

NOBEL 99

PRIX NOBEL DE CHIMIE 1999

Ahmed Zewail

La femtochimie récompensée

Jean-Louis Martin

Ahmed Zewail est né en Égypte en 1946. Il obtient sa licence et sa maîtrise à l'université d'Alexandrie. Il effectue sa thèse de doctorat à l'université de Pennsylvanie à Philadelphie. Il obtient son PhD en chimie-physique en 1974. Il effectue sa formation postdoctorale à l'université de Berkeley comme *IBM research fellow*. En 1976, il est nommé *Assistant-Professor au California Institute of Technology* (Caltech) où il va effectuer toute sa carrière. Celle-ci a été ponctuée de nombreux séjours à l'étranger y compris en France, à Bordeaux et à l'École Normale Supérieure. En 1982, il a été nommé professeur titulaire à Caltech, et en 1990 il a obtenu la chaire *Linus Pauling*. Depuis une dizaine d'années, Ahmed Zewail a été un fantastique ambassadeur et promoteur de la femtochimie comme en témoignent les nombreux prix et honneurs qu'il a obtenu (dont le prix Wolf et le prix King Fayçal). Il est membre de nombreuses académies dont la *National Academy of Sciences* (USA), la *Third World Academy of Science*, l'*European Academy of Arts Sciences and Humanities* et la *Pontifical Academy of Sciences*. Il a reçu en 1995, des mains du Président Mubarak, l'ordre du Mérite national et son portrait figure depuis l'année dernière sur les timbres de la poste égyptienne. Ahmed Zewail possède la double nationalité américaine et égyptienne. Il vit à San Marino en Californie.

Ahmed Zewail, 53 ans, professeur titulaire de la chaire *Linus Pauling* de chimie-physique à Caltech (CA, USA) vient de se voir attribuer le prix Nobel

de chimie pour sa contribution à l'analyse en temps réel des réactions chimiques élémentaires. Les membres du comité Nobel ont été séduits par la limpidité des expériences réalisées par A. Zewail il y a une quinzaine d'années. La simplicité du système moléculaire initialement choisi comme sujet d'étude en est la clé : une molécule diatomique en phase gazeuse dans un jet, c'est-à-dire isolée de l'influence du reste du monde. Que peut-on donc apprendre de si fondamental sur un tel système ? Peu d'informations nouvelles, si on se contente de l'observer, à l'équilibre, en train d'évoluer dans le temps, si ce n'est une « signature spectrale ». Celle-ci est la conséquence de l'absorption de photons à des énergies caractéristiques de la structure électronique ou vibrationnelle de la molécule. L'expérience devient beaucoup plus instructive si l'on est capable à la fois de perturber et d'observer la molécule sur une échelle de temps suffisamment courte pour appréhender les perturbations spectrales associées au mouvement relatif des atomes. C'est ici que se situe la contribution d'A. Zewail. Sa démarche a été de choisir un système moléculaire à la fois accessible à la théorie des réactions chimiques et à l'expérimentation et d'étudier son comportement hors équilibre par spectroscopie laser femtoseconde.

Les échelles de temps

Une réaction chimique qui implique une rupture ou une formation de liaison entre – au moins – deux atomes

est tributaire de deux classes d'événements : d'une part, un déplacement relatif des noyaux et, d'autre part, une redistribution d'électrons parmi différentes orbitales. Ces deux catégories d'événements s'expriment sur des échelles de temps qui leur sont propres et qui dépendent de la structure électronique et des masses atomiques des éléments constituant la molécule. Ainsi, la dynamique des atomes autour de leur position d'équilibre est, en première approximation, celle d'oscillateurs harmoniques faits de masses ponctuelles couplées par des forces de rappel. Dans le cas d'une molécule diatomique (par exemple NaI, un des systèmes étudiés par A. Zewail), il n'y a que deux masses Na et I, et un seul « ressort ». On peut alors aisément décrire l'énergie interne d'un tel système : l'énergie en fonction de la distance entre les noyaux Na et I décrit une parabole (la surface de potentiel) dont le minimum correspond à la longueur de la liaison Na-I et dont la courbure près de ce minimum est directement reliée à la fréquence de l'oscillation. La *figure 1* décrit une situation analogue dans l'expérience de dissociation d'une molécule de monoxyde de carbone (CO) de l'hème. Ce modèle harmonique approximatif décrit assez bien le mouvement des atomes autour de leur position d'équilibre. Il permet d'estimer la valeur de la période d'oscillation qui est typiquement de quelques femtosecondes à quelques dizaines de femtosecondes (1 femtoseconde = 10^{-15} seconde). La réaction qui consiste à réaliser la rupture de la liaison (Na-I ou hème-CO) va donc

