationnelle des spectres observés, nous pouvons identifier quels groupes moléculaires sont engagés dans les interactions qui cimentent les complexes (Figure 26) et extraire des déplacements vibrationnels de chaque bande l'intensité de ces interactions.

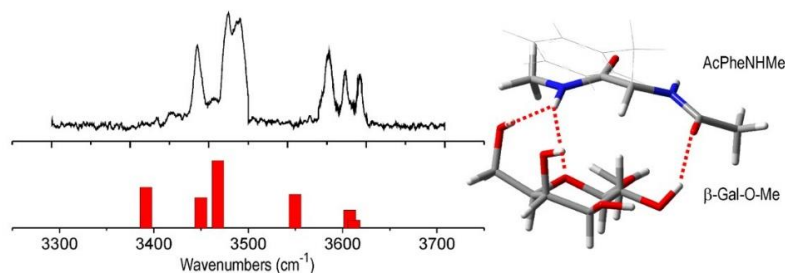


Figure 26. Spectres expérimentaux et théoriques du complexe AcPheNHMe-β-Galactose-O-Methyl (β-Gal-O-Me).<sup>26</sup> Les pointillés rouges indiquent les interactions locales entre le sucre et le modèle de peptide.

Tous les RM présentent une séquence tripeptidique conservée EPN (E = Acide Glutamic, P= Proline, N = Asparagine, Figure 27) qui est supposé être au centre du processus de reconnaissance du Man.<sup>80</sup> Nous allons donc entamer ce projet avec l'étude des complexes formés par ces acides aminés et α-O-phenyl-Mannose (apMan, Figure 27). Le cycle aromatique sur le Man sert à la fois de chromophore UV nécessaire pour nos expériences et de modèle de l'édifice moléculaire du PS attaché au Man (Figure 25). Il est prévu ensuite de considérer les di- et tri-peptides composés de E, P et N. Ensuite, en appliquant notre approche à des systèmes modèles « dénaturés », c'est à dire avec des sucres différents (Glucose, deoxy-Mannose, ...) ou des acides aminés non présents dans la séquence conservée nous pourrions chercher à définir les ingrédients nécessaires à la spécificité Man-RM.

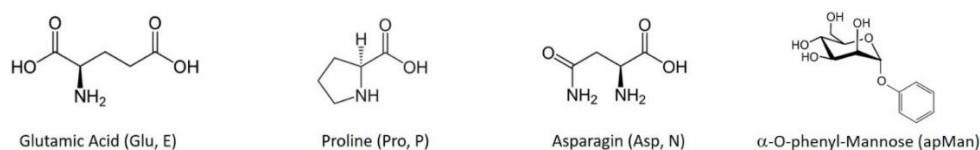


Figure 27. Les acides aminés qui forment la séquence conservée EPN et α-O-phenyl-Mannose.

Etudier les interactions directes et locales entre ces systèmes modèles, libres de toute perturbation, est une opportunité unique offerte par les méthodes en phase gazeuse. Cela dit, dans le milieu biologique aqueux, la présence de molécules d'eau « structurales », indiquées sur la Figure 24, retirées du solvant macroscopique pour interagir de façon spécifique et directe entre le sucre et le peptide peut avoir une influence considérable.<sup>71,72</sup> Le dispositif CARLOTTA est particulièrement efficace pour observer les agrégats hydratés d'édifices moléculaires complexes<sup>8,9,12,15,24,25,45,81</sup> et nous avons récemment pu observer des spectres vibrationnels bien résolus de complexes ternaires sucre-peptide-eau (Figure 28).

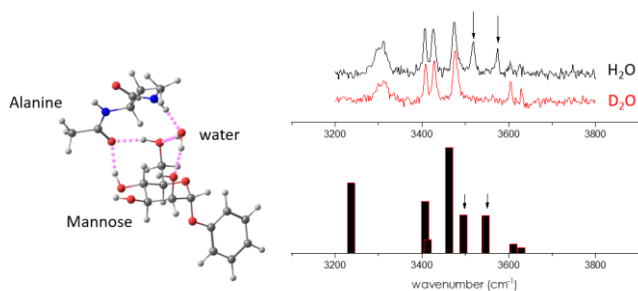


Figure 28. Spectre vibrationnels expérimental et théorique et structure attribuée au complexe ternaire apMan-Ala-W1. Les bandes vibrationnelles repérés par des flèches indiquent les bandes de la molécule d'eau qui disparaissent de la région spectrale explorée lorsque le complexe ternaire est formé avec de l'eau deutérée. Sur le spectre théorique, les flèches indiquent les modes attribués aux élongations OH de l'eau.

L'étude des complexes sucre-peptide hydratés avec un nombre contrôlé et limité de molécules d'eau n'est possible qu'avec des expériences en phase gazeuse. Nous pourrions sonder de façon inédite le rôle structural et conformationnel de l'eau dans les processus de reconnaissance moléculaire.

Ce projet réunit des molécularistes de la phase gazeuse et des spécialistes de méthodes de surfaces appliquées aux sciences pharmacologiques. Cette nouvelle collaboration permettra à long terme d'exploiter le potentiel des méthodes de la phase gazeuse sur des systèmes moléculaires bioactifs avec l'ambition de comprendre des mécanismes fondamentaux qui gouvernent leurs fonctions, en éclairant d'une lumière nouvelle des phénomènes qui suscitent des questions dans une large communauté scientifique. Trouver le « bon modèle » pour décrire des phénomènes naturels complexes est le souci permanent des molécularistes. C'est pour trouver les « bons modèles » et poser les « bonnes questions » que nous avons créé ce consortium interdisciplinaire original.

