

Application des outils de la chimie quantique et apport de la spectroscopie de Résonance Paramagnétique Électronique pour la caractérisation structurale et dynamique d'Architectures Moléculaires

Maylis Orio

▶ **To cite this version:**

Maylis Orio. Application des outils de la chimie quantique et apport de la spectroscopie de Résonance Paramagnétique Électronique pour la caractérisation structurale et dynamique d'Architectures Moléculaires. Chimie théorique et/ou physique. Université Lille1 - Sciences et Technologies, 2014. tel-01263182v2

HAL Id: tel-01263182
https://hal.science/tel-01263182v2

Submitted on 5 Apr 2016

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.

Nº ordre : 41493

HABILITATION À DIRIGER DES RECHERCHES

Présentée

devant l'Université de Lille 1

par

Maylis ORIO
Chargée de Recherche CNRS

Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman, UMR 8516
École Doctorale des Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement

Titre du mémoire

Application des outils de la chimie quantique et apport de la spectroscopie de Résonance Paramagnétique Électronique pour la caractérisation structurale et dynamique d'architectures moléculaires

Soutenance le 26 septembre 2014, devant la commission d'examen :

Rapporteurs :

Didier Gourier	Professeur, UPMC Paris
Bruno Guigliarelli	Professeur, BIP Marseille
Ilaria Ciofini	Directrice de Recherche, UPMC Paris

Examinateurs :

Dimitrios Pantazis	Chercheur MPI CEC Mulheim
Carole Duboc	Directrice de Recherche, DCM Grenoble
Guy Buntinx	Directeur de Recherche, LASIR Lille
Hervé Vezin	Directeur de Recherche, LASIR Lille (Garant)

TABLES DES MATIÈRES

Introduction générale 3

Partie 1 : Développements méthodologiques.....7

Partie 1.1. Protéines à centres fer-soufre….....8

Partie 1.2. Complexes polynucléaires de manganèse.....15

Partie 2 : Application aux systèmes biologiques 25

Partie 2.1. Protéines à cuivre.….....26

Partie 2.2. Métalloenzymes radicalaires 37

Partie 2.3. Enzymes à liaison métal-soufre.….....52

Partie 3 : Perspectives et projet de recherche ….....64

Partie 3.1. Enzymes à liaison métal-soufre.….....66

Partie 3.2. Métalloenzymes radicalaires.....73

Partie 3.3. Protéines à cuivre.….....77

Conclusion générale.....82

Bibliographie.….....85

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

De nos jours une approche relativement répandue dans les groupes de recherche consiste à combiner techniques expérimentales et modélisations théoriques pour la caractérisation des objets d'étude. Plus spécifiquement, la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT) est de plus en plus utilisée pour des applications relatives aux systèmes biologiques [1]. Les avancées méthodologiques ainsi que les récentes implémentations sont devenues telles que de nombreuses propriétés moléculaires peuvent maintenant être prédites avec une grande précision aussi bien d'un point de vue qualitatif que quantitatif [réf. ACL 4]. L'approche DFT est maintenant établie comme un outil de recherche pertinent car elle permet de prédire de nombreuses propriétés telles que les structures, les énergies, les mécanismes réactionnels et les observables spectroscopiques de systèmes très variés [2]. L'utilisation des méthodes DFT pour modéliser des propriétés moléculaires permet d'établir un lien direct entre les aspects expérimentaux et théoriques car elles donnent accès à d'importantes informations concernant les paramètres structuraux, électroniques et spectroscopiques des espèces étudiées [3]. La popularité actuelle de l'approche DFT est relativement récente et les premiers codes commerciaux (ADF [4], Gaussian [5], Orca [6]) ne sont apparus qu'au début des années 90 alors même que le concept de la DFT était tout au plus considéré comme une simple référence dans les manuels de chimie quantique de l'époque. Au milieu des années 90, la DFT a connu sa véritable ascension et plusieurs applications dans le domaine de la chimie bio-inorganique ont vu le jour [7]. Dans les années 2000, les calculs DFT sur des systèmes possédant des métaux de transition ont régné en maître dans de nombreux travaux de recherche. Très peu de temps après, plusieurs groupes de chercheurs expérimentaux se sont intéressés de près aux possibilités que pouvaient représenter les calculs théoriques de type DFT et se sont investis dans des collaborations en ce sens. De nos jours, l'approche DFT s'est démocratisée et elle est maintenant perçue comme un outil performant et accessible à tous. Cependant, aux yeux de certains puristes, la DFT est une méthode mono-déterminantale et elle ne peut *a priori* pas décrire correctement les systèmes multi-configurationnels tels que les centres métalliques avec couplage de spin, les complexes comportant des ligands "non-innocents" ou encore les états de transition. En pratique, les calculs de type spin non-restreint - incluant, si nécessaire, l'approche de symétrie brisée - permettent de réaliser d'excellentes études sur de tels systèmes [8]. Actuellement, les méthodes *ab initio* (Hartree-Fock et Post-Hartree-Fock) et DFT co-existent et sont complémentaires l'une de l'autre dans le domaine de la chimie organique. A contrario, il est à noter que l'approche *ab initio* est relativement absente en chimie bio-inorganique [9] - une des raisons à cela étant la limitation que représente la taille des systèmes communément étudiés dans ce domaine qui sont généralement à couches ouvertes et qui possèdent un voire plusieurs centres métalliques. Cette situation tend tout de même à changer et de façon générale, il est maintenant usuel d'intégrer des calculs de chimie quantique dans les domaines de recherche appliquée [10]. Ces calculs peuvent servir soit à valider les conclusions établies à l'issue de l'analyse des données expérimentales soit à exclure les possibilités qui ont été proposées au préalable. Ainsi, dans le domaine de la chimie bio-inorganique, il devient crucial de pouvoir établir des corrélations entre les

données issues de l'expérience et celles issues de calculs théoriques, et ce, en dépit de la complexité des structures électroniques provenant des systèmes ainsi étudiés ou des limites de précision intrinsèques à toute approche théorique [11]. Il faut donc tenter de faire correspondre les calculs avec les contraintes bien connues de l'expérience et, compte tenu du large panel de données spectroscopiques accumulées dans le domaine précité, cela va se révéler très enrichissant pour le chimiste théoricien qui va pouvoir juger de la validité de sa méthode de calcul.

Lorsque l'on s'intéresse à des systèmes à couches ouvertes, on fait généralement appel à la technique de spectroscopie de Résonance Paramagnétique Électronique (RPE) qui se présente comme une technique de choix pour l'étude de systèmes possédant un ou plusieurs électron(s) non-apparié(s) tels que les radicaux organiques et inorganiques, les complexes de métaux de transition ou les métalloenzymes [11]. Ces dernières décennies, la RPE est devenue une méthode spectroscopique performante pour étudier des composés contenant des espèces paramagnétiques et elle est très largement employée dans des domaines aussi variés que la chimie, la physique ou la biologie [12]. Cette technique fournit les éléments nécessaires pour une description précise de la structure géométrique et électronique des entités étudiées grâce à la mesure d'observables caractéristiques telles que le tenseur g ou les couplages hyperfins qui vont refléter l'environnement local du centre paramagnétique [13]. L'évaluation du tenseur g ou de l'écart en champ nul pour les espèces possédant plus d'un électron célibataire vont fournir des renseignements de base concernant le système étudié, à savoir son état de spin et sa nature chimique. La mesure des couplages hyperfins permettra de sonder la distribution de densité de spin dans le système ce qui permettra d'identifier le type de noyaux environnant le centre paramagnétique et donnera accès à la séparation spatiale entre ces noyaux et les électrons célibataires du système [14]. Pour effectuer la caractérisation structurale d'une espèce paramagnétique, il est donc nécessaire de déterminer sa nature chimique ainsi que sa structure géométrique et électronique. Ces différentes informations peuvent être facilement obtenues grâce à l'utilisation des techniques modernes que représentent les méthodes de spectroscopie RPE avancées [15]. Ces dernières seront particulièrement appropriées pour caractériser des espèces contenant des ions de métaux de transition qui profiteront à la fois de la sensibilité de ces approches et de la facilité de mise en ouvre des échantillons étudiés pouvant se présenter sous la forme de cristaux, de poudres ou de solutions. Ces dernières années ont vu l'avènement des méthodes de RPE en ondes pulsées (ESEEM, HYSCORE) qui ont été régulièrement employées avec succès pour l'étude de systèmes basés sur les métaux de transition [16]. En raison du nombre croissant d'applications potentielles, ces méthodes sont en perpétuel développement dans le but d'améliorer la sensibilité et la résolution des techniques qui sont actuellement disponibles [17]. Il existe déjà un large panel d'expériences de spectroscopie RPE en ondes pulsées qui permettent de répondre à diverses problématiques spécifiques et ce, avec une résolution optimale [18]. Le plus souvent, les résultats que l'on extrait à partir d'expériences employant ces techniques avancées sont interprétables sans trop de difficultés en raison du faible nombre d'hypothèses utilisées pour leur mise en œuvre. Par

ailleurs, il est à noter que les performances de ces techniques sont d'autant plus importantes qu'elles sont régulièrement combinées aux approches théoriques utilisant les outils de la chimie quantique [19]. En effet, la modélisation DFT de la structure électronique et des paramètres de spectroscopie RPE de systèmes complexes permettent une étude complète et approfondie de leurs structures et de leurs propriétés [20]. Associer les mesures expérimentales (spectroscopies RPE) à de la modélisation théorique (méthodes DFT) va permettre d'établir des corrélations calculs-expérience et de confirmer les hypothèses formulées voire de lever certaines ambigüités en répondant aux questions laissées en suspens. L'utilisation d'une approche couplée sera notamment pertinente pour l'étude des systèmes biologiques tels que les métalloenzymes.
Dans la nature, la plupart des réactions chimiques sont catalysées par des enzymes. Lorsqu'une nouvelle enzyme est découverte et décrite dans la littérature, il est souvent difficile de mettre en relation les propriétés macroscopiques et la structure moléculaire intrinsèque du site actif. Un moyen simple d'apporter des informations pertinentes consiste à élaborer des complexes métalliques, modèles du site actif à partir de ligands simplifiés. Ils seront d'une manipulation plus aisée et permettront de reproduire les caractéristiques spectroscopiques et fonctionnelles de l'enzyme. C'est ce que l'on nomme l'approche biomimétique [21]. Il est également possible d'aller plus loin dans la démarche en s'inspirant du site actif de l'enzyme considérée. On va alors élaborer des complexes à partir des motifs présents dans le site actif mais en les assemblant différemment de manière à constituer une nouvelle entité possédant des caractéristiques structurales et même des propriétés fonctionnelles inédites. On parle alors d'approche bio-inspirée [22]. Ces deux concepts combinés à l'approche couplant théorie et expérience constituent le point de départ de ma principale thématique de recherche : la modélisation de systèmes paramagnétiques relevant du domaine de la chimie bio-inorganique. Les travaux qui sont présentés dans ce manuscrit sont dédiés à l'application des outils de la chimie quantique tels que ceux basés sur la méthode DFT et à l'apport de la spectroscopie RPE pour la caractérisation structurale et dynamique d'architectures moléculaires. Ces activités de recherche concernent l'étude aussi bien sur le plan théorique que sur le plan expérimental de systèmes à couches ouvertes (composés organiques et inorganiques) pour des applications en biologie, en environnement et en catalyse. Ce manuscrit synthétise l'essentiel des travaux de recherche que j'ai menés depuis mon doctorat et comportera trois parties distinctes. La première partie présentera les développements méthodologiques qui ont été réalisés pour modéliser et prédire les propriétés magnétiques et spectroscopiques de systèmes polynucléaires à base de métaux de transition. Dans la seconde partie, je détaillerai les différentes études que j'ai effectuées sur des systèmes relevant du domaine de la chimie bio-inorganique. Je montrerai l'intérêt de l'utilisation d'une approche couplant théorie et expérience pour caractériser des systèmes complexes. Dans la troisième et dernière partie de ce manuscrit, j'aborderai les perspectives et extensions que je compte apporter à ces différents travaux et je développerai les différents projets qui seront menés par la suite et qui utiliseront aussi cette double approche ainsi que certains des développements méthodologiques.

DÉVELOPPEMENTS MÉTHODOLOGIQUES

Partie 1.1. Protéines à centres fer-soufre

Partie 1.1.1. Propriétés moléculaires de clusters [2Fe-2S]

Cette thématique a été développée lors de mon travail de thèse (2004-2007) que j'ai effectué au sein de Laboratoire de Résonances Magnétiques du Service de Chimie Inorganique et Biologique du CEA de Grenoble. Ces travaux ont été dédiés à l'étude par la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT) des propriétés moléculaires d'un ensemble de modèles structuraux des sites actifs de différentes familles de protéines [2Fe-2S]. Nous visions à développer un protocole permettant d'estimer l'impact de la localisation et de la délocalisation électronique lorsque l'on considère ces systèmes à l'état réduit. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à la modélisation théorique des paramètres issus de la spectroscopie de Résonance Paramagnétique Électronique (RPE). Ceci a conduit à mettre en place un modèle phénoménologique et semi-quantitatif permettant de rationaliser et d'harmoniser les variations de deux quantités biophysiques caractéristiques des agrégats fer-soufre étudiés : la valeur moyenne de tenseur g (g_{av}) et la constante d'échange effective J_{eff}. Les protéines fer-soufre présentent des sites actifs ayant au moins un atome de fer non-héminique dont la coordination est partiellement assurée par des atomes de soufre [1-3] (Figure 1). L'ensemble ainsi obtenu constitue un centre fer-soufre qui comporte un groupement prosthétique généralement lié à l'apoprotéine par des résidus cystéinyles (groupement soufré) ou histidinyles (groupement azoté) [4,5]. La fonction d'accepteur et de donneur d'électrons est le rôle de la majorité des centres fer-soufre lorsque la protéine considérée intervient dans les systèmes de transfert électronique [6]. Dans les protéines fer-soufre, les centres métalliques présents peuvent évoluer réversiblement entre les états Fe(II) et Fe(III).

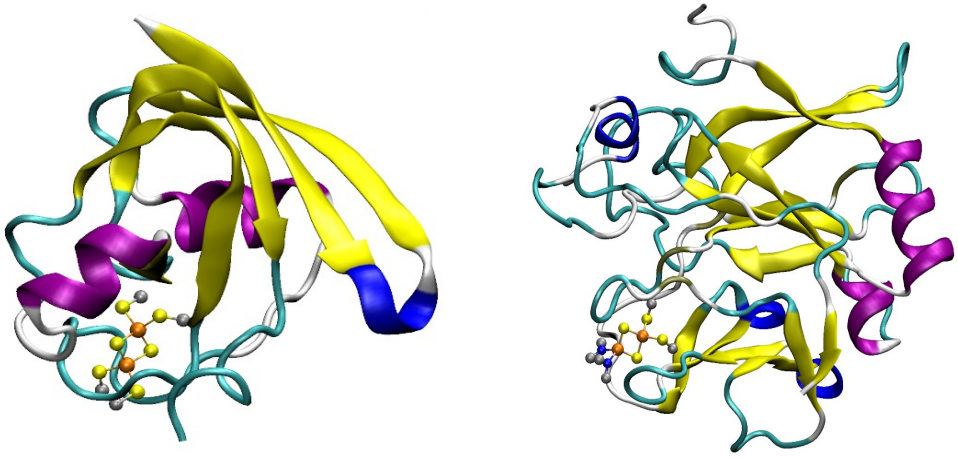


Figure 1 : Exemples de protéines à centres [2Fe-2S].

Le centre fer-soufre dinucléaire présente ainsi trois états rédox possibles : à l'état oxydé, les deux ions ferriques forment l'agrégat $[2Fe\text{-}2S]^{2-}$ et à l'état réduit, soit un ion ferrique est associé à un ion ferreux pour former l'entité $[2Fe\text{-}2S]^{3-}$ soit deux ions ferreux forment l'agrégat $[2Fe\text{-}2S]^{4-}$. Les deux atomes de fer de ces centres admettent une configuration haut spin et les deux ions sont couplés magnétiquement entre eux de sorte que le spin total de l'agrégat est de type singulet diamagnétique à l'état oxydé et de type doublet paramagnétique à l'état réduit [7,8] (Figure 2). La description des états de spin fondamentaux des centres fer-soufre dinucléaires nécessite d'introduire le concept d'échange et la méthode de calcul que l'on utilise généralement pour modéliser cette interaction. Le phénomène d'échange fut observé et rationalisé pour la première fois par Heisenberg [9] dont les travaux ont conduit à la formulation de l'hamiltonien de spin de Heisenberg, Dirac et Van Vleck (HDVV) permettant de décrire un ensemble de moments magnétiques localisés en interaction entre eux [10-12]. Dans le cas des composés basés sur les métaux de la première série de transition pour lesquels chacun des sites métalliques en présence possède un ou plusieurs électrons non-appariés, l'interaction d'échange est essentiellement médiée par les ligands pontant les sites magnétiques [13-15]. L'hamiltonien HDVV trouve son origine dans le terme *J* qui correspond à la constante d'échange isotrope et caractérise la force de l'interaction présente entre les sites magnétiques. Dans le cas de deux spins ½ en interaction, la constante d'échange est ainsi égale à la différence d'énergie entre l'état triplet et l'état singulet. On définit la constante d'échange comme positive dans le cas d'un couplage ferromagnétique (alignement parallèle des spins, αα) et l'état électronique fondamental est alors l'état de spin maximal. La constante d'échange sera négative dans le cas d'un couplage antiferromagnétique (alignement antiparallèle des spins, αβ) et l'état électronique fondamental sera alors l'état de spin minimal. Les interactions se produisant entre des centres magnétiques sont donc d'origine électrostatique et l'hamiltonien HDVV permet de ramener la physique du problème à celle d'un simple couplage des moments cinétiques de spin des sites interagissant. On peut distinguer plusieurs contributions à la levée de dégénérescence qu'induisent les interactions électrostatiques au sein d'un système magnétique. Nous avons ainsi une contribution ferromagnétique appelée échange direct provenant essentiellement de la répulsion inter-élecronique et de signe positif. Cette quantité traduit le fait que l'énergie d'interaction inter-électronique pour un état physique est d'autant plus faible que les électrons sont corrélés et restent éloignés les uns des autres. L'échange direct est lié à la partie orbitalaire de la fonction d'onde décrivant l'état du système. Nous avons également une contribution antiferromagnétique appelée superéchange qui est due aux recouvrements des orbitales magnétiques du système en question [15-18]. Elle fait intervenir des états excités de transfert de charge métal-ligand pontants qui stabilisent l'état de spin minimal [19]. On peut ainsi réécrire la constante d'échange comme la somme de ces deux contributions. Du fait de sa grande simplicité, l'hamiltonien modèle HDVV est largement utilisé en chimie pour les composés magnétiques car il donne accès aux paramètres d'échange qui vont servir à évaluer les interactions magnétiques d'un système donné et donc permettre de décrire sa structure électronique [20].

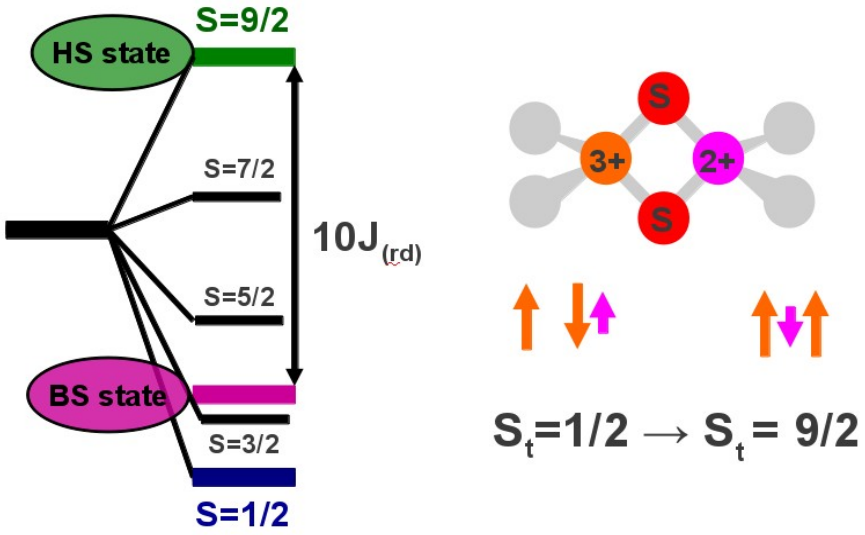


Figure 2 : Échelle magnétique de spin des centres [2Fe-2S] réduits.

Du point de vue calculatoire, Noodleman et ses collaborateurs ont développé l'approche de la symétrie brisée (BS) qui est une méthode alternative utilisant un formalisme mono-déterminantal et se basant sur le calcul d'un état fictif appelé état de symétrie brisée [21]. La symétrie spatiale est brisée dans la mesure où on lève la contrainte qui impose aux orbitales moléculaires d'être fonctions propres des représentations irréductibles du groupe de symétrie de la molécule. La symétrie de spin est levée par l'utilisation du calcul non restreint ce qui va localiser les densités de spin α et β de manière différente dans l'espace. Cette définition de l'état de symétrie brisée va permettre de s'affranchir d'un problème fréquemment rencontré au sein de systèmes couplés magnétiquement : la contamination de spin d'un état par les états ayant un spin plus élevé [22]. En effet, les deux orbitales magnétiques sont localisées dans l'espace et interagissent de façon à produire un état de spin mixte dit de symétrie brisée pour lequel la symétrie spatiale sera plus basse que celle de l'état de spin pur singulet. Il s'agit donc d'un artifice de calcul applicable au cas de systèmes moléculaires à couches ouvertes pour lesquels les densités de spin α et β pourront être localisées sur différents sites magnétiques. L'état de symétrie brisée n'est donc pas un état de spin pur mais on peut le voir comme une projection de spin approchée permettant d'estimer l'énergie d'un état propre de spin pur à partir de l'énergie de deux déterminants de Slater [23]. Dans la pratique, lorsque l'on s'intéresse au cas de systèmes dimériques, les états de spin pur sont généralement multiconfigurationnels et leur énergie est difficilement calculable. L'état de symétrie brisée offrira une bonne alternative à cette limitation dans la mesure où il s'agit d'un état mono-déterminantal que l'on peut aisément calculer grâce à la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité. C'est ce type d'approche que nous avons employée pour modéliser les propriétés moléculaires des centres fer-soufre à l'état réduit [24].

La structure électronique des centres fer-soufre dinucléaires réduits est connue pour être régie par trois termes principaux : le superéchange *J*, le double échange B [25-27] et le terme de piégeage ΔE [28-30]. Il existe une forme de compétition entre ces termes dans la mesure où les paramètres *J* et ΔE vont tendre à la localisation de l'électron réducteur sur un site de fer préférentiel (S=1/2) tandis que le paramètre B va tendre à la délocalisation de cet électron entre les deux sites métalliques (S=9/2). Le terme de piégeage ΔE contient deux principales contributions : ΔE_{vib} est le terme vibronique couplant la géométrie de l'agrégat fer-soufre à l'état rédox des sites de fer et ΔE_{stat} est le terme statique provenant de divers facteurs tels que la nature chimique des ligands (ΔE_{chem}), l'orientation des ligands (ΔE_{Ω}) ou les effets de solvant (ΔE_{solv}) [31-33]. Jusqu'à présent, la plupart des études théoriques effectuées sur des agrégats [2Fe-2S] réduits faisait uniquement intervenir les termes *J*, B et ΔE_{vib}. La principale nouveauté apportée par notre modèle phénoménologique fut donc la prise en compte explicite du terme statique ΔE_{stat} au sein d'un terme plus général ΔE. Pour l'ensemble des systèmes fer-soufre étudiés, la variation des valeurs moyennes de tenseur *g* et des constantes d'échange effectives fut directement reliée au ratio ΔE/B et une expression générale faisant intervenir les tenseurs locaux g_i de chaque ion métallique a pu être dérivée pour le calcul de la valeur moyenne g_{av} de ces agrégats. Parmi les systèmes étudiés, je me suis intéressée aux centres fer-soufre de différentes familles de protéines : ferrédoxine [34-36] et systèmes mutants [37,38], Rieske [39-41] et systèmes mutants [42], analogues synthétiques [43-45], Rieske à pH 14 [46] et xanthine oxydase [47] (Figure 3).

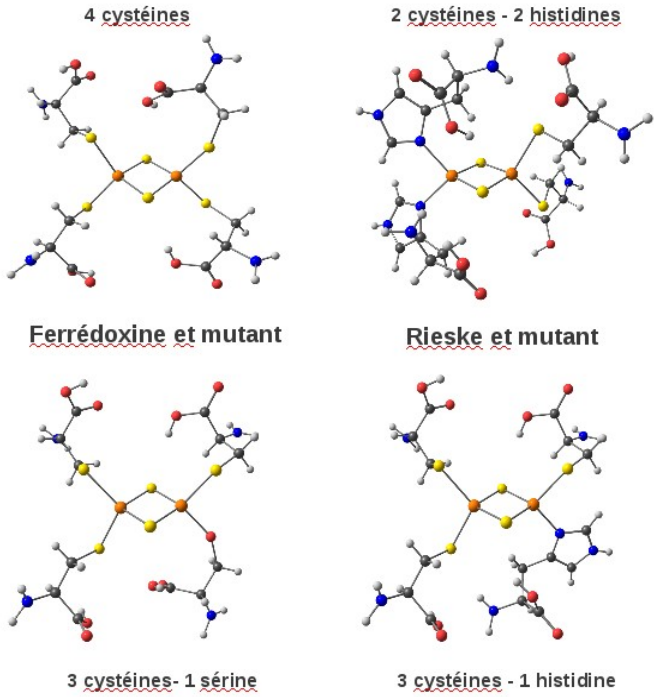


Figure 3 : Systèmes modèles des sites actifs de protéines [2Fe-2S].

Il a pu être montré que le ratio ΔE/B était le facteur clé permettant d'indexer le degré de localisation et de délocalisation électronique au sein de ces divers agrégats fer-soufre (Figure 4). Parmi les différentes contributions au terme de piégeage électronique ΔE_{stat}, l'impact du terme ΔE_{chem} lié à la nature chimique des ligands de ces agrégats a pu être évalué et il a été constaté que l'effet de ce terme n'était pas additif et que son maximum était atteint lors de la bi-substitution de ligands. Les effets d'orientation des ligands liés au terme ΔE_{Ω} furent également étudiés et il fut mis en évidence l'importance du positionnement des paires libres des atomes de soufre ligands. Par le biais de simples effets électrostatiques, ces paires libres vont influencer la structure électronique des agrégats considérés (tenseur *g* axial ou rhombique) en se répercutant sur le degré de localisation électronique. Dans le cas de certains agrégats fer-soufre (Rieske à pH 14 et xanthine oxydases), des études antérieures avaient mis en évidence la présence d'un terme d'échange antisymétrique permettant le mélange de l'état excité de spin quartet au sein de l'état fondamental du système de spin doublet [48-50]. Il a pu être montré que le point clé permettant la manifestation expérimentale de ce terme était la présence d'une faible valeur de la constante d'échange effective [51-53]. Il fut possible de reproduire l'ordre de grandeur de cette quantité dont la magnitude est liée à la quasi-équivalence énergétique des deux sites de fer. Un des principaux contributeurs au terme statique était le terme de solvatation ΔE_{solv}. En fonction de la proximité et de l'orientation du cluster fer-soufre vis-à-vis de la surface de la protéine, des effets de solvant se manifestent via un facteur de piégeage électronique. Il fut mis en évidence l'importance de cet effet dont la prise en compte a permis de reproduire les données expérimentales lors de la modélisation des paramètres spectroscopiques des agrégats fer-soufre étudiés [réf. ACL 2].

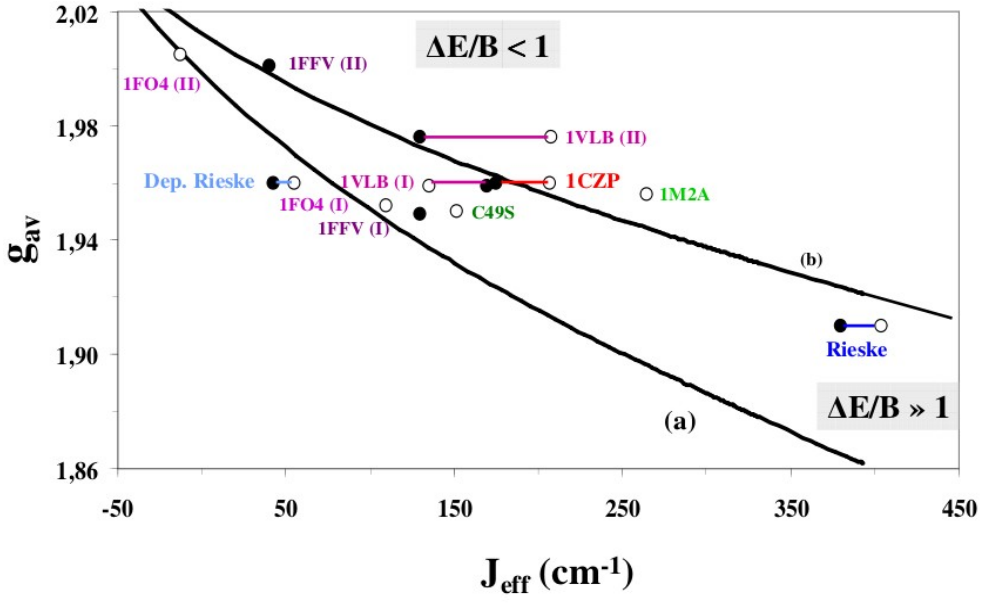


Figure 4 : Influence du rapport ΔE/B sur les observables de spectroscopie RPE.

Partie 1.1.2. Propriétés dynamiques d'un cluster [FeS]

Ce thème de recherche a été abordé lors de mon premier stage postdoctoral (2007-2009) que j'ai effectué au sein de l'Institut de Chimie Physique et de Chimie Théorique de l'Université de Bonn en partenariat avec l'Institut Max-Planck de Mülheim an-der-Ruhr. Dans la continuité même des travaux effectués dans le cadre de ma thèse, ce projet consistait à modéliser les paramètres d'hamiltonien de spin de molécules haut spin et visait à étudier l'influence des effets dynamiques sur les observables de spectroscopie RPE et Mössbauer dans la protéine rubrédoxine. Le point de départ de cette étude consistait à évaluer le rôle de la dynamique liée aux effets d'environnement vis-à-vis de la distribution des paramètres d'hamiltonien de spin dans le cas d'ions de métaux de transition présents au sein de protéines. Pour ce faire, nous avions choisi comme système de référence la protéine Rubrédoxine de *Clostridium pasteurianum* [54] (Cp, Figure 5).

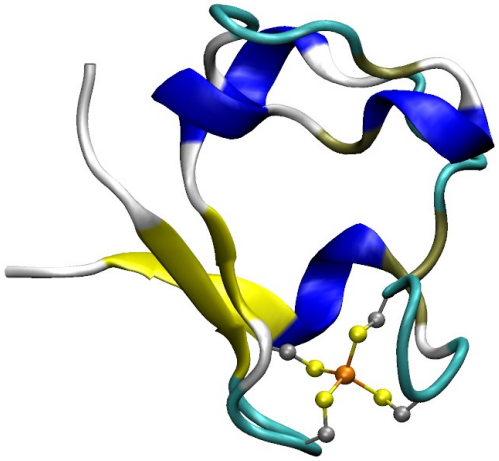


Figure 5 : Représentation simplifiée de la protéine rubrédoxine.

Ce choix fut influencé par le fait que la Rubrédoxine est la protéine fer-soufre la plus simple qui existe et que de nombreuses études expérimentales ont été menées sur ce système dans le but de le caractériser de la manière la plus complète possible. Pour ce projet, nous avons donc adopté une démarche impliquant deux niveaux de modélisation. La première étape fut la modélisation dynamique du site actif de Cp sous sa forme oxydée (ion Fe(III), S=5/2). Nous avons fait appel à la méthode de Dynamique Moléculaire Car-Parinello (CPMD) [55-57] pour l'étude du cluster fer-soufre dans le vide tandis que la même méthode combinée à son interface Mécanique Quantique/Mécanique Moléculaire (QM/MM) [58-60] fut appliquée pour modéliser la protéine dans son ensemble. La seconde étape de ce projet fut le calcul théorique des propriétés magnétiques et électriques du site actif de Cp dans divers environnements. Les quantités que nous souhaitions modéliser étaient des paramètres de spectroscopie RPE - écart en

champ nul et tenseur hyperfin - et Mössbauer - déplacement isomérique et éclatement quadripolaire. Pour cela, nous avons utilisé la méthode DFT et effectué quatre séries de calculs sur la base de "snapshots". Ces dernières correspondaient à diverses géométries de l'agrégat dans le vide ou au sein de la protéine et étaient directement extraites à partir des trajectoires issues des simulations CPMD. Pour ce qui concerne les deux premières séries de calculs, elles étaient supposées refléter le comportement dynamique du centre fer-soufre dans le vide et les changements induits par les effets de contraintes exercés par la matrice protéique. Pour ce qui est des deux autres campagnes de calculs, nous avions inclus des distributions de charges ponctuelles dans le but de pouvoir prendre en compte les effets de polarisation liés à la matrice protéique et au solvant polaire. L'ensemble de ces quatre séries de calculs donnait ainsi accès à tous les niveaux de modélisation possibles de la Rubrédoxine : du plus simple correspondant au cas de l'agrégat dans le vide au plus élaboré mimant le site actif dans la protéine solvatée. Il fut possible d'analyser de manière statistique les variations des paramètres spectroscopiques étudiés en fonction du type d'environnement pris en compte ce qui a permis d'établir des corrélations magnéto-structurales entre les quantités calculées et les modes normaux vibrationnels du cœur fer-soufre (Figure 6). A terme, cela nous donnait la possibilité de séparer ces différents effets dynamiques (contraintes, polarisabilité due à la matrice protéique, effets de solvant) tout comme cela permettrait d'expliquer l'origine des valeurs mesurées expérimentalement par les techniques de spectroscopie RPE et Mössbauer [réf. COS 1].