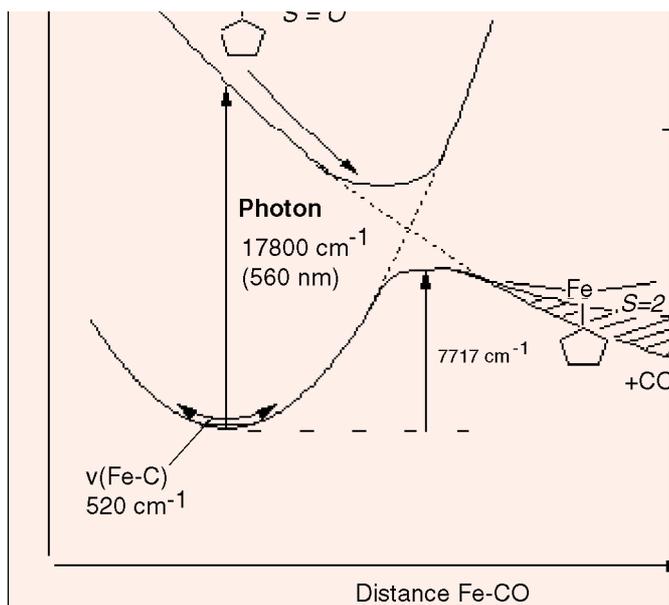


Figure 1. **Surfaces d'énergie potentielle du complexe hème-CO et hème + CO.** La réaction étudiée ici est : hème - CO + photon (hème-CO)* → hème + CO. L'axe des abscisses représente la distance Fe-CO (la coordonnée de réaction). Une troisième dimension perpendiculaire est la position du fer par rapport au plan de l'hème (hème en forme de dôme). L'absorption d'un photon à 560 nm (ou 17800 cm⁻¹ en énergie) place le complexe hème-CO dans un

état excité dissociatif : l'équilibre sera trouvé quand le système aura évolué vers la droite à une distance infinie. Dans son évolution vers la dissociation, le système va traverser la « zone de transition » (courbes en pointillés) qui correspond à une configuration où le mélange électronique entre la forme liée et la forme dissociée du complexe peut se produire. La courbure de la courbe parabolique de l'état initial correspondant à une fréquence de vibration de la liaison Fe-CO : $v(\text{Fe-C}) = 520 \text{ cm}^{-1}$, il faut environ 300 femtosecondes au système pour franchir la zone de transition et se retrouver dans la situation hème (fer en dehors du plan) + CO dissocié.

être tributaire de cette dynamique femtoseconde intrinsèque aux mouvements des atomes.

Mais il existe d'autres acteurs dans cette réaction de dissociation, ce sont les électrons. Ce n'est pas leur mouvement intrinsèque en orbite autour des noyaux qui nous importe ici, mais la probabilité que tel électron puisse passer d'une orbitale qui assure la cohésion de la liaison, à une orbitale qui, une fois occupée par un électron, va faire se repousser les atomes. Cette probabilité de transition dépend de la distance inter-atomes. En particulier, il existe une position précise pour laquelle cette probabilité est optimale, c'est la zone de mélange électronique souvent appelée « état de transition ». Cette position ne correspond pas en général au point extrême de l'oscillation où la longueur de la liaison (Na-I, par exemple) est maximale – ce que l'intuition nous conduirait à proposer – mais correspond à une distance intermédiaire qui, d'une part, favorise « le mélange » d'électrons et,

d'autre part, correspond à une énergie cinétique non nulle des atomes. Or la probabilité de transition de l'électron est en général inférieure à 1 à chaque passage dans cette zone de transition : les électrons ne changent pas d'orbitale aussi facilement, il y a des règles ! Il faudra en général plusieurs tentatives – c'est-à-dire plusieurs oscillations – avant que la réaction chimique ne se produise.