## Développements méthodologiques

Au fil de ce projet j'envisage plusieurs développements méthodologiques qui auront un champ d'application bien plus large que l'étude des complexes sucres peptides. Ces développements peuvent être à moyen et long terme et ne seront exposés ici que de façon très synthétique.

### Amélioration des sources de vaporisation de molécules solvatées

Les performances du dispositif Carlotta ont constamment été améliorées pour s'adapter aux contraintes imposés par des objets d'étude de plus en plus difficiles à traiter. Dans le cadre du projet de l'étude de la reconnaissance moléculaire et des interactions sucres-peptides, il y a deux voies d'améliorations qui seront explorées.

#### Déposition par nébulisation des échantillons

Un facteur limitant des expériences de spectroscopie d'espèces mises en phase gazeuse par désorption laser est le besoin de quantités importantes (à l'heure actuelle plusieurs dizaines de milligrammes) qui est parfois prohibitif tant les composés sont difficiles à synthétiser. Le problème ne vient pas de la sensibilité de détection mais plutôt du processus de préparation des échantillons qui génère beaucoup de déchets, c'est-à-dire des composés gaspillés dans le processus expérimental. Les échantillons sont préparés en frottant un substrat en graphite sur un mélange de poudre de graphite et d'analyte. Le but est de déposer une fine couche de molécules d'intérêt sur le substrat. Selon la consistance de la poudre, ce processus peut s'avérer très inefficace.

Pour améliorer cette étape limitante, nous avons mis au point une méthode basée sur la déposition des molécules à la surface des substrats par nébulisation d'une solution éthanol-molécule, inspirée des robots sprayer utilisé en imagerie MALDI.<sup>82</sup> Cette méthode que nous sommes en train de mettre en point présente plusieurs avantages :

- haute reproductibilité de la préparation d'échantillons
- baisse d'un ordre de grandeur des quantités nécessaires pour mener une expérience complète.
- augmentation de l'uniformité des dépôts et, par conséquent, gain en stabilité de signal
- applicabilité à toutes molécules indépendamment de la consistance de leur phase solide

#### Désorption résonante de glaces

Comme précisé plus haut, l'eau joue un rôle important dans les processus de reconnaissance moléculaire et la structure finale adoptée par un complexe formé par un sucre et un peptide peut dépendre de l'environnement et de la cinétique de la rencontre entre les partenaires de complexation. Dans le milieu biologique, avant que les molécules s'associent, elles sont solvatées. Les dynamiques et énergétiques de désolvatation (entière ou partielle) puis de solvation du complexe formé peuvent être déterminantes dans le déroulement de la reconnaissance moléculaire.

Actuellement, pour observer des complexes sucre-peptide, la méthode consiste à déposer sur le substrat en graphite un mélange des molécules qui formeront le complexe puis de les co-désorber par évaporation laser. Les complexes sont ensuite stabilisés par les collisions dans une détente supersonique. Nous projetons de mettre au point un dispositif d'évaporation résonante

de solutions glacées similaire à celui utilisé par Soep et Shafizadeh pour l'étude de la chlorophylle<sup>83</sup> avec des techniques de détection similaires à celles utilisées sur CARLOTTA. Dans cette technique, les molécules seront mélangées dans une solution aqueuse glacée qui remplacera l'échantillon de désorption laser, pour être évaporée par excitation résonante des modes vibrationnels de la glace grâce à un OPO accordable. Cette approche, initialement mise au point par Focsa à Lille dans les années 2000,<sup>84</sup> permet de porter en phase gazeuse de très gros agrégats hydratés dopés des molécules initialement solvatées dans l'échantillon. Ces agrégats, qui pourront s'évaporer lors du processus de refroidissement en jet, offriront un environnement de formation et stabilisation des complexes très intéressant à exploiter pour comparer les structures obtenues avec celles issus de l'évaporation laser classique.

### Spectroscopie dans l'infrarouge moyen.

Mes expériences de spectroscopie reposent sur la spectroscopie vibrationnelle des modes d'élongation OH et NH dans l'IR proche (dans une région spectrale entre 2.5 et 4  $\mu\text{m}$ ). Ce sont des modes de vibrations très importants pour étudier les interactions non-covalentes dans les biomolécules puisqu'ils en sont les acteurs principaux en tant que donneurs ou accepteurs (et parfois les deux). Les sonder revient donc à sonder la surface de potentiel le long de coordonnées couplées (ne serait-ce que de façon cinématique) au potentiel intermoléculaire.

En revanche, la seule observation de ces modes, pour des systèmes aussi compliqués que ceux que j'étudie ne permet pas toujours une attribution univoque des conformères observés. La spectroscopie dans la région spectrale allant de 5  $\mu\text{m}$  et au-delà permettra d'accéder à une fenêtre spectrale bien plus grande. Avec plus d'information spectroscopique, les attributions des conformations observées seront plus robustes et il sera alors possible de mieux comprendre les propriétés structurales des complexes. Par ailleurs, si la source d'évaporation de glaces permet de former des gros agrégats hydratés, leurs spectres vibrationnels dans l'IR proche seront inexploitablement dominés par les vibrations de l'eau. Avoir accès à l'IR moyen permettra aussi de sonder ces gros agrégats par spectroscopie vibrationnelle.