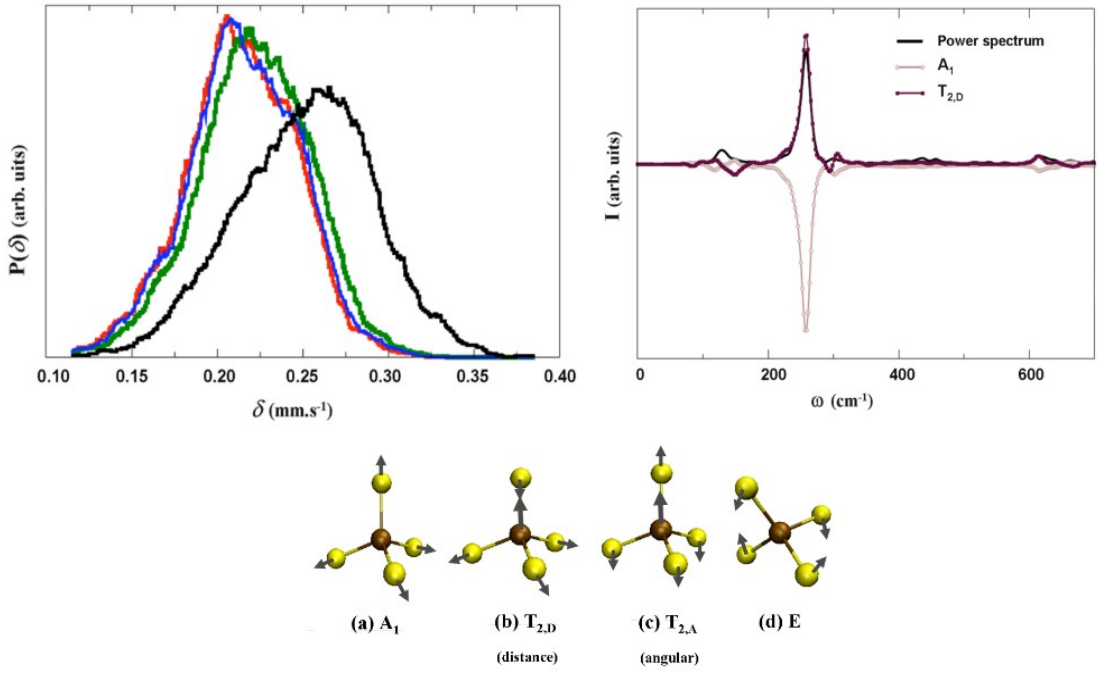


Figure 6 : Corrélations magnéto-structurales avec les modes normaux de vibration.

Partie 1.2. Complexes polynucléaires de manganèse

Cette thématique a été développée lors de mon premier stage postdoctoral (2007-2009) et avait pour principal objectif le développement d'un programme de recherche conjoint entre l'expérience et la théorie permettant de prédire les propriétés moléculaires d'architectures métalliques complexes. Les systèmes polynucléaires à base de métaux de transition et contenant des ions à couche ouverte en interaction magnétique constituent un thème de recherche central aussi bien en physique qu'en chimie en raison de leur importance dans de nombreux domaines tels que le magnétisme moléculaire ou la catalyse bio-inorganique. Comprendre la structure et le comportement de tels systèmes représente un réel défi qu'il est possible d'appréhender au travers de l'étude conjointe de leurs propriétés magnétiques et spectroscopiques. Ces deux aspects étant intrinsèquement connectés, ils donneront accès à des informations précises sur la structure électronique et sur les caractéristiques structurales des entités étudiées aussi bien du point de local que du point de vue global. La plupart des travaux de recherche relatifs aux propriétés magnétiques de complexes de métaux de transition visent généralement à déterminer les facteurs structuraux et électroniques qui contrôlent l'interaction d'échange entre les centres métalliques [61]. Parallèlement à ceci, les études utilisant les techniques spectroscopiques donnent accès à la structure électronique de ces systèmes aussi bien au niveau atomique que moléculaire [20]. Les approches théoriques basées sur la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT) [62] et, plus spécifiquement, celles faisant appel à l'approche de Symétrie Brisée (BS) [21,63] s'avèrent particulièrement intéressantes car elles offrent un cadre commun pour la modélisation de ces deux types de propriétés. Ces méthodes théoriques sont nécessaires pour étudier les interactions d'échange au sein de systèmes polynucléaires couplés dans la mesure où elles fournissent une description détaillée de ces interactions magnétiques. Les études théoriques utilisant les méthodes DFT et visant à modéliser les propriétés magnétiques et spectroscopiques de complexes de métaux de transition ont souvent été restreintes aux composés dinucléaires [64]. Malgré de nombreux efforts pour étendre ces approches aux systèmes de nucléarité supérieure, il n'existait pas de protocole général permettant la prédiction de ces propriétés moléculaires pour des systèmes de plus grande taille [24,65-68]. Nous avons ainsi développé une méthodologie de calcul pour modéliser les propriétés magnétiques et spectroscopiques de n'importe quel complexe de métal de transition, quel que soit le nombre ou la nature des centres magnétiques mis en jeu. Par la suite, ce protocole général a été appliqué pour la caractérisation structurale et dynamique de l'unité catalytique d'un système enzymatique relevant du domaine de la chimie bio-inorganique : le photosystème II [69-70]. Nous avons également employé cette méthodologie pour prédire et rationaliser les propriétés moléculaires de nombreux complexes inorganiques polynucléaires à base de manganèse.

Partie 1.2.1. Propriétés magnétiques de complexes tétranucléaires

Le premier système auquel nous nous sommes intéressés est un complexe tétranucléaire à base de manganèse de type $[Mn_4O_6(bipy)_6]^{3+}$ comportant un motif $[Mn^{III}Mn^{IV}_3]$ (S=½) au sein duquel les ions métalliques sont connectés entre eux par des ponts oxo et coordonnés par des ligands bipyridine (Figure 1). Ce complexe a été choisi comme système de référence pour le développement de notre méthodologie car il avait été préalablement étudié du point de vue expérimental [71]. Il avait été caractérisé de manière complète pour ce qui est de ses propriétés magnétiques et spectroscopiques. La première étape de notre protocole consistait à calculer les constantes d'échange du complexe en faisant appel à des calculs DFT basés sur la méthode de symétrie brisée. Les constantes d'échange isotropes *J* modélisées par nos calculs étaient toutes de signe négatif traduisant des interactions de nature antiferromagnétique pour les six chemins d'échange possibles au sein du système. Ceci était en accord avec les données expérimentales et cohérent avec ce qui est généralement observé dans des systèmes couplés magnétiquement et présentant des ponts oxo. Nous avons également montré que la magnitude des constantes d'échange modélisées dépendait du type de fonctionnelle employée et que cela impactait directement l'échelle des niveaux magnétiques du système. L'analyse détaillée de nos résultats a mis en évidence le fait que les constantes d'échange pouvaient être sous-déterminées lorsque trop peu de niveaux d'énergie du système étaient sondés expérimentalement. L'étude théorique des interactions magnétiques au sein d'un système couplé nécessite donc la modélisation simultanée des constantes d'échange isotropes ainsi que celle de l'échelle des niveaux magnétiques du système si l'on souhaite pouvoir établir aussi bien des corrélations magnéto-structurales qu'une comparaison directe avec les données expérimentales.

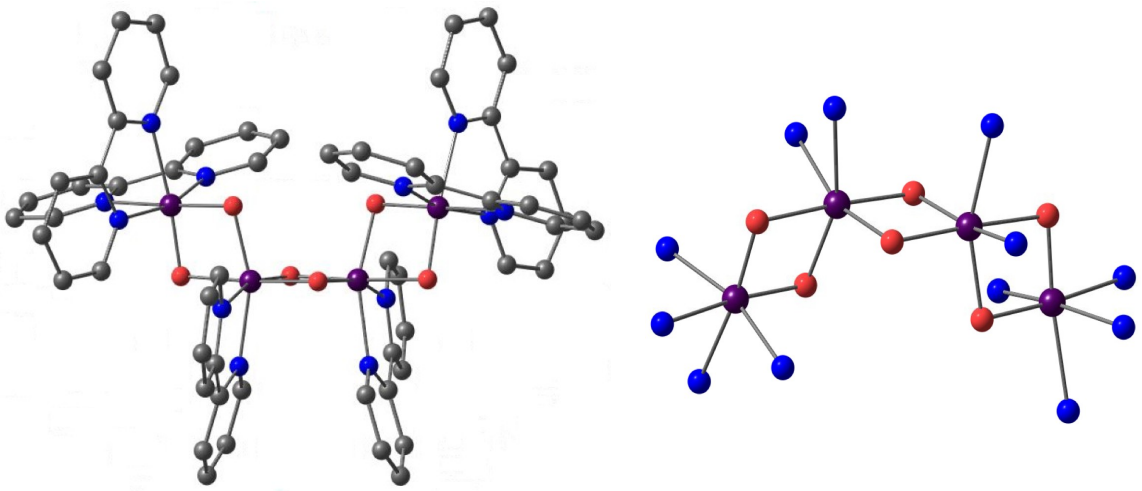


Figure 1 : Complexe tétranucléaire $[Mn_4O_6(bipy)_6]^{3+}$.

Une seconde étape consistait à utiliser le jeu de constantes d'échange modélisées pour effectuer la diagonalisation exacte de l'hamiltonien de spin associé au système étudié. Ceci permettait de déterminer les coefficients de projection de spin appropriés pour la prédiction des contributions isotropes et anisotropes des tenseurs hyperfins effectifs des différents centres magnétiques du complexe. Le principal intérêt de ce protocole est qu'il ne nécessite pas de relier entre eux les différents types d'hamiltoniens employés au cours des études théoriques et expérimentales. Il est donc possible d'effectuer une comparaison directe entre les quantités issues des calculs théoriques et celles dérivées des mesures expérimentales. La stratégie mise au point pour modéliser les paramètres hyperfins est donc *a priori* suffisamment fiable pour établir des corrélations de type «théorie-expérience ». Notre protocole a été appliqué au cas du complexe tétranucléaire de manganèse $[Mn_4O_6(bipy)_6]^{3+}$ ce qui nous a permis de mettre en évidence qu'il était nécessaire de prendre en compte l'ensemble des constantes d'échange calculées pour une modélisation précise des paramètres hyperfins du système. Nos résultats ont démontré que les constantes d'échange exerçaient une influence notable sur les tenseurs hyperfins prédits ce qui a permis de clarifier la dépendance de ces observables spectroscopiques via-à-vis des paramètres *J* (Figure 2). En effet, de simples modifications des paramètres *J* telles que la variation des magnitudes respectives des principaux chemins d'échange ou l'extension de notre modèle aux chemins d'échange secondaires peuvent impacter de manière significative les tenseurs hyperfins prédits par notre méthodologie. Ce constat était particulièrement intéressant puisqu'il laissait présager de la possibilité de discriminer différentes structures sur la simple base des tenseurs hyperfins prédits par notre protocole.

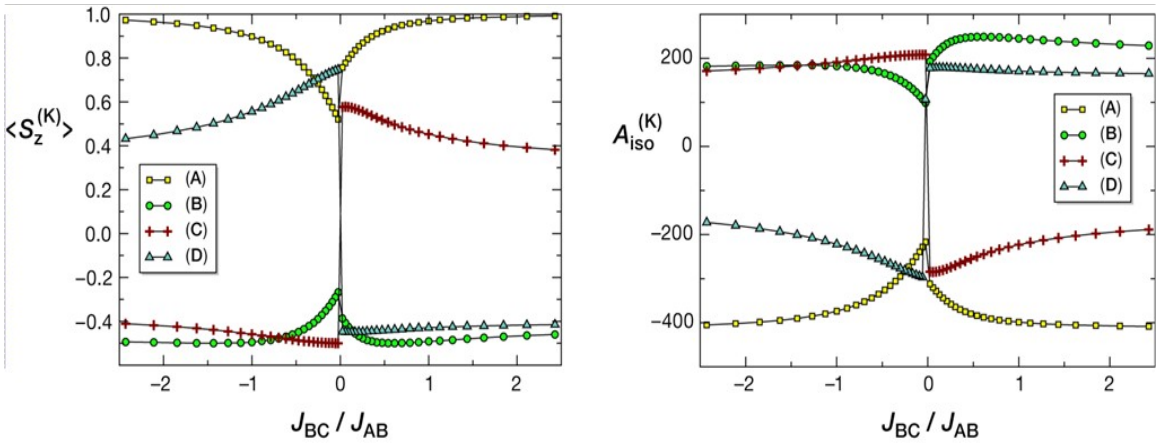


Figure 2 : Influence de l'interaction d'échange sur la prédiction des paramètres RPE.

A l'issue de cette première étude, nous avons obtenu un bon accord entre les quantités calculées et celles mesurées par l'expérience aussi bien pour le cas des propriétés magnétiques que pour celui des paramètres spectroscopiques. Ceci nous a permis de

valider notre méthodologie qui peut être utilisée dans un contexte plus général pour étudier des agrégats hétéro-oligomériques à base de métaux de transition, de taille et de nature chimique arbitraire. Notre protocole n'étant ni restreint au traitement des composés dimériques ni au cas des systèmes dominés par l'interaction d'échange de Heisenberg, il peut donc être appliqué au cas d'architectures polynucléaires [réfs. ACL 3 et 4].
Une fois notre protocole mis en place et validé grâce à l'étude d'un premier système, nous nous sommes intéressés au cas du complexe d'oxydation de l'eau (OEC) présent au sein du Photosystème II (PSII). Dans l'état S_2, cette unité catalytique est un agrégat tétranucléaire de manganèse à motif $[Mn^{III}Mn^{IV}{}_3Ca]$ à partir duquel les électrons sont pompés puis accumulés en quantité suffisante pour convertir l'eau en dioxygène [72-78]. Pour cette seconde étude, nous avons utilisé un jeu de systèmes modèles de l'OEC qui avaient été obtenus par extrapolation et dérivation de données EXAFS initialement collectées sur le PSII [79] (Figure 3). Nous avions pour objectif de modéliser les états de spin fondamentaux, les constantes d'échange et les tenseurs hyperfins de ces divers modèles afin de les comparer aux données magnétiques et spectroscopiques déterminées expérimentalement pour la forme catalytique de l'OEC. Nous nous sommes intéressés à la caractérisation de douze modèles basés sur trois types de topologies de motif $[Mn^{III}Mn^{IV}{}_3Ca]$ et/ou possédant différents types de ligands environnant les centres de manganèse [80-82]. Le principal objectif de cette étude consistait à déterminer si l'un des systèmes considérés serait un modèle potentiel pour décrire l'état S_2 de l'OEC. En effet, nous avions montré que de simples modifications des paramètres magnétiques d'un complexe polynucléaire de métaux de transition exerçaient une influence notable sur les observables spectroscopiques prédites par notre méthodologie.

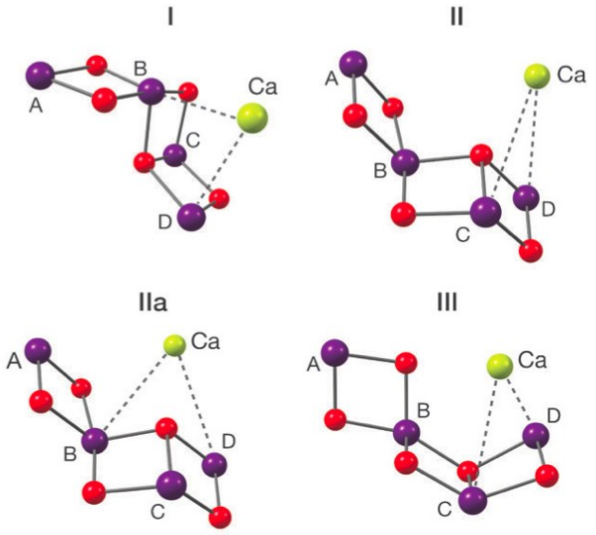


Figure 3 : Topologies des modèles de la forme catalytique de l'OEC.

Partant de ce postulat et en utilisant notre protocole, nous étions donc en mesure de discriminer entre plusieurs modèles structuraux celui ou ceux qui présentai(en)t des caractéristiques structurales et dynamiques similaires à celles de la forme catalytique de l'OEC. Les résultats de cette étude ont tout d'abord démontré la validité des modèles considérés puisque les géométries obtenues à l'issue de la procédure de minimisation de structure restaient assez proches de celles utilisées comme point de départ. Les systèmes sélectionnés pour décrire l'état S_2 de l'OEC étaient donc cohérents avec les données expérimentales de référence. Nous avons également mis en évidence que la plupart de nos modèles présentait une multiplicité de spin de type doublet fondamental et que la séparation énergétique de cet état avec le premier état excité était de magnitude comparable aux observations expérimentales. De manière intéressante, nous avons montré que de subtiles variations structurales avaient une influence directe sur les interactions d'échange responsables des couplages magnétiques entre les centres métalliques des différents systèmes. Nous avons constaté que cela pouvait donner lieu à une inter-conversion entre des états de spin fondamentaux doublet et sextuplet que nous avons a pu corréler aux différents signaux expérimentaux obtenus lors de l'étude par spectroscopie RPE de l'état S_2 de l'OEC. Finalement, nous avons pu en conclure que la multiplicité de spin des systèmes ainsi que la séparation énergétique entre l'état fondamental et le premier état excité pouvaient être simplement contrôlées par modulation des caractéristiques structurales des centres magnétiques constituant la paire [Mn^{III}-Mn^{IV}]. Nous avons ensuite utilisé notre méthodologie pour modéliser les contributions isotropes et anisotropes des tenseurs hyperfins effectifs des ions métalliques des différents systèmes modèles pour les comparer avec les données expérimentales. La modélisation de ces observables dépendait directement des coefficients de projection de spin qui étaient les paramètres cruciaux de notre protocole car ils étaient sensibles aux variations de chemins d'échange dans le système et à la délocalisation de spin. Sachant que les tenseurs hyperfins locaux reflétaient la géométrie et la nature chimique de la première sphère de coordination des ions métalliques, on pouvait donc différencier les différents modèles les uns des autres sur la simple base des tenseurs hyperfins prédits par notre protocole. Nos avons ainsi effectué la modélisation des tenseurs hyperfins des ions métalliques de l'ensemble des systèmes modèles à l'étude et nous avons comparé ces données avec les valeurs expérimentales. Les contributions isotropes et anisotropes des tenseurs hyperfins ainsi modélisés se sont montrées sensibles aux variations de structures entre les systèmes et se trouvaient être dans une gamme de valeurs qualitativement comparable aux données expérimentales. Néanmoins, aucun des modèles à l'étude ne s'est avéré être un potentiel mime structural et dynamique de l'état S_2 de l'OEC. De manière générale, cette étude a permis de montrer l'applicabilité de notre protocole pour l'étude de systèmes réels et a servi de base méthodologique pour la suite des travaux qui ont été consacrés à la résolution de la structure et des propriétés de la forme catalytique du complexe d'oxydation de l'eau [réf. ACL 5].

Partie 1.2.2. Propriétés magnétiques de complexes di- et trinucléaires

Sur la base de la méthodologie développée pour la prédiction des propriétés moléculaires d'agrégats polynucléaires, nous avons entrepris de nouvelles études portant sur la caractérisation structurale et dynamique des complexes dinucléaires et trinucléaires à base de manganèse. La première de ces études concernait l'évaluation systématique des observables magnétiques et spectroscopiques d'une série de dimères de manganèse à valence mixte possédant une unité du type [$Mn^{III}Mn^{IV}$] (S =½) [83-95] (Figure 4). Par ces travaux, nous visions à la mise en place conjointe de corrélations magnéto-structurales et à une harmonisation des propriétés moléculaires de ces systèmes ce qui nous a amenés à étendre notre protocole de manière à inclure les effets liés à un autre type d'interaction : l'écart en champ nul. En effet, lorsque le terme d'échange de Heisenberg n'est plus dominant, notre méthodologie n'est plus valide et il devient nécessaire de prendre en compte la contribution de l'écart en champ nul qui est active lorsque l'on traite des ions métalliques dont le spin local est supérieur à ½ [20]. Ceci a été réalisé via l'incorporation d'un nouveau terme au sein de l'hamiltonien de spin associé au système étudié. Cette procédure a permis d'étendre notre modèle et de traiter du cas des systèmes dimériques en interaction magnétique modérée. Pour cette première étude, nous nous sommes intéressés à une série de quinze complexes de manganèse à valence mixte.

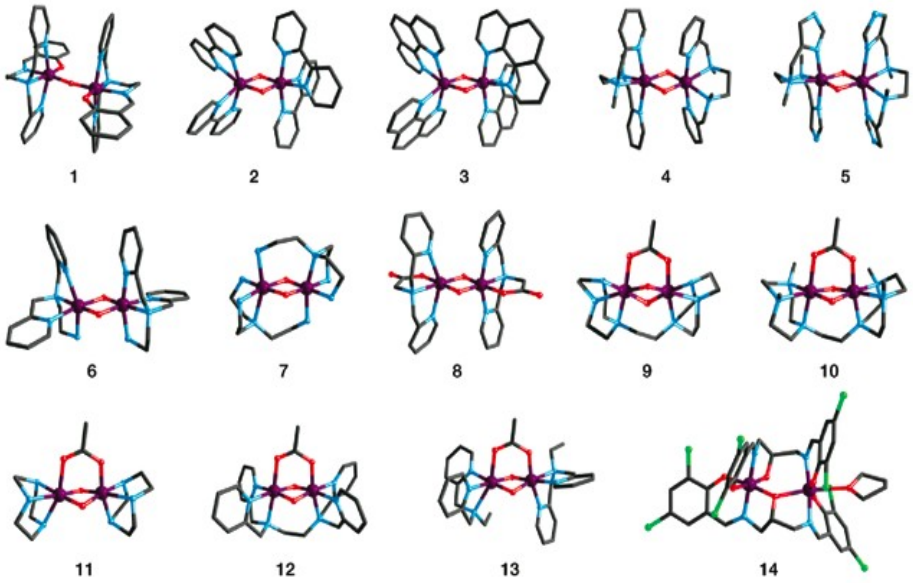


Figure 4 : Complexes dinucléaires à l'étude.

Les résultats de nos modélisations théoriques ont montré que la méthode DFT et l'approche de symétrie brisée étaient adaptées pour estimer de manière raisonnable les propriétés moléculaires des systèmes étudiés [21,24,63]. Pour la prédiction des constantes d'échange isotropes *J*, on a ainsi mis en évidence que les fonctionnelles hybrides étaient

les plus performantes et conduisant à un bon accord théorie-expérience avec une déviation moyenne inférieure à 15%. Pour le calcul théorique des tenseurs hyperfins des systèmes à l'étude, nous avons montré qu'il était nécessaire d'employer un facteur d'échelle empirique pour tenir compte des limitations de la méthode DFT concernant la description des effets de polarisation de spin des noyaux [96,97]. Pour ce faire, une étude de calibration avait été réalisée sur un ensemble de composés mononucléaires à base de manganèse et les tenseurs hyperfins du centre métallique de ces systèmes avaient été prédits par calculs puis comparés aux données expérimentales [98-101]. Nous avons observé qu'il existait une déviation théorie-expérience systématique et de l'ordre de 25%. Pour corriger ceci, nous avons déterminé un facteur d'échelle qui ne dépend que de la fonctionnelle utilisée et de la nature chimique du noyau étudié. Nous avons donc utilisé ce facteur correctif pour l'ensemble des études consacrées à la prédiction des propriétés spectroscopiques de composés polynucléaires à base de manganèse. Considérant le cas de systèmes pour lesquels le terme d'échange de Heisenberg dominait, nous avons montré que notre méthodologie permettait de prédire les tenseurs hyperfins des centres manganèse de dimères à valence mixte avec une bonne précision et que ceux-ci pouvaient être corrélés aux données expérimentales. Lorsque le terme d'échange de Heisenberg devenait faible ou que le terme d'écart en champ nul devenait important, il était nécessaire d'employer le modèle étendu de notre protocole de manière à inclure les effets liés à ce type d'interaction. Il était alors possible de calculer de façon rigoureuse les coefficients de projection de spin appropriés pour prédire les contributions isotropes et anisotropes des tenseurs hyperfins des centres manganèse des dimères concernés. Avec cette étude nous avons montré qu'en dessous d'une certaine valeur de constante d'échange isotrope, les coefficients de projection de spin étaient fortement affectés par le terme d'écart en champ nul local ce qui impactait directement la magnitude des tenseurs hyperfins des ions métalliques (Figure 5). Ces résultats ont démontré la potentialité de notre approche pour de futures études visant à identifier des composés inconnus et à résoudre leurs structures en se basant simplement sur la modélisation théorique de leurs paramètres magnétiques et spectroscopiques [réf. ACL 6].

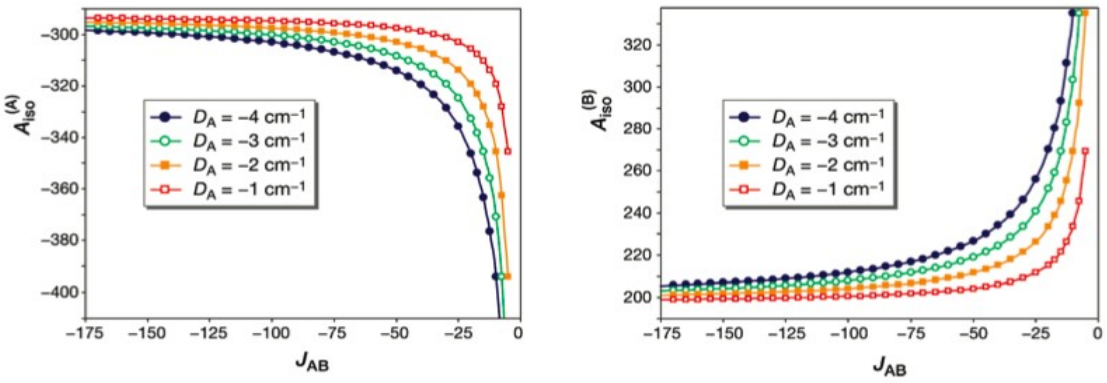


Figure 5 : Influence des paramètres *J* et *D* sur la prédiction des paramètres RPE.

La seconde étude que nous avons entreprise concernait l'évaluation systématique des observables magnétiques d'une série de dimères de manganèse homovalents à motifs [$Mn^{III}Mn^{III}$]/[$Mn^{IV}Mn^{IV}$] et hétérovalents à motifs [$Mn^{III}Mn^{IV}$]. Ces travaux visaient à relier les propriétés moléculaires des systèmes considérés à des facteurs soit de nature géométrique, soit de nature chimique dans le but d'établir une base de données de corrélations magnéto-structurales. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à une série de trente complexes de manganèse au sein desquels les ions métalliques comportent des ligands ammoniac et sont connectés entre eux par un ou plusieurs ponts oxo, hydroxo et/ou acétate [102,103] (Figure 6).

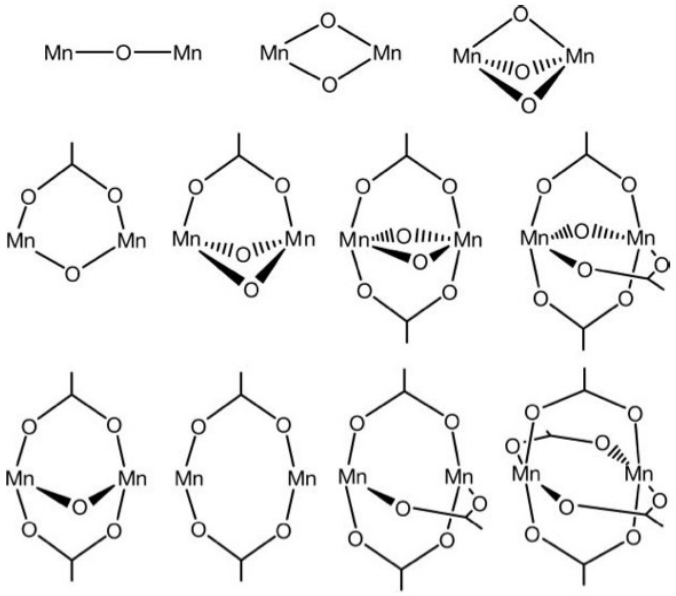


Figure 6 : Topologies des différents agrégats dinucléaires.

Dans le cas des dimères possédant des ponts oxo, les constantes d'échange modélisées étaient invariablement de signe négatif caractéristique d'un couplage de nature antiferromagnétique, quel que soit le degré rédox des ions métalliques ou le nombre de ligands pontants les environnant. Dans le cas des dimères possédant des ponts acétates, on a constaté que ces derniers induisaient des distorsions structurales conséquentes se traduisant par une augmentation de la séparation spatiale entre les deux ions de manganèse par comparaison avec les systèmes possédant uniquement des ponts oxo. Ceci entrainait une forme d'inhibition du couplage antiferromagnétique entre les sites métalliques conduisant à une forte réduction de la magnitude des paramètres *J*. Les systèmes à valence mixte possédant une coordination mixte de type acétate-oxo avaient tendance à présenter de la délocalisation de spin rendant difficile l'attribution des états rédox des centres manganèse. Considérant le cas des ponts oxo, nous avons montré que la

protonation de ces ligands avait pour effet de diminuer la magnitude de l'interaction d'échange au sein de ces systèmes. Les constantes d'échange modélisées demeuraient de signe négatif traduisant un couplage de nature antiferromagnétique sauf dans le cas des complexes faiblement couplés pour lesquels on a observé une interaction de nature ferromagnétique. Lorsque plus d'un pont oxo était présent au sein des systèmes, la protonation successive de ces ligands induisait une diminution régulière de la magnitude des paramètres *J*. Dans le cas extrême, cet effet pouvait conduire au blocage complet de l'interaction antiferromagnétique ou au basculement vers une interaction de nature ferromagnétique. En présence de ligands adéquats, la protonation ou la déprotonation de ligands pontants oxo peut ainsi jouer le rôle de commutateur magnétique permettant une inter-conversion entre les états antiferromagnétique et ferromagnétique. Les résultats de cette étude ont ainsi fourni une base de référence pour la compréhension des propriétés magnétiques de dimères de manganèse. Nous avons pu développer des corrélations magnéto-structurales qui permettront une meilleure interprétation de leurs caractérisation expérimentale et aideront au développement de composés aux propriétés contrôlées [réf. ACL 11].

La dernière étude que nous avons entreprise concernait l'évaluation théorique des observables magnétiques d'un trimère de manganèse homovalent possédant un motif $[Mn_3^{IV}]$ [104-107]. Ces travaux visaient à utiliser la méthodologie que nous avions développée pour la modélisation des propriétés moléculaires de composés polynucléaires à base de métaux de transition dans le but de corréler les données prédites par calculs avec celles issues des caractérisations expérimentales. Le complexe à l'étude consiste en trois ions de manganèse comportant des ligands terpyridine et connectés entre eux par des ponts oxo. La méthode DFT combinée à l'approche de symétrie brisée était adaptée à la description de ce système et de ses propriétés magnétiques. Le complexe présentant une symétrie de type C_2, il était possible de décrire les interactions magnétiques du système à l'aide de trois états spécifiques permettant ainsi la modélisation théorique de ces constantes d'échange, de son état de spin fondamental et l'échelle de ses niveaux magnétiques. Dans une précédente étude, nous avions montré que la prédiction des constantes d'échange pouvait être un problème sous-déterminé lorsque trop peu de niveaux d'énergie du système étaient sondés expérimentalement. Pour contourner ce problème et permettre une comparaison directe de nos résultats avec les données expérimentales, nous avons donc effectué la modélisation de l'échelle des niveaux magnétiques du système ainsi que celle de sa courbe de susceptibilité magnétique théorique. Les données issues de nos calculs théoriques ont montré un très bon accord avec celles dérivées des caractérisations expérimentales. Les deux constantes d'échange modélisées étaient de signe négatif caractéristique d'un couplage modéré de nature antiferromagnétique comme attendu dans le cas d'ions métalliques pontés par des ligands oxo. Le spectre des niveaux magnétiques résultant de nos calculs théoriques confirmait que le complexe possédait une multiplicité de spin de type doublet fondamental et que la séparation énergétique de cet état avec le premier état excité était de magnitude comparable aux observations expérimentales. De plus, l'allure et la pente de la courbe de

susceptibilité magnétique construite à l'aide des données théoriques étaient comparables à celles obtenues expérimentalement (Figure 7). Ces résultats confirmaient ainsi le bon accord théorie-expérience obtenu pour la caractérisation de ce complexe et permettaient de rationaliser ses propriétés magnétiques. Enfin, nous avons tenté d'établir des corrélations magnéto-structurales pour justifier de l'état de spin fondamental de ce système qui correspondait à un cas de frustration de spin. De précédentes études relatives aux trimères de manganèse avaient démontré que la multiplicité de spin fondamental de ces systèmes pouvait être reliée à la magnitude des paramètres *J* qui sont, eux, directement influencés par les caractéristiques structurales. Cette étude nous a permis de mettre en évidence que la nature même de l'état de spin fondamental était corrélée à la magnitude relative des différents chemins d'échange présents dans les systèmes et que la force de ces interactions magnétiques était directement contrôlée par la géométrie et la nature chimique de la sphère de coordination des ions manganèse [réf. ACL 7].

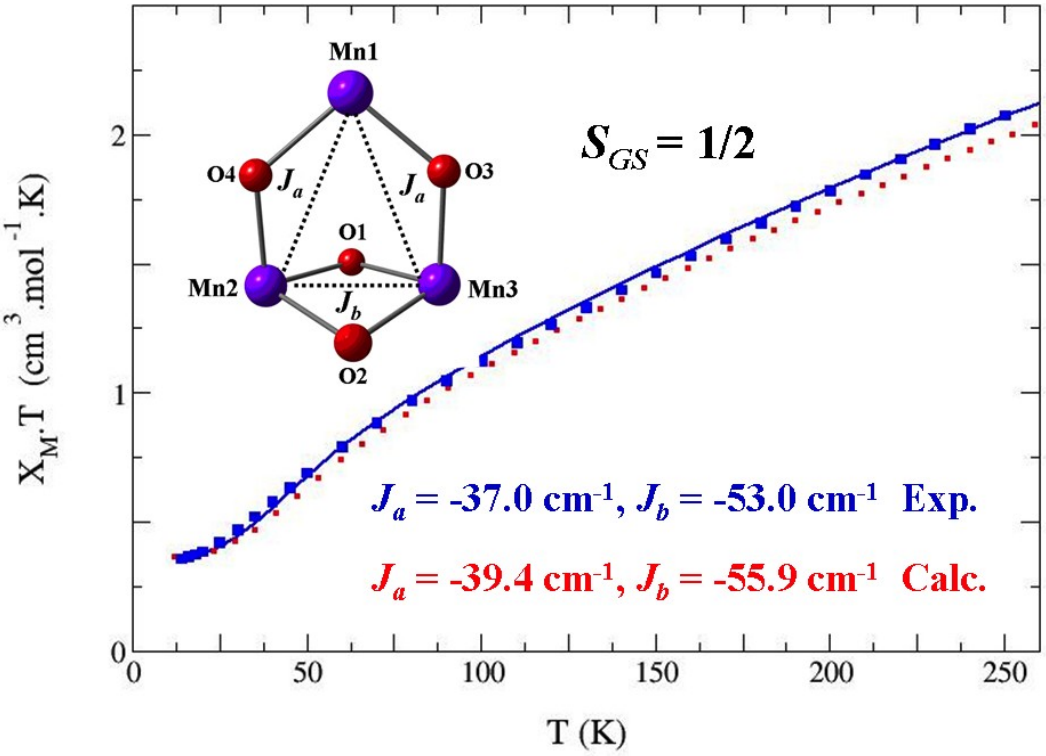


Figure 7 : Propriétés magnétiques du complexe trinucléaire.