Le scénario global qui en résulte est le suivant : la distance inter-atomes oscille dans le domaine femtoseconde. Pour une distance et une énergie cinétique précises, la probabilité de transition d'un état lié (NaI) à un état dissocié (Na + I) est optimale, même si elle reste inférieure à l'unité par passage. La conformation très particulière de la molécule à cet instant très précis – dont la durée est inférieure à 100 fs – est une information essentielle pour comprendre cette réaction de dissociation. En appliquant la technique de « stroboscopie » femtoseconde à cette réaction, A. Zewail a réussi à reconstruire point par point

les changements de conformation associés à la rupture d'une liaison chimique.

Photographier une molécule en train de se casser en deux fragments requiert la maîtrise de la technologie des lasers femtosecondes et de la spectroscopie qui lui est associée. Ces outils ont été développés dès la fin des années 1970 aux Bell Labs, en particulier par l'équipe de Charles V. Shank actuellement à l'université de Berkeley (CA, USA), qui en avait en outre démontré le potentiel dans l'étude des semi-conducteurs et des réactions chimiques en solution.

Le principe d'une expérience femtoseconde

On vient de le voir, une vitesse de réaction chimique est le « produit » de deux termes : une dynamique intrinsèque des atomes et une probabilité de transition. C'est en général ce dernier facteur de probabilité qui limite la vitesse d'une réaction. Une réaction chimique – ou biochimique – est généralement lente non pas comme conséquence d'événements intrinsèquement lents, mais parce que certains d'entre eux sont peu probables. Comment réussir à caractériser une conformation intermédiaire – celle de l'état de transition – à la fois très fugace et peu probable ?

- Il est tout d'abord nécessaire de synchroniser les réactions d'un ensemble moléculaire avec une précision supérieure à la dynamique d'évolution des atomes. Cela est réalisé par une première impulsion laser femtoseconde intense qui place les molécules hors équilibre en modifiant leur état électronique, celui-ci étant dissociatif le nouvel équilibre sera atteint quand les atomes constituant la liaison seront à une distance infinie. Cette excitation optique initiale revient donc à communiquer une énergie cinétique aux atomes qui vont ainsi évoluer sur la surface de potentiel jusqu'à la zone de transition d'où ils vont finalement dériver vers l'état « produit » dissocié.

- Pour les photographier au passage de cette zone de transition, « il suffit » donc d'envoyer, exactement à l'instant auquel la molécule transite dans cette zone, une deuxième impulsion femto-