Pour accéder à cette région spectrale, il sera possible soit d'utiliser la différence de fréquence des faisceaux produits par notre OPO IR Laservision, soit de mettre en place un système de spectroscopie à double résonance Raman stimulée-UV<sup>85,86</sup> en utilisant un laser à colorant également disponible au laboratoire.

### Amélioration de l'exploration des paysages conformationnels.

A l'heure actuelle, l'exploration des paysages conformationnels des systèmes que nous étudions repose sur un algorithme de Monte Carlo basé sur la mécanique moléculaire classique pour évaluer l'énergie. Cette exploration produit un grand nombre de conformations possibles, beaucoup étant redondants. Etant donné la taille des systèmes étudiés, et malgré les ressources de calcul performantes auxquelles nous avons accès, nous devons sélectionner un sous-ensemble des conformations générées pour les soumettre aux calculs de chimie quantique, très coûteux en terme de temps de calcul.

La plupart des champs de forces utilisés pour calculer l'énergie ont été paramétrés pour reproduire des données expérimentales dans des conditions très différentes de nos conditions expérimentales. Dans la plupart des cas, ces énergies ne représentent donc pas un critère fiable pour sélectionner ou exclure des conformères avant les calculs de chimie quantique, même si la mise au point de champs de forces polarisables apporte une grande amélioration dans la



fiabilité des énergies et propriétés calculées.<sup>87,88</sup> Quoiqu'il en soit, l'énergie fournie par les champs de force reste un paramètre de sélection et nous nous exposons au risque de « rater » des conformères importants si le système étudié se prête mal aux paramétrage du champs de force choisi. Il est fréquent que des conformères prévus à des énergies de plusieurs dizaines de kJ/mol par les champs de forces (classiques) se retrouvent les plus stables, une fois optimisés par les méthodes de chimie quantique. Cela inclut les énergies prédites par des champs de force dédiés au carbohydrates comme GLYCAM.<sup>89,90</sup> Par ailleurs, même si un champ de force était paramétré de façon idéale et était capable de rendre compte de toutes les interactions, et de leur combinaison sur toutes les conformations, n'utiliser que le critère énergétique pour ne considérer que les éléments les plus stables conduirait à une perte d'information sur le paysage conformationnel étudié et sur la place occupée par les conformères observés dans ce paysage.

Il semble donc justifié de chercher à s'affranchir du critère énergétique pour sélectionner les conformères dans les premières étapes de recherche de conformations. Comme l'objectif de nos travaux est de déterminer la structure des systèmes étudiés à partir de leur spectroscopie infrarouge, il semble pertinent d'utiliser les paramètres structuraux et spectraux pour effectuer cette sélection. Les méthodes d'apprentissage non supervisé comme le partitionnement de données (plus connues sous le nom de « clustering ») offrent des possibilités intéressantes que nous avons commencées à explorer. Elles permettent de générer des groupes de conformères à partir de la distribution initiale de structures ou spectres produite par les champs de force ou à un niveau de théorie bas (HF, DFTB). En choisissant quelques représentants dans chaque groupe, il est possible de sélectionner un nombre raisonnable de conformères à traiter au niveau quantique tout en conservant la diversité du paysage conformationnel initial. Cette approche est très intéressante parce qu'elle nous fait aborder l'exploration des conformations de ces molécules de façon différente. Plutôt que de calculer autant de conformères que nos ressources de calcul le permettent jusqu'à ce qu'on trouve un bon accord avec nos résultats expérimentaux, nous devons conceptualiser différemment l'exploration conformationnelle et nous poser de nouvelles questions.

Si on choisit les structures comme éléments à partitionner : Quels sont les paramètres structuraux qui définissent les familles de conformères qui m'intéressent ? Puis-je/Dois-je/Vais-je introduire un biais en effectuant le partitionnement ? Comment un algorithme d'apprentissage va-t-il apprendre ce qu'est une conformation ? ...

Et si on s'intéresse aux familles de spectres : Dois-je effectuer le classement sur l'ensemble du spectre calculé ou sur uniquement une région spectrale ? Dans ce cas, quelle région spectrale ? IR moyen ? IR Proche ? ... Pour l'utilisation des spectres calculés à bas niveau de théorie pour catégoriser les conformations avant de les soumettre aux calculs quantiques, nous explorons les méthodes mises en place en spectrométrie de masse, basée sur la méthode des « cosine scores », pour attribuer des spectres de masse complexes et analyser des substances naturelles.<sup>91,92</sup>