APPLICATION AUX SYSTÈMES BIOLOGIQUES

Partie 2.1. Protéines à cuivre

Ce thème de recherche a été développé lors de mon second stage postdoctoral (2009-2010) que j'ai effectué au sein de l'équipe Chimie Théorique du Département de Chimie Moléculaire de l'Université de Grenoble 1. Dans ce contexte, le système auquel je me suis principalement intéressée relevait du domaine de la chimie bio-inorganique et concernait une métalloprotéine dinucléaire à cuivre : la tyrosinase (Ty) [1,2]. Les métalloprotéines (ou métalloenzymes) sont une famille de protéines (enzymes) qui utilisent, au niveau de leur site actif, un ou plusieurs centres métalliques pour promouvoir une réaction chimique [3,4]. Ty appartient ainsi à la famille de métalloprotéines à cuivre qui suscitent l'intérêt des chercheurs car elles sont impliquées dans de nombreux processus enzymatiques. Cette grande famille se décompose, de manière simplifiée, selon trois types distincts [5-7]. Le type I englobe ainsi les composés mononucléaires tels que les cuprite-protéines bleues qui jouent le rôle de transfert d'électrons. Le type II concerne l'ensemble des composés mononucléaires pouvant activer le dioxygène et réalisant des réactions de catalyse rédox. Pour finir, le type III regroupe les systèmes dinucléaires tels que Ty, dont le rôle est d'activer les réactions d'oxygénation. Plus précisément, la tyrosinase rentre dans la catégorie des polyphénol oxydases appartenant au groupe des oxydoréductases renfermant du cuivre. Elles catalysent l'oxydation des composés phénoliques en présence d'oxygène moléculaire. Deux réactions différentes se produisent : dans un premier temps, il y a la transformation de monophénol en diphénol et, dans un deuxième temps, la transformation de diphénol en quinone [8-10]. La tyrosinase, qui est particulièrement répandue chez les plantes et les animaux, possède cette double activité (Figure 1).

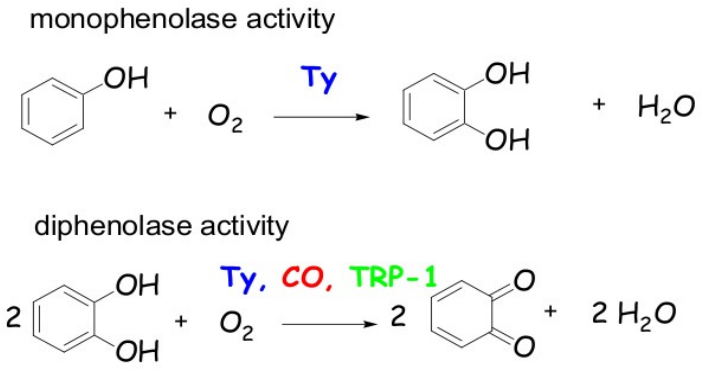


Figure 1. Activité catalytique de la tyrosinase.

Le cycle catalytique permettant la transformation de monophénol en quinone fait intervenir trois formes distinctes de sites actifs : *met*, *oxy* et *deoxy*. La forme *met* se caractérise par la présence d'un agrégat dinucléaire de cuivre au sein duquel les deux ions Cu(II) sont coordonnés par six résidus histidines et connectés entre eux via un pont hydroxo. La forme *oxy* est préparée à partir de la forme *met* en présence de peroxyde d'hydrogène. Dans ce cas-là, le site actif correspond à une unité [Cu(II)-O_2^{2-}-Cu(II)] avec six résidus histidines pour compléter les sphères de coordination des ions métalliques. De plus, la structure résultante montre la présence de dioxygène coordonnant les ions cuivre en mode pontant (μ-η^2:η^2). La réduction de la forme *met* par les catéchols permet enfin d'obtenir la forme *deoxy* dont le site actif comporte deux ions Cu(I) présentant une séparation spatiale d'environ 4 angstrœms [11-14] (Figure 2).

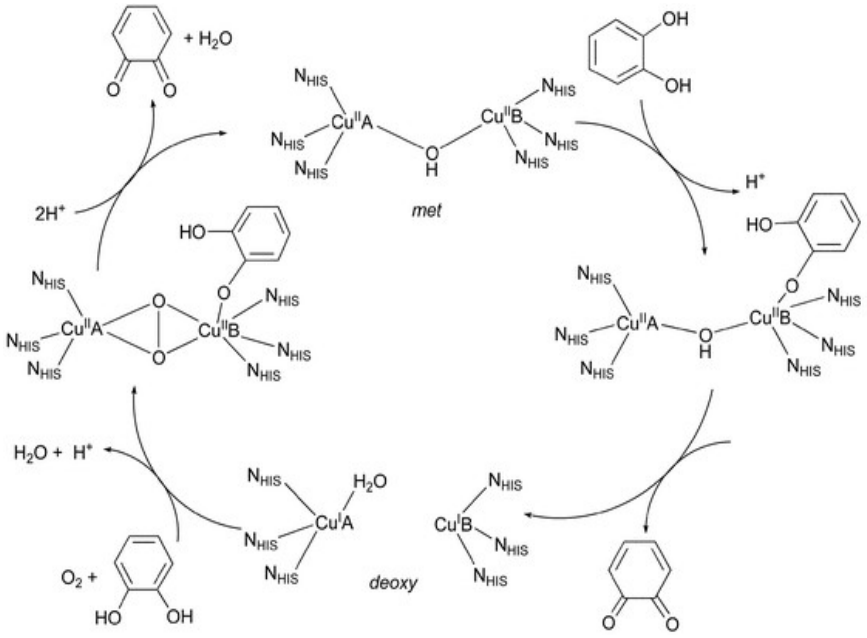


Figure 2. Différentes formes du site actif de Ty.

La tyrosinase est donc une métalloprotéine à cuivre qui se trouve être, à ce jour, assez pauvrement caractérisée et qui est directement impliquée dans la biosynthèse de mélanine. Les produits résultant de l'activité de Ty sont les pigments de mélanine dont l'accumulation dans le corps humain peut créer d'importants désordres allant de l'hyperpigmentation à la maladie d'Addison [15-17]. L'inhibition de Ty se présente comme une des approches les plus connues pour lutter contre une production accrue et une accumulation de mélanine chez l'homme [18-19]. Malgré un nombre important d'inhibiteurs de la tyrosinase, seul un faible nombre d'entre eux ont été capables d'induire des effets notables lors d'essais cliniques. En effet, la plupart des inhibiteurs

disponibles se trouvent être soit toxiques, soit peu efficaces. Dans un tel contexte, il apparaissait important de mettre en place de nouvelles stratégies pour la conception rationnelle de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase. Le présent sujet de recherche avait pour objectif une compréhension détaillée, au niveau moléculaire, des mécanismes d'inhibition d'enzymes dinucléaires à cuivre (Ty et autres protéines) via une étude détaillée des modes de fixation de petites molécules sur des composés modèles spécifiques (Figure 3). Pour ce faire, les méthodes de caractérisations structurales, spectroscopiques et théoriques ont été employées afin de mieux comprendre l'interaction moléculaire existant au sein du complexe enzyme-inhibiteur.

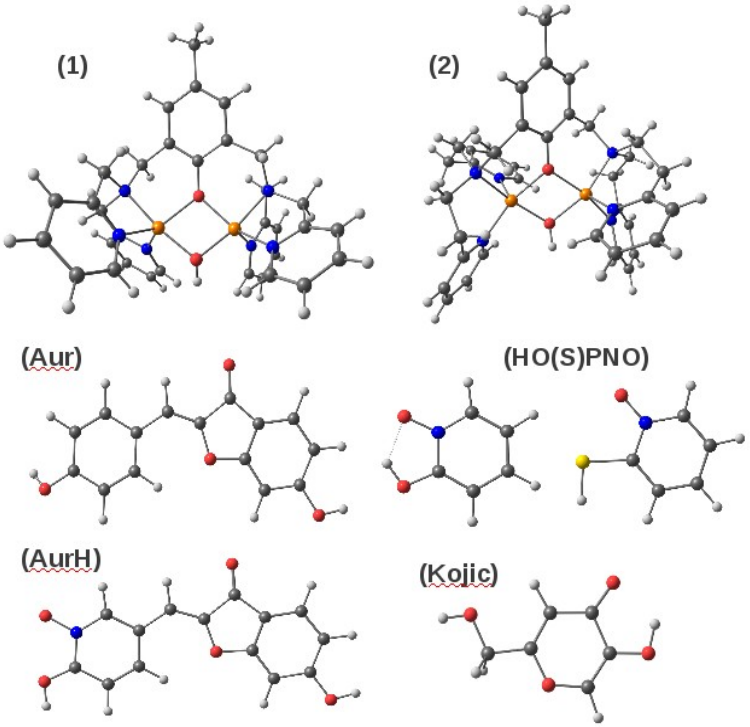


Figure 3. Composés modèles et inhibiteurs.

Partie 2.1.1. Complexes dinucléaires de cuivre.

La première partie des études consacrées au thème des protéines à cuivre concerne la caractérisation structurale des composés modèles du site actif de la tyrosinase [20,21]. Les systèmes visés correspondant à des agrégats dinucléaires de cuivre, nous avons cherché à mettre en place un protocole permettant d'approcher les propriétés magnétiques de ces composés. En effet, au sein de tels systèmes, les atomes de cuivre (II) peuvent

interagir entre eux et se coupler de deux manières différentes - ferromagnétique ou antiferromagnétique - conduisant, respectivement, à des états de spin fondamentaux de type triplet (S=1) ou singulet (S=0). La caractérisation de tels systèmes impliquait la modélisation fine d'un paramètre clé qui est la constante d'échange isotrope *J* définie comme la différence d'énergie orbitale entre les états de spin sus-mentionnés [22-25]. Pour commencer, nous nous sommes attachés à décrire la structure géométrique des deux complexes à l'étude (**1** et **2**, Figure 3). Nous avons employé la méthode DFT et la procédure standard de minimisation d'énergie pour prédire les paramètres métriques des deux composés. Les structures aux rayons X de ces deux systèmes étant connues, nous avons pu établir une comparaison directe avec les géométries modélisées par des calculs de chimie quantique. Les déviations standards moyennes calculées pour l'ensemble des distances et des angles ont permis de conclure à un bon accord entre les jeux de données expérimentales et théoriques, validant ainsi le choix de la méthode computationnelle (fonctionnelle et bases) qui sera employée tout au long de ces études. Les structures électroniques des deux complexes ont été modélisées et la cartographie de densité de spin de **1** et **2** indiquait une distribution exclusive sur les motifs Cu_2O_2 sans aucune contribution du reste des ligands. Ceci a permis de démontrer que **1** et **2** possédaient deux électrons non-appariés principalement portés par les centres cuivre. Ils constituaient donc un jeu de systèmes couplés magnétiquement correspondant à deux spins locaux interagissant entre eux via la constante d'échange isotrope *J*. D'un point de vue théorique, les constantes d'échange isotropes de **1** et **2** ont été modélisées en utilisant l'hamiltonien de Heisenberg, Dirac et Van Vleck (HDVV) [26-28] et l'approche de symétrie brisée (BS) [29-31]. Un bon accord était obtenu en comparant les paramètres *J* calculés pour les deux complexes avec les données expérimentales confirmant la pertinence de la méthode de calcul employée pour la prédiction de ce type de propriétés. Dans les deux cas, les constantes d'échange modélisées étaient de signe négatif, caractéristiques d'un couplage de nature antiferromagnétique et d'un état de spin fondamental singulet (S=0). De manière intéressante, un rapport de cinq a été obtenu en comparant la magnitude des paramètres *J* calculés pour **1** et **2** et ce, malgré la similarité chimique des deux complexes. Une analyse détaillée des paramètres structuraux relatifs aux motifs Cu_2O_2 a permis de rationaliser cette différence. En effet, des études antérieures avaient démontré que la magnitude du paramètre *J* au sein de complexes dinucléaires de cuivre était intrinsèquement liée à divers facteurs structuraux tels que la symétrie du système, la longueur des liaisons Cu-O, la longueur de la liaison Cu-Cu ou la distorsion du motif Cu_2O_2 [32-34]. Plus spécifiquement, il a mis en évidence l'existence d'une corrélation reliant la valeur moyenne de l'angle Cu-O-Cu et la magnitude de la constante d'échange isotrope *J*. Il a également été constaté que ce paramètre favorisait une interaction antiferromagnétique dont la magnitude était fonction de la valeur de cet angle. Cette tendance fut observée pour les deux composés à l'étude. La valeur moyenne de l'angle Cu-O-Cu calculée pour **1** était plus faible que dans le cas de **2** ce qui allait dans le sens d'une valeur de *J* plus importante pour ce dernier. De manière similaire, la valeur moyenne de l'angle O-Cu-O calculée pour **2** était plus faible que dans le cas de **1** ce qui

induisait un motif Cu_2O_2 plus distordu pour ce système et une faible efficacité du recouvrement spatial de ses orbitales magnétiques. Ceci était finalement confirmé par l'analyse détaillée des orbitales magnétiques des deux complexes. Pour le complexe **1** elles se développaient principalement le long d'un des axes O-Cu-N tandis que pour le complexe **2**, elles étaient distribuées le long des deux directions O-Cu-N ce qui avait pour conséquence directe de favoriser l'interaction d'échange au sein de ce système et permettait donc d'expliquer la différence de magnitude du paramètre *J*. Grâce à ces résultats, nous avons pu mettre en place un protocole permettant de modéliser les propriétés magnétiques de composés dinucléaires de cuivre et nous avons pu sélectionner la méthode de calcul qui serait la mieux adaptée pour ce genre de prédiction. Ceci va servir de point de départ pour les études qui seront présentées dans la section suivante [réf. ACL 14].

Partie 2.1.2. Inhibiteurs HOPNO et acide Kojic

La seconde partie de nos travaux consacrés à la modélisation du site actif de la tyrosinase [1,2] avait pour principal objectif une meilleure compréhension, au niveau moléculaire, de son mécanisme d'inhibition. Sur la base des complexes métalliques précédemment décrits, nous avons tenté de déterminer les modes de fixation de petites molécules sur le centre métallique dinucléaire à cuivre. Les complexes **1** et **2** ont donc été étudiés en présence de 2-hydroxy-N-oxy-pyridine (HOPNO) qui est un inhibiteur compétitif de la tyrosinase [35] (Figure 3). La réaction de HOPNO avec **1** et **2** conduisait à la formation de deux potentiels adduits correspondant à la fixation de HOPNO au niveau de l'unité [Cu(II)-O_2^{2-}-Cu(II)] des complexes métalliques en mode chélatant (ch) ou en mode pontant (bg) (Figure 4). Lorsque ces études ont démarré, on ne disposait que de très peu de données expérimentales pour caractériser les produits de la réaction entre les complexes métalliques et HOPNO. Les calculs de chimie quantique ont donc été entrepris pour réaliser une étude systématique visant à modéliser la structure (géométrique et électronique), la stabilité (énergétique) et les propriétés (magnétiques) des adduits obtenus à partir des complexes **1** et **2** mis en présence de la molécule inhibitrice sélectionnée : HOPNO.

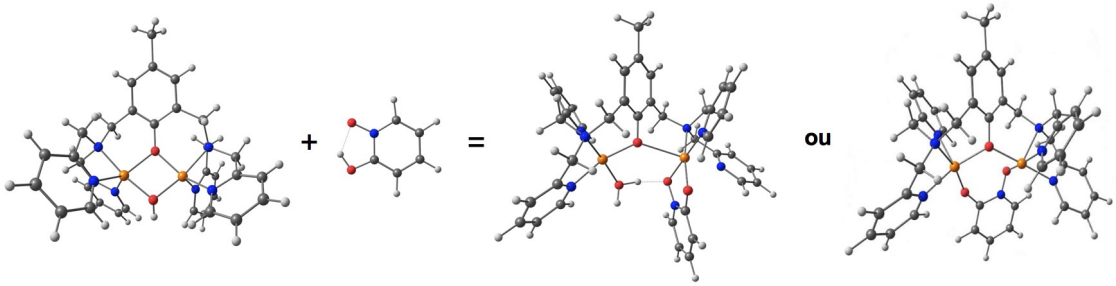


Figure 4. Illustration des modes de fixation chélatant et pontant.

Nous nous sommes tout d'abord intéressés à décrire les structures géométriques des entités résultant de la fixation de HOPNO en mode chélatant et en mode pontant sur le centre dinucléaire à cuivre des complexes **1** et **2**. En employant la méthode DFT, il fut possible d'optimiser la géométrie des quatre adduits recherchés. Les adduits **(1-HOPNO)$_{ch}$** et **(2-HOPNO)$_{ch}$** correspondant à une fixation de HOPNO en mode chélatant contenaient tous deux une unité [Cu(II)-O^{2-}-Cu(II)]$^{2+}$ au sein de laquelle un des ions cuivre était coordonné par une molécule d'eau résultant de la protonation du pont hydroxo initialement présent dans **1** et **2** tandis que l'autre ion cuivre était coordonné par les centres oxygène de l'inhibiteur qui avait été incorporé au système sous forme déprotonée. Les adduits **(1-HOPNO)$_{bg}$** et **(2-HOPNO)$_{bg}$** correspondant à une fixation de HOPNO en mode pontant contenaient tous deux une unité [Cu(II)-O^{2-}-Cu(II)]$^{2+}$ au sein de laquelle un des ions cuivre était coordonné par le centre azoté de l'inhibiteur tandis que l'autre ion cuivre était coordonné par le centre oxygène de l'inhibiteur (Figure 4). Sur la base de ces quatre structures d'adduits, nous avons appliqué le protocole décrit de la première section de cette partie pour modéliser leurs propriétés magnétiques et déterminer leur état de spin fondamental. Pour ce faire, les constantes d'échange isotropes *J* de **(1-HOPNO)$_{ch/bg}$** et **(2-HOPNO)$_{ch/bg}$** ont été calculées en utilisant l'approche BS. Dans le cas des deux adduits pour lesquels HOPNO est fixé en mode chélatant, les constantes d'échange modélisées étaient de signe positif, caractéristiques d'un couplage ferromagnétique et d'un état de spin fondamental triplet (S=1). *A contrario*, pour les deux adduits résultant de la fixation de HOPNO en mode pontant, les constantes d'échange calculées étaient de signe négatif, caractéristiques d'un couplage antiferromagnétique et d'un état de spin fondamental singulet (S=0). Ces résultats pouvaient être rationalisés via l'analyse détaillée des paramètres structuraux des deux groupes d'adduits. Dans le cas de **(1-HOPNO)$_{ch}$** et **(2-HOPNO)$_{ch}$**, l'inhibiteur jouait le rôle de ligand pour un centre cuivre spécifique ce qui induisait une élongation conséquente de la liaison Cu-Cu en comparaison de ce qui était mesuré dans les complexes **1** et **2**. Par conséquence, l'interaction d'échange devient moins efficace et un couplage de nature ferromagnétique était prédit pour ces deux adduits. Dans le cas de **(1-HOPNO)$_{bg}$** et **(2-HOPNO)$_{bg}$**, la distance Cu-Cu était d'un ordre de grandeur comparable à ce qui était mesuré dans les complexes originaux ce qui était compatible avec une interaction d'échange de nature identique à celle observée pour **1** et **2**. Ces résultats mettaient en évidence l'influence directe du mode de fixation de l'inhibiteur vis-à-vis de la structure et des propriétés des adduits générés.

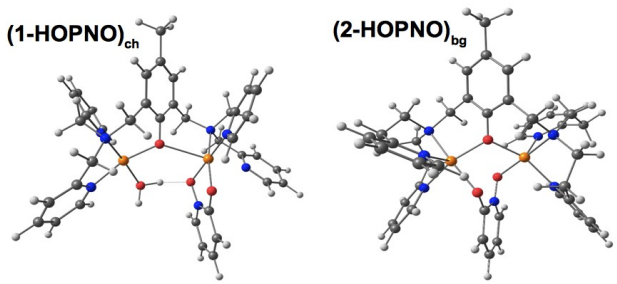


Figure 5. Modes de fixation de HOPNO au site dinucléaire à cuivre.

De plus, cela démontrait la nécessité de mettre en place une méthodologie spécifique pour déterminer les stabilités respectives de ces adduits, ces derniers présentant des états de spin fondamentaux différents. Pour contourner ce problème, les quatre adduits ont été comparés sur la base de leurs états de spin singulets. Nous avons utilisé l'approche de projection de spin qui permet de déterminer l'énergie de l'état singulet à partir des énergies des états triplet et de symétrie brisée. Une autre différence majeure entre les deux groupes d'adduits a été prise en compte pour la comparaison énergétique des différents adduits : la présence supplémentaire d'une molécule d'eau pour **(1-HOPNO)$_{ch}$** et **(2-HOPNO)$_{ch}$**. Enfin, nous avons également incorporé dans nos modélisations les corrections vibrationnelles et thermiques ainsi que celles liées à l'erreur de superposition de base. Cela nous a permis de déterminer les stabilités relatives des adduits dans le but de conclure quant à la pertinence des deux modes de fixation de HOPNO sur le centre dinucléaire à cuivre de **1** et **2**. Nos calculs ont prédit que le mode chélatant était énergétiquement stabilisé dans le cas de l'adduit **(1-HOPNO)** à contrario de ce qui était prédit pour l'adduit **(2-HOPNO)** pour lequel le mode pontant était favorisé (Figure 5). De manière intéressante, l'ensemble des résultats issus des modélisations théoriques était en parfait accord avec les données expérimentales qui ont pu être obtenues par la suite. En effet, les expériences de spectroscopie RPE effectuées sur les différents adduits ont permis de confirmer l'état de spin fondamental de ces systèmes. Pour le cas de **(1-HOPNO)**, ces mesures ont conduit à l'obtention d'un spectre caractéristique d'un état de spin triplet compatible avec un système de deux centres magnétiques faiblement couplés. Pour **(2-HOPNO)**, un spectre silencieux en RPE a été mesuré suggérant un état de spin singulet et la présence d'un fort couplage magnétique au sein du système. Enfin, les structures aux rayons X des deux adduits résultant de l'interaction entre HOPNO avec les deux complexes ont pu être résolues confirmant une fixation de l'inhibiteur en mode chélatant pour **1** et en mode pontant pour **2**. Ces études permettent de montrer que le mode fixation de HOPNO sur le site dinucléaire à cuivre de **1** et **2** semble être corrélé avec la taille de ces complexes. En effet, le complexe **2** possède des ligands de grande taille en comparaison de ceux présents dans **1** ce qui permet une certaine flexibilité autour du motif Cu_2O_2. Par conséquence, il existe plus de place entre les deux centres métalliques du complexe **1** de sorte qu'il est possible d'accommoder plus facilement la présence d'un ligand supplémentaire tel que HOPNO qui va donc se fixer en mode pontant entre les deux sites à cuivre. A contrario, le motif Cu_2O_2 du complexe **2** semble davantage contraint en raison de la taille des ligands ce qui va favoriser une fixation de HOPNO en mode chélatant sur un centre cuivre spécifique. Pour résumer, les corrélations expérience-théorie qui ont été obtenues dans le cadre des études menées sur les adduits avec HOPNO permettent de valider l'approche computationnelle qui a été mise en place et qui est potentiellement applicable dans un cadre plus général pour prédire le mode de fixation préférentiel de n'importe quel inhibiteur sur le site dinucléaire d'un complexe modèle donné [réf. ACL 18].

Partie 2.1.3. Inhibiteurs de HSPNO, acide Kojic et aurones.

Les résultats encourageants que nous avons obtenus dans le cas de HOPNO nous ont amenés à poursuivre ces études en faisant appel à d'autres inhibiteurs dérivés de cette molécule. Les complexes **1** et **2** ont ainsi été étudiés en présence de 2-hydrosulfide-N-oxy-pyridine (HSPNO) et d'acide Kojic [36,37] (Figure 3). Des calculs de chimie quantique ont de nouveau été entrepris pour réaliser une étude systématique visant à modéliser la structure (géométrique et électronique), la stabilité (énergétique) et les propriétés (magnétiques) des adduits obtenus à partir des complexes **1** et **2** mis en présence de ces molécules inhibitrices. Des optimisations de géométrie ont été réalisées dans le but de décrire les structures résultant de l'interaction de HSPNO et l'acide Kojic avec le centre dinucléaire à cuivre des complexes **1** et **2**. Comme dans le cas de HOPNO, il fut possible d'obtenir les structures relaxées de deux types d'adduits qui se distinguent par le mode de fixation de l'inhibiteur : mode chélatant ou mode pontant (Figure 4). Les différentes structures obtenues avec HSPNO et l'acide Kojic étaient comparables à celles obtenues avec HOPNO notamment pour ce qui concerne la nature de la sphère de coordination des ions cuivre. La superposition des structures en mode chélatant avec celles en mode pontant mettait en évidence une élongation des distances Cu-Cu et une augmentation de la valeur des angles Cu-O-Cu pour le premier groupe d'adduits. Comme mentionné lors de la section précédente, ces caractéristiques structurales vont directement affecter les propriétés magnétiques et l'état de spin fondamental des systèmes à l'étude. On constatait ainsi que les constantes d'échange modélisées pour l'ensemble des adduits en mode chélatant étaient de signe positif traduisant un couplage ferromagnétique et un état de spin fondamental triplet. Pour le cas des adduits en mode pontant, les constantes d'échange calculées étaient de signe négatif caractéristique d'un couplage antiferromagnétique et d'un état de spin fondamental singulet. Ces résultats étaient cohérents avec ceux obtenus pour le cas de HOPNO et montrait donc que l'interaction d'échange au sein de tels systèmes était directement contrôlée par la nature même du mode de fixation de l'inhibiteur sur le centre dinucléaire à cuivre des complexes **1** et **2**. Nous nous sommes ensuite attachés à déterminer les stabilités relatives des différents adduits dans le but de conclure quant à la pertinence des possibles modes de fixation de HSPNO et de l'acide Kojic sur le centre dinucléaire à cuivre de **1** et **2**. En l'absence de données expérimentales concernant les produits de la réaction entre les complexes métalliques et ces inhibiteurs, les différents adduits ont été comparés entres eux sur la base exclusive des données issues des modélisations théoriques. Suivant la méthodologie décrite dans la section précédente, nos calculs ont prédit que le mode chélatant était énergétiquement stabilisé dans le cas de l'adduit **(1-HSPNO)** tandis que le mode pontant était favorisé pour l'adduit **(2-HSPNO)** (Figure 6).

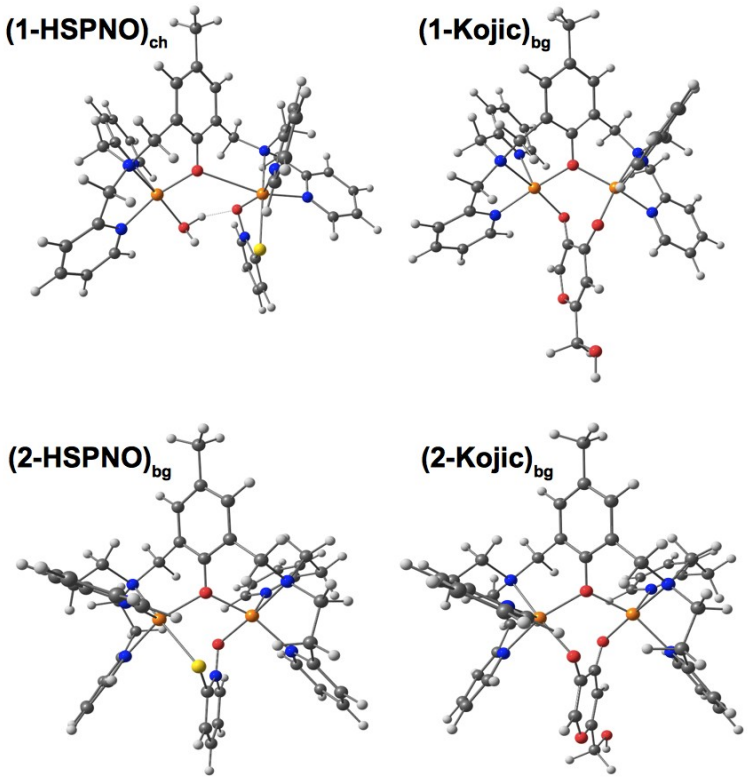


Figure 6. Modes de fixation de HSPNO et de l'acide Kojic au site dinucléaire à cuivre.

Ces résultats étaient similaires à ceux que nous avions obtenus avec HOPNO ce qui était prévisible compte tenu de la similarité chimique existant entre ces deux inhibiteurs. Dans le cas de l'acide Kojic, le mode pontant était favorisé avec les deux complexes. Ces dernières données étaient d'autant plus intéressantes que ce mode de coordination est supposément celui qui est observé lors de l'inhibition de l'enzyme tyrosinase. Les résultats de ces études théoriques permettaient donc de confirmer la corrélation existant entre le mode de fixation des inhibiteurs et la taille des composés modèles. Par ailleurs, ces données mettaient également en évidence l'influence de la nature chimique de l'inhibiteur vis-à-vis de son mode de fixation. En effet, il a été suggéré que la présence d'un groupement NO au sein de l'inhibiteur tendrait à orienter une fixation de celui-ci en mode chélatant comme on l'a observé dans le cas de HOPNO et HSPNO. *A contrario*, un mode de fixation de nature pontante serait privilégié dans le cas de molécules de type quinone telles que l'acide Kojic.

Pour finir, nous nous sommes intéressés au cas des aurones qui sont des molécules se présentant comme de potentiels inhibiteurs compétitifs de la tyrosinase et qui ont pour particularité de posséder plusieurs sites de fixation possibles [38]. Le complexes **1** a donc été étudié en présence de 4,6'-dihydroxy-aurone (Aur) et d'un composé hybride (AurH)

possédant un squelette d'aurone et comportant un motif HOPNO (Figure 3). La modélisation de la structure (géométrique et électronique), de la stabilité (énergétique) et des propriétés (magnétiques) des différents adduits résultant de la réaction du complexe métallique avec les deux molécules inhibitrices a été entreprise. Des optimisations de géométrie ont été réalisées dans le but de décrire les structures des cinq adduits résultant de l'interaction de Aur et de AurH avec le centre dinucléaire à cuivre de **1**. Contrairement aux cas précédents, il est intéressant de noter que la réaction de Aur avec **1** conduisait à la formation de deux adduits (**1-Aur**) au sein desquels Aur se fixait en mode chélatant (ch_1 et ch_2) sur un centre cuivre spécifique via l'atome d'oxygène de l'un de ses deux groupements hydroxyles. A contrario, les adduits résultant de la fixation de AurH sur le complexe **1** (**1-AurH)** pouvaient être de trois types : chélatant (ch) sur un centre cuivre spécifique via les atomes d'azote et d'oxygène du groupement HOPNO, pontant (bg) sur les deux sites métalliques via les centres azote et oxygène du groupement HOPNO ou intermédiaire (ch-bg) via l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle qui est en interaction avec les deux centres cuivre (Figure 7). L'analyse des structures des adduits en mode chélatant montrait l'élongation des distances Cu-Cu et l'augmentation de la valeur des angles Cu-O-Cu en comparaison de ce qui était obtenu pour les adduits en mode pontant ou intermédiaire. Ces caractéristiques structurales pouvaient de nouveau être corrélées avec les propriétés magnétiques et l'état de spin fondamental des différentes espèces. En effet, l'interaction d'échange modélisée pour les adduits en mode chélatant était de nature ferromagnétique conduisant à un état de spin fondamental triplet. Les adduits en mode pontant et intermédiaire présentaient, eux, un état de spin fondamental singulet dû à la présence d'une interaction d'échange antiferromagnétique. Comme pour le cas des inhibiteurs HOPNO et de ses molécules dérivées, le mode de fixation de l'inhibiteur sur le centre dinucléaire à cuivre du complexe métallique module la nature de l'interaction magnétique au sein de ces systèmes.