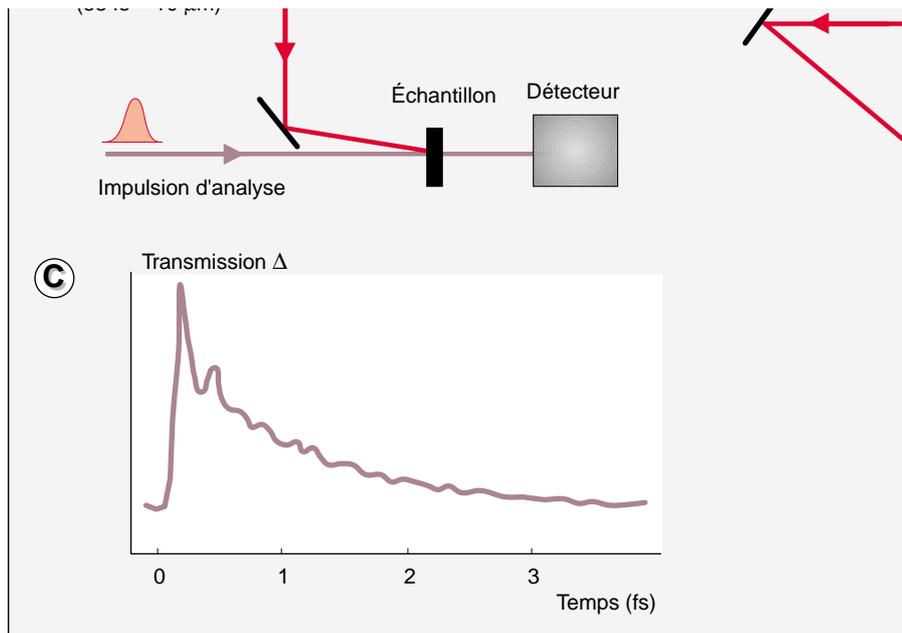


Figure 2. **Principe d'une expérience de «stroboscopie» femtoseconde.** Une impulsion de «pompe» issue d'un laser femtoseconde est focalisée sur l'échantillon et déclenche l'évolution du système moléculaire en synchronisant les réactions d'un ensemble de molécules. Une impulsion «sonde» femtoseconde de faible intensité analyse l'échantillon placé hors équilibre, après un retard variable. En jouant sur les distances relatives de propagation des deux impulsions issues du même laser (grâce à une ligne à retard optique), il est possible de reconstruire point par point l'évolution d'un spectre, puis le scénario des changements structuraux associés à la rupture de la liaison. Cette méthode d'échantillonnage ne nécessite pas l'utilisation d'un détecteur rapide (qui n'existe pas pour cette échelle de temps). Cette méthode s'applique à la mesure de spectres électroniques (A) ou de vibrations (B). La courbe (C) représente l'évolution d'un point du spectre.

seconde (fs) beaucoup moins intense que la première, car elle ne doit qu'observer. Cette deuxième impulsion femtoseconde dérive en fait de la première mais elle a parcouru une distance légèrement supérieure. Elle est donc en retard d'un temps ajustable, sachant qu'un retard de 100 fs correspond à une distance supplémentaire de 30 micromètres (figure 2). D'une manière générale, la conformation de l'état intermédiaire est obtenue indirectement par spectroscopie optique ou vibrationnelle : c'est le rôle de cette impulsion retardée par rapport à l'impulsion « déclencheur ». Cette impulsion d'analyse ultra-courte permet d'effectuer une photographie instantanée de l'état de la molécule sans avoir à utiliser d'obturateur ultrarapide (qui n'existe pas à cette vitesse) ou de détecteur ultrarapide. En effet, c'est le *flash* ultracourt utilisé pour « éclairer »

la molécule qui permet d'éviter le flou et de discriminer jusqu'aux mouvements des atomes associés à la réaction (c'est l'effet stroboscope).

Quelles perspectives en biologie ?

Dans son commentaire sur le prix Nobel en « femtochimie », l'éditeur de *Nature* [1] écrit dans le dernier paragraphe : « *It seems inevitable that ultrafast change in biological systems will receive increasing attention**. » Pourquoi une telle certitude ?

La réponse a été fournie par Linus Pauling il y a un demi-siècle à partir de considérations purement théoriques. Pauling a proposé que le rôle des enzymes est d'augmenter la pro-

* *Il semble inévitable que les changements ultrarapides dans les systèmes biologiques vont être l'objet d'une attention accrue.*

babilité d'obtenir cet état conformationnel à haute énergie très fugace ou, en d'autres termes, de stabiliser l'état de transition, c'est-à-dire l'état conformationnel conduisant à la catalyse. Le préalable à la compréhension du fonctionnement des enzymes est donc la caractérisation des états de transition. Une démonstration expérimentale indirecte a été la production d'anticorps catalytiques – ou abzymes – par Lerner *et al.* au début des années 1980 [2]. En effet, suivant le raisonnement de Pauling, les anticorps « reconnaissent » leur cible épitopique dans leur état fondamental (c'est-à-dire au minimum de la surface de potentiel, voir plus haut) alors que les enzymes reconnaissent leur cible, le substrat, dans son état de transition. Les anticorps deviendront catalytiques si, produits en réponse à la présence d'une molécule mimant l'état de transition d'un substrat, ils sont mis en présence de ce dernier... : ça marche... plus ou moins bien, mais ceci est une autre histoire.