## Références

- 1 P. Çarçabal, M. Broquier, M. Chevalier, A. Picard-Bersellini, V. Brenner and P. Millié, *Infrared spectra of the C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-HCl complexes: An experimental and ab initio study*, *J. Chem. Phys.*, 2000, **113**, 4876–4884.
- 2 P. Çarçabal, N. Seurre, M. Chevalier, M. Broquier and V. Brenner, *Infrared spectra of C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-HCl complex*, *J. Chem. Phys.*, 2002, **117**, 1522–1528.
- 3 P. Çarçabal, V. Brenner, N. Halberstadt and P. Millié, *Ab initio anharmonic intermolecular potential of the C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-HCl hydrogen bonded complex*, *Chem. Phys. Lett.*, 2001, **336**, 335–342.
- 4 P. Çarçabal, R. Schmied, K. K. Lehmann and G. Scoles, *Helium nanodroplet isolation spectroscopy of perylene and its complexes with oxygen*, *J. Chem. Phys.*, 2004, **120**, 6792–6793.
- 5 R. Schmied, P. Çarçabal, A. M. Dokter, V. P. A. Lonij, K. K. Lehmann and G. Scoles, *UV spectra of benzene isotopomers and dimers in helium nanodroplets*, *J. Chem. Phys.*, 2004, **121**, 2701–2710.
- 6 R. A. Jockusch, R. T. Kroemer, F. O. Talbot, L. C. Snoek, P. Çarçabal, J. P. Simons, M. Havenith, J. M. Bakker, I. Compagnon, G. Meijer and G. von Helden, *Probing the glycosidic linkage: UV and IR ion-dip spectroscopy of a lactoside*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 5709–5714.
- 7 I. Hunig, A. J. Painter, R. A. Jockusch, P. Çarçabal, E. M. Marzluff, L. C. Snoek, D. P. Gamblin, B. G. Davis and J. P. Simons, *Adding water to sugar: A spectroscopic and computational study of alpha- and beta-phenylxyloside in the gas phase*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **7**, 2474–2480.
- 8 P. Çarçabal, R. T. Kroemer, L. C. Snoek, J. P. Simons, J. M. Bakker, I. Compagnon, G. Meijer and G. von Helden, *Hydrated complexes of tryptophan: ion dip infrared spectroscopy in the ‘molecular fingerprint’ region, 100-2000 cm<sup>-1</sup>*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2004, **6**, 4546–4552.
- 9 P. Çarçabal, R. A. Jockusch, I. Hunig, L. C. Snoek, R. T. Kroemer, B. G. Davis, D. P. Gamblin, I. Compagnon, J. Oomens and J. P. Simons, *Hydrogen bonding and cooperativity in isolated and hydrated sugars: mannose, galactose, glucose, and lactose*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 11414–11425.
- 10 L. C. Snoek, T. van Mourik, P. Çarçabal and J. P. Simons, *Neurotransmitters in the gas phase: hydrated noradrenaline*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2003, **5**, 4519–4526.
- 11 L. C. Snoek, T. van Mourik, P. Carcabal and J. P. Simons, *Neurotransmitters in the gas phase: hydrated noradrenaline*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2003, **5**, 4519–4526.
- 12 I. Hunig, A. Painter, R. A. Jockusch, P. Çarçabal, E. M. Marzluff, L. C. Snoek, D. P. Gamblin, B. G. Davis and J. P. Simons, *Adding water to sugar: A spectroscopic and computational study of - and -phenylxyloside in the gas phase*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **12**, 2474–2480.
- 13 J. P. Simons, R. A. Jockusch, P. Çarçabal, I. Hung, R. T. Kroemer, N. A. Macleod and L. C. Snoek, *Sugars in the gas phase. Spectroscopy, conformation, hydration, cooperativity and selectivity*, *Int. Rev. Phys. Chem.*, 2005, **24**, 489–531.

- 14 P. Çarçabal, I. Hunig, D. P. Gamblin, B. Liu, R. A. Jockusch, R. T. Kroemer, L. C. Snoek, A. J. Fairbanks, B. G. Davis and J. P. Simons, *Building up key segments of N-glycans in the gas phase: Intrinsic structural preferences of the alpha(1,3) and alpha(1,6) dimannosides*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 1976–1981.
- 15 P. Çarçabal, T. Patsias, I. Hunig, B. Liu, C. Kaposta, L. C. Snoek, D. P. Gamblin, B. G. Davis and J. P. Simons, *Spectral signatures and structural motifs in isolated and hydrated monosaccharides: phenyl alpha- and beta-L-fucopyranoside*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, **8**, 129–136.
- 16 V. Lepère, B. Lucas, M. Barat, J. A. Fayeton, Y. J. Picard, C. Jouvet, P. Çarçabal, I. Nielsen, C. Dedonder-Lardeux, G. Grégoire and A. Fujii, *Characterization of neutral fragments issued from the photodissociation of protonated tryptophane*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2007, **9**, 5330–5334.
- 17 B. Lucas, M. Barat, J. A. Fayeton, C. Jouvet, P. Çarçabal and G. Grégoire, *Statistical versus non-statistical photo-fragmentation of protonated GWG tri-peptide induced by UV excitation*, *Chem. Phys.*, 2008, **347**, 324–330.
- 18 V. Lepère, B. Lucas, M. Barat, J. A. Fayeton, V. J. Picard, C. Jouvet, P. Çarçabal, I. Nielsen, C. Dedonder-Lardeux, G. Grégoire and A. Fujii, *Comprehensive characterization of the photodissociation pathways of protonated tryptophan*, *J. Chem. Phys.*, 2007, **127**, 134313.
- 19 H. Mitsuda, M. Miyazaki, I. Nielsen, P. Çarçabal, C. Dedonder, C. Jouvet, S. Ishiuchi and A. Fujii, *Evidence for Catechol Ring- Induced Conformational Restriction in Neurotransmitters*, *J. Chem. Phys. Lett.*, 2010, **1**, 1130–1133.
- 20 A. Carrera, I. B. Nielsen, P. Çarçabal, C. Dedonder, M. Broquier, C. Jouvet, W. Domcke and A. L. Sobolewski, *Biradicalic excited states of zwitterionic phenol-ammonia clusters*, *J Chem Phys*, 2009, **130**, 24302.
- 21 P. Cafarelli, P. Çarçabal, J. P. Champeaux, A. Le Padellec, P. Moretto-Capelle, J. Rabier and M. Sence, *Ionization and Fragmentation of 5-Chlorouracil induced by 100 keV protons collisions*, *Radiat. Damage Biomol. Syst.*, 2008, **1080**, 71–77.
- 22 J. P. Champeaux, P. Çarçabal, M. Sence, P. Moretto-Capelle and P. Cafarelli, *A simple ‘statistical’ approach for fragmentation studies of doubly ionized cytosine, thymine and uracil bases.*, *J. Phys. B At. Mol. Opt. Phys.*, 2011, **44**, 45205.
- 23 J. P. Champeaux, P. Çarçabal, J. Rabier, P. Cafarelli, M. Sence and P. Moretto-Capelle, *Dehalogenation of 5-halo-uracil molecules induced by 100 keV proton collisions*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, **12**, 5454–5461.
- 24 C. S. Barry, P. Carcabal, D. P. Gamblin, E. J. Cocinero, C. Stanca-Kaposta, S. Rudic, S. Rehmert, J. P. Simons and B. G. Davies, *‘Naked’ and Hydrated Conformers of the Conserved Core-Pentasaccharide of N-linked Glycoproteins and its Building Blocks*, *Nat. Commun.*
- 25 P. Carcabal, E. J. Cocinero and J. P. Simons, *Binding energies of micro-hydrated carbohydrates: measurements and interpretation*, *Chem. Sci.*, 2013, **4**, 1830–1836.
- 26 E. J. Cocinero, P. Çarçabal, J. P. Simons and B. G. Davies, *Sensing the anomeric effect in a solvent-free environment.*, *Nature*, 2011, **469**, 76–79.
- 27 E. J. Cocinero, P. Carcabal, T. D. Vaden, B. G. Davis and J. P. Simons, *Exploring*