Enfin, nous nous avons modélisé les stabilités relatives des différents adduits afin de déterminer le mode de fixation probable de Aur et de AurH sur le centre dinucléaire à cuivre de **1**. Comme précédemment, nous ne disposions pas de données expérimentales concernant les produits de la réaction entre le complexe métallique et ces inhibiteurs. Les différents adduits ont été comparés entre eux sur la seule base des données extraites des modélisations théoriques. Suivant la méthodologie utilisée pour les études avec HOPNO et ses molécules dérivées, nos calculs ont prédit que le mode chélatant était énergétiquement stabilisé dans le cas des adduits **(1-Aur, ch_1)** et (**1-AurH**). Le produit de la réaction du complexe métallique avec les deux molécules inhibitrices conduisant au même mode de fixation, nous avons alors cherché à déterminer l'affinité de Aur et de AurH pour le centre dinucléaire à cuivre. En combinant les énergies libres des adduits avec celles des inhibiteurs, nous avons pu évaluer le terme d'affinité qui se présente alors

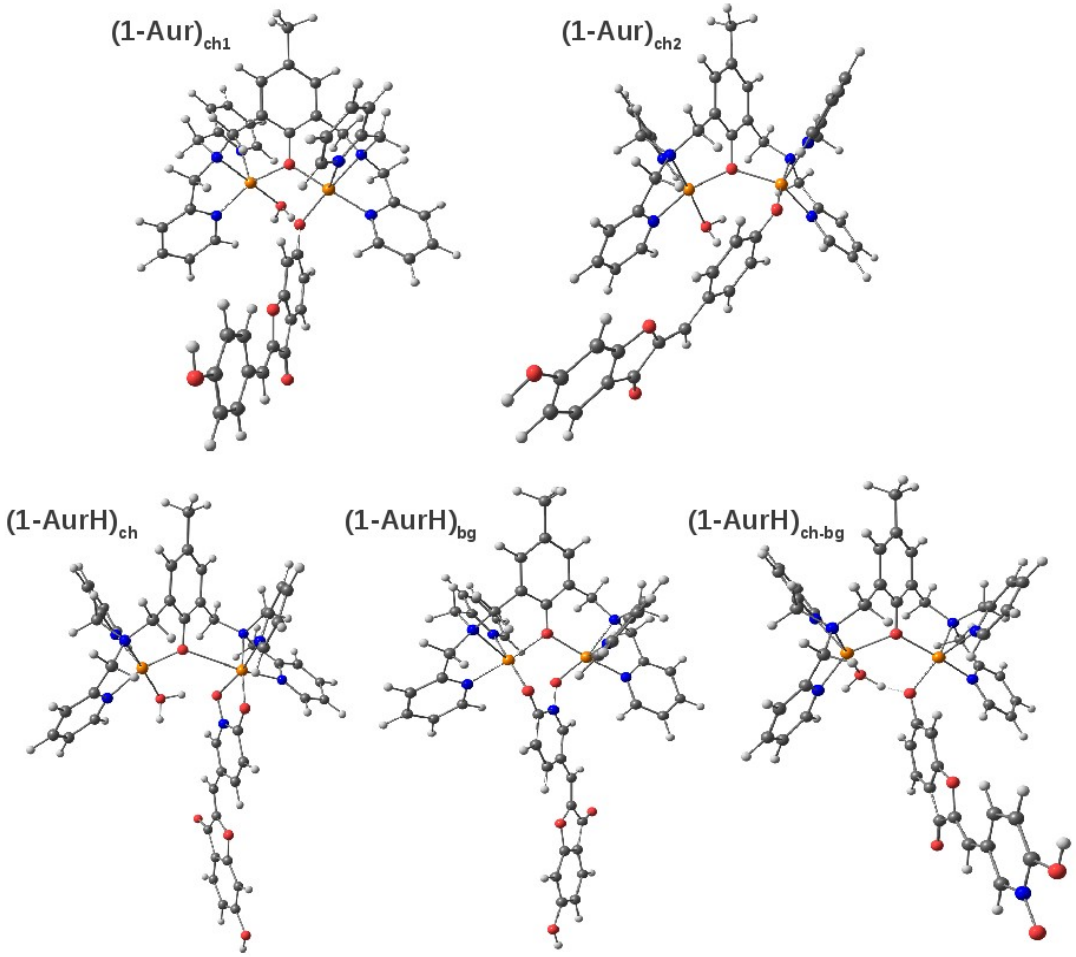


Figure 7. Modes de fixation des aurones au site dinucléaire à cuivre.

comme une simple différence des énergies libres de réaction. Ceci nous a ainsi permis de montrer que l'adduit (**1-AurH**) était largement favorisé en comparaison de **(1-Aur, ch$_1$)** ce qui mettait en évidence l'affinité préférentielle de l'inhibiteur AurH pour le centre dinucléaire à cuivre du complexe. Ce résultat permettait de confirmer l'influence du groupement NO qui tendrait à orienter une fixation de l'inhibiteur en mode chélatant ce qui démontrait la corrélation existant entre la nature chimique de l'inhibiteur et son mode de fixation [réf. ACL 21].

Partie 2.2. Métalloenzymes radicalaires

Depuis plusieurs années, une part importante de mes activités de recherche est dédiée à l'étude d'une métalloenzyme radicalaire, la galactose oxydase (GO) qui est un système de référence en chimie bio-inorganique. Si l'existence des radicaux organiques a longtemps été controversée par la communauté des chimistes, il est aujourd'hui clairement établi que ces espèces jouent un rôle fondamental dans le monde du vivant (signalisation, lutte anti-infectieuse, catalyse...) [39]. Dès lors, de nombreuses enzymes radicalaires ont été décrites telles les cytochromes P450 ou la galactose oxydase [40]. Depuis la découverte de cette dernière au cours des années 90, l'interaction des métaux de transition avec les radicaux organiques tels que les phénoxyles, est devenue un domaine de recherche très actif. La métalloenzyme GO appartient à la grande famille de métalloprotéines à cuivre [5-7] et plus particulièrement au type II qui regroupe l'ensemble des composés mononucléaires à base de cuivre pouvant activer le dioxygène et réalisant des réactions de catalyse rédox [41,42]. La galactose oxydase se caractérise par une association originale entre un métal et un radical organique et catalyse l'oxydation aérobie d'alcools primaires en aldéhydes avec réduction concomitante d'une molécule de dioxygène en peroxyde d'hydrogène [43-46]. Pour effectuer cette conversion, il faut considérer un mécanisme catalytique mettant en jeu deux électrons et impliquant deux types de sites rédox : un site métallique, l'ion Cu(II) et un site non-métallique, un radical organique (Figure 1). Le cycle catalytique permettant la transformation des alcools en aldéhydes fait appel à deux formes de GO : la forme réduite notée Ar-O-Cu(I) et la forme active oxydée notée Ar-O•-Cu(II). Cette dernière constitue le site actif de GO qui se compose de la façon suivante : un ion cuivre, Cu(II), deux résidus histidines, un résidu tyrosine et un radical tyrosyle [47,48].

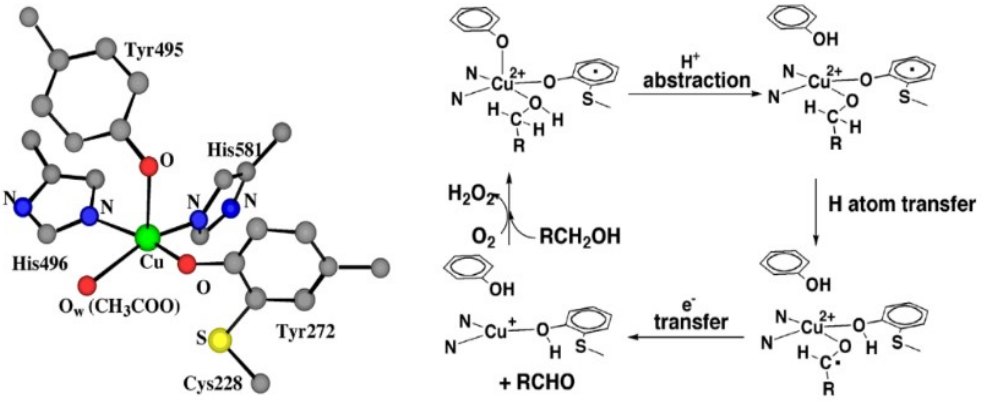


Figure 1. Site actif et cycle catalytique de la galactose oxydase.

L'ensemble des études qui vont être présentées par la suite sont des travaux de recherche collaboratifs (Pr. F. Thomas et Dr. L. Benisvy) qui portent sur la conception de modèles biomimétiques et bio-inspirés pour élaborer des complexes métalliques qui seront à la fois des modèles structuraux et fonctionnels de la galactose oxydase [49-51]. Pour ce qui concerne l'aspect biomimétique, l'élaboration de complexes métalliques est un prérequis pour établir des relations de type « structure-propriété » avec, pour but ultime, la reproduction de l'activité catalytique du système originel qu'est la GO. Pour ce qui est de l'aspect bio-inspiré, il faut une bonne connaissance de l'objet de base qu'est la GO de façon à pouvoir s'en inspirer pour créer de nouvelles entités présentant des propriétés structurales et fonctionnelles originales. Les deux approches, biomimétique et bio-inspirée, sont intrinsèquement liées et sont à la base même des travaux que j'ai effectués sur la galactose oxydase et pour lesquels j'ai employé la démarche systématique consistant à coupler expérience et théorie. Le point de départ des études relatives à la galactose oxydase est l'activité même de cette enzyme qui catalyse la réaction d'oxydation à deux électrons des alcools primaires en aldéhydes [52-54]. Cette réaction est rendue possible par la présence au sein du site actif de deux centres rédox : un centre Cu(II) et un radical organique qui se trouve localisé sur un résidu tyrosine. C'est ce dernier point qui a guidé les présents travaux de recherche dont l'objectif commun consistait en la détermination des facteurs structuraux et dynamiques influençant la localisation du radical organique au sein des systèmes modèles que nous avons mis au point pour mimer le site actif de la GO (Figure 2). Parmi les potentiels facteurs de localisation du radical qui ont été envisagés, nous en avons considéré trois types distincts : nature du centre métallique (1), influence de la première sphère de coordination (2) et rôle de l'environnement (3).

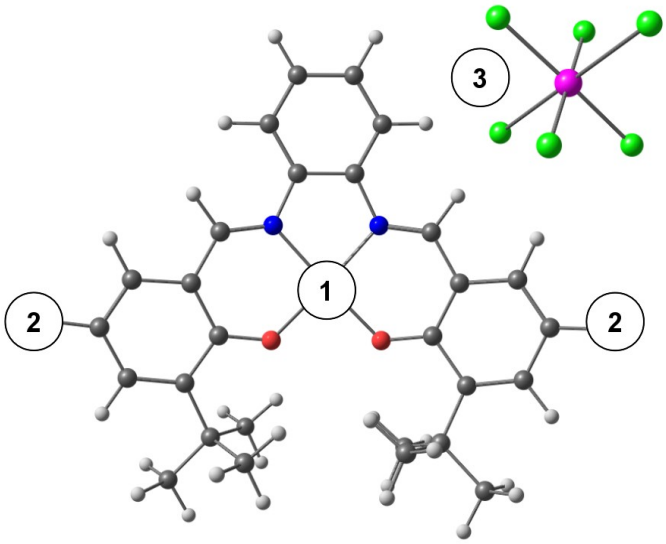


Figure 2. Représentation schématique des modèles de GO.

Partie 2.2.1. Rôle du métal

Les premières études qui ont été entreprises se sont focalisées sur le rôle que pouvait jouer le centre métallique dans le processus de localisation du radical organique au sein de systèmes modèles de la galactose oxydase (Figure 3) [55,56]. Nous avons tout d'abord étudié des complexes octaédriques de zinc (Zn(II), S=0, d^{10}) coordonnés par des ligands non-innocents de type Base de Schiff. Les composés ont été synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée et dioxydée. Ils ont été caractérisés par différentes méthodes physico-chimiques (diffraction RX, électrochimie, spectroscopies UV-vis et RPE) et modélisés par calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT). Ces différentes étapes de caractérisations nous ont permis de démontrer que le centre métallique zinc était bien un ion rédox innocent *a contrario* de ce qui avait pu être observé pour l'ion nickel (Ni(II), S=0, d^8) [57-59]. En effet, l'analyse des complexes sous formes oxydées et dioxydées a permis de mettre en évidence l'oxydation successive des cycles phénoxyles prouvant ainsi que le transfert électronique initial se produisant dans ces systèmes était bien un processus centré sur les ligands aussi bien pour le cas des composés à base de zinc que pour ceux de nickel [réfs. ACL 8 et 16].

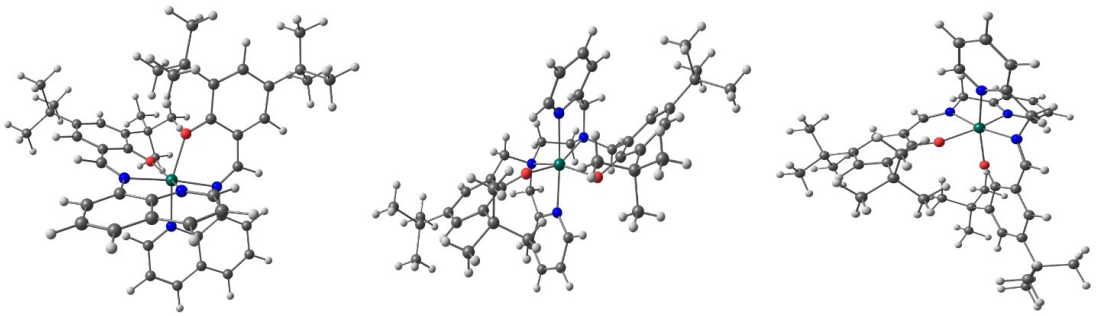


Figure 3. Structures géométriques des complexes de zinc.

Sur la base de ces résultats, nous avons poursuivi nos travaux dans le but d'étudier les propriétés de complexes analogues de nickel et de cuivre coordonnées en géométrie plan carrée par des ligands bis-phénolates de type salen [60,61]. Notre objectif était de déterminer l'influence de ces centres métalliques qui sont, respectivement, des ions rédox actifs (Cu(II), S=½, d^9) et inactifs (Ni(II), S=0, d^8). La combinaison des caractérisations expérimentales et théoriques de ces composés obtenus sous forme neutre puis sous forme oxydée a permis de mettre en évidence que la nature radicalaire du ligand était conservée à l'issue du processus d'oxydation. De plus, il a été démontré que les systèmes modèles à base de cuivre présentaient une meilleure réactivité que ceux de nickel pour ce qui est de la conversion d'alcools primaires en aldéhydes (Figure 4) [réf. ACL 10].

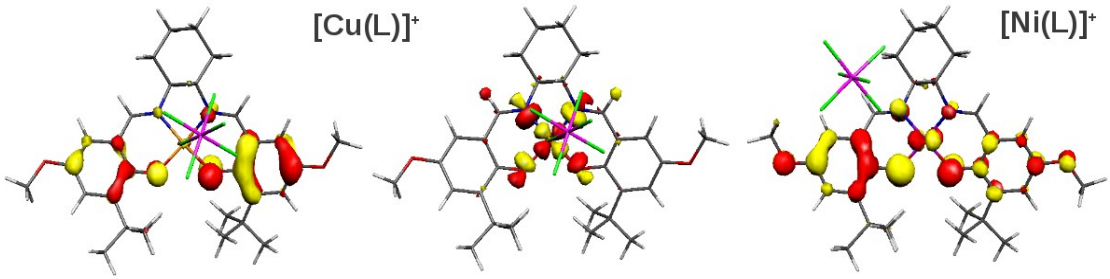


Figure 4. Structures électroniques des complexes de cuivre et nickel.

Nous avons ensuite réalisé une étude complémentaire où le centre métallique considéré était un ion cobalt (Co(II), S= ½, d^7) environné par des ligands non-innocents de type salen [62-64]. Les composés ont été synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée (géométrie pyramide plan carrée) et dioxydée (géométrie octaédrique). Les modélisations théoriques effectuées sur l'ensemble de ces complexes ont été déterminantes pour la description de leur structure électronique. Les composés cationiques obtenus à l'issue d'une première oxydation ont été décrits comme des systèmes couplés métal-ligand radical tandis que les composés dicationiques obtenus après deux oxydations successives correspondaient à des entités purement radicalaires (Figure 5). Ceci a permis de mettre en évidence le fait que l'ion cobalt tendait à limiter la communication entre les deux ligands salen. Les possibilités de transfert électronique entre les deux sites rédox étaient donc très réduites ce qui expliquait que les espèces générées à l'issue des différents processus d'oxydation soient de nature exclusivement radicalaire [réf. ACL 26].

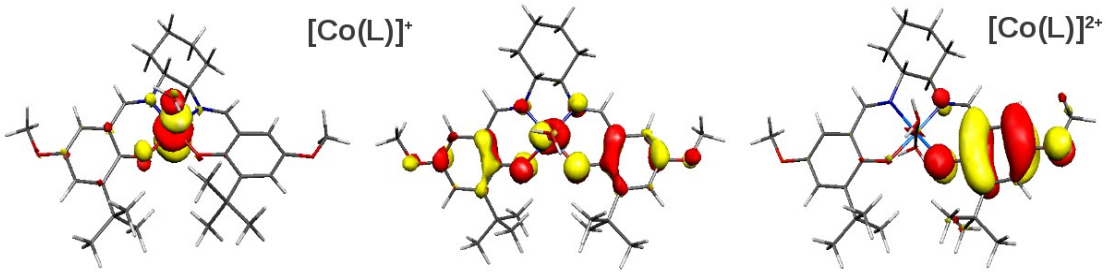


Figure 5. Structures électroniques des complexes de cobalt.

Partie 2.2.2. Rôle du ligand

Par la suite, nous nous sommes intéressés à décrire l'influence de la première sphère de coordination vis-à-vis de localisation du radical organique dans les composés biomimétiques de la GO [65-67]. Nous avons notamment tenté de déterminer quel était

l'impact de la modulation de nature chimique et de structure géométrique des ligands coordonnant le centre métallique des systèmes mis en œuvre (Figure 6). La première étude qui fut entreprise concernait des complexes de nickel (Ni(II), S=0, d^8) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands bis-phénolates de type salophen [68-70]. Selon les conditions expérimentales de pH, le ligand pouvait être protoné - un des cycles phénolates ayant été préalablement mono-substitué par un groupement diméthylamine (-NMe_2). Les composés ont été synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée et caractérisés du point de vue expérimental et théorique. Les calculs de chimie quantique couplés aux expériences de spectroscopie RPE ont permis de mettre en évidence que les espèces générées après oxydation présentaient un caractère exclusivement radicalaire et spatialement localisé (Figure 6). Plus spécifiquement, il a été montré que le complexe sous forme oxydée correspondait à une entité radicalaire se trouvant exclusivement distribué sur un cycle phénoxyl spécifique, fonction du caractère protoné ou non du ligand. La présente modulation de ligand permettait donc de contrôler le site rédox au sein de tels systèmes ce qui présentait un intérêt certain pour la communauté travaillant au développement de composés modèles de la GO [réf. ACL 13].

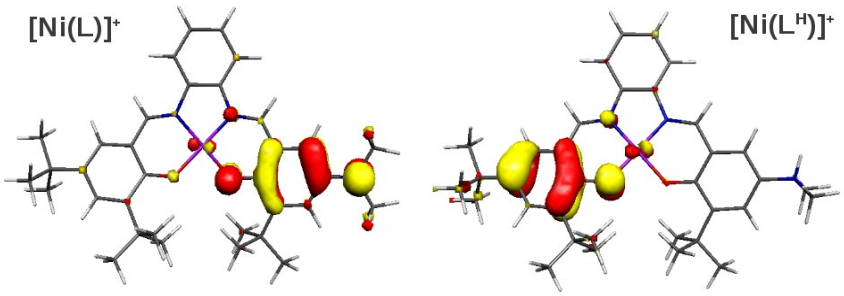


Figure 6. Structures électroniques des complexes de nickel.

Dans la même optique, nous avons également étudié une série de complexes de nickel (Ni(II), S=0, d^8) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands non-innocents de type salen substitués par trois types de groupements chimiques : tertiobutyl (-tBu), méthoxy (-OMe) et diméthylamine (-NMe_2) [71-74]. Pour cette étude, nous avons de nouveau fait appel à l'approche couplant caractérisation expérimentale (spectroscopie RPE pulsée) et modélisation théorique (calculs DFT/TD-DFT). La combinaison de ces deux méthodes a permis de mettre en évidence que les espèces générées après oxydation étaient toutes des entités paramagnétiques de nature radicalaire (Figure 7). On a également pu montrer que le radical organique ainsi formé était distribué de manière uniforme au sein du ligand salen mais que son caractère pouvait être plus ou moins délocalisé sur les cycles phénoxyls selon la nature du substituant chimique considéré. En effet, un substituant de type électro-attracteur (-tBu) tendait à une délocalisation complète du radical au sein des cycles phénoxyls tandis qu'un groupement électro-donneur (-NMe_2) induisait une localisation spatiale de ce même radical [réf. ACL 27].

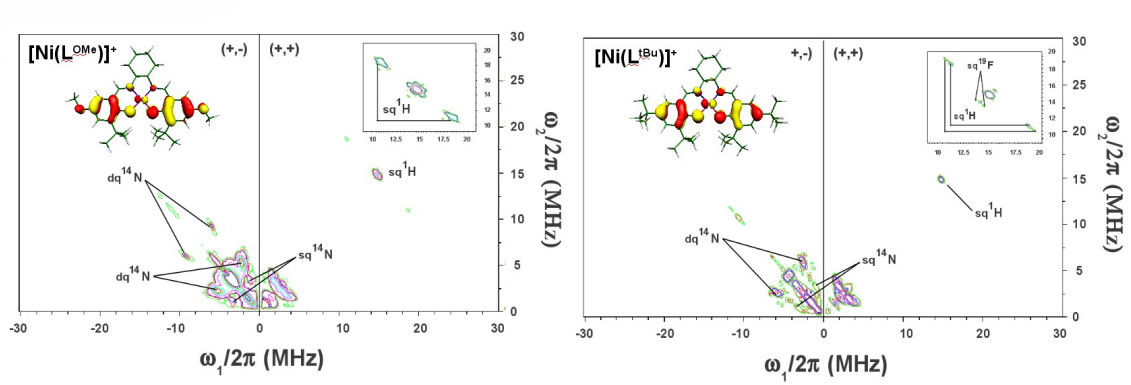


Figure 7. Spectres HYSCORE des complexes de nickel.

Une autre forme de modulation du ligand a ensuite été envisagée : il s'agit de la substitution par des groupements chimiques (-OMe) du pont phénylène diamine du ligand salophen [75] (Figure 7). Dans ce but, nous avons tout d'abord étudié une série de complexes de cuivre (Cu(II), S=½, d^9) coordonnées en géométrie plan carrée par des ligands bis-phénolates. Ces composés ont été synthétisés sous formes neutre et oxydée puis caractérisés du point de vue expérimental et théorique. La caractérisation par spectroscopie RPE pulsée a permis de démontrer sans ambigüité que les espèces cationiques ainsi formées étaient bien des entités couplées de type métal - radical combinant un ion rédox actif, Cu(II), et un radical, organique centré sur le ligand (Figure 8). Les modélisations théoriques ont, elles, permis de déterminer la distribution spatiale spécifique du radical au sein des systèmes. En l'absence de substituant chimique sur le pont du ligand salophen, le radical se répartissait de manière uniforme au sein des cycles phénoxyls tandis que la substitution de l'espaceur par des groupements méthoxy entrainait un déplacement spatial du radical qui se retrouvait exclusivement distribué sur l'unité phénylène diamine. [réf. ACL 19].

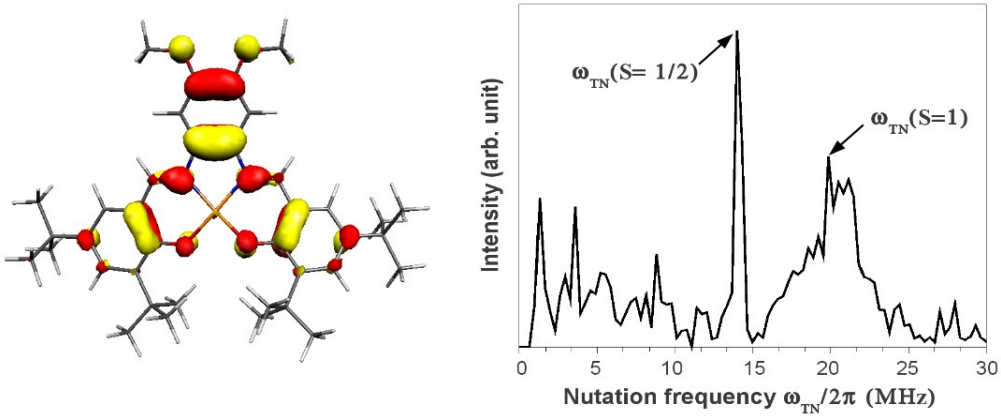


Figure 8. Spectre de nutation du complexe de cuivre.

Suivant la même logique, nous nous sommes intéressés à des complexes analogues de nickel (Ni(II), S =0, d^8) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands non-innocents de type salophen ayant subi des modifications chimiques (-NMe_2) au niveau du pont phénylène diamine [76,77] (Figure 9). Ces composés synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée et dioxydée ont été caractérisés aussi bien du point de vue expérimental que théorique. Les calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT) ont été déterminants pour la description de la structure électronique et des états de spin des espèces générées à l'issue des différents processus d'oxydation. Nous avons pu montrer que le composé cationique obtenu après une première oxydation présentait un caractère exclusivement radicalaire et spatialement localisé sur l'unité phénylène diamine. Ceci était la conséquence directe de la modulation structurale effectuée sur le ligand salophen et de l'introduction de groupements diméthylamine au niveau de l'espaceur. Les substituants diméthylamine présentaient des propriétés de donneurs d'électrons qui induisaient un déplacement spatial du site d'oxydation des cycles phénolates vers le pont phénylène diamine. Nous avons ensuite mis en évidence que le composé dicationique obtenu après deux oxydations successives correspondait à une entité non-radicalaire et diamagnétique (singulet fondamental) au sein de laquelle la densité électronique était exclusivement distribuée sur l'unité phénylène diamine [réf. ACL 28].
Par la suite, nous nous sommes intéressés aux composés analogues de cuivre (Cu(II), S = ½, d^9) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands salophen (L_1) chimiquement modifiés (-NMe_2) au niveau de l'espaceur [77,78] (Figure 9). Les complexes synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée et dioxydée ont été étudiés du point de vue expérimental et théorique. Il a été montré que la substitution chimique du pont phénylène diamine était à l'origine de deux processus rédox réversibles se produisant au niveau du cycle central. Les modélisations théoriques ont permis de démontrer que l'espèce cationique obtenue après une première oxydation était une entité couplée de type métal - radical combinant un ion rédox actif, Cu(II), et un radical, organique exclusivement distribué sur l'espaceur. Les paramètres de spectroscopie RPE (écart en champ nul) de ce système ont été modélisés et leur comparaison avec les données expérimentales a donné lieu à un bon accord. Ceci a permis de confirmer à la fois l'état de spin fondamental triplet de cette espèce (S = 1) et la nature du couplage existant entre le radical organique et le site métallique (interaction ferromagnétique). A l'issue de deux oxydations successives, le composé dicationique résultant correspondait à une entité paramagnétique non-radicalaire (doublet fondamental) caractéristique de la formation d'une espèce de type α-diiminoquinone ce qui confirmait que l'espaceur était bien le site préférentiel pour le second processus rédox. La même méthodologie a été employée pour l'étude de complexes de cuivre possédant des ligands non-innocents de type oxamate (L_2) chimiquement subtitués (-NMe_2) au niveau du pont phénylène diamine [77,78]. Nous avons également effectué la caractérisation expérimentale et théorique des formes neutres et oxydées de ces composés. Comme pour le cas des systèmes à ligands salophen, un processus rédox réversible se produisait au niveau de l'espaceur et conduisait à la formation d'une espèce cationique correspondant à un système couplant un ion métallique

Cu(II) et un radical organique centré sur le cycle central. Pour ce système, les modélisations théoriques prédisaient également un état de spin fondamental triplet et une interaction d'échange de nature ferromagnétique. La modélisation des paramètres de spectroscopie RPE de cette espèce mettait en évidence l'influence même de la nature chimique du ligand sur ce genre d'observables. La valeur d'écart en champ nul prédite pour le complexe à ligand L_2 était un ordre de magnitude plus grand que celle obtenue pour le complexe à ligand L_1. Cette observation était en lien direct avec la présence de fonctions amidates dans L_2 qui permettaient une meilleure délocalisation de la densité de spin au niveau du ligand induisant donc un meilleur couplage du site métallique avec le radical organique. De manière plus générale, la formation du radical organique et la localisation du site d'oxydation dans les systèmes décrits ci-dessus était donc fonction de la sélectivité de la substitution chimique effectuée sur l'espaceur du ligand salophen. Cela permettait donc de mettre en évidence deux potentiels sites rédox actifs au sein de ce type de complexes [réf. ACL 38].

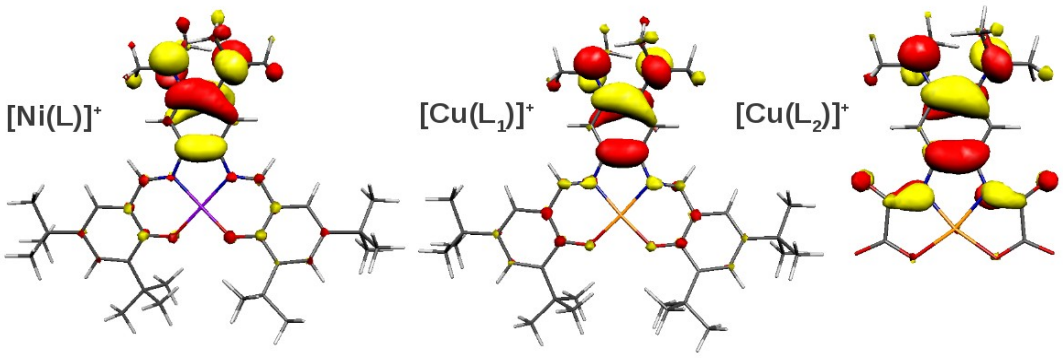


Figure 9. Structures électroniques des complexes de nickel et de cuivre.

La dernière forme de modulation du ligand qui a été étudiée concerne la modification même de la première sphère de coordination à savoir le remplacement successif des groupements phénols du ligand salen (Figure 10). Dans ce but, nous avons considéré une série de complexes de nickel (Ni(II), S=0, d^8) coordonnées en géométrie plan carrée par des ligands non-innocents de type anilines [79-82]. Les composés ont été synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée et caractérisés du point de vue expérimental et théorique. Les calculs de chimie quantique couplés aux expériences de spectroscopie RPE ont permis de mettre en évidence que les espèces générées après oxydation étaient toutes des entités paramagnétiques de nature exclusivement radicalaire. Pour le cas du remplacement des deux groupements phénols par deux entités anilines, il a été démontré que le site d'oxydation des composés cationiques était centré sur le ligand et que le radical ainsi obtenu était distribué de manière uniforme sur les cycles anilines. *A contrario*, lorsqu'un seul des phénols du ligand était remplacé par une aniline, le composé obtenu après oxydation présentait un caractère exclusivement radicalaire mais spatialement localisé sur la seule unité aniline. La structure électronique et les propriétés

magnétiques des systèmes considérés étaient donc particulièrement affectés par les modifications de nature chimique et de structure géométrique du ligand coordonnant l'ion nickel. La simple substitution d'un groupement phénol par une entité aniline permettait ainsi d'élaborer des complexes dissymétriques pour lesquels il était possible de contrôler le site d'oxydation. Cela démontrait l'influence directe de la première sphère de coordination vis-à-vis de localisation du radical organique dans les présents composés biomimétiques de la GO [réf. ACL 32].

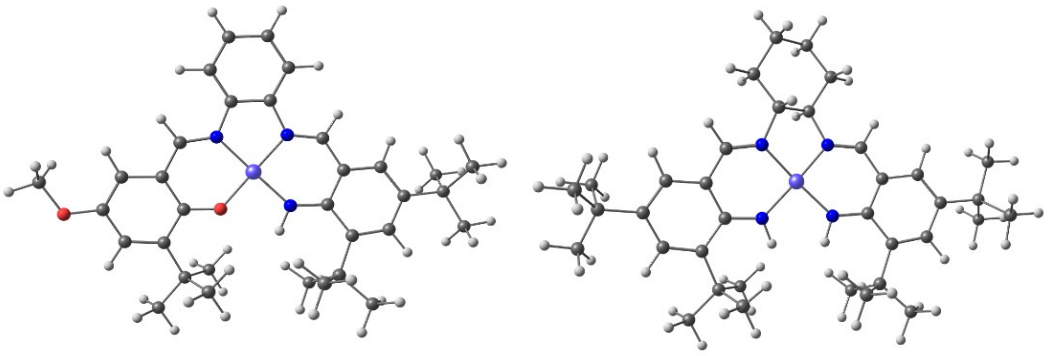


Figure 10. Structures géométriques des complexes de nickel.

Partie 2.2.3. Rôle de l'environnement

Enfin, nous nous sommes attachés à déterminer les potentiels changements de comportement et d'activité des systèmes modèles de la GO selon le type de milieu dans lesquels ils étaient générés [57,58,68,69,83,84]. Dans ce contexte, nos études se sont plutôt orientées vers des modifications d'environnement direct à savoir la variation de solvant et la présence de contre-ion. Les premiers travaux que nous avons entrepris concernaient les propriétés de complexes analogues de nickel (Ni(II),S =0, d^8) et de cuivre (Cu(II), S= ½, d^9) coordonnées en géométrie plan carrée par des ligands bis-phénolates (Figure 11). La combinaison des caractérisations expérimentales et théoriques de ces composés obtenus sous forme neutre puis sous forme oxydée a permis de mettre en évidence la nature et la localisation de leur site d'oxydation respectif. Il a été démontré que les espèces cationiques ainsi formées étaient bien des entités couplées de type métal-radical combinant un ion rédox actif, Cu(II), ou inactif, Ni(II), et un radical, organique centré sur le ligand. La principale caractéristique des composés étudiés était qu'ils possédaient tous deux un contre-ion à proximité même de la sphère de coordination de l'ion métallique. En effet, il avait été possible d'obtenir les structures cristallographiques des deux composés à l'état oxydé et pour chacun des systèmes, un anion SbF_6^- avait été co-cristallisé avec les espèces cationiques de manière à maintenir la neutralité de charge de l'ensemble. Il est à noter que la présence de ce contre-ion était intrinsèquement liée aux conditions expérimentales utilisées pour l'obtention des espèces cationiques : celles-ci pouvaient être générées soit par voie électrochimique, soit par voie chimique en

présence de l'agent $AgSbF_6$. Les modélisations théoriques effectuées sur ces complexes avaient été déterminantes pour la description de leur structure électronique. Elles avaient révélé que le processus d'oxydation était centré sur le ligand et que le radical formé était exclusivement distribué sur une unité phénoxyl spécifique, à savoir celle se trouvant à proximité spatiale du contre-ion. On en avait donc conclu à un caractère localisé du radical se trouvant dans l'environnement immédiat du contre-ion ce qui reste, à ce jour, le modèle le plus réaliste du site actif de la GO [réf. ACL 10].

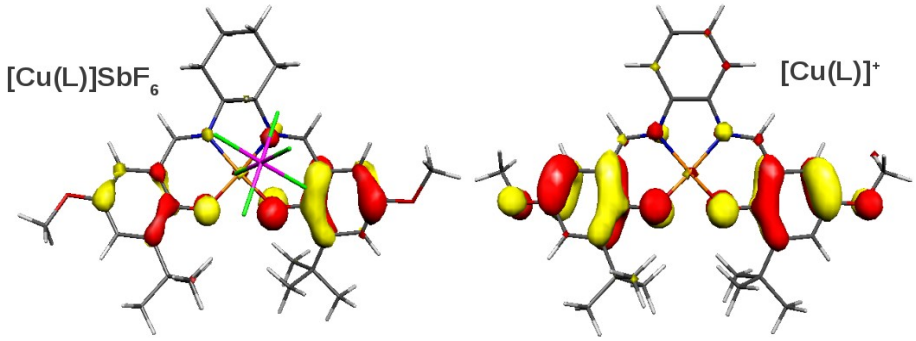


Figure 11. Structures électroniques et contre-ion.