- La caractérisation de cet état de transition est donc un préalable à la compréhension des mécanismes de catalyse mais aussi à la conception d'effecteurs modifiant la réactivité. Dans une protéine, qui comporte des milliers d'atomes, l'identification des mouvements participant à la réaction moléculaire n'est pas chose aisée, l'interprétation des spectres ne pouvant plus être directe, comme dans le cas des molécules diatomiques. La cinétique de ces mouvements est directement déterminée par les modes de vibration de la protéine. On peut donc, ici aussi, s'attendre à des mouvements dans le domaine femtoseconde.

- Il existe une classe d'enzymes pour laquelle la structure de l'état de transition est connue grâce à des approches théoriques : ce sont les protéases dont on sait qu'elles favorisent la configuration tétrahédrique du carbone de la liaison peptidique. Cette connaissance de l'état de transition a autorisé une approche rationnelle dans la conception de molécules « candidat-médicament » : les inhibiteurs de protéase. Il n'est donc pas surprenant qu'à ce jour, les seuls médicaments sur le marché – et non des moindres – issus d'une

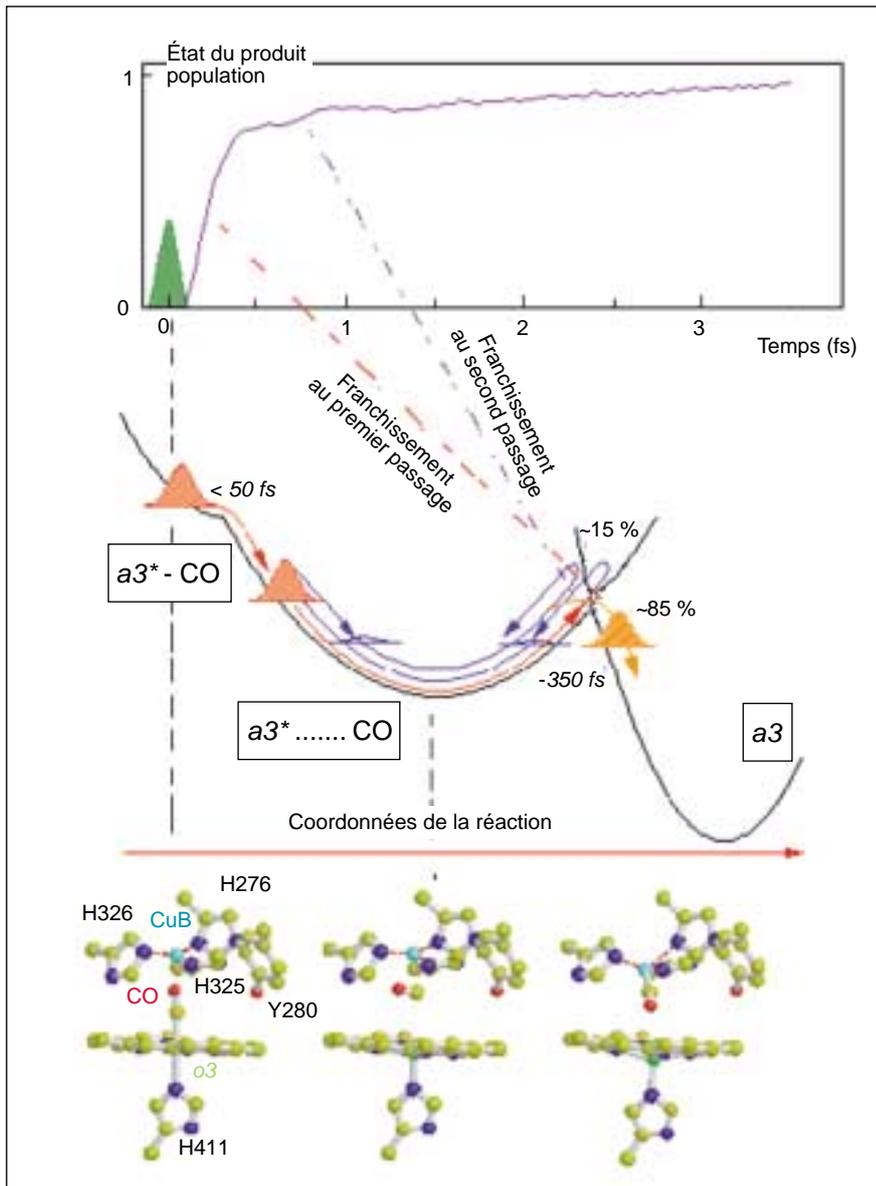


Figure 3. **L'exemple d'une dissociation et d'une formation d'une liaison au sein du site actif d'un complexe enzymatique essentiel à la vie aérobie: la cytochrome oxydase.** Cette enzyme doit régler de façon très précise et fiable le trafic de trois ligands diatomiques physiologiques: l'un est essentiel au métabolisme énergétique, c'est l'oxygène, les deux autres sont des molécules « signal ». Le trafic est réglé par la présence d'un atome de cuivre. La rupture de la liaison fer-CO est suivie du transfert du CO au cuivre où il se lie à la première tentative (probabilité de 85%). L'enzyme semble avoir optimisé ce transfert en communiquant au CO un mouvement de translation-rotation qui favorise la formation de la liaison Cu-CO en... 700 fs. Ce mécanisme pourrait être la clé d'une utilisation en toute sécurité de la cytochrome oxydase comme senseur à oxygène.