- Carbohydrate-Peptide Interactions in the Gas Phase: Structure and Selectivity in Complexes of Pyranosides with N-Acetylphenylalanine Methylamide*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 4548–4557.
- 28 H. D. Whitley, P. Huang, Y. Kwon and K. Birgitta Whaley, *Multiple solvation configurations around phthalocyanine in helium droplets*, *J. Chem. Phys.*, 2005, **123**, 54307.
- 29 R. Lehnig, M. Slipchenko, S. Kuma, T. Momose, B. Sartakov and A. Vilesov, *Fine structure of the (S1←S0) band origins of phthalocyanine molecules in helium droplets*, *J. Chem. Phys.*, 2004, **121**, 9396–9405.
- 30 J. P. Toennies and A. F. Vilesov, *SPECTROSCOPY OF ATOMS AND MOLECULES IN LIQUID HELIUM*, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 1998, **49**, 1–41.
- 31 M. Hartmann, A. Lindinger, P. Toennies and A. Vilesov, *The phonon wings in the (S1 ← S0) spectra of tetracene, pentacene, porphin and phthalocyanine in liquid helium droplets*, *Phys. Chem. Chem. Physics*, v.4, 4839-4844, , DOI:10.1039/B203249J.
- 32 A. Lindinger, J. Peter Toennies and A. F. Vilesov, *Pump–probe study of the reconstruction of helium surrounding a tetracene molecule inside a helium droplet*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2001, **3**, 2581–2587.
- 33 A. M. Rijs and J. Oomens, in *Gas-Phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules.*, eds. A. M. Rijs and J. Oomens, Springer, Cham, 2014.
- 34 W. I. Weis and K. Drickamer, *STRUCTURAL BASIS OF LECTIN-CARBOHYDRATE RECOGNITION*, *Annu. Rev. Biochem.*, 1996, **65**, 441–473.
- 35 B. G. Davis, *Hand in glove*, *Chem. Ind.*, 2000, 134–138.
- 36 B. G. Davis, *Biochemistry. Mimicking posttranslational modifications of proteins.*, *Science*, 2004, **303**, 480–482.
- 37 H. J. Gabius, *Biological information transfer beyond the genetic code: The sugar code*, *Naturwissenschaften*, 2000, **87**, 108–121.
- 38 H. J. Gabius, H. C. Siebert, S. Andre, J. Jimenez-Barbero and H. Rudiger, *Chemical biology of the sugar code*, *Chembiochem*, 2004, **5**, 741–764.
- 39 Z. Shriver, S. Raguram and R. Sasisekharan, *Glycomics: a pathway to a class of new and improved therapeutics*, *Nat. Rev.*, 2004, **3**, 863–873.
- 40 P. Çarçabal and E. J. Cocinero, in *Gas-Phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules.*, eds. A. M. Rijs and J. Oomens, Springer, Cham, Topics in., 2014.
- 41 R. J. Woods, *Predicting the Structures of Glycans, Glycoproteins, and Their Complexes*, *Chem. Rev.*, 2018, **118**, 8005–8024.
- 42 M. Mons, I. Dimicoli and F. Piuzzi, *Gas phase hydrogen-bonded complexes of aromatic molecules: Photoionization and energetics*, *Int. Rev. Phys. Chem.*, 2002, **21**, 101–135.
- 43 N. Shafizadeh, S. Boyé-Péronne, S. Soorkia, B. K. Cunha de Miranda, G. A. Garcia, L. Nahon, S. Chen, A. de la Lande, L. Poisson and B. Soep, *The surprisingly high ligation energy of CO to ruthenium porphyrins.*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2018, **20**, 11730–