Le même type d'information avait également pu être obtenu pour le cas des études menées sur la série de complexes de nickel (Ni(II), S =0, d^8) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands non-innocents de type salen substitués par trois types de groupements chimiques (-tBu, -OMe et $-NMe_2$). En effet, indépendamment de la nature chimique du substituant, nous avions montré que la présence d'un contre-ion dans l'environnement immédiat des complexes étudiés influençait la distribution spatiale du radical formé après oxydation des espèces. Grâce aux expériences de spectroscopie RPE pulsée, nous avions pu mettre en évidence la présence d'un anion SBF_6^- à proximité immédiate du complexe de nickel substitué par des groupements méthoxy. Il avait été possible de mesurer la distance (moins de 5 angstrœms) séparant le contre-ion de la sphère de coordination de l'ion métallique, attestant ainsi d'une interaction directe entre ces deux entités. Ceci permettait de confirmer la localisation du site d'oxydation de ce complexe qui présentait un caractère radicalaire majoritairement distribué sur un cycle phénoxyl spécifique du ligand salen. Dans le cas du complexe de nickel substitué par des groupements tertiobutyl, il fut également possible détecter ce même contre-ion mais avec une faible intensité traduisant une interaction à plus longue distance entre les deux entités. Ceci était en accord avec le site d'oxydation préalablement déterminé pour ce composé, le radical formé étant uniformément distribué sur les deux cycles phénoxyls du ligand salen [réf. ACL 27]. Cela mettait clairement en évidence l'influence directe de l'environnement vis-à-vis de localisation du radical organique dans les présents systèmes. Selon le type de milieu dans lesquels ils étaient générés, il était donc possible de contrôler le site et la distribution du radical obtenu après oxydation des espèces dans le but de mettre au point les meilleurs composés modèles de la GO.

Partie 2.2.4. Radical tyrosyle

Parallèlement aux études qui viennent d'être décrites, j'ai également mené d'autres travaux collaboratifs portant sur la mise en œuvre et la caractérisation de composés biomimétiques de la galactose oxydase et couvrant un large panel de systèmes allant de la simple espèce radicalaire au complexe polynucléaire de métaux de transition. La première étude que nous avons entreprise s'est focalisée sur l'élaboration et la caractérisation de composés modèles du radical tyrosyle (Figure 12).

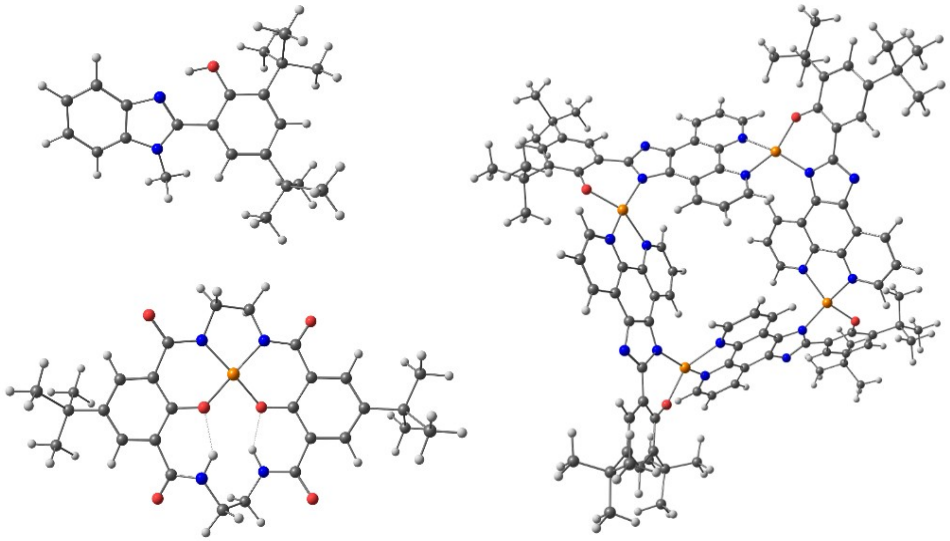


Figure 12. Modèles bio-inspirés de GO.

Le radical tyrosyle est une espèce qui peut être rencontrée dans divers systèmes enzymatiques et protéiques tels que la galactose oxydase (GO), le photosystème II (PSII) ou la ribonucléotide réductase (Rr) [85,86]. Dans le cas de la GO, le radical tyrosyle est impliqué dans l'abstraction de protons du substrat [39,41,46,47,48,87]. Pour ce qui concerne le PSII qui réalise l'oxydation de l'eau en dioxygène, il sert de relai pour le transfert d'électrons entre les chlorophylles P680 et le site actif [88-96]. Enfin, il a été montré que ce radical était un intermédiaire du mécanisme réactionnel de réplication et de réparation de l'ADN réalisé par Rr [97,98]. Ce radical tyrosyle apparaît donc comme très important pour beaucoup de systèmes biologiques de par sa participation à de nombreux processus enzymatiques. La modulation de la formation et de la réactivité de cette espèce peut être réalisée de deux manières : soit par coordination avec un métal lorsque cela est possible soit par liaison hydrogène avec une base voisine. Il a notamment été montré qu'il était possible d'obtenir un radical tyrosyle très stable dans le PSII et que ceci était dû à la présence d'une liaison faible avec le proton de l'ion imidazolium provenant d'un résidu histidine du proche environnement. Par ailleurs, la formation même

de ce radical dans le PSII est liée à un mécanisme couplant transferts de protons et d'électrons (PCET). Il est donc pertinent de développer des modèles synthétiques du radical tyrosyle pour déterminer les paramètres spécifiques affectant la structure et la réactivité de cette espèce [99-102].

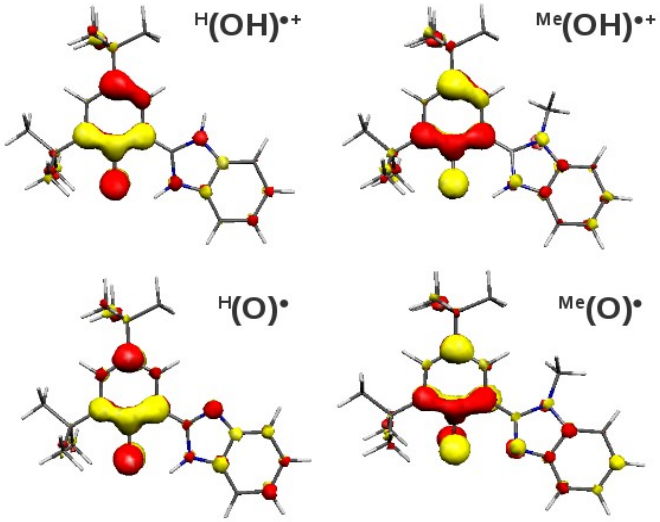


Figure 13. Structures électroniques des composés modèles du radical tyrosyle.

Nous nous sommes intéressés à une série de composés de type phénol(ate)-benzimidazoles (Figure 13) avec pour objectifs la modulation de la charge du partenaire (le groupe benzimidazole) et le contrôle du mécanisme de formation des espèces radicalaires (PCET ou transfert d'électrons, ET). L'ensemble des composés a été synthétisé sous forme neutre puis sous forme oxydée et ils ont été caractérisés par différentes méthodes physico-chimiques (diffraction RX, électrochimie, spectroscopie RPE). Les modélisations théoriques (méthodes DFT) ont été déterminantes pour rationaliser les propriétés électroniques et magnétiques des espèces radicalaires générées par oxydation et pour comprendre leur mode de formation (PCET vs. ET) ainsi que leur réactivité. Nous avons mis en évidence la corrélation existant entre les paramètres de spectroscopie RPE de ces espèces et leur structure géométrique. Nous avons également montré que la distance et la charge du partenaire benzimidazole influençait grandement le comportement des radicaux formés et que ceci pouvait être directement relié à la force de la liaison hydrogène existant dans ces composés. La détermination de ces paramètres constituait ainsi un premier pas pour une meilleure compréhension des processus biologiques impliquant la formation d'espèces telles que le radical tyrosyle. Cela a également été le point de départ des études que nous avons effectuées par la suite et qui concernent l'élaboration de complexes modèles du site actif de la GO [réf. ACL 23].

Partie 2.2.5. Complexes versatiles

Dans cette optique, nous avons étudié une série de complexes de cuivre (Cu(II), S= ½, d^9) et de nickel (Ni(II), S=0, d^8) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands non-innocents de type bis-phénolates. Les ligands faisant l'objet de ces travaux étaient des unités salen modifiées nommées bis-salicylamide comportant des fonctions amide au niveau de l'espaceur. Ces ligands pouvaient ensuite être modulés de manière à présenter un ou deux sites de coordination pour le centre métallique selon que l'on modifiait une unité salen ou bis-salen (Figure 14). Ces ligands étaient tout particulièrement intéressants car ils comportaient des motifs phénolates qui pouvaient participer aux processus rédox et des groupements amidates qui étaient des donneurs électrons puissants, connus pour stabiliser des complexes métalliques à haut degré de valence. Il existait donc une dualité au sein de ces complexes en raison de la nature chimique des ligands employés. Ces derniers comportaient des unités rédox innocentes (amidates) et non-innocentes (phénolates) pouvant induire une potentielle versatilité du site d'oxydation (métal vs. ligand) [103-111].

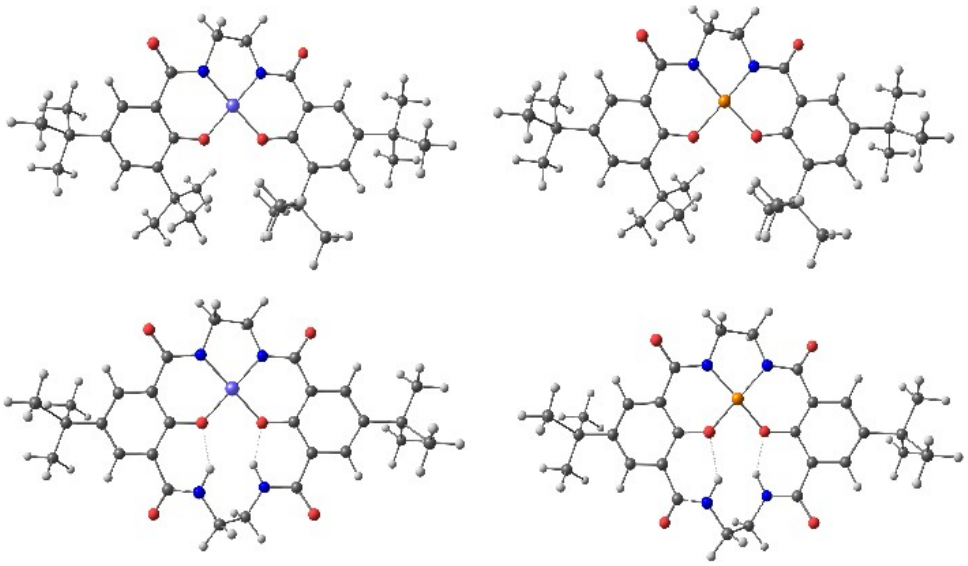


Figure 14. Composés biomimétiques de GO.

Les composés ont été synthétisés sous forme neutre puis sous forme oxydée et caractérisés du point de vue expérimental et théorique. Les calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TDDFT) couplés aux expériences de spectroscopie UV-vis et RPE ont permis de décrire de manière complète la structure et les propriétés moléculaires des espèces anioniques générées après oxydation. Pour le cas ces complexes de nickel, nous avons établi des corrélations magnéto-structurales sur la base des observables de spectroscopie RPE ce qui a permis de clarifier la structure électronique de ces composés.

Nous avons ainsi démontré que les complexes anioniques de salicylamide et de bis-salicylamide présentaient tous deux un fort caractère métallique compatible avec un site d'oxydation centré sur le métal et conduisant donc à la formation de complexes de Ni(III). Cela mettait en évidence le rôle fondamental joué par la nature chimique du ligand qui permettait, ici, de moduler à la fois la nature et la localisation du site rédox des systèmes à l'étude et de stabiliser des espèces métalliques à haut degré de valence. Ceci était également confirmé par les résultats obtenus sur les complexes analogues de cuivre pour lesquels des calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TDDFT) avaient également été effectués dans le but de prédire la structure et les propriétés moléculaires des espèces oxydées. Pour le cas de ces complexes, nous avons établi des corrélations expérience-théorie relatives aux potentiels rédox et aux caractéristiques spectrales (UV-vis) permettant ainsi de déterminer sans ambigüité l'état de spin fondamental des composés. Nous avons pu montrer que le site d'oxydation était de type centré métal dans le cas des composés à base de bis-salicylamide puisque les espèces anioniques générées après oxydation étaient des complexes de Cu(III). Les espèces anioniques de salicylamide se comportaient différemment puisqu'elles correspondaient à des entités couplées de type métal-radical combinant un ion rédox actif, Cu(II), et un radical, organique centré sur l'espaceur amidate (Figure 15). Il fut possible de relier la différence de comportement de ces systèmes à la structure même du ligand bis-salicylamide qui était bi-compartimental et qui présentait un second site de métallation. Celui-ci étant inoccupé, cela induisait donc la stabilisation du ligand grâce au réseau actif de liaisons hydrogènes qui rendaient les cycles phénolates moins accessibles faisant du centre métallique le site rédox préférentiel pour le processus d'oxydation, contrairement à ce qui était généralement observé pour les complexes de salen traditionnels [réfs. ACL 24 et 31].

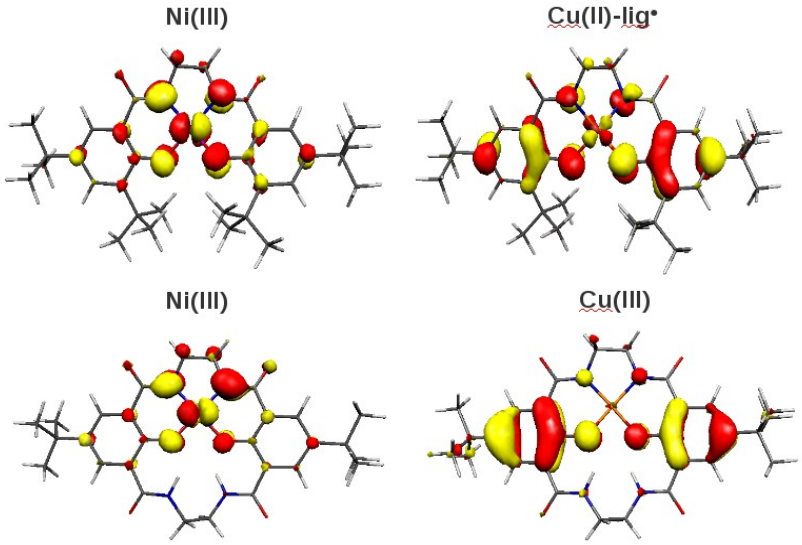


Figure 15. Structures électroniques des complexes de nickel et cuivre.

Partie 2.2.6. Commutateur rédox

Pour finir, une partie de nos travaux concernait la caractérisation structurale et dynamique d'un composé polynucléaire dont l'unité de base correspondait à un complexe de cuivre (Cu(II), S= ½, d^9) en géométrie plan carrée coordonnés par des ligands non-innocents de type phénolates [112-114] (Figure 16). Il est à noter que ces ligands se trouvaient être similaires aux composés étudiés en tant que modèles du radical tyrosyle [115]. L'élaboration même de ce composé trouvait son origine dans les récents développements effectués sur les assemblages supramoléculaires métallo-organiques présentant des propriétés rédox commutables [116-118]. Le composé avait donc été synthétisé et cristallisé sous forme neutre puis caractérisé du point de vue expérimental et théorique.

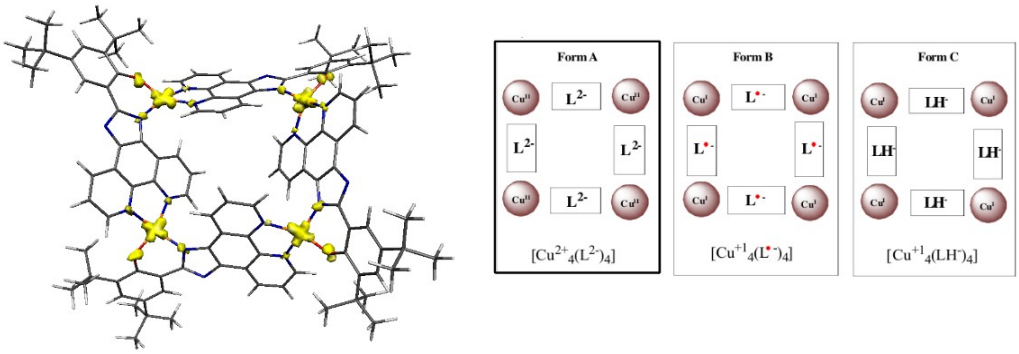


Figure 16. Structure électronique du complexe tétranucléaire de cuivre.

Une grande incertitude existait concernant la description de la structure électronique de ce complexe tétranucléaire et les modélisations théoriques basées sur les calculs DFT avaient permis de conclure aussi bien sur l'état de spin fondamental du système que sur les états rédox des unités individuelles. Celles-ci s'étaient avérées être du type Cu(II)-ligand phénolate correspondant à un centre métallique paramagnétique (S = ½) connecté à un ligand se trouvant sous forme dianionique et déprotonnée. La cartographie de densité de spin du système indiquait une distribution exclusive sur les centres métalliques et leur première sphère de coordination (centres oxygène et azote) sans aucune contribution du reste des ligands. Par la suite, l'utilisation des techniques expérimentales de SQUID et de spectroscopie RPE couplées aux calculs de chimie quantique avaient permis de montrer que le complexe était magnétiquement actif et que l'interaction d'échange permettant de décrire le système était de l'ordre du cm^{-1}. Ce composé se comportait donc comme un ensemble de quatre sites Cu(II) indépendants et très faiblement couplés entre eux. Il pouvait également être impliqué dans des processus d'oxydo-réduction réversibles conduisant à la formation d'entités couplées de type métal-radical combinant un ion rédox actif, Cu(II), et un radical, organique centré sur le ligand. Ce système pouvait donc être considéré comme un commutateur rédox de type métal-radical ce qui en faisait un bon candidat pour des applications dans le domaine de l'optique ou du magnétisme moléculaire [réf. ACL 29].

Partie 2.3. Enzymes à liaison métal-soufre

Les ions de métaux de transition, présents dans environ 50% des protéines [119], sont impliqués dans un grand nombre de processus biologiques. Les sites actifs peuvent être décrits comme des complexes inorganiques sophistiqués et plus ou moins directement liés à la chaine polypeptidique de la protéine [120-122]. Les ligands les plus communément rencontrés sont de type azoté ou oxygéné. Il existe également toute une classe de clusters métalliques qui utilise des ligands soufrés : fonction thiol via la cystéine, fonction thioether via la méthionine, ou encore l'ion sulfure [123]. La liaison métal-soufre confère à ces complexes des propriétés originales, tant au niveau de leur structure électronique, que de leurs propriétés rédox ou de leur réactivité. Ces protéines sont impliquées dans divers processus tels que le transfert d'électron(s)[124-127], l'activation de petites molécules (dioxygène, hydrogène ou diazote)[128-132], les réactions d'oxydation via des transferts de groupes oxo [133-136] et les réactions non rédox comme les hydrolyses ou le transfert de groupements méthyles [137-140]. Plus particulièrement, la liaison métal-thiol, de par son caractère covalent fort avec la plupart des ions de métaux de transition, est à l'origine de propriétés spectroscopiques particulières ainsi que de réactivités originales. On peut notamment citer les exemples suivants : activation du radical anion superoxyde par des complexes de nickel [141,142], méthylation de la fonction thiol par des complexes de zinc [143,144] ou transfert d'électrons extrêmement efficaces et contrôlés par des enzymes à cuivre [145,146] (Figure 1). Toutes ses réactivités sont intimement liées à la structure électronique des complexes via cette liaison métal-soufre [147].

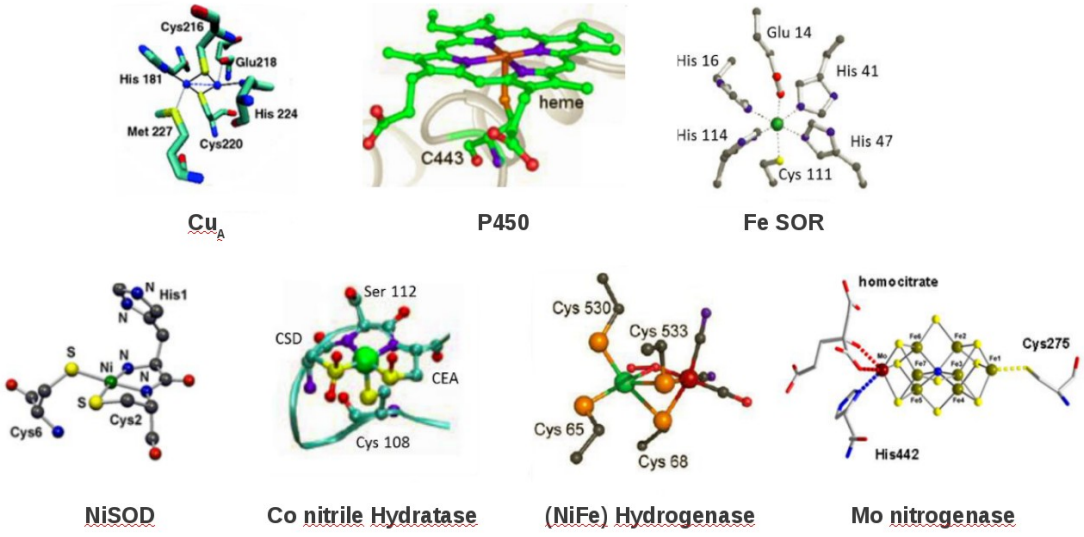


Figure 1. Sites actifs à liaison métal-soufre.

Parmi les différents systèmes biologiques présentant une ou plusieurs liaison(s) métal-soufre, je me suis intéressée plus particulièrement à deux métalloenzymes : la CO déshydrogénase/acétylcoenzyme A synthase (CODH/ACS, Dr. C. Duboc) et la réductase de l'oxyde nitreux (N_2OR, Dr. S. Torelli). La CO déshydrogénase/acétylcoenzyme A synthase (CODH/ACS) présente dans les bactéries anaérobies est un système enzymatique bi-fonctionnel qui catalyse les étapes clés de la voie dite de Wood-Ljungdahl et qui permet l'utilisation de CO (ou CO_2) comme unique source de carbone en conditions anaérobies [148,149]. La partie CODH catalyse l'oxydation réversible du CO en CO_2 en utilisant uniquement l'eau comme oxydant, alors que la partie ACS est capable d'activer le CO dans des conditions douces en présence de nickel pour conduire à la formation d'une liaison C-C lors de la synthèse de la fonction ester du coenzyme A. La résolution de sa structure par diffraction des rayons X a mis à jour un site actif constitué d'un complexe polymétallique totalement original possédant de nombreux ligands soufrés et dans lequel le nickel active le CO. La structure du site actif de l'ACS, le cluster A, implique un centre $[Fe_4S_4]$ lié à un complexe dinucléaire contenant deux ions nickel, l'un dit «distal» (Ni_d) et l'autre dit « proximal» (Ni_p) [150-152]. A partir des résultats publiés dans la littérature, il est fortement suggéré que ce soit le centre Ni_p qui serve de site de fixation du CO [153] (Figure 2).

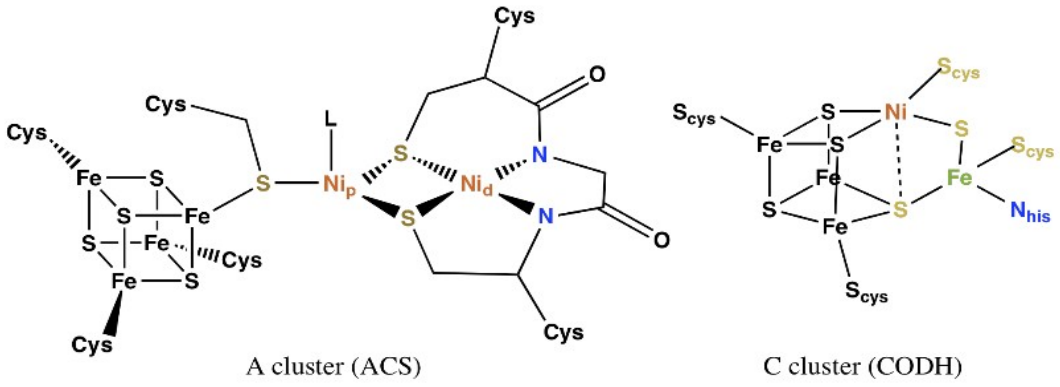


Figure 2. Site actif de l'enzyme CODH/ACS.

Il est ainsi proposé que la sphère de coordination et l'état rédox du centre Ni_p varient au cours du cycle catalytique tandis que le centre Ni_d reste en géométrie plan carré au même état d'oxydation. Le mécanisme enzymatique de la réaction catalysée par l'ACS est loin d'être élucidé [154]. Deux écoles s'affrontent, l'une proposant que seules des espèces diamagnétiques - Ni(0) et Ni(II) - soient impliquées, l'autre que ce soient des intermédiaires paramagnétiques - Ni(I) et Ni(III) - qui se forment au cours du cycle catalytique [155,156]. Pour comprendre le mécanisme d'action de ce système biologique, il est donc essentiel de caractériser précisément la structure des différents intermédiaires mis en jeu au cours du cycle catalytique ainsi que leurs propriétés électroniques. Pour ce faire, nous avons utilisé le concept du biomimétisme pour concevoir et étudier des

modèles spectroscopiques du site actif de cette enzyme afin de développer des catalyseurs efficaces pour la synthèse de dérivés acétylés. En effet, il existe actuellement une demande forte pour le développement de catalyseurs capables de produire de l'acide acétique ou leurs dérivés à faibles coûts financiers et environnementaux.

Bien que pointé du doigt pour ses effets néfastes lorsqu'il est présent en grande quantité, le protoxyde d'azote, N_2O est présent sur Terre depuis plusieurs millions d'années. C'est un intermédiaire de la chaine de dénitrification, processus majeur permettant l'élimination des nitrates des sols et surtout la production de diazote qui est nécessaire aux organismes vivants. La dernière étape de ce processus est la réduction à deux électrons de N_2O en diazote et en eau [157,158]. Il existe un système biologique capable d'effectuer cette transformation, défavorisée d'un point de vue thermodynamique, et ce dans des conditions qui soient les plus douces possibles. Ce système est constitué par une métalloenzyme appelée réductase de l'oxyde nitreux [159-163] (Figure 3). La majorité des réductases de l'oxyde nitreux sont des protéines à centres polynucléaires de cuivre. Ces protéines sont constituées de deux sous-unités, l'une possédant un centre dinucléaire à cuivre (Cu_A) et l'autre un agrégat tétranucléaire (Cu_Z) [164-167].

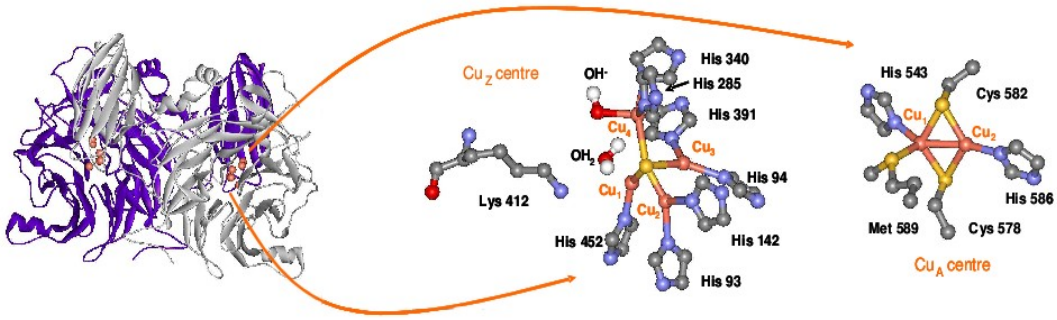


Figure 3. Site actif de l'enzyme N_2OR.

Le centre Cu_A a été identifié comme étant impliqué dans un processus de transfert rapide d'électrons à moyenne distance vers le centre Cu_Z de l'autre sous-unité. Le centre Cu_A peut accommoder à la fois la présence d'ions Cu(I) et Cu(II) et dans l'état natif, ce site correspond à un composé à valence mixte présentant une unité caractéristique du type $[Cu^{1.5+}\text{-}Cu^{1.5+}]$. Les électrons relayés à partir du centre Cu_A jouent un rôle particulièrement important puisqu'ils permettent la génération de la forme rédox catalytiquement active du centre Cu_Z. C'est donc à ce centre qu'a lieu la réaction de réduction de N_2O proprement dite. Ce site correspond à un agrégat tétranucléaire de cuivre connectés entre eux par un pont de nature soufrée et possédant une géométrie de type térahèdre distordu. Trois de ses ions Cu sont coordonnés par deux résidus histidines tandis que le quatrième ion Cu ne possède qu'un seul ligand de ce type. Grâce aux données de diffraction aux rayons X, il a été montré qu'un ion hydroxyde coordonnait un ion Cu et qu'une molécule d'eau était en

interaction faible avec un des motifs Cu_2 du centre Cu_Z. Ce dernier a pu être expérimentalement caractérisé sous deux formes spécifiques : la première est rédox active tandis que la seconde est rédox inactive. Une configuration de type [1Cu(II)/3Cu(I)] (S= ½) pour l'état natif a été identifiée par spectroscopie RPE. Ces études ont également mis en évidence que la densité de spin était complètement délocalisée au sein de l'agrégat et que celui-ci pouvait donc être décrit comme une espèce à valence mixte [168-170]. Pour ce qui concerne le mécanisme conduisant à la réduction de N_2O en N_2, il a été avancé que la réaction avait lieu lorsque le centre Cu_Z se trouvait sous sa forme totalement réduite ($Cu(I)_4$) et qu'une fixation du substrat N_2O en mode pontant était impliquée. La réactivité serait donc essentiellement centrée sur deux atomes de cuivre, les deux autres servant vraisemblablement de donneurs d'électrons [171-173]. Dans ce contexte, il apparaît judicieux d'utiliser une approche biomimétique pour développer des complexes dinucléaires de cuivre qui seront des composés modèles du site actif de cette enzyme avec pour but ultime la conception de catalyseurs actifs dans le domaine de la remédiation de N_2O.

Partie 2.3.1. Complexes de nickel

Les études qui vont être détaillées dans cette section avaient pour principal objectif l'élaboration et la caractérisation des complexes métalliques à ligands soufrés se présentant comme de potentiels composés modèles (structuraux et fonctionnels) du site actif de la CO déshydrogénase/acétylcoenzyme A synthase [148,149]. Les premiers travaux que nous avons réalisé sur ce thème concernent une série de complexes mononucléaires de nickel en géométrie pseudo plan carrée coordonnés par des ligands tétranucléants de type N_2S_2. Les ligands faisant l'objet de ces travaux comportent des unités thiolates aliphatiques combinées à une unité bipyridine et sont supposés mimer la structure de la première sphère de coordination du centre métallique constituant le site actif de l'ACS (Figure 4). De plus, différents états rédox de l'ion nickel ont été considérés allant du Ni(I) (S=½, d^9) au Ni(III) (S=½, d^7) en passant par le Ni(II) (S=0, d^8,) de sorte à couvrir l'ensemble des possibles intermédiaires suggérés pour le cycle catalytique de l'ACS [155,156]. Les composés synthétisés ont été caractérisés de manière complète grâce à un large panel de méthodes physico-chimiques (diffraction RX, électrochimie, spectroscopies UV-vis et RPE) couplées aux modélisations théoriques par calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT). Les résultats de ces études ont notamment mis en évidence que le complexe initial de Ni(II) environné par les ligands thiolates aliphatiques subissait un processus d'oxydation centré sur le métal et conduisant à la formation d'une entité Ni(III), contrairement à qui avait été suggéré dans la littérature [174-176].

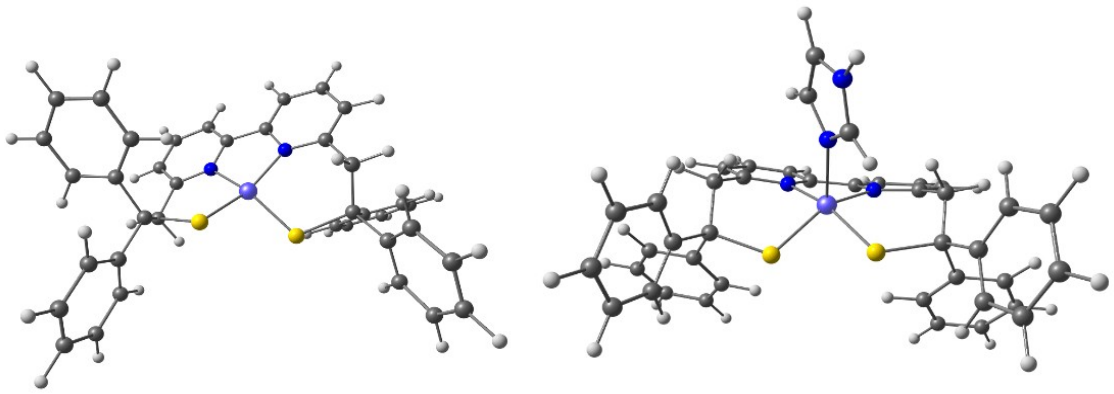


Figure 4. Composés modèles de l'ACS.

De manière intéressante, en plus d'être un potentiel modèle du site actif de l'ACS, ce système se présente comme un mime structural d'une autre catégorie d'enzymes : les superoxides dismutases. Celles-ci sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation du superoxyde en dioxygène et peroxyde d'hydrogène. Par leur activité, ces enzymes constituent une partie importante du système de défense contre les radicaux libres puisqu'elles jouent le rôle d'agent antioxydant pour protéger les cellules contre les dommages causés par l'anion radical superoxyde [177-178]. Notre complexe de nickel environné par des ligands thiolates aliphatiques permettait ainsi de mimer les changements structuraux se produisant lors du cycle catalytique impliquant la superoxyde dismutase à nickel (NiSOD) [179,180]. En effet, nous avons prouvé qu'il était possible de générer des espèces à haut degré de valence - Ni(III) - en présence d'imidazole, la fixation de celui-ci étant un phénomène réversible. Les modélisations théoriques ont permis de montrer que les changements géométriques se produisant après fixation de l'imidazole étaient cruciaux pour la stabilisation des espèces Ni(III). Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à comparer les propriétés de complexes de nickel présentant soit un environnement symétrique du type thiolate aliphatique soit un environnement dissymétrique du type thiolate/thioéther (Figure 5). Ces composés ont été élaborés dans le même effort de mieux comprendre les mécanismes réactionnels impliquant les enzymes de type ACS ou NiSOD. La combinaison des techniques de caractérisations expérimentales et théoriques a permis de montrer que les complexes présentant une sphère de coordination mixte thiolate/thioéther permettait la stabilisation des espèces à haut degré de valence - Ni(III) - tandis que la sphère de coordination originelle ne contenant que des thiolates aliphatiques permettait de générer des espèces à bas degré de valence - Ni(I). Ces résultats prometteurs démontraient que de simples modulations de l'environnement (solvant ou nature du ligand) allaient permettre de cycler sur plusieurs degrés d'oxydation du centre métallique comme observé dans le mécanisme catalytique impliquant l'ACS. Ces complexes de nickel se présentaient donc comme de bons modèles structuraux pour cette enzyme [réfs. ACL 12 et 17].