démarche scientifique véritablement rationnelle soient des inhibiteurs de protéases ou de peptidases: inhibiteurs de l'enzyme de conversion

(IEC), inhibiteurs de protéase du virus HIV, base de « la tri-thérapie ».

- En donnant l'espoir de photographier les états de transition, la femto-

biologie ouvre la perspective d'une démarche rationnelle dans la conception d'inhibiteurs spécifiques. Avant qu'une telle possibilité ne soit offerte, il reste néanmoins à surmonter de sérieuses difficultés: le développement d'une méthode plus directe de visualisation des conformations, en particulier par diffraction RX (rayons X) femtoseconde, mais aussi la mise au point de méthodes de synchronisation à l'échelle femtoseconde de réactions enzymatiques au sein d'un cristal.

- Cependant, il existe des situations favorables où l'enzyme comporte un co-facteur optiquement actif qui peut servir de déclencheur interne d'une réaction: c'est le cas des hémoprotéines dans lesquelles il est possible de dissocier le ligand (oxygène, NO ou CO) avec une impulsion femtoseconde. De tels systèmes ont servi à mettre en évidence les premières étapes dans une transition allostérique ou, plus récemment, le trafic de ligand entre un atome de fer et un atome de cuivre dans le site catalytique de la cytochrome oxydase (figure 3). Dans ce dernier exemple, l'enzyme a atteint un degré de sophistication supplémentaire en optimisant la probabilité de transition – qui est proche de l'unité – en franchissant l'état de transition de manière quasi balistique [3]. A l'évidence, l'essentiel est à venir en femtobiologie...

RÉFÉRENCES

1. Ball P. Split second chemistry is rewarded. *Nature* 1999 ; 401 : 626.
2. Lerner RA, Tramontano A. Catalytic antibodies. *Sci Am* 1988 ; 258 : 58-70
3. Liebl U, Lipowski G, Négrerie M, Lambry JC, Martin JL, Vos MH. Coherent reaction dynamics in a bacterial cytochrome c oxidase. *Nature* 1999 ; 401 : 181-4.

Jean-Louis Martin

Inserm U. 451, École polytechnique-ENSTA-LOA, 91761 Palaiseau Cedex, France.