- 11739.
- 44 Group 'BioMolecular Structures',  
[http://iramis.cea.fr/LIDYL/en/Phoce/Vie\\_des\\_labos/Ast/ast\\_groupe.php?id\\_groupe=1091](http://iramis.cea.fr/LIDYL/en/Phoce/Vie_des_labos/Ast/ast_groupe.php?id_groupe=1091).
  - 45 P. Çarçabal, R. A. Jockusch, I. Hunig, L. C. Snoek, R. T. Kroemer, B. G. Davis, D. P. Gamblin, I. Compagnon, J. Oomens and J. P. Simons, *Hydrogen bonding and cooperativity in isolated and hydrated sugars: mannose, galactose, glucose and lactose.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 11414–11425.
  - 46 E. J. Cocinero, E. C. Stanca-Kaposta, M. Dethlefsen, B. Liu, D. P. Gamblin, B. G. Davis and J. P. Simons, *Hydration of sugars in the gas phase: regioselectivity and conformational choice in N-acetyl glucosamine and glucose.*, *Chemistry*, 2009, **15**, 13427–13434.
  - 47 E. C. Stanca-Kaposta, D. P. Gamblin, E. J. Cocinero, J. Frey, R. T. Kroemer, A. J. Fairbanks, B. G. Davis and J. P. Simons, *Solvent Interactions and Conformational Choice in a Core N-Glycan Segment: Gas Phase Conformation of the Central, Branching Trimannose Unit and its Singly Hydrated Complex*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 10691–10696.
  - 48 B. Ernst and J. L. Magnani, *From carbohydrate leads to glycomimetic drugs*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2009, **8**, 661–677.
  - 49 M. Zierke, M. Smieško, S. Rabbani, T. Aeschbacher, B. Cutting, F. H.-T. Allain, M. Schubert and B. Ernst, *Stabilization of Branched Oligosaccharides: Lewis Benefits from a Nonconventional C–H...O Hydrogen Bond*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 13464–13472.
  - 50 C. Kirschbaum, K. Greis, E. Mucha, L. Kain, S. Deng, A. Zappe, S. Gewinner, W. Schöllkopf, G. von Helden, G. Meijer, P. B. Savage, M. Marianski, L. Teyton and K. Pagel, *Unravelling the structural complexity of glycolipids with cryogenic infrared spectroscopy*, *Nat. Commun.*, 2021, **12**, 1201.
  - 51 C. J. Gray, L. G. Migas, P. E. Barran, K. Pagel, P. H. Seeberger, C. E. Eyers, G.-J. Boons, N. L. B. Pohl, I. Compagnon, G. Widmalm and S. L. Flitsch, *Advancing Solutions to the Carbohydrate Sequencing Challenge*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 14463–14479.
  - 52 E. Saparbaev, V. Kopysov, V. Aladinskaia, V. Ferrières, L. Legentil and O. Boyarkin, *Identification and Quantification of Any Isoforms of Carbohydrates by 2D UV-MS Fingerprinting of Cold Ions*, *Anal. Chem.*, , DOI:10.1021/acs.analchem.0c03122.
  - 53 E. Saparbaev, V. Kopysov, R. Yamaletdinov, A. Y. Pereverzev and O. V Boyarkin, *Interplay of H-Bonds with Aromatics in Isolated Complexes Identifies Isomeric Carbohydrates*, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2019, **58**, 7346–7350.
  - 54 D. Ropartz, J. Lemoine, A. Giuliani, Y. Bittebière, Q. Enjalbert, R. Antoine, P. Dugourd, M.-C. Ralet and H. Rogniaux, *Deciphering the structure of isomeric oligosaccharides in a complex mixture by tandem mass spectrometry: photon activation with vacuum ultra-violet brings unique information and enables definitive structure assignment.*, *Anal. Chim. Acta*, 2014, **807**, 84–95.
  - 55 M. P. Dvores, P. Çarçabal, P. Maître, J. P. Simons and R. B. Gerber, *Gas phase*