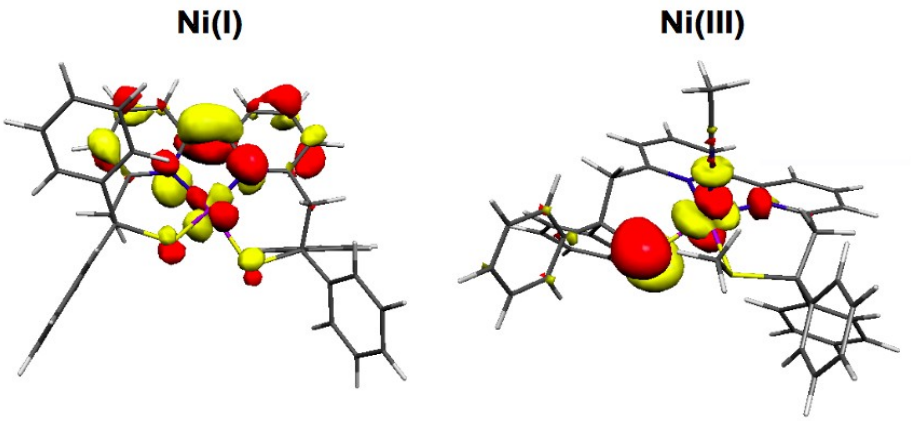


Figure 5. Structures électroniques des composés modèles de NiSOD.

Partie 2.3.2. Complexes de cobalt

Des travaux similaires ont été entrepris par la suite pour tester la potentialité des ligands tétranucléants de type N_2S_2 pour d'autres applications en chimie bio-inorganique. Nous avons ainsi réalisé l'étude d'une série de complexes analogues de cobalt (Co(II), d^7) en géométrie pseudo plan carrée ou pyramide à base carrée coordonnés par des ligands tertanucléants de type thiolates aliphatiques et thiolate/thioether. Ces composés ont été synthétisés puis caractérisés du point de vue expérimental et théorique (Figure 6). Les modélisations théoriques couplées à la caractérisation par spectroscopie RPE pulsée ont permis une description fine et complète de la structure électronique des complexes. Nous avons pu confirmer que le système coordonné par des ligands thiolates était bien un complexe paramagnétique présentant un état de spin fondamental doublet (S= ½) ce qui était compatible avec la présence d'un ion Co(II) en configuration bas spin. Différentes approches de chimie quantique ont néanmoins été nécessaires pour prédire et rationaliser les observables spectroscopiques : calculs DFT (constantes de couplage hyperfin), calculs *ab initio* multiconfigurationnels CASCI (tenseur g) et calculs TD-DFT (spectres d'absorption UV-vis). Nous avons également montré que le remplacement d'un ligand thiolate par un ligand thioéther induisait un changement de l'état de spin fondamental du système : l'ion cobalt passait d'une configuration bas spin (S= ½) à une configuration haut spin (S=3/2). La réactivité de ce complexe avait ensuite été comparée avec celle du composé analogue à base de zinc pour lesquels il avait été possible d'obtenir l'espèce doublement méthylée [181]. Dans le cas de notre complexe, le motif thioéther restait coordonné à l'ion cobalt alors même que le facteur clé de la réaction de S-alkylation est la libération du produit à la fin de la catalyse [137,182,183]. Les présents complexes de cobalt se présentaient donc comme de bons modèles structuraux des enzymes à zinc [184-187] mais s'avéraient inappropriés en tant que substitut fonctionnel pour des réactions de S-alkylation [réf. ACL 25].

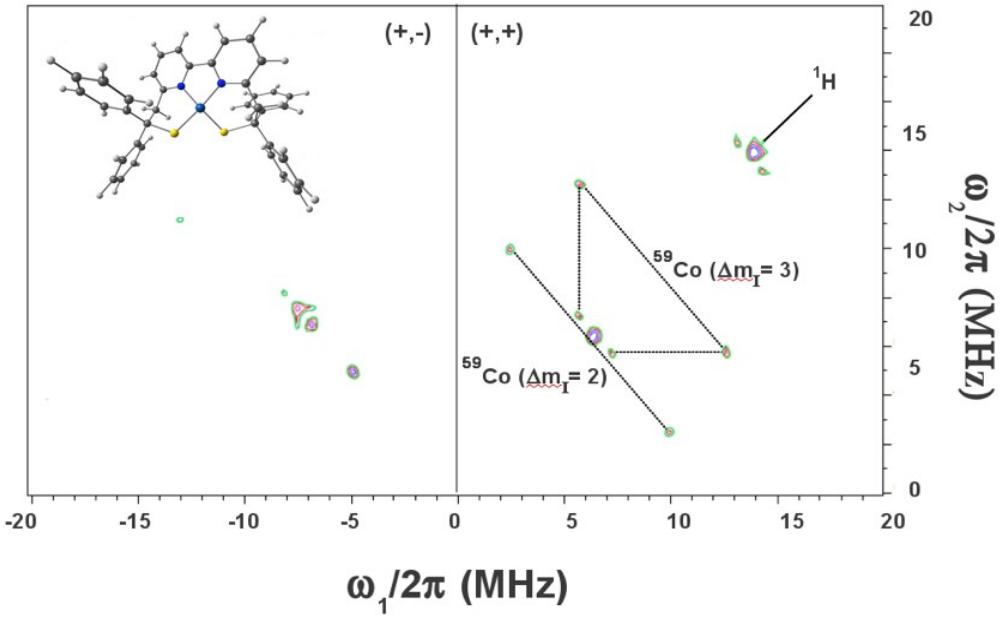


Figure 6. Spectre HYSCORE du complexe de cobalt.

Nous nous sommes alors posé la question d'une potentielle réactivité du composé de départ en considérant l'espèce oxydée au sein de laquelle le centre métallique est un ion Co(III) (S=1, d^6) coordonné par des ligands thiolates et comportant un anion Cl^- pour venir compléter la sphère de coordination (Figure 7). Les caractérisations expérimentales et théoriques menées sur ce complexe ont permis de confirmer que le centre métallique présentait un état de spin fondamental triplet ce qui était compatible avec la présence d'un ion Co(III) en configuration haut spin. La réactivité de ce système s'est avérée particulièrement intéressante puisqu'il a été montré qu'en présence d'un agent réducteur ($AgPF_6$), il était possible de générer une espèce dimérique comportant deux centres cobalt Co(II) qui possèdaient chacun un environnement N_2S_2 et étaient reliés entre eux par un pont disulfure. Ce système se trouvait être un des rares exemples de commutateur rédox métallique ne contenant pas de cuivre [188-190]. Il constituait également un modèle pour la réaction d'interconversion disulfure/thiolate qui est notamment impliquée dans la régulation des espèces réactives de l'oxygène [191-194]. Les calculs théoriques ont été très utiles pour expliquer et rationaliser la réactivité de ce système. On a pu mettre en évidence le fait que la structure électronique du système était fortement affectée par la présence du ligand chloré situé en position axiale. En l'absence de celui-ci, on a pu montrer qu'une partie de la densité de spin était déplacée du centre métallique vers les atomes de soufre du ligand mettant en évidence le caractère « thyl » des ligands thiolates. Ceci permettait donc de justifier la réactivité accrue de centres soufrés et la formation même d'un pont disulfure entre les deux unités monomériques à base de cobalt [réf. ACL 35].

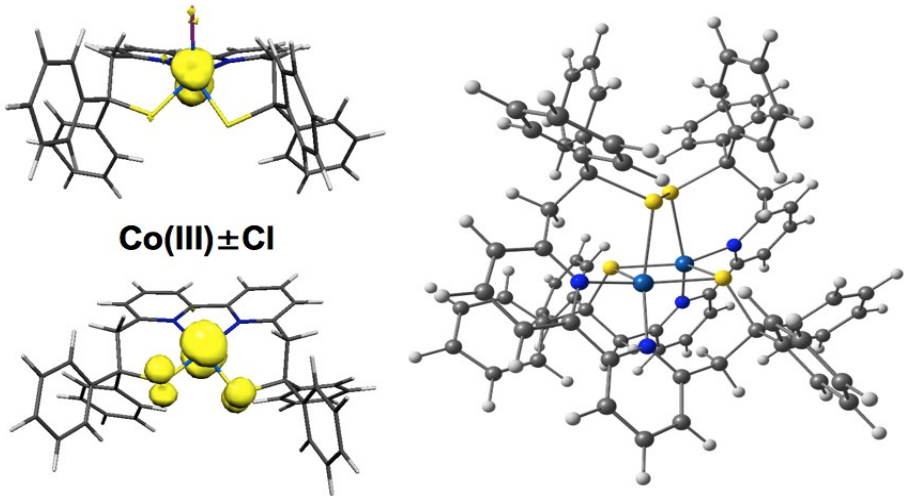


Figure 7. Complexes mono- et dinucléaires de cobalt.

Partie 2.3.3. Complexes de vanadium

Nous nous sommes également intéressés à des complexes de vanadium (V(IV), S=½, d^1 et V(IV), S=0, d^0) en géométrie pseudo plan carrée ou bipyramide à base trigonale coordonnés par des ligands tetra- et trinucléants de type thiolates aliphatiques (Figure 8). Les composés synthétisés ont été caractérisés par diverses méthodes physico-chimiques (diffraction RX, électrochimie, RMN) et modélisés grâce aux calculs de chimie quantique (méthodes DFT). L'objectif de ces travaux consistait à déterminer les propriétés structurales et électroniques de ces complexes présentant une potentielle activité catalytique dans des réactions de sulfoxydation [195,196]. En effet, nous avons pu montrer que les composés mis au point étaient actifs au cours des réactions d'oxydation les mettant en jeu en présence de thioanisole (substrat) et de peroxyde d'hydrogène (oxydant). Ces complexes de vanadium avaient alors la capacité d'oxyder de manière catalytique les sulfides en sulfoxydes. Nos études ont mis en évidence que le complexe de vanadium à ligand trinucléant - V(V) - présentait une faible stabilité lors du cycle catalytique tandis que le complexe de vanadium à ligand tétranucléant - V(IV) - conservait la même efficacité après plusieurs ajouts successifs de substrat et d'oxydant dans le milieu. Les variations de stabilité et de réactivité caractérisant ces deux systèmes ont pu être rationalisées grâce à une étude mécanistique combinant techniques spectroscopiques (RMN et RPE) et modélisations théoriques. Plus particulièrement, les calculs DFT ont permis de déterminer les structures d'intermédiaires réactionnels permettant une meilleure description des catalyseurs de vanadium étudiés. La comparaison des observables spectroscopiques (RMN, RPE) associées à ces

intermédiaires avec les données expérimentales a conduit à la validation de leurs structures géométriques. L'analyse détaillée des paramètres métriques de ces différents intermédiaires a permis de conclure à une forme de dissymétrie géométrique pouvant être à l'origine des différences de stabilité et de réactivité observées pour ces deux complexes [197]. L'ensemble de ces résultats apportait de nouvelles informations permettant de mieux comprendre la réactivité d'espèces métalliques liées à des entités thiolates et impliquées dans des réactions S-oxygénation [198], ce qui était en lien direct avec l'activité de certaines enzymes telles que la NiSOD [réf. ACL 33].

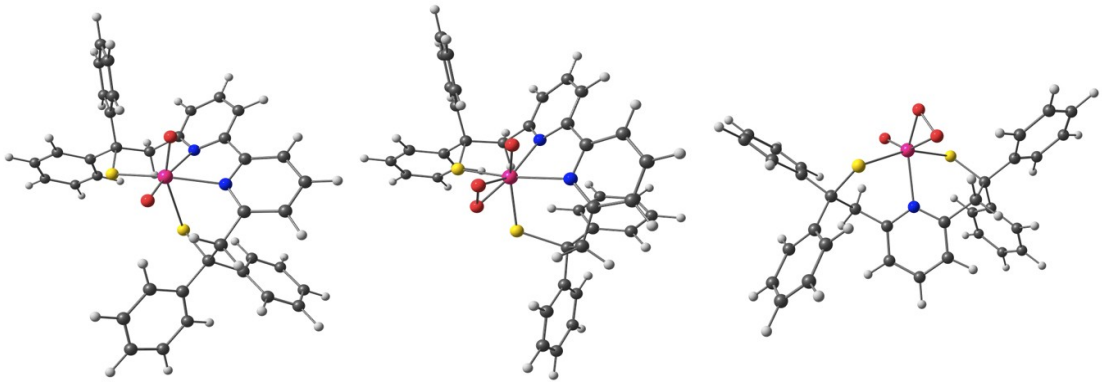


Figure 8. Structures des intermédiaires réactionnels à base de vanadium.

Partie 2.3.4. Complexes de cuivre

Pour une meilleure compréhension du mécanisme catalytique impliquant la réductase de l'oxyde nitreux (N_2Or) [159-163], une approche bio-inspirée a été mise en œuvre afin de développer de composés modèles du site actif de cette enzyme [199-203]. Pour ce faire, nous avons élaboré des complexes dinucléaires de cuivre (Cu(II), S=½, d^9 et Cu(I), S=0, d^{10}) en géométrie pseudo bipyramide à base trigonale coordonnés par des ligands tetra- et trinucléants de nature soufrée et azotée. La nature chimique des ligands faisant l'objet de ces travaux a été pensée de sorte à mimer la structure de la première sphère de coordination du site actif Cu_Z de N_2OR. Le premier ligand qui a pu être synthétisé était tétranucléant et comportait donc un groupement thiophénol combiné à un centre azoté tripodal portant deux unités méthyl-bipyridine. Un complexe a pu être préparé après métallation de ce ligand et sa structure cristallographique a été résolue (Figure 9, a). La caractérisation physico-chimique du système a été réalisée par différentes méthodes (électrochimie, UV-vis et RPE) et des modélisations théoriques (calcul DFT/TD-DFT) ont été entreprises.

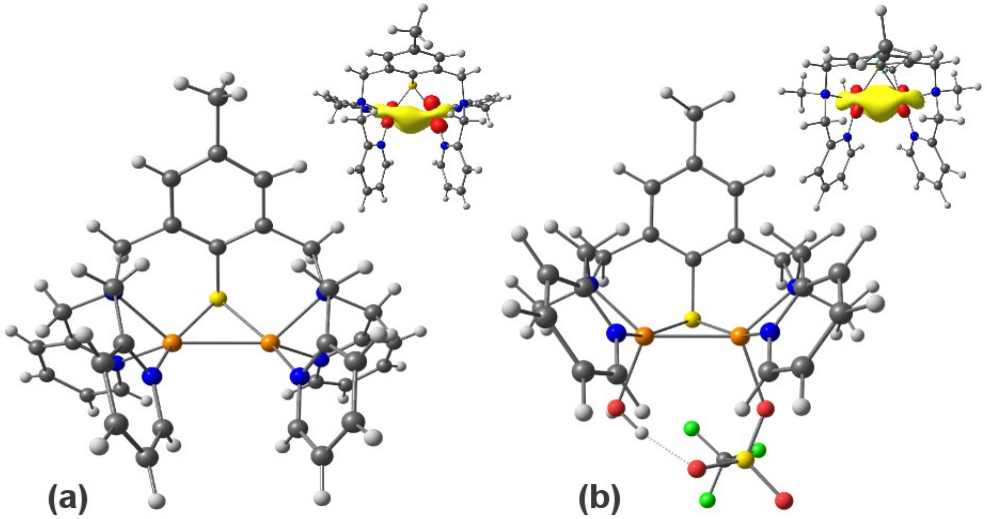


Figure 9. Composés modèles de N_2OR.

Nous avons pu montrer que le composé résultant était une espèce du type Cu(II)-Cu(I) au sein de laquelle une liaison métal-métal était formée entre les deux centres cuivre. La spectroscopie RPE a mis en évidence que ce complexe était paramagnétique (S=½) et qu'il présentait un état de valence délocalisé entre les deux ions cuivre. Ceci fut également confirmé par les modélisations théoriques qui ont prouvé l'existence la liaison Cu-Cu grâce aux analyses de Natural Bond Order (NBO). La cartographie de densité de spin du système indiquait une distribution équitable entre trois sites correspondant aux deux ions cuivre et à l'atome de soufre. Ces données confirmaient que le système pouvait être décrit comme un composé à valence mixte dont l'unité caractéristique serait formellement du type $[Cu^{1.5+}\text{-}Cu^{1.5+}]$. Le comportement de ce système a été étudié en présence de N_2O et on a observé une absence totale de réactivité du complexe vis-à-vis du substrat. La principale cause évoquée pour expliquer ce résultat était la saturation des sphères de coordination de sites métalliques empêchant la fixation de N_2O sur le(s) centre(s) cuivre [réf. ACL 15].

Afin d'évaluer les potentiels facteurs affectant les propriétés catalytiques, différentes modifications de la charpente organique du ligand ont été envisagées. Un ligand trinucléant a été préparé en remplaçant une des unités méthyl-pyridine du centre azoté tripodal par un simple groupement méthyl. Cela a eu pour conséquence de diminuer le nombre d'atomes directement liés aux centres cuivre ce qui devait faciliter la fixation du substrat N_2O sur le complexe dinucléaire résultant [204,205]. La métallation de ce nouveau ligand a permis l'obtention de cristaux qui ont été analysés par diffraction aux rayons X. La structure ainsi résolue montrait la présence d'un complexe dinucléaire de cuivre au sein duquel chaque ion métallique était pentacoordonné par deux atomes d'azote et un atome de soufre, la position vacante sur chacun des ions cuivre étant occupée par une molécule d'eau ou un anion triflate (Figure 9, b).

Les modélisations théoriques couplées aux caractérisations expérimentales ont montré que ce complexe était également un composé à valence mixte dont le motif de base était [$Cu^{1.5+}$-$Cu^{1.5+}$]. Les analyses NBO ont confirmé la présence d'une liaison Cu-Cu ainsi que la délocalisation complète de la densité de spin entre les ions cuivre et le centre soufré. La réactivité du système vis-à-vis de N_2O a été étudiée et l'hypothèse de départ a pu être vérifiée puisqu'un dégagement de N_2 a été observé indiquant la fixation du substrat lorsque le complexe était mis en présence de N_2O [206-209].

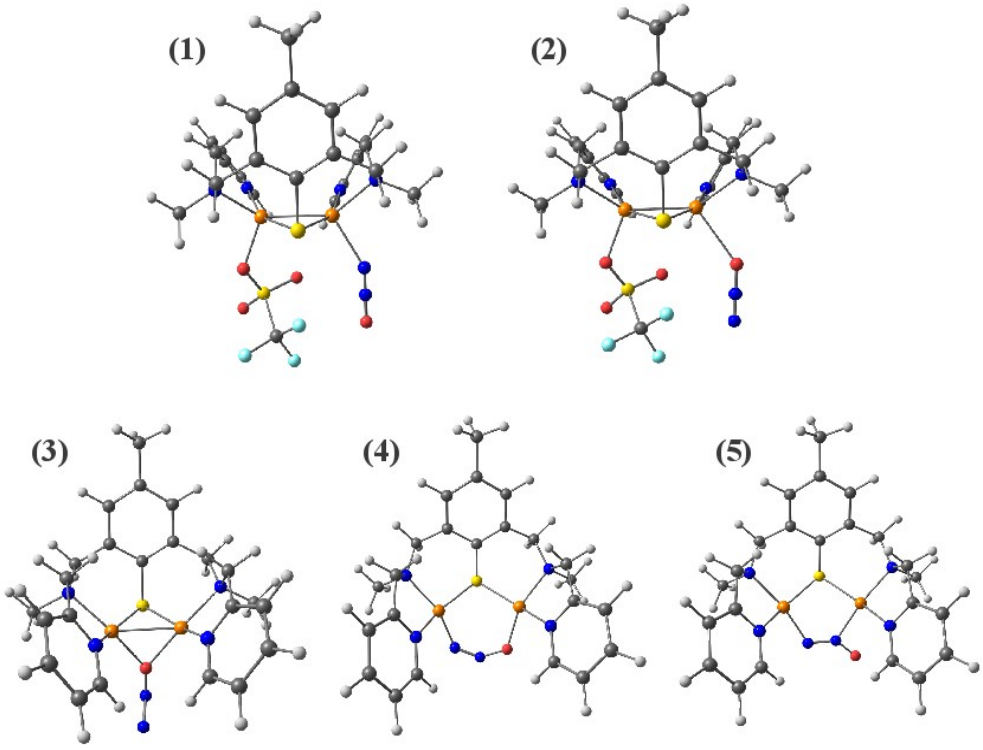


Figure 10. Intermédiaires réactionnels avec N_2O.

Ceci fut également confirmé par les données spectroscopiques d'UV-visible qui ont montré un changement drastique de l'allure du spectre lorsque l'on enregistrait l'évolution de l'absorbance du système mis progressivement à buller dans N_2O. De manière intéressante, un point isobestique fut observé indiquant (i) soit la transformation en une seule étape du complexe de départ en une espèce finale (ii) soit la formation d'un intermédiaire de réaction dont les caractéristiques spectrales étaient similaires au produit de départ. Suivant cette dernière hypothèse, nous avons donc envisagé plusieurs structures d'adduits résultant de la fixation de la molécule de N_2O sur le centre dinucléaire à cuivre du complexe de départ (Figure 10). Les adduits **(1)** et **(2)** correspondaient à une fixation de N_2O en mode chélatant. Ils contenaient tous deux une unité Cu_2S au sein de laquelle un des ions cuivre était coordonné par un anion triflate tandis que l'autre ion cuivre était coordonné par le centre azote ou oxygène de N_2O qui

venait remplacer la molécule d'eau initialement présente dans le complexe. Les adduits **(3**), (**4)** et **(5)** correspondaient à une fixation de N_2O en mode pontant. Ils contenaient tous une unité Cu_2S au sein de laquelle chacun des ions cuivre était coordonné par les centres azoté et/ou oxygène de N_2O qui occupait ainsi les positions laissées vacantes par la molécule d'eau et l'anion triflate du complexe du départ. Des modélisations théoriques ont alors été entreprises sur ces différents intermédiaires réactionnels de manière à déterminer leur stabilité géométrique et électronique et la prédiction de leurs spectres UV-vis a été réalisée pour comparaison directe avec les données expérimentales. Les résultats de ces calculs ont été déterminants puisqu'ils ont permis de mettre en évidence que seule une des structures parmi les cinq proposées correspondait à un système à valence mixte délocalisé possédant une signature UV-vis dont les caractéristiques spectrales étaient en tout point similaires à celles du complexe de départ (Figure 11). Le produit de la réaction entre N_2O et le complexe dinucléaire correspondait donc à l'adduit chélatant **(1)** au sein duquel N_2O est en coordination linéaire η1-N de sorte qu'il est lié à un des ions cuivre par son atome azote. Cet adduit présentait également une distance cuivre-cuivre du même ordre de grandeur que celle présente dans le complexe de départ confirmant que la liaison métal-métal était donc conservée après fixation de N_2O. La structure de l'adduit **(1)** a donc été suggérée comme étant l'intermédiaire de réaction qui était expérimentalement observé, ce qui a permis de proposer un mécanisme complet de réaction pour rationaliser les propriétés catalytiques de notre système en présence de substrat N_2O [réf. ACL 40].

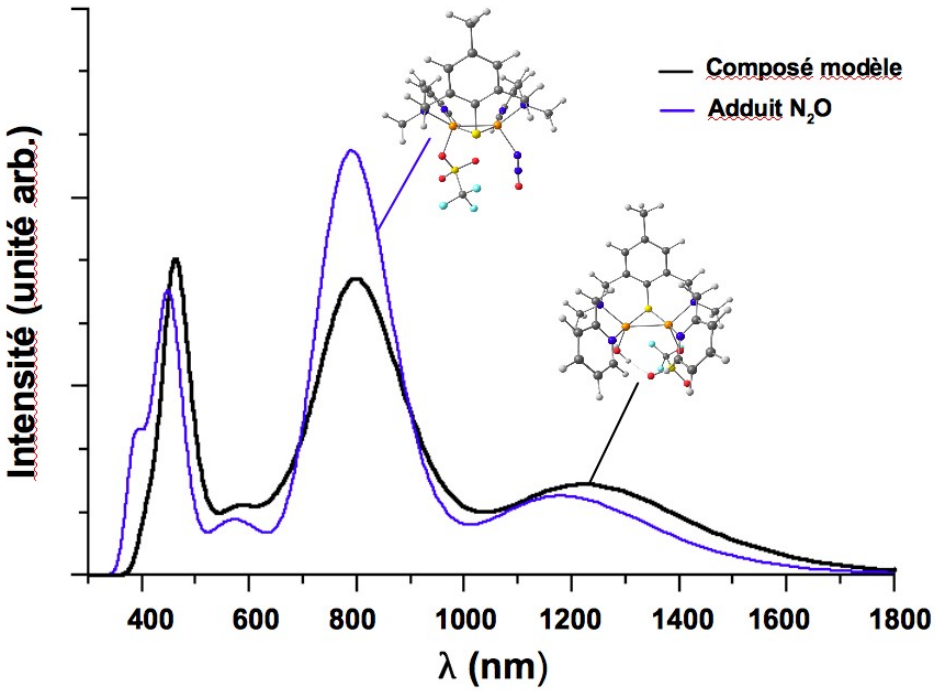


Figure 11. Propriétés optiques du composé modèle de N_2OR et de l'adduit N_2O.

PARTIE 3 : PERSPECTIVES ET PROJET DE RECHERCHE

Dans la continuité des travaux présentés dans le chapitre précédent, mon projet de recherche pour les années à venir sera essentiellement centré sur la modélisation de la structure et des propriétés de systèmes paramagnétiques (composés organiques, complexes de métaux de transition, sites actifs de métalloenzymes) relevant du domaine de la chimie bio-inorganique. Ce projet sera réalisé et s'intègrera au groupe BiosCiences dirigé par le Dr Marius Réglier, au sein de l'Institut des Sciences Moléculaires de Marseille (iSm2, UMR CNRS 7313, directeur Pr Jean Rodriguez) que j'intègrerai dès le mois d'octobre de cette année. Sur la base des travaux que je mène depuis mon entrée au CNRS, je prévois de poursuivre l'essentiel de mes activités de recherche collaboratives en chimie bio-inorganique. Le premier axe autour duquel s'articulera une partie de mon activité scientifique concernera la caractérisation structurale et dynamique d'enzymes à liaison métal-soufre qui seront étudiées en étroite collaboration avec les groupes de recherche grenoblois (DCM et LCBM). Le second axe de recherche que je prévois de développer sera centré sur les métalloenzymes radicalaires qui feront l'objet de nouveaux travaux collaboratifs internationaux, faisant suite à ceux que j'avais précédemment effectués sur ce thème (LBC, Israël). Enfin, le troisième et dernier axe de recherche qui composera une grande partie de mon activité future est directement associée aux thématiques du groupe BiosCiences de l'ISM2 et portera sur la caractérisation expérimentale et théorique de protéines à cuivre. Pour l'ensemble des travaux prévus dans le cadre de ce projet, je continuerai à employer la démarche que j'ai développée jusqu'à présent et qui est basée sur la combinaison de mesures expérimentales et de modélisations théoriques pour la détermination de structures (géométriques et électroniques) et de propriétés (magnétiques et spectroscopiques) d'architectures moléculaires. Plus spécifiquement, je prévois de faire évoluer d'un point de vue technique les aspects théoriques des moyens employés pour la mise en œuvre de cette recherche. Je compte dorénavant faire appel à plusieurs niveaux de calculs pour la caractérisation d'entités telles que les métalloenzymes. Pour l'étude de ce type de systèmes, une première étape consistera généralement à les modéliser par de simples composés biomimétiques. La mise en place de modèles de ce type s'avèrera très informative pour la compréhension des systèmes d'un point de vue local. Cependant, il sera nécessaire d'aller au-delà de ces modèles lorsque l'on souhaitera mettre en évidence des phénomènes plus complexes comme les effets d'environnement. Il en sera de même lorsque l'on visera à une compréhension globale des mécanismes réactionnels mettant en jeu les systèmes étudiés. Dans ce cas précis, il faudra alors s'orienter vers une modélisation dynamique des systèmes ce qui impliquera l'utilisation de méthodes hybrides (ONIOM, QM/MM) [1,2]. Celles-ci permettront de décrire la plus grande partie du système biologique étudié à l'aide de la Mécanique Moléculaire (MM) tandis que le centre actif sera traité via l'utilisation de la Mécanique Quantique (QM). Ces approches couplées se présenteront comme des méthodes de choix pour une approche théorique de la structure et de la réactivité de métalloenzymes.

Partie 3.1. Enzymes à liaison métal-soufre

Ce premier axe de recherche sera décliné en deux sous-thèmes et fera suite aux travaux collaboratifs que j'ai entamés depuis mon recrutement au CNRS. La première partie de cette section sera dédiée à un nouveau système biologique, la nitrogénase tandis que la seconde partie se concentrera sur la métalloenzyme qu'est la réductase de l'oxyde nitreux (N_2Or).

L'azote, comme élément chimique, est rendu disponible aux organismes vivants grâce au processus dit de « fixation de l'azote » [3]. Ce processus correspond à la réduction du N_2 en NH_3 [4]. Bien que le diazote soit le gaz le plus abondant dans l'atmosphère, il a besoin d'être transformé en ammoniac pour être utilisé comme source unique d'azote pour la plupart des composés azotés naturels et industriels. Actuellement, la production catalytique d'ammoniac est réalisée soit par des micro-organismes par l'intermédiaire de l'enzyme nitrogénase (Figure 1) dans des conditions douces, ou industriellement par le procédé Haber-Bosch dans des conditions de température et de pression élevées [5]. Des alternatives à ce processus industriel, basé sur un catalyseur métallique hétérogène, sont activement recherchées car il consomme 1 à 2% de l'énergie utilisée dans le monde chaque année, et produit de grandes quantités de gaz à effet de serre [6]. Depuis plus de trente ans, les chimistes essaient de développer des systèmes catalytiques capables de réaliser la réduction de l'azote dans des conditions douces. A ce jour, le nombre de catalyseurs moléculaires bien définis se limite à trois exemples, deux complexes à base de molybdène et un à base de fer. Leur efficacité reste toutefois très limitée avec un maximum de 12 cycles catalytiques pour le meilleur d'entre eux [7-9].

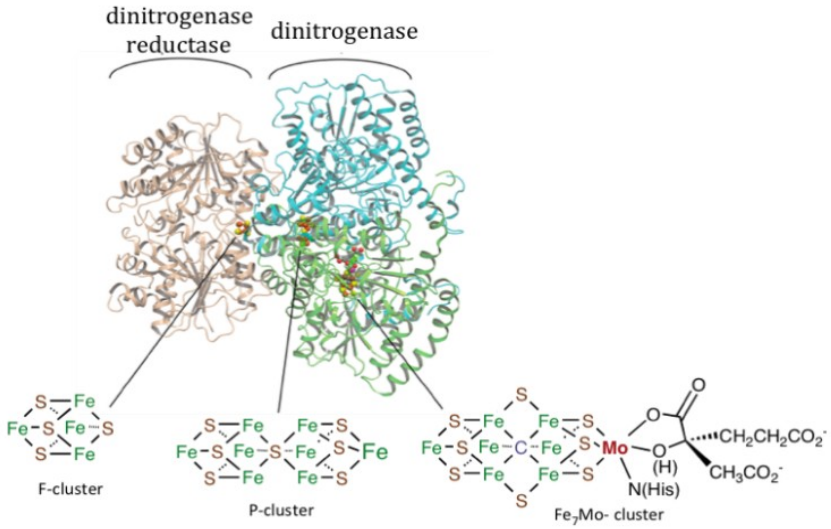


Figure 1. Sites catalytiques de l'enzyme nitrogénase à molybdène.

La nitrogénase est un système enzymatique unique qui permet de réduire de manière catalytique la molécule inerte de diazote (N_2) en ammoniac (NH_3) et en dihydrogène (H_2) [10]. Ce système est constitué de deux composantes : la dinitrogénase réductase contenant le cluster P qui est impliqué dans les processus de transferts d'électrons et la dinitrogénase contenant le site actif de l'enzyme (Figure 1). Ce dernier est un agrégat hétéronucléaire original et riche en soufre du type [7Fe-9S-C-M-homocitrate] (Fe_7M) (M pouvant être du molybdène, du fer ou du vanadium selon le type de nitrogénase considérée) [11-14]. Le mécanisme permettant à la nitrogénase d'exercer son activité enzymatique est considéré comme particulièrement élaboré et cela fait l'objet de nombreux travaux dans plusieurs groupes de recherche de par le monde. Expérimentalement, il a été démontré que la réduction de N_2 en NH_3 réalisée par la nitrogénase nécessitait huit étapes impliquant, au minimum, neuf états différents de l'enzyme [10] (Figure 2). Plus récemment, l'intermédiaire E_4H_4 qui est généré après stockage de 4 électrons et de 4 protons a pu être caractérisé [15]. Cette espèce contient deux motifs hydrures pontants (Fe-H-Fe) ainsi que deux protons localisés au niveau des ponts soufrés. De plus il a été montré que E_4H_4 était directement impliqué dans le processus de fixation de N_2 sur le cluster Fe_7M.

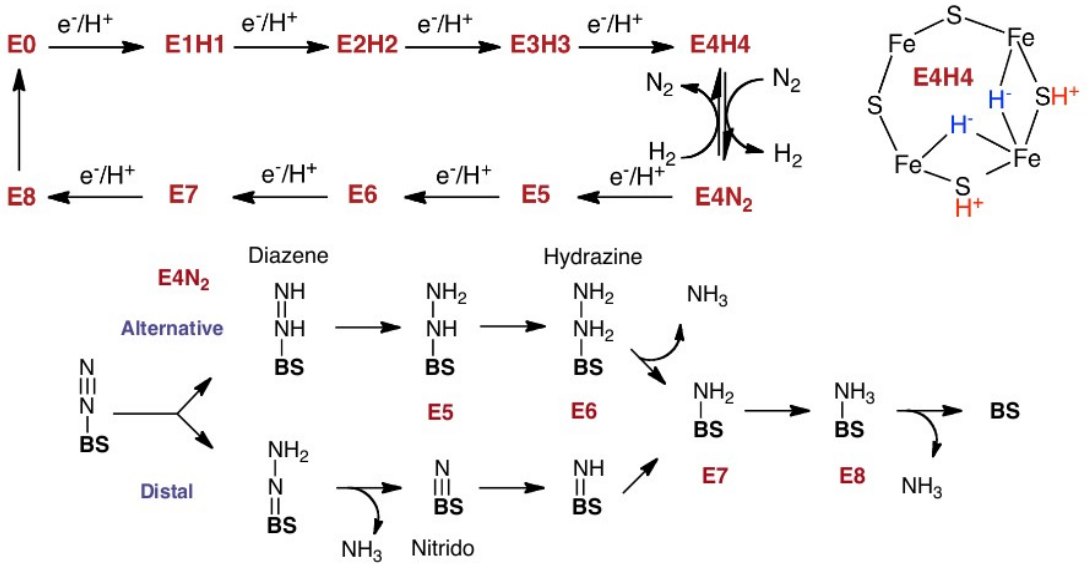


Figure 2. Mécanisme réactionnel de la réduction du diazote en ammoniac.

Du point de vue mécanistique, il est actuellement proposé que N_2 se fixe sur l'atome de fer de l'agrégat Fe_7M entrainant l'élimination réductive de H_2 provenant des unités Fe-H-Fe. Par la suite, la réduction de N_2 se produit selon la voie alternative impliquant la formation d'espèces de type hydrazine et hydrure. *A priori*, le centre M ne jouerait aucun rôle lors du processus catalytique [16]. Ce mécanisme permettrait de rationaliser la

plupart des données expérimentales concernant la nitrogénase. Néanmoins, de nombreux points restent à clarifier, notamment en ce qui concerne la réactivité de ces enzymes. En effet, il a été montré que celle-ci pouvait être très différente selon la nature du centre M considéré, les nitrogénases pouvant réduire une grande variété de substrats mais avec une sélectivité variable [17-19]. De grandes avancées ont été réalisées pour ce qui est de la compréhension du mécanisme d'action de la nitrogénase. L'origine et le rôle des espèces hydrures ont pu être rationalisés mais il reste encore à déterminer quel est le rôle exact du centre M lors du processus catalytique et quelle est la voie mécanistique (distale ou alternative) qui permet l'activation et la réduction de N_2.

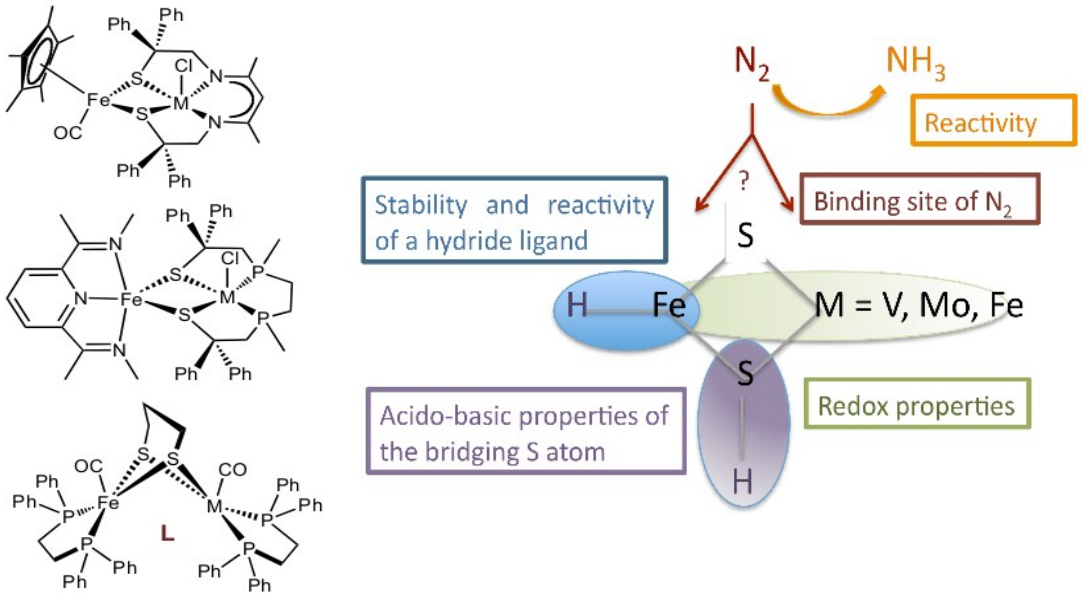


Figure 3. Composés modèles et stratégie d'étude de la nitrogénase.

Dans ce contexte, à travers le développement de complexes innovants, nos objectifs sont d'améliorer la compréhension du mécanisme d'action de la nitrogénase et de développer un système moléculaire capable de réduire catalytiquement N_2 en NH_3 dans des conditions douces. Notre approche est de développer une nouvelle famille de complexes hétérodinucléaires V/Fe [20-23] avec des ligands possédant des fonctions thiols afin de modéliser une partie du site actif de la nitrogénase, ainsi que les complexes isostructuraux correspondants dans lesquels l'ion V est remplacé par un ion Mo ou Fe (Figure 3). la stratégie adoptée consiste à élaborer des complexes incorporant toutes les caractéristiques structurales supposément nécessaires à une réactivité avec N_2 : un site à fer pour générer les espèces hydrures [24], un site à vanadium permettant la stabilisation des bas degrés d'oxydation et des ligands thiolates pour former les ponts soufrés pouvant jouer le rôle de

relayeur d'électrons comme cela est proposé dans le cas de la nitrogénase [25]. Ce projet implique la conception et l'étude détaillée de complexes hétérodinucléaires qui seront caractérisés de manière complète du point de vue expérimental (diffraction RX, électrochimie, spectroscopies UV-vis et RPE). La réactivité de ces complexes sera étudiée à travers leur capacité à générer des hydrures et à réagir avec N_2 afin d'évaluer leurs performances pour réduire le diazote. La modélisation théorique des systèmes sera réalisée tout au long du projet et les calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT) seront effectués pour analyser la structure (géométrique et électronique) et les propriétés (rédox et catalytiques) de ces espèces. L'étude systématique de la série de complexes V/Fe va nous permettre d'établir des corrélations magnéto-structurales et de rationaliser les données expérimentales par comparaison avec les données issues des calculs de chimie quantique. La modélisation théorique des espèces résultant de la réaction entre les complexes hétérodinucléaires et N_2 sera également réalisée. La combinaison des méthodes expérimentales et théoriques permettront de déterminer le(s) mécanisme(s) réactionnel(s) le(s) plus pertinent(s) ce qui donnera accès à des informations concernant le processus d'activation et de réduction de N_2. Pour ce faire, différents intermédiaires réactionnels correspondant à la fixation de N_2 sur les complexes à l'étude seront envisagés et modélisés. La recherche des états de transition connectant ces intermédiaires avec les réactifs et les produits de la réaction avec N_2 sera effectuée. Une fois le profil de réaction exploré, le chemin réactionnel le plus favorable du point de vue énergétique sera sélectionné pour comparaison avec les données expérimentales disponibles. En l'absence de données expérimentales, seules les données théoriques seront utilisées pour identifier la structure et les propriétés des espèces inconnues. Enfin, des études seront également réalisées pour tester la réelle potentialité de la série de complexes V/Fe en tant que modèle du site actif de la nitrogénase. Les complexes mis au point seront incorporés au sein de matrices protéiques et l'activité catalytique des systèmes résultants sera étudiée en détail. Dans ce cadre-là, l'approche théorique qui sera adoptée pour compléter la caractérisation expérimentale de ces architectures de grande taille consistera à modéliser le système dans son ensemble grâce aux méthodes mixtes (ONIOM, QM/MM) [1,2]. Par la suite, les propriétés moléculaires des complexes optimisés dans la matrice protéique ainsi que leur réactivité vis-à-vis de N_2 seront modélisées grâce aux calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TDDFT). L'ensemble des résultats qui seront obtenus à partir ces études devrait nous amener à une meilleure compréhension du processus d'activation et de réduction de N_2 par la nitrogénase. Cela devrait ainsi permettre de définir clairement le rôle de M, d'identifier le mécanisme de clivage de la triple liaison N≡N (voie distale ou alternative) et de déterminer l'implication des potentielles espèces hydrures au cours de la réaction.

L'axe de recherche relatif aux enzymes à liaison métal-soufre comportera un second sous-thème se trouvant dans la continuité même des travaux que j'ai menés sur la réductase de l'oxyde nitreux (N_2Or) [26-30]. Ces activités de recherche collaboratives consisteront en l'étude de la réaction de réduction de l'oxyde nitreux (N_2O) par des complexes de cuivre bio-inspirés. Dans un contexte environnemental plus large, l'objectif est de concevoir des catalyseurs actifs et efficaces dans le domaine de la remédiation de N_2O. Le protoxyde d'azote étant reconnu comme un polluant majeur [31,32], ce projet a pour but de préciser la nature des paramètres électroniques et/ou structuraux nécessaires à la fixation et la réduction de N_2O, d'étudier en détail le mécanisme réactionnel et d'élaborer un système catalytique. Pour cela, nous allons continuer à nous inspirer de la réductase de l'oxyde nitreux qui est capable de réduire N_2O en utilisant un site actif unique comportant un centre tétranucléaire de cuivre de type μ_4-sulfido [33-36]. A ce jour, le mécanisme au niveau de la métalloprotéine reste sujet à de nombreuses controverses (Figure 4). Des travaux antérieurs ayant montré que seuls deux ions cuivre, ainsi que l'atome de soufre étaient nécessaires à la réaction [37-39], nous avions décidé d'adopter une approche « minimaliste » du site actif.

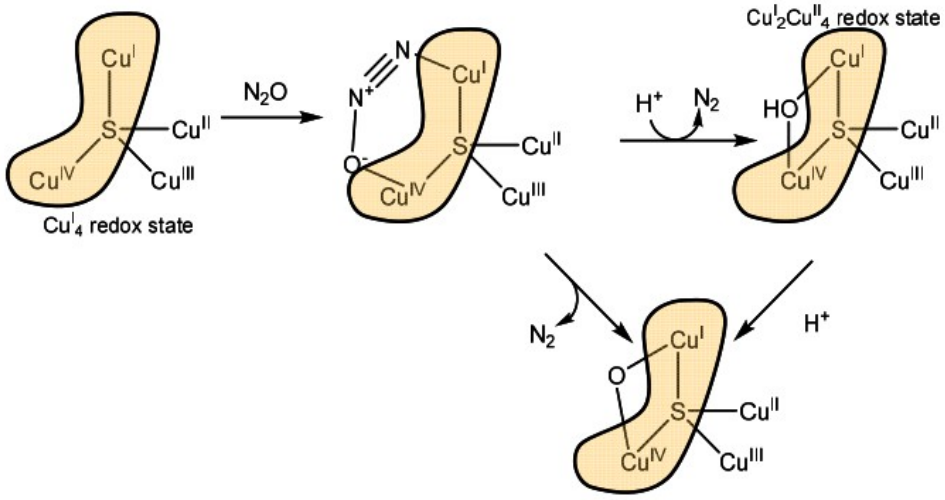


Figure 4. Proposition de mécanisme pour la réduction du protoxyde d'azote en diazote.

Les travaux que nous avons réalisés sur ce sujet ont permis d'isoler et de caractériser de manière complète le premier complexe dinucléaire de cuivre possédant un cœur [Cu_2S] supposé être impliqué dans la réactivité. Malheureusement ce complexe s'est avéré ne pas être réactif vis-à-vis du substrat. Il a donc été modifié de manière à introduire des positions facilement échangeables au niveau de la première sphère de coordination. Ceci nous a permis d'isoler un nouveau complexe qui s'est révélé sensible à N_2O et, pour la première fois, la réduction du substrat par une entité modèle « minimaliste » du site actif de la N_2Or a été observée [réfs. ACL 15 et 40].

Nous souhaitons poursuivre dans cette voie prometteuse en étudiant plus en détail le mécanisme de la réaction. Pour ce faire, nous emploieront la démarche mixte présentée tout au long de ce manuscrit et qui consiste à combiner les approches expérimentales et théoriques dans le but d'identifier et de caractériser la structure et les propriétés d'éventuels intermédiaires. De ces résultats pourront découler des propositions sur le mécanisme réactionnel de l'enzyme. Par ailleurs, afin de préciser l'influence de la première sphère de coordination sur la réactivité, de nouveaux composés basés sur de ligands originaux à caractère plus ou moins électro-donneur seront mis au point. Les systèmes visés seront des complexes dinucléaires de cuivre coordonnés par des ligands de nature soufrée et azotée dont la charpente organique sera modifiée du point de vue chimique pour une meilleure efficacité catalytique (Figure 5). Parmi les modifications possibles, nous considèrerons la substitution du groupement situé en position *para* du cycle thiophénol (Z) par diverses fonctions (ester, amine ou halogène). On envisagera aussi une modulation des centres azotés coordonnants via l'introduction de nouveaux groupes fonctionnels (carbène, pyridine, imidazole, amine aliphatique ou phényl). En effet, la réduction de N_2O étant un processus centré sur le métal, l'influence exercée par la première sphère de coordination est d'un intérêt primordial si l'on souhaite identifier les potentiels facteurs électroniques qui peuvent être modulés pour améliorer la réactivité des composés étudiés.

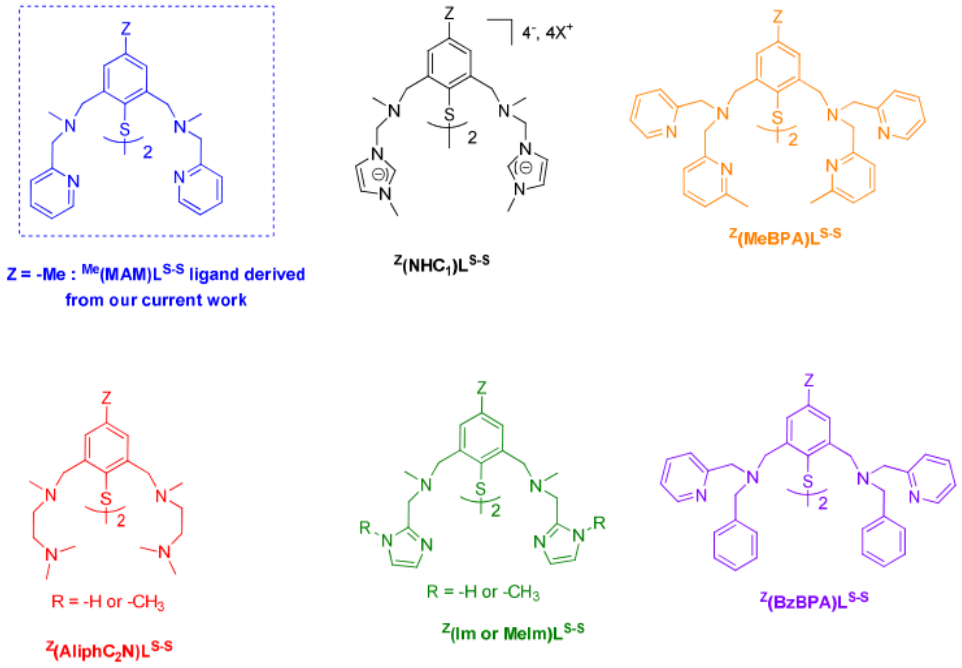


Figure 5. Modulation chimique des ligands.

Un autres point qui nous intéressera tout particulièrement concernera le rôle joué par les ligands échangeables situés en position axiale du plan formé par le cœur réactif [Cu_2S]. Différents ligands, de nature chimique variable, vont être envisagés dans le but d'évaluer leur influence sur l'efficacité catalytique des complexes ainsi mis au point (Figure 6). L'élaboration de ces différents composés nécessitera un important travail de synthèse et de caractérisation.

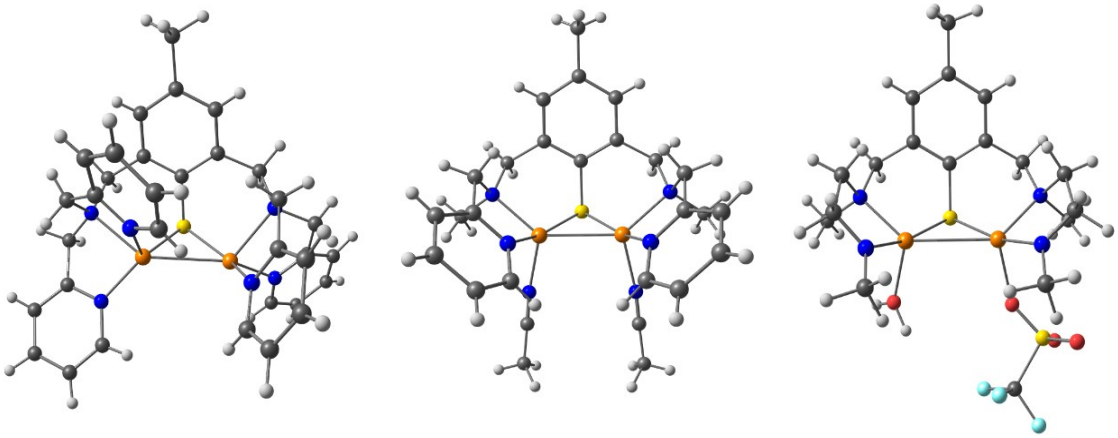


Figure 6. Complexes modèles de N_2OR.

La modélisation théorique sera partie prenante pour l'ensemble de ces travaux de recherche et cela à plusieurs niveaux. Les calculs de chimie quantique seront systématiquement mis en œuvre pour la caractérisation de la structure et des propriétés des complexes isolés, mais aussi pour l'étude de leur réactivité. Nous nous intéresserons aux adduits qui seront générés après réaction entre les complexes dinucléaires de cuivre et N_2O. Nous envisagerons différents intermédiaires réactionnels résultant de la fixation de la molécule de N_2O sur l'unité Cu_2S et nous rechercherons les états de transition connectant ces intermédiaires avec les réactifs et les produits de la réaction avec le protoxyde d'azote. Une fois le profil de réaction exploré, nous déterminerons le(s) chemin(s) réactionnel(s) le(s) plus pertinent(s) afin de le(s) comparer avec les données expérimentales disponibles. A terme, cela nous permettra d'établir des corrélations magnéto-structurales et de rationaliser les données expérimentales par comparaison avec les données issues des calculs de chimie quantique. Par ailleurs, une étude purement théorique sera également menée dans le but d'évaluer de manière calculatoire l'influence de divers paramètres sur la réactivité (distance métal/métal, nombre et nature des atomes coordonnants, ...). Ces travaux viendront compléter ceux effectués du point de vue expérimental dans le but de fournir des pistes quant à l'affinement du motif requis pour la réactivité. L'ensemble des résultats qui seront obtenus à partir ces études devrait nous amener à une meilleure compréhension du processus de réduction de N_2O par la réductase de l'oxyde nitreux.

Partie 3.2. Métalloenzymes radicalaires

Ce second axe de recherche sera dédié à un nouveau système biologique, le photosystème II (PSII). Cette activité de recherche aura pour point de départ les travaux collaboratifs que j'ai réalisés sur les modèles biomimétiques de la galactose oxydase. Pour ces études, nous ferons également appel à la méthodologie qui avait été développée pour la prédiction des propriétés moléculaires (magnétiques et spectroscopiques) de systèmes oligonucléaires. De nos jours, la recherche d'énergies renouvelables en tant qu'alternative aux ressources fossiles constitue un vrai challenge scientifique. [40,41] De nouvelles connaissances dans les domaines de la production et de la transformation de l'énergie sont donc nécessaires pour traiter de cette problématique sur le long terme. Parmi les potentielles sources d'énergies renouvelables, l'énergie solaire est de loin la ressource la plus largement exploitable. Si l'énergie solaire est utilisée comme principale alternative aux ressources fossiles, il est nécessaire de pouvoir la stocker et de la rendre accessible sur demande. Une approche particulièrement intéressante consiste en un stockage sous forme de liaison chimique comme dans le cas de la conversion de la lumière en dihydrogène, un combustible chimique riche en énergie. Dans la nature, de tels processus ont lieu dans les plantes et dans les algues via la réaction de photosynthèse. Au cours de celle-ci, l'absorption de lumière par les organismes phototrophiques enclenche une série de processus énergétiques et de transferts d'électrons qui conduit à l'oxydation de l'eau en dioxygène. Cette réaction fournit les électrons et les protons nécessaires à la conversion de dioxyde de carbone en glucides dans les plantes. Elle permet également la réduction subséquente de ces protons en dihydrogène moléculaire dans les algues et les cyanobactéries. L'oxydation de l'eau en dioxygène en présence de lumière est donc un processus relativement complexe [42,43]. Dans les plantes, la nature fait appel à une entité particulièrement sophistiquée, le photosystème II, qui catalyse de manière efficace l'oxydation de l'eau en présence de lumière [44-50] (Figure 1). Le PSII est un complexe enzymatique qui capture l'énergie lumineuse et qui arrache des électrons et des protons à la molécule d'eau pour produire du dioxygène. Le PSII est constitué de trois parties : le P680 qui est une unité photo-chimique à séparation de charge composée de pigments chlorophylliens ; un motif de type accepteur d'électrons incorporant les cofacteurs quinone et phéophytine et une unité catalytique, le complexe d'oxydation de l'eau (OEC), qui est un agrégat tétranucléaire de manganèse (Mn_4O_4Ca) à partir duquel les électrons sont pompés puis accumulés en quantité suffisante pour convertir l'eau en dioxygène [51,52] (Figure 2).

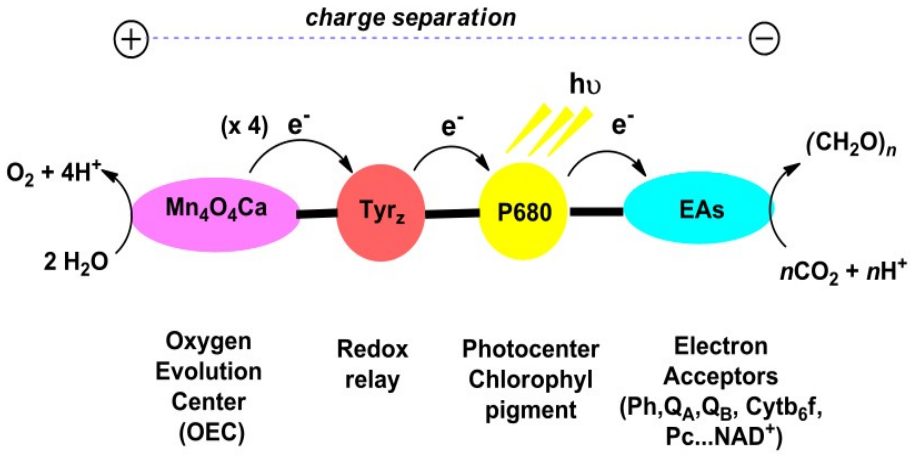


Figure 1. Processus photosynthétique dans le PSII.

Ces dernières années, de nombreux travaux de recherche ont été consacrés à l'élaboration de composés biomimétiques présentant une activité catalytique similaire à celle du complexe d'oxydation de l'eau [50]. Dans la littérature, on trouve ainsi de nombreux exemples de systèmes polynucléaires à base de manganèse mais peu d'entre eux sont capables d'activer la conversion de l'eau en dioxygène, encore moins en présence d'énergie lumineuse [53-56]. C'est dans ce contexte que se positionne le présent axe de recherche qui vise au développement de catalyseurs métalliques pour la réaction d'oxydation de l'eau.

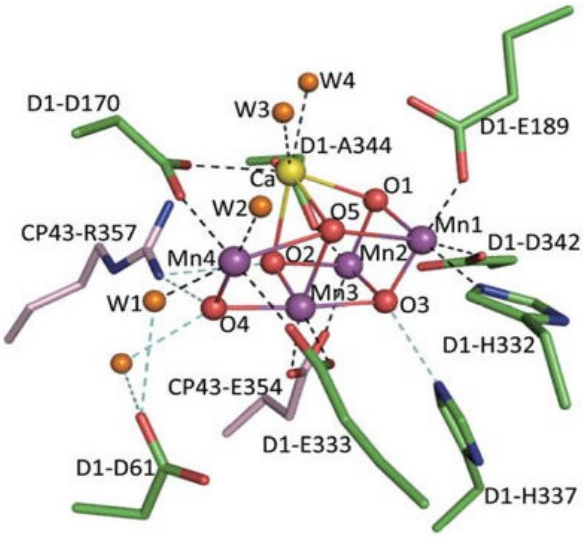


Figure 2. Site catalytique du complexe enzymatique PSII.

Nous avons précédemment présenté les résultats des travaux que nous avons menés sur des systèmes contenant des ligands non-innocents de type bis-salicylamide [réfs. ACL 24 et 31]. Ces composés se caractérisaient par la présence de fonctions amides au niveau de l'espaceur et pouvaient présenter un ou deux sites de coordination pour le centre métallique. Ces ligands étaient particulièrement intéressants de par leur nature chimique qui pouvait induire une potentielle versatilité du site d'oxydation après métallation [57-62]. Ils constituent naturellement le point de départ des travaux de recherche que nous allons entreprendre pour mimer le site catalytique du Photosystème II. Nous allons utiliser ces ligands polyanioniques macrocycliques comme plateforme pour le développement de complexes dinucléaires de manganèse pouvant présenter de hauts degrés d'oxydation et un fort pouvoir oxydant [63-68]. Ces ligands ont été modifiés chimiquement au niveau des unités phénolates de manière à pouvoir permettre la coordination de nouvelles entités du type complexe de ruthénium tris-bipyridine. L'élaboration de ces complexes consiste en un assemblage supramoléculaire incorporant deux centres de manganèse environnés par des ligands chélatants qui comportent à la fois des fonctions phénolates nécessaires au transfert d'électrons en présence de lumière vers le centre ruthénium [69-71] mais aussi des fonctions amidates cruciales pour la stabilisation de centres métalliques à haut degré d'oxydation [72-75] (Figure 3). Les composés ainsi mis en œuvre se présentent donc comme des édifices photosynthétiques artificiels dans la mesure où ils incorporent trois des principales composantes du PSII : un centre photo-actif (complexe de Ru), un cofacteur rédox (unités phénolates du ligand) et un centre catalytique (motif dinucléaire de manganèse).

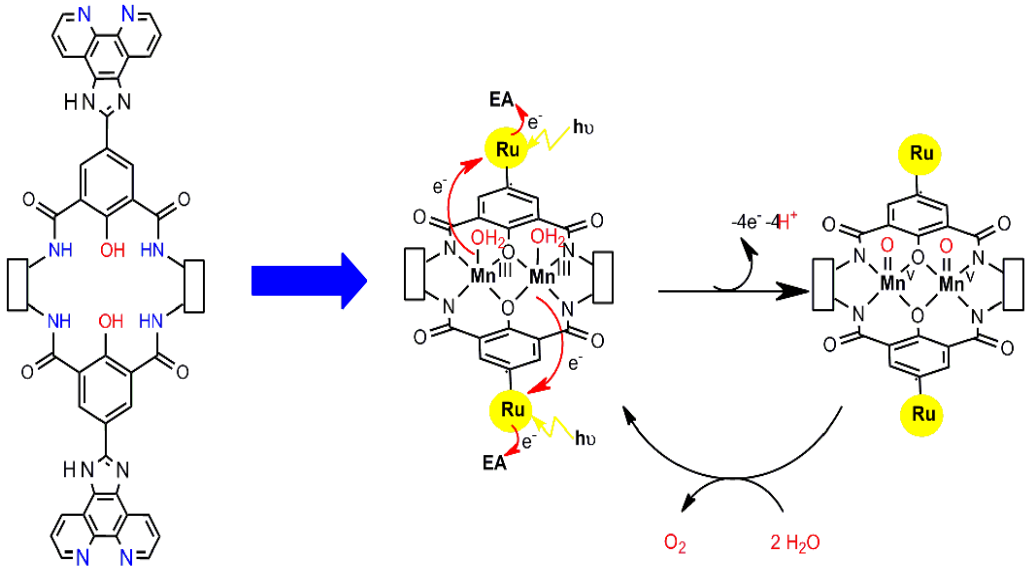


Figure 3. Assemblage supramoléculaire modèle de l'OEC.

Ce projet implique la conception et l'étude détaillée de complexes dinucléaires qui seront caractérisés du point de vue expérimental (diffraction RX, électrochimie, spectroscopies UV-vis, Raman et RPE). La réactivité de ces complexes sera étudiée à travers leur capacité à réagir avec H_2O et à générer du dioxygène. Leurs propriétés catalytiques seront explorées afin d'évaluer leurs performances pour la réaction d'oxydation catalytique de l'eau en présence ou en l'absence de lumière. La modélisation théorique sera partie prenante pour l'ensemble de ces travaux de recherche. Des calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT) seront effectués pour analyser la structure (géométrique et électronique) et les propriétés (rédox et catalytiques) de ces espèces. Plus particulièrement, la modélisation des observables magnétiques et spectroscopiques de ces édifices sera réalisée à l'aide de la méthodologie développée pour la prédiction des propriétés moléculaires de systèmes polynucléaires de manganèse [réfs. ACL 3 et 4]. L'étude systématique de la série de complexes dinucléaires de manganèse va nous permettre d'établir des corrélations magnéto-structurales et de rationaliser les données expérimentales par comparaison avec les données issues des calculs de chimie quantique. La modélisation théorique des espèces résultant de la réaction entre ces complexes et H_2O sera également réalisée. La combinaison des méthodes expérimentales et théoriques permettront de déterminer le(s) mécanisme(s) réactionnel(s) le(s) plus pertinent(s) ce qui donnera accès à des informations concernant le processus d'activation et d'oxydation de l'eau par ces systèmes. Les entités qui seront élaborées selon cette stratégie présentent donc un fort potentiel pour réaliser des réactions d'oxydation dirigées par la lumière grâce à la présence conjuguée de ligands non-innocents, permettant de stabiliser des espèces manganèse à haut degré de valence, et d'unités photosensibles à base de ruthénium, permettant le transfert rapide d'électrons entre les centres manganèse et ruthénium. Ces assemblages supramoléculaires peuvent être donc considérés comme de potentiels mimes structuraux et fonctionnels du complexe d'oxydation de l'eau.

Cet axe de recherche servira également de base pour une partie des travaux que je compte mener au sein de l'ISM2. En effet, la réaction de photosynthèse est un processus qui intéresse particulièrement le groupe ChiroSciences dirigé par le Pr Silviu Balaban dont c'est l'un des thèmes majeurs. Ce groupe est spécialisé dans le domaine des composés photosynthétiques artificiels. Ils développent des systèmes macrocycliques à base de porphyrines et de chromophores qui sont, par la suite, assemblés avec des modèles biomimétiques du complexe d'oxydation de l'eau [76-79]. Les édifices résultants comportent trois unités distinctes (antenne, connecteur rédox et centre catalytique) qui en font de bons systèmes modèles du centre catalytique du PSII. Il est prévu de réaliser la modélisation théorique de ces systèmes et les calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT) seront effectués pour analyser la structure et les propriétés de ces espèces. La prédiction des observables magnétiques et spectroscopiques de ces édifices sera également réalisée à l'aide de la méthodologie développée pour l'étude des propriétés moléculaires de systèmes polynucléaires de manganèse [réfs. ACL 3 et 4].

Partie 3.3. Protéines à cuivre

Ce troisième et dernier axe de recherche sera dédié à l´étude d'une nouvelle classe d'enzymes, les Polysaccharide MonoOxygénases (PMO). Ces travaux seront réalisés dans le cadre de mon intégration dans le groupe BiosCiences de l'Institut des Sciences Moléculaires de Marseille. Les thématiques du groupe BiosCiences, composé de chimistes, biochimistes et biologistes, sont tournées vers la Chimie du Vivant, avec un intérêt plus particulier pour les métalloenzymes et la bio-catalyse selon une approche pluridisciplinaire. Le principal objectif du groupe est la compréhension des relations entre la structure et la fonction des métalloenzymes ainsi que de leur mécanisme. Au-delà de cet aspect fondamental, le groupe s'intéresse aussi au développement d'enzymes utilisables comme bio-catalyseurs en chimie fine et en bio-technologie, ainsi qu'au développement de catalyseurs biomimétiques. Les compétences du groupe BiosCiences sont reconnues dans le domaine des monooxygénases à cuivre, des oxydases à cuivre, de la catalyse bio-inspirée, et de bio-catalyse.

Face aux ressources limitées et au non-renouvellement des énergies fossiles, il devient urgent de développer de nouvelles méthodes de production d'énergies nouvelles. Une des voies explorées à l'heure actuelle consiste à convertir la biomasse végétale en biocarburant. Traditionnellement, les biocarburants de première génération sont produits à partir de la biomasse glucidique. Les technologies de production de ces biocarburants ainsi que leurs filières de distribution sont bien maitrisées. Cependant, leur réelle durabilité a été remise en cause et leur empreinte carbone n'est pas aussi basse qu'espérée. Face à ces inconvénients, les efforts se tournent désormais vers les biocarburants durables de seconde génération qui sont obtenus à partir de ressources alternatives abondantes, peu chères et renouvelables. La biomasse cellulosique est potentiellement une source abondante de sucres fermentables nécessaires à la production de ces biocarburants [80,81]. A l'échelle industrielle, l'utilisation de cette source alternative pour la production de biocarburants est encore limitée en raison du coût élevé et de la lenteur de sa bioconversion enzymatique en monosaccharides. La lignocellulose est un biomatériau complexe caractérisé par sa récalcitrance à l'hydrolyse enzymatique, du fait de son caractère non-soluble dans l'eau et de la faible accessibilité des cellulases aux liaisons osidiques à hydrolyser. Les procédés d'hydrolyse enzymatique actuels utilisent des cocktails d'enzymes qui sont encore peu rentables économiquement. Les recherches actuelles se concentrent ainsi sur l'optimisation de cette étape d'hydrolyse. Les travaux de recherche qui sont développés dans le groupe BiosCiences s'inscrivent ainsi dans un cadre général et consistent en l'étude des enzymes PMOs [82] et de leur potentielle application en bio-catalyse. En effet, ces enzymes à cuivre sont le chaînon manquant à la compréhension globale de la dégradation de la cellulose par les champignons et les bactéries. Les applications industrielles de ces enzymes en bio-catalyse sont très prometteuses compte tenu du contexte socio-économique.

Les enzymes de la famille 61 des Glycoside Hydrolases (GH61) sont des monooxygénases catalysant le clivage oxydatif de la cellulose grâce à l'activation du dioxygène au sein de leur site actif, en présence d'équivalents réducteurs. Bien qu'initialement proposées comme appartenant à la famille des glycoside hydrolases, les GH61 sont en réalité des Polysaccharide MonoOxygénases (PMO) [83-85]. De récentes études menées sur les GH61 ont permis d'apporter une réponse claire et non ambigüe quant à la nature de l'ion présent au sein du site actif. Il a notamment été montré que ce centre métallique était un ion cuivre de classe II et qu'il était nécessaire à l'activité enzymatique. L'enzyme comporte une surface plate à laquelle se fixe le substrat (la cellulose) et où se trouve le site actif (Figure 1). La topologie du site actif est unique dans la famille des oxygénases à cuivre. L'ion cuivre(II) est coordonné par une tyrosine et deux histidines, notamment celle se trouvant en position *N*-terminale. De manière surprenante, l'histidine *N*-terminale est un ligand de type bidentate qui se lie à l'ion cuivre(II) à la fois par un azote de la chaîne latérale de l'histidine, mais aussi par l'azote de la fonction amine *N*-terminale. Cette histidine *N*-terminale porte aussi une modification post-traductionnelle : elle est méthylée en position *N*-ε-2, ce qui est sans précédent pour un résidu histidine lié à un ion cuivre. Les conséquences mécanistiques et fonctionnelles de cette méthylation restent encore à éclaircir [86].

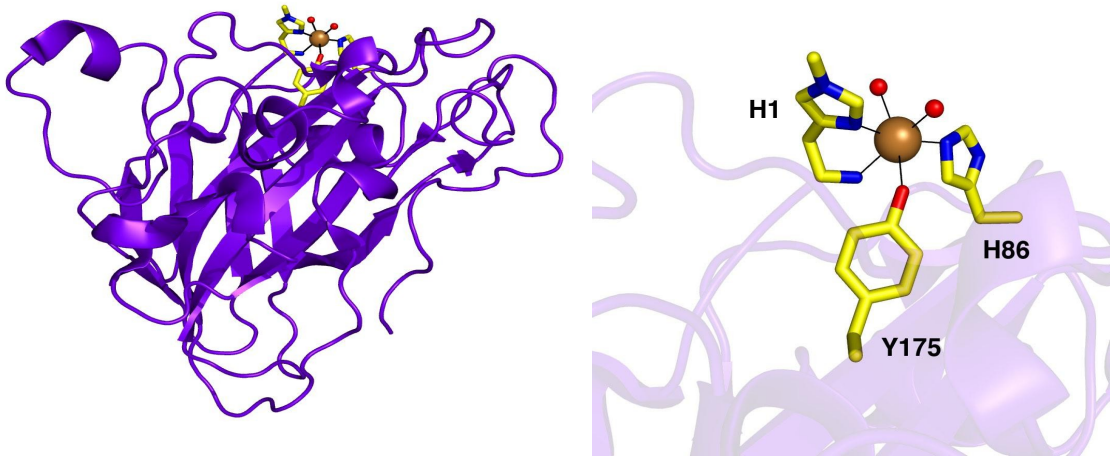


Figure 1. Structure globale et site actif d'une GH61.

Récemment, un mécanisme détaillé de l'activation du dioxygène par ces enzymes a été proposé mais aucune des étapes de ce mécanisme n'a été prouvée dans le cas des GH61 [87-89]. Dans ce mécanisme, l'ion Cu(II) est dans un premier temps réduit en Cu(I), ce qui permet au dioxygène de se lier. Le composé Cu(I)-O_2 ainsi formé subit ensuite un transfert d'électrons interne pour donner l'espèce réactive cuivre superoxo Cu(II)-$OO^{\bullet}$ [90]. Il s'ensuit une abstraction d'hydrogène du substrat produisant un intermédiaire cuivre hydroperoxo Cu(II)-OOH et un radical sur le substrat. Une réduction subséquente de cet intermédiaire favorise le clivage de la liaison O-O et génère ainsi un intermédiaire

cuivre oxo Cu(II)-O•, en plus d'une molécule d'eau [91]. Une recombinaison de cet intermédiaire avec le radical présent sur le substrat, suivie d'une protonation conduit au produit hydroxylé qui évolue ensuite vers la coupure de la chaîne polysaccharidique (Figure 2). La vraie nature des polysaccharide monooxygénases n'a été dévoilée que très récemment. Ces monooxygénases à cuivre sont des enzymes particulièrement originales grâce à la structure de leur site actif leur conférant une réactivité spécifique. Cependant, de nombreuses questions restent en suspens quant à leur mécanisme d'activation du dioxygène et d'hydroxylation de leur substrat ou concernant la structure de leur site actif en relation avec leur réactivité.

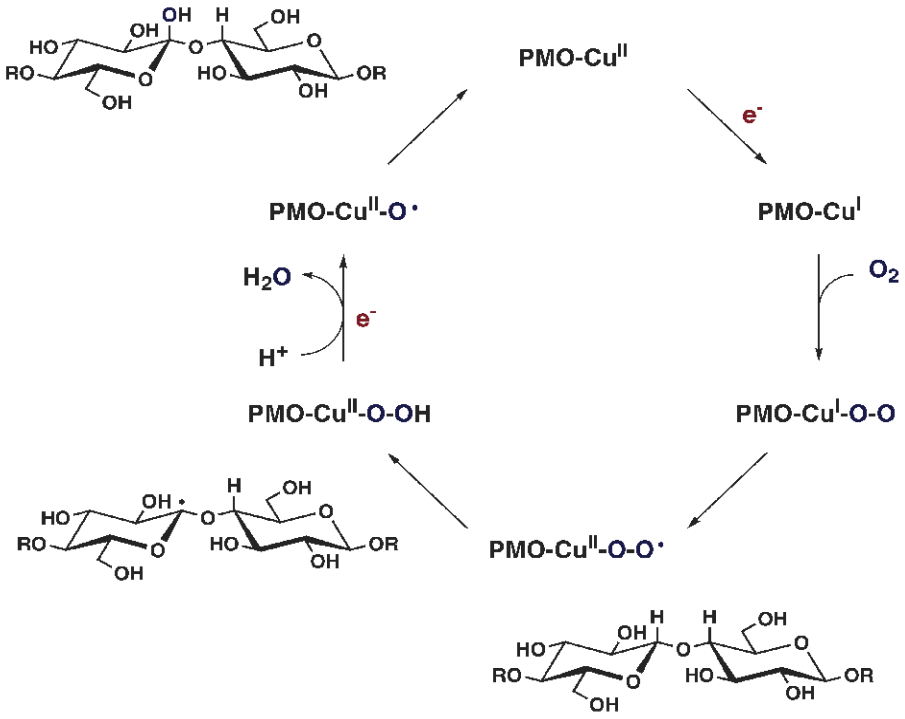


Figure 2. Proposition de mécanisme pour les PMOs.

Ce projet consiste ainsi en l'étude détaillée de la structure, des propriétés et du mécanisme réactionnel impliquant les enzymes de la famille des polysaccharide monooxygénases. Dans un premier temps, une approche biomimétique et bio-inspirée de ces systèmes sera développée. Pour ce faire, des complexes mononucléaires à cuivre seront élaborés et caractérisés de manière complète du point de vue expérimental (diffraction RX, électrochimie, spectroscopies UV-vis et RPE). Les complexes qui seront mis au point incorporent tous des ligands de nature azotée qui sont supposés mimer la structure de la première sphère de coordination du centre métallique constituant le site actif des PMOs [92-94] (Figure 3).

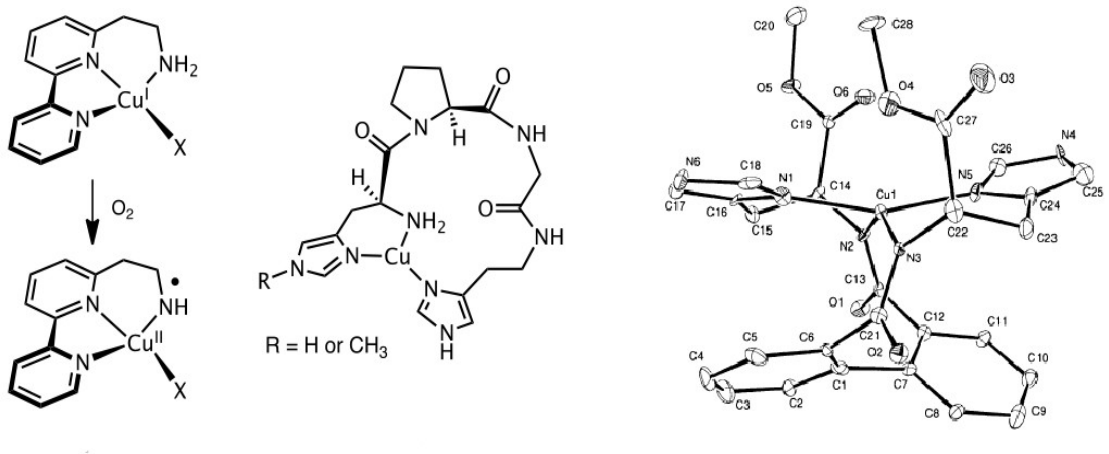


Figure 3. Composés biomimétiques du site actif des PMOs.

Les propriétés catalytiques de ces complexes seront étudiées à travers leur capacité à fixer et à réagir avec O_2 pour générer des espèces oxygénées réactives telles que les entités oxo, superoxo ou hydroperoxo. Les spécificités géométriques et chimiques (quatre ligands de nature azotée) de ces complexes en font ainsi de bons candidats pour étudier la formation des intermédiaires de nature radicalaire et leur réactivité subséquente avec un substrat [95-100] (Figure 4). Par la suite, d'autres complexes mononucléaires à cuivre seront préparés pour incorporer un ligand peptidique de type histamine méthylée. Cette modification chimique de la sphère de coordination de l'ion cuivre permettra de modéliser la méthylation du résidu histidine comme observé dans le cas des GH61 [86]. Grâce à ces complexes, on pourra étudier plus en détail le rôle et l'effet d'un groupement méthyl pour ce qui concerne la fixation du dioxygène et la réactivité des espèces. La modélisation théorique de l'ensemble de ces systèmes sera réalisée en parallèle et les calculs de chimie quantique (méthodes DFT/TD-DFT) seront effectués de manière systématique dans le but d'établir des corrélations magnéto-structurales et pour rationaliser les données expérimentales par comparaison avec les données modélisées.
Dans un deuxième temps, des études seront entreprises sur les systèmes enzymatiques en tant que tels. On s'intéressera plus particulièrement à la caractérisation des espèces intermédiaires qui sont impliquées dans la réactivité des PMOs. Pour ce faire, la spectroscopie de Résonance Paramagnétique Électronique (RPE) sera employée en ondes continues et pulsées ; cette technique étant un outil de choix pour sonder l'environnement dynamique et structural de porteurs de spin dans les métalloenzymes. Du point de vue de la modélisation théorique, les enzymes PMOs seront approchées via de simples systèmes modèles du site actif (Figure 4) ce qui permettra une compréhension des systèmes d'un point de vue local. Sur la base de ces modèles, les calculs de chimie quantique seront entrepris pour prédire et rationaliser la structure ainsi les observables magnétiques et

spectroscopiques des espèces caractérisées par spectroscopie RPE. Si cela s'avère utile, on envisagera également une modélisation plus réaliste des enzymes PMOs via l'utilisation des méthodes hybrides (ONIOM, QM/MM) [1,2]. Ces approches couplées se présentent comme des méthodes de choix pour une approche théorique de la réactivité de métalloenzymes. La stratégie qui sera donc adoptée pour étudier ces systèmes de grande taille consistera à modéliser le système dans son ensemble grâce aux méthodes mixtes puis la prédiction théorique des propriétés moléculaires des sites actifs mis en jeu sera réalisé grâce aux calculs de chimie quantique du type DFT/TDDFT. L'approche fondamentale de ce thème de recherche permettra, à terme, de mieux comprendre cette famille d'enzymes et donc de mieux appréhender la partie plus appliquée visant au développement de bio-catalyseurs.

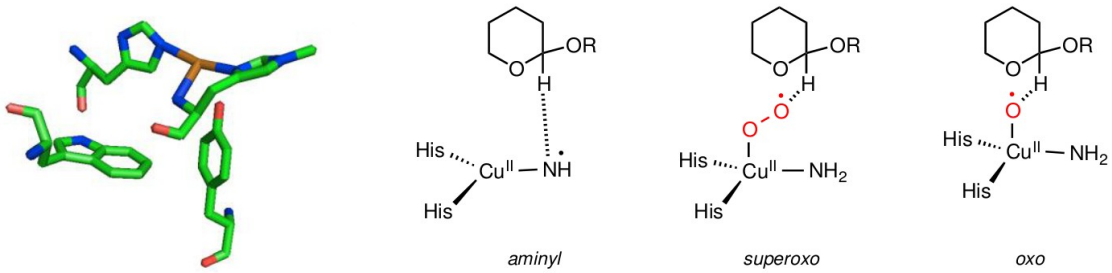


Figure 4. Site actif et intermédiaires réactionnels des PMOs.

Cet axe de recherche servira également de base pour une partie des travaux collaboratifs internationaux que je mène avec deux autres groupes de recherche (DCB, Canada et IC, Mexique). Nous nous intéressons ainsi à l'étude expérimentale et théorique de complexes inorganiques qui se présentent comme des composés biomimétiques et bio-inspirés des monooxygénases à cuivre [101-104]. Ces systèmes sont de bons modèles structuraux de ces enzymes mais ils sont également fonctionnels pour ce qui concerne les réactions d'activation du dioxygène ou de liaisons C-H.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Les activités de recherche qui ont été présentées dans ce manuscrit constituent une illustration de l'application des outils de la chimie quantique et de l'apport de la spectroscopie RPE pour caractériser des architectures moléculaires relevant du domaine de la chimie bio-inorganique. L'objectif principal de mes travaux était de déterminer les spécificités structurales (paramètres géométriques et électroniques) et dynamiques (observables magnétiques et spectroscopiques) des entités concernées au niveau expérimental et théorique, dans le but final de déterminer les conditions optimales pour réaliser les meilleurs systèmes modèles en termes de réactivité et d'activité catalytique [1-3]. L'utilisation couplée des méthodes théoriques à celles de spectroscopies RPE en ondes continues et impulsionnelles pour les études de systèmes d'un point de vue macroscopique s'est avérée être une approche pertinente et fructueuse pour identifier des espèces inconnues, rationaliser leurs propriétés moléculaires et définir des corrélations magnéto-structurales [4-7].

Pour ces différents travaux de recherche, j'ai fait appel aux outils de modélisation théorique tels que les calculs de chimie quantique basés sur les méthodes DFT et TD-DFT pour l'étude systématique de modèles de composés bio-inorganiques obtenus grâce aux approches biomimétique et bio-inspirée [8,9]. L'essentiel de mon activité de recherche consistant en la détermination de la structure et des propriétés électroniques et magnétiques de composés à base de métaux de transition, la spectroscopie RPE s'est présentée comme un outil de choix pour sonder l'environnement structural et dynamique de ce type de porteur de spin [10,11]. Cette technique, extrêmement informative, a permis de mettre en évidence la présence d'espèces paramagnétiques et a donné accès à des renseignements précis sur le centre métallique (nature et degré d'oxydation) et sa sphère de coordination (nature chimique et nombre de ligands, symétrie, etc.) [12]. Dans ce contexte, l'approche qui avait été adoptée pour une grande partie de mes travaux sur les composés bio-inorganiques combinait donc caractérisation expérimentale (spectroscopie RPE) et modélisation théorique (calculs DFT/TD-DFT) dans la but d'établir des corrélations magnéto-structurales faisant un lien direct entre la géométrie et la structure électronique des systèmes étudiés. Les outils de la chimie quantique ont ainsi permis de rationaliser les données expérimentales en donnant accès à la structure des espèces sondées et à une cartographie complète de leur structure électronique (répartition de la densité de spin, diagramme d'orbitales moléculaires, stabilité énergétique, etc.) [13,14]. La stratégie développée visait notamment à reproduire à partir d'une structure existante (données cristallographiques) ou modélisée (optimisation DFT) les propriétés moléculaires (électroniques et magnétiques) des espèces étudiées. Cette étape permettait à la fois de valider la méthode employée pour les calculs théoriques mais aussi d'associer une structure à des propriétés spectroscopiques spécifiques [Réf. ACL 4]. Cette démarche couplant à la fois théorie et expérience visait ultimement à la mise en place de relations du type « structure-propriété-activité » dont les objectifs étaient multiples : prédiction de structures, utilisation comme sonde structurale (dans les enzymes) et conception de nouveaux systèmes (pour la catalyse ou la biochimie).

Conclusion générale

Pour la plupart des travaux prévus dans le cadre de mon projet de recherche, je continuerai à employer la démarche que j'ai développée jusqu'à présent et qui est basée sur la combinaison de mesures expérimentales et de modélisations théoriques pour déterminer la structure et les propriétés d'architectures moléculaires. Je prévois de faire évoluer les aspects techniques des outils théoriques employés pour la mise en œuvre de mes activités de recherche. Je compte ainsi faire appel à plusieurs niveaux de calculs pour l'étude de systèmes complexes tels que les métalloenzymes. D'un point de vue méthodologique, une première étape consistera à modéliser ces entités par de simples modèles biomimétiques. En effet, la définition de composés modèles s'avère très informative pour comprendre les systèmes d'un point de vue local. Cependant, il est nécessaire d'aller au-delà de ces modèles pour mettre en évidence des phénomènes plus complexes comme les effets d'environnement ou les mécanismes réactionnels mettant en jeu les systèmes étudiés. Dans ce contexte, il sera pertinent de faire appel à des techniques de calculs plus fines telles les méthodes hybrides (ONIOM, QM/MM) qui permettront une modélisation dynamique des systèmes [15,16]. Celles-ci vont permettre de décrire la plus grande partie du système biologique étudié à l'aide de la Mécanique Moléculaire (MM) tandis que le centre actif sera traité via l'utilisation de la Mécanique Quantique (QM) [Réf. COS 1]. Ces méthodes permettront ainsi d'aller au-delà du modèle qualitatif mis en place et il sera possible de traiter le problème électronique via un modèle en trois couches, constituant un schéma général pour l'emploi de ces méthodes. La première couche impliquera des calculs quantiques (QM) précis de la structure électronique du site actif et de son environnement immédiat tels que les ligands et les proches acides aminés pouvant être impliqués dans des réseaux de liaisons hydrogènes. La seconde couche sera celle qui englobera l'intégralité de la matrice protéique (distribution de charges et liaisons polarisables) permettant ainsi d'inclure tout l'environnement électrostatique. La troisième et dernière couche comportera le solvant, de manière explicite (molécules d'eau attachées à la surface de la protéine) et de manière implicite (via un continuum diélectrique). Ces approches couplées se présentent ainsi comme les méthodes de choix pour une approche théorique de la structure et de la réactivité de métalloenzymes [17-19].

Pour finir, nous pouvons donc conclure au fait que les méthodes DFT constituent un outil puissant pouvant servir (i) à valider les conclusions établies à l'issue de l'analyse des données expérimentales, (ii) à exclure les possibilités qui ont été proposées au préalable et (iii) à lever certaines ambigüités en répondant aux questions laissées en suspens. Associer les mesures expérimentales (spectroscopies RPE) à de la modélisation théorique (méthodes DFT) va permettre d'établir des corrélations entre les données issues de l'expérience et celles issues de calculs théoriques. L'utilisation d'une approche couplée est pertinente pour l'étude des systèmes biologiques tels que les métalloenzymes et son utilisation s'est ainsi grandement démocratisée dans le domaine de la chimie bio-inorganique [20].

BIBLIOGRAPHIE

Introduction générale

[1] Neese, F. *Coord. Chem. Rev.*, 2009, 253, 526.

[2] Neese, F.; Ames, W.; Christian, G.; Kampa, M.; Liakos, D.G.; Pantazis, D.A.; Roemelt, M.; Surawatanawong, P.; Ye, S. *Adv. Inorg. Chem.*, 2010, 62, 301.

[3] Neese, F. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2006, 11, 702.

[4] Te Velde, G.; Bickelhaupt, F.M.; Van Gisbergen, S.J.A.; Fonseca Guerra, C.; Baerends, E.J.; Snijders, J.G.; Ziegler, T. *J. Comput. Chem.*, 2001, 22, 931.

[5] Pople J.A. et al. Gaussian 98 (Revision A.7) Gaussian.inc. Pittsburgh PA, 1998

[6] Neese, F. *WIREs: Computational Molecular Science*, 2012, 2, 73.

[7] Siegbahn, P.E. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2006, 11, 695.

[8] Gosh, A. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2006, 11, 712.

[9] Gosh, A. *J Biol Inorg Chem.*, 2011, 16, 819.

[10] Gosh, A. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2006, 11, 671.

[11] Solomon, E.I.; Scott, R.A.; King, R.B. *Computational Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2009, John Wiley & Sons.

[12] Bertand, P. *La Spectroscopie de Résonance Paramagnétique Electronique: Applications*, 2014, Grenobles Sciences.

[13] Pake, G.E. *Paramagnetic Resonance*, 1962, W.A. Benjamin, inc.

[14] Alschuler, S.A.; Kozyrev, B.M. *Electron Paramagnetic Resonance*, 1964, Academic Press.

[15] Atherton, N.M. *Principles of Electron Spin Resonance*, 1993, Ellis Horwood Limited.

[16] Hanson, G.; Berliner, L. *High Resolution EPR: Applications to Metalloeyzmes and Metals in Medecine*, 2009, 28, Springer.

[17] Schweiger, A.; Jeschke, G. *Principles of Pulse Electron Paramagnetic Resonance*, 2001, Oxford University Press.

[18] Prinser, T.; Rohrer, M.; MacMillan, F. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2001, 52, 279.

[19] Van Doorslaer, S.; Caretti, I.; Fallis, I.A.; Murphy, D.M. *Coord. Chem. Rev.*, 2009, 253, 2116.

[20] Kaupp, M.; Buhl, M.; Malkin, V.G. *Calculation of NMR and EPR Parameters: Theory and Applications,* 2004, Wiley.

[21] Sanchez, C.; Arribart, H.; Giraud Guille, M.M. *Nat. Mater.* 2005, 4, 277.

[22] Kraatz, H.; Metzler-Nolte, N. *Concepts and Models in Bioinorganic Chemistry*, 2006, Wiley.

Partie 1 : Développements méthodologiques

[1] Lovenberg, W. *Iron-Sulfur Proteins, Vol.III : Storage and Metabolic Mechanisms*, 1977, Academic press.
[2] Lovenberg, W. *Iron-Sulfur Proteins, Vol.II: Molecular Properties*, 1973, Academic press.
[3] Lovenberg, W. *Iron-Sulfur Proteins, Vol.I: Biological Principles*, 1973, Academic press.
[4] Cowan, J.A. *Inorganic Biochemistry: An Introduction*, 1993, Wiley.
[5] Sands R.H.; Dunham, W.R.Q. *Rev. Biophys*, 1975, 7, 443.
[6] Ciurli, S. ; Musiani, F. *Photosynth. Res.*, 2005, 85, 115.
[7] Noodleman, L.; Lovell, T.; Liu, T.; Himo, F.; Torres, R.A. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2002, 125, 259.
[8] Mouesca, J.-M.; Lamotte, B. *Coord. Chem. Rev.*, 1998, 178-180, 1573.
[9] Heisenberg, W. *Z. Physik*, 1928, 49, 619.
[10] Heisenberg, W. *Z. Physik*, 1926, 38, 411.
[11] Dirac, P. A.M. *Proc. Roy. Soc.*, 1929, A123, 714.
[12] Van Vleck, J.H. *The Theory of Electronic and Magnetic Susceptibilies*, 1932, Oxford University.
[13] Goodenough, J.B. *Phys. Rev.*, 1955, 100, 564.
[14] Goodenough, J.B. *Phys. Chem. Solids*, 1958, 6, 287.
[15] Kanamori, J. *Phys. Chem. Solids*, 1959, 10, 87.
[16] Anderson, P.W. *Phys. Rev.*, 1950 79, 350.
[17] Anderson, P.W. *Phys. Rev.*, 1959,115, 2.
[18] Anderson, P.W. *Solid State Phys.*, 1963, 14, 99.
[19] Kramers, H.A. *Physica*, 1934, 1, 182.
[20] Bencini, A.; Gatteschi, D. *EPR of Exchange Coupled Systems*, 1990, Springer Verlag.
[21] Noodleman, L. *J. Phys. Chem.*, 1981, 74, 5737.
[22] Noodleman, L.; Norman, J.G. *J. Chem. Phys.*, 1979, 70, 4903.
[23] Neese, F. *J. Chem. Phys. Solids*, 2004, 65, 781.
[24] Noodleman, L.; Case, D.A. *Adv. Inorg. Chem.*, 1992, 38, 423.
[25] Zeener, C. *Phys. Rev.*, 1951, 82, 403.
[26] Anderson, P.W.; H. Hasegawa, H. *Phys. Rev.*, 1955, 100, 675.
[27] Noodleman, L.; Baerends, E.J. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, 106, 2316.
[28] Noodleman, L.; Case, D.A.; Mouesca, J.-M.; Lamotte, B. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 1996, 1, 177.
[29] Ding, X.-Q.; Bill, E.; Trautwein, A.X. ; Winkler, H. *J. Chem. Phys.*, 1993, 99, 6421.

[30] Blondin, G.; Girerd, J.-J. *Chem. Rev.*, 1990, 90, 1359.
[31] Piepho, S.B.; Krausz, E.R.; Schatz, P.N. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 2996.
[32] Piepho, S.B. *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, 110, 6319.
[33] Girerd, J.-J. *J. Chem. Phys.*, 1983, 79, 1766.
[34] Morales, R.; Chron, M.-H.; Hudry-Clergeon, G.; Pétillot, Norager, Y.S.; Medina, M.; Frey, M. *Biochemistry*, 1999, 38, 15764.
[35] Sevrioukova, I.F. *J. Mol. Biol.*, 2005, 347, 607.
[36] Guigliarelli, B.; Bertrand, P. *Adv. Inorg. Chem.*, 1999, 47, 421.
[37] Cheng, H.; Xia, B.; Reed, G.H.; Markley, J.L. *Biochemistry*, 1994, 33, 3155.
[38] Yeh, A.P.; Ambroggio, X.L.; Andrade, S.L.A.; Einsle, O.; Chatelet, C.; Meyer, J.; Rees, D.C. *J. B. C.*, 2002, 277, 34499.
[39] Bönish, H.; Schmidt, C.L.; Shäfer, G.; Ladenstein, R. *J. Mol. Biol.*, 2002, 319, 791.
[40] Geary, P.J.; Saboowalla, F.; Patil, D.; Cammack, R. *Biochem. J.*, 1984, 217, 667.
[41] de Vries, S.; Albracht, S.P.J.; Leeuwerik, F.I. *Biochim. Biophys. Acta*, 1979, 546, 316.
[42] Kounosu, A.; Li, Z.; Cosper, N.J.S.; Shokes, J.E.; Scott, R.A.; Imai, T.; Urushiyama, A.; Iwasaki, T. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 12519.
[43] Beardwood, P.; Gibson, J.-F. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1983, 737.
[44] Beardwood, P.; Gibson, J.-F. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1985, 2, 102.
[45] Beardwood, P.; Gibson, J.-F.; Johnson, C.E.; Rush, J.D. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1982, 2015.
[46] Tiago de Oliveira, F.; Bominaar, E.L.; Hirst, J.; Fee J.A.; Munck, E. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 5338.
[47] Caldeira, J.; Belle, V.; Asso, M.; Guigliarelli, B.; Moura, I.; Moura, J.G.J.; Bertrand, P. *Biochemistry*, 2000, 39, 2700.
[48] Moriya, T. *Weak Ferromagnetism, Magnetism Vol 1*, 1963, Academic Press, London.
[49] Moriya, T. *Phys. Rev.*, 1960, 120, 91.
[50] Dzyaloscinsky, I. *J. Phys. Chem. Solids*, 1958, 4, 241.
[51] Bertrand, P.; Gayda, J.-P.; Fee, J.A.; Kuila, D.; Cammack, R. *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, 916, 24.
[52] Leggate, E.J.; Bill, E.; Essigke, T.; Ullmann, G.M.; Hirst, J. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2004, 101, 10913.
[53] Salerno, J.C.; Ohnishi, T.; Blum, H.; Leigh, J.S. *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, 494, 191.
[54] Min, T.; Ergenekan, C.E.; Eidsness, M.K.; Ichiye, T.; Kang, C. *Protein Sci.*, 2001, 10, 613.
[55] Laio, A.; VandeVonde, J.; Rothlisberger, U. *J. Chem. Phys.*, 2002, 116, 6941.
[56] Marx, D.; Hutter, J. *Modern Methods and Algorithms of Quantum Chemistry*, 2000, Eds J. Grotendorst.

[57] Car, R.; Parrinello, M. *Phys. Rev. Lett.*, 1985, 55, 2471.
[58] Warshel, A.; Levitt, M. *J. Mol. Biol.*, 1976, 103, 227.
[59] Rousseau, R.; Kleinschmidt, V.; Schmitt, U.W.; Marx, D. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004 43, 4804.
[60] Mathias, G.; Marx, D. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2007, 104, 6980.
[61] Kahn, O. *Molecular Magnetism*, 1993, Wiley VCH.
[62] Koch, W.; Holthausen, M.C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, 2000, Wiley VCH.
[63] Noodleman, L.; Davidson, E.R. *Chem. Phys.*, 1986, 109, 131.
[64] Ruiz, E.; Alvarez, S.; Rodriguez-Fortea, A.; Alemany, P.; Pouillon, Y.; Massobrio, C. *Magnetism: Molecules to Materials*, 2001, Wiley VCH.
[65] Noodleman, L.; Peng, C.Y.; Case, D.A.; Mouesca, J.-M. *Coord. Chem. Rev.*, 1995, 144, 199.
[66] Ruiz, E.; Rodriguez-Fortea, A.; Cano, J.; Alvarez, S.; Alemany, P. *J. Comput. Chem.*, 2003, 24, 982.
[67] Ruiz, E. *Struct. Bonding*, 2004, 113, 91.
[68] Shoji, M.; Koizumi, K.; Kitagawa, Y;. Kawakami, T.; Yamanaka, S.; Okumura, M.; Yamaguchi, K. *Chem. Phys. Lett.*, 2006, 432, 343.
[69] Yachandra, V.K.; Sauer, K.; Klein, M.P. *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2927.
[70] Sauer, K.; Yano, J.; Yachandra, V.K. *Coord. Chem. Rev.*, 2008, 252, 318.
[71] Philouze, C.; Blondin, G.; Girerd, J.-J.; Guilhem, J.; Pascard, C.; Lexa, D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 8557.
[72] Lubitz, W.; Reijerse, E.J.; Messinger, J. *Energy Environ. Sci.*, 2008, 1, 15.
[73] Kanan, M.W.; Nocera, D.G. *Science*, 2008, 321, 1072.
[74] Lewis, N.S.; Nocera, D.G. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006, 103, 15729.
[75] Rüttinger, W.; Dismukes, G.C. *Chem. Rev.*, 1997, 97, 1.
[76] Yagi, M.; Kaneko, M. *Chem. Rev.*, 2001, 101, 21.
[77] Sun, L.C.; Hammarstrom, L.; Akermark, B.; Styring, S. *Chem. Soc. Rev.*, 2001, 30, 36.
[78] Barber, J. *Biochem. Soc. Trans.*, 2006, 34, 619.
[79] Zein, S.; Kulik, L. V.; Yano, J.; Kern, J.; Pushkar, Y.; Zouni, A.; Yachandra, V.K.; Lubitz,W.; Neese F.; Messinger, J. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B*, 2008, 363, 1167.
[80] Yano, J.; Kern, J.; Sauer, K.; Latimer, M.J.; Pushkar, Y;. Biesiadka, J.; Loll, B.; Saenger, W.; Messinger, J.; Zouni A.; Yachandra, V. K. *Science*, 2006, 314, 821.
[81] Siegbahn, P.E.M. *Chem. Eur. J.*, 2008, 14, 8290.
[82] Siegbahn, P.E.M. *Acc. Chem. Res.*, 2009, 42,1871.
[83] Horner, O.; Anxolabehere-Mallart, E.; Charlot, M.-F.; Tchertanov, L.; Guilhem, J.; Mattioli, T. A.; Boussac, A.; Girerd, J.-J. *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 1222.
[84] Jensen, A.F.; Su, Z.; Hansen, N.K.; Larsen, F.K. *Inorg. Chem.*, 1995, 34, 4244.

[85] Schafer, K.O.; Bittl, R.; Zweygart, W.; Lendzian, F.; Haselhorst, G.; Weyhermuller, T.; Wieghardt, K.; Lubitz, W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120, 13104.
[86] Manchanda, R.; Brudvig, G.W.; de Gala, S.; Crabtree, R.H. *Inorg. Chem.*, 1994, 33, 5157.
[87] Hureau, C.; Blondin, G.; Cesario, M.; Un, S. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 11637.
[88] Frapart, Y. M.; Boussac, A.; Albach, R.; Anxolabehere-Mallart, E.; Delroisse, M.; Verlhac, J.B.; Blondin, G.; Girerd, J.-J.; Guilhem, J.; Cesario, M.; Rutherford, A. W.; Lexa, D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 2669.
[89] Horner, O.; Charlot, M.-F.; Boussac, A.; Anxolabehere-Mallart, E.; Tchertanov, L.; Guilhem, J.; Girerd, J.-J. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1998, 1998, 721.
[90] Goodson, P.A.; Glerup, J.; Hodgson, D.J.; Michelsen, K.; Pedersen, E. *Inorg. Chem.*, 1990, 29, 503.
[91] Hagen, K.S.; Armstrong, W.H.; Hope, H. *Inorg. Chem.*, 1988, 27, 967.
[92] Suzuki, M.; Senda, H.; Kobayashi, Y.; Oshio, H.; Uehara, A. *Chem. Lett.*, 1988, 1763.
[93] Wieghardt, K.; Bossek, U.; Zsolnai, L.; Huttner, G.; Blondin, G.; Girerd, J.-J.; Babonneau, F.J. *Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1987, 651.
[94] Pal, S.; Gohdes, J.W.; Wilisch, W.C.A.; Armstrong, W. H. *Inorg. Chem.*, 1992, 31, 713