- dynamics, conformational transitions and spectroscopy of charged saccharides: the oxocarbenium ion, protonated anhydrogalactose and protonated methyl galactopyranoside, Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2020, **22**, 4144–4157.
- 56 B. Schindler, L. Barnes, G. Renois, C. Gray, S. Chambert, S. Fort, S. Flitsch, C. Loison, A.-R. Allouche and I. Compagnon, Anomeric memory of the glycosidic bond upon fragmentation and its consequences for carbohydrate sequencing, *Nat. Commun.*, 2017, **8**, 973.
- 57 Z. Zhou, S. Ogden and J. A. Leary, Linkage position determination in oligosaccharides: mass spectrometry (MS/MS) study of lithium-cationized carbohydrates, *J. Org. Chem.*, 1990, **55**, 5444–5446.
- 58 Z. Su, E. J. Cocinero, E. C. Stanca-Kaposta, B. G. Davis and J. Simons, Carbohydrate-aromatic interactions: A computational and IR spectroscopic investigation of the complex, methyl  $\alpha$ -l-fucopyranoside - toluene, isolated in the gas phase, *Chem. Phys. Lett.*, 2009, **471**, 17–21.
- 59 E. C. Stanca-Kaposta, P. Carçabal, E. J. Cocinero, P. Hurtado and J. P. Simons, Carbohydrate-aromatic interactions: vibrational spectroscopy and structural assignment of isolated monosaccharide complexes with *p*-hydroxy toluene and *N*-acetyl *l*-tyrosine methylamide., *J. Phys. Chem. B*, 2013, **117**, 8135–8142.
- 60 J. C. Pouilly, F. Lecomte, N. Nieuwjaer, B. Manil, J. P. Schermann, C. Desfrançois, F. Calvo and G. Grégoire, Probing the specific interactions and structures of gas-phase vancomycin antibiotics with cell-wall precursor through IRMPD spectroscopy, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, **12**, 3606–3615.
- 61 J. C. Pouilly, F. Lecomte, N. Nieuwjaer, B. Manil, J. P. Schermann, C. Desfrançois, G. Grégoire, R. Ballivian, F. Chirot, J. Lemoine, F. Calvo, R. Antoine and P. Dugourd, Combining ion mobility mass spectrometry and infrared multiphoton dissociation spectroscopy to probe the structure of gas-phase vancomycin–Ac2LKDADA non-covalent complex, *Int. J. Mass Spectrom.*, 2010, **297**, 28–35.
- 62 F. Canon, A. R. Milosavljević, G. van der Rest, M. Réfrégiers, L. Nahon, P. Sarni-Manchado, V. Cheynier and A. Giuliani, Photodissociation and Dissociative Photoionization Mass Spectrometry of Proteins and Noncovalent Protein–Ligand Complexes, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2013, **52**, 8377–8381.
- 63 T. Sekiguchi, M. Tamura, H. Oba, P. Çarçabal, R. R. Lozada-Garcia, A. Zehnacker-Rentien, G. Grégoire, S. Ishiuchi and M. Fujii, Molecular Recognition by a Short Partial Peptide of the Adrenergic Receptor: A Bottom-Up Approach, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2018, **57**, 5626–5629.
- 64 A. Gadekar, S. Bhowmick and A. Pandit, A Glycotherapeutic Approach to Functionalize Biomaterials-Based Systems, *Adv. Funct. Mater.*, 2020, **30**, 1910031.
- 65 J. E. Hudak and C. R. Bertozzi, Glycotherapy: New Advances Inspire a Reemergence of Glycans in Medicine, *Chem. Biol.*, 2014, **21**, 16–37.
- 66 J.-L. Ochoa, Consideration of the nature of the lectin-carbohydrate interaction, *J. Chromatogr. A*, 1981, **215**, 351–360.
- 67 Y. Bourne, P. Rougé and C. Cambillau, X-ray structure of a ( $\alpha$ -Man(1-3) $\beta$ -Man(1-4)GlcNAc)-lectin complex at 2.1-Å resolution. The role of water in sugar-lectin

- interaction., *J. Biol. Chem.*, 1990, **265**, 18161–18165.
- 68 A. Barre, Y. Bourne, E. J. M. Van Damme and P. Rougé, *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, **20**.
- 69 S. Ballut, A. Makky, B. Chauvin, J.-P. Michel, A. Kasselouri, P. Maillard and V. Rosilio, *Tumor targeting in photodynamic therapy. From glycoconjugated photosensitizers to glycodendrimeric one. Concept, design and properties*, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 4485–4495.
- 70 M. Lupu, P. Maillard, J. Mispelter, F. Poyer and C. D. Thomas, *A glycoporphyrin story: from chemistry to PDT treatment of cancer mouse models*, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2018, **17**, 1599–1611.
- 71 M. Vijayan and N. Chandra, *Lectins*, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1999, **9**, 707–714.
- 72 R. Ravishankar, M. Ravindran, K. Suguna, A. Surolia and M. Vijayan, *Crystal structure of the peanut lectin - T-antigen complex. Carbohydrate specificity generated by water bridges*, *Curr. Sci.*, 1997, **72**, 855–861.
- 73 P. W.-P. Hong, S. Nguyen, S. Young, S. V Su and B. Lee, *Identification of the Optimal DC-SIGN Binding Site on Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp120*, *J. Virol.*, 2007, **81**, 8325 LP – 8336.
- 74 L. East and C. M. Isacke, *The mannose receptor family*, *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.*, 2002, **1572**, 364–386.
- 75 A. Gallud, D. Warther, M. Maynadier, M. Sefta, F. Poyer, C. D. Thomas, C. Rouxel, O. Mongin, M. Blanchard-Desce, A. Morère, L. Raehm, P. Maillard, J. O. Durand, M. Garcia and M. Gary-Bobo, *Identification of MRC2 and CD209 receptors as targets for photodynamic therapy of retinoblastoma using mesoporous silica nanoparticles*, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 75167–75172.
- 76 A. Makky, J. P. Michel, P. Maillard and V. Rosilio, *Biomimetic liposomes and planar supported bilayers for the assessment of glycodendrimeric porphyrins interaction with an immobilized lectin*, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.*, 2011, **1808**, 656–666.
- 77 V. Porkolab, C. Pifferi, I. Sutkeviciute, S. Ordanini, M. Taouai, M. Thépaut, C. Vivès, M. Benazza, A. Bernardi, O. Renaudet and F. Fieschi, *Development of C-type lectin-oriented surfaces for high avidity glycoconjugates: towards mimicking multivalent interactions on the cell surface*, *Org. Biomol. Chem.*, 2020, **18**, 4763–4772.
- 78 A. Makky, P. Viel, S. W. Chen, T. Berthelot, J.-L. Pellequer and J. Polesel-Maris, *Piezoelectric tuning fork probe for atomic force microscopy imaging and specific recognition force spectroscopy of an enzyme and its ligand*, *J. Mol. Recognit.*, 2013, **26**, 521–531.
- 79 S. Menon, K. Rosenberg, S. A. Graham, E. M. Ward, M. E. Taylor, K. Drickamer and D. E. Leckband, *Binding-site geometry and flexibility in DC-SIGN demonstrated with surface force measurements*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2009, **106**, 11524 LP – 11529.
- 80 K. Drickamer, *Engineering galactose-binding activity into a C-type mannose-binding protein*, *Nature*, 1992, **360**, 183–186.
- 81 R. A. Jockusch, R. T. Kroemer, F. O. Talbot and J. P. Simons, *Hydrated sugars in the gas phase: Spectroscopy and conformation of singly hydrated phenyl beta-D-glucopyranoside*, *J. Phys. Chem. A*, 2003, **107**, 10725–10732.

- 82 C. R. Anderton, R. K. Chu, N. Tolić, A. Creissen and L. Paša-Tolić, Utilizing a Robotic Sprayer for High Lateral and Mass Resolution MALDI FT-ICR MSI of Microbial Cultures, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2016, **27**, 556–559.
- 83 N. Shafizadeh, M. H. Ha-Thi, B. Soep, M. A. Gaveau, F. Piuzzi and C. Pothier, Spectral characterization in a supersonic beam of neutral chlorophyll a evaporated from spinach leaves, *J. Chem. Phys.*, 2011, **135**, 114303.
- 84 C. Mihesan, M. Ziskind, B. Chazallon, E. Therssen, P. Desgroux, S. Gurlui and C. Focsa, IR wavelength-selective laser desorption via OH and CH stretching modes, *Appl. Surf. Sci.*, 2006, **253**, 1090–1094.
- 85 D. Maué, P. Strebert, D. Bernhard, S. Rösel, P. Schreiner and M. Gerhards, Dispersion-Bound Isolated Dimers in the Gas Phase: Observation of the Shortest Intermolecular C–H•••H–C Distance via Stimulated Raman Spectroscopy, *Angew. Chemie Int. Ed.*, , DOI:10.1002/anie.202016020.
- 86 N. Mayorkas, I. Malka and I. Bar, Ionization-loss stimulated Raman spectroscopy for conformational probing of flexible molecules, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, **13**, 6808–6815.
- 87 Z. Jing, C. Liu, S. Y. Cheng, R. Qi, B. D. Walker, J.-P. Piquemal and P. Ren, Polarizable Force Fields for Biomolecular Simulations: Recent Advances and Applications, *Annu. Rev. Biophys.*, 2019, **48**, 371–394.
- 88 F. Thauay, J.-P. Dognon, G. Ohanessian and C. Clavaguéra, Vibrational mode assignment of finite temperature infrared spectra using the AMOEBA polarizable force field, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 25968–25977.
- 89 K. N. Kirschner, A. B. Yongye, S. M. Tschampel, J. González-Outeiriño, C. R. Daniels, B. L. Foley and R. J. Woods, GLYCAM06: A generalizable biomolecular force field. Carbohydrates, *J. Comput. Chem.*, 2008, **29**, 622–655.
- 90 R. J. Woods, Computational carbohydrate chemistry: what theoretical methods can tell us, *Glycoconj. J.*, 1998, **15**, 209–216.
- 91 L. van der Maaten and G. Hinton, Visualizing data using t-SNE, *J. Mach. Learn. Res.*, 2008, **9**, 2579–2605.
- 92 M. Wang, *et al.*, Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking, *Nat. Biotechnol.*, 2016, **34**, 828–837.







**Titre : Interactions non-covalentes sondées par spectroscopie en phase gazeuse : structure, conformation, isolation et environnement contrôlé.**

**Mots clés :** complexes moléculaires, molécules modèles, molécules biologiques, spectroscopie en phase gazeuse.

**Résumé :** L'étude des faibles interactions entre les molécules est fondamentale pour la compréhension d'un très grand nombre de phénomènes physiques et chimiques incluant les transferts d'énergie inélastiques, la dynamique de photo-fragmentation, la liaison hydrogène ou la catalyse par adsorption sur une surface. Outre ces aspects très généraux, la liaison hydrogène joue un rôle très important dans les phénomènes de solvatation et dans les mécanismes moléculaires du vivant qui sont au centre de mes travaux.

Un moyen d'investigation de ces faibles interactions est l'étude en phase gazeuse des complexes moléculaires, par des méthodes expérimentales de spectroscopie laser, en particulier la spectroscopie vibrationnelle. Les systèmes étudiés vont des complexes moléculaires de systèmes modèles étudiés en phase gazeuse ou dans des agrégats d'Hélium, jusqu'aux molécules biologiques, en particulier les sucres, libres de toutes perturbations ou en interaction avec d'autres molécules biologiques ou des molécules d'eau.

**Title : Non-covalent interactions probed by gas phase spectroscopy : structure, conformation, isolation et environnement contrôlé.**

**Keywords :** molecular complexes, model molecules, biological molecules, gas phase spectroscopy.

**Abstract :** The study of weak interactions between molecules is fundamental for understanding a very large number of physical and chemical phenomena including inelastic energy transfer, photo-fragmentation dynamics, hydrogen bonding or catalysis by adsorption on a surface. In addition to these very general aspects, hydrogen bonding plays a very important role in the phenomena of solvation and in the molecular mechanisms of biology, that are at the center of my work.

One means of investigating these weak interactions is the study of molecular complexes in the gas phase, using experimental methods of laser spectroscopy, in particular vibrational spectroscopy. The systems studied range from molecular complexes of model systems studied in the gas phase or in Helium aggregates, to biological molecules, in particular sugars, free of all perturbation or in interaction with other biological molecules or molecules of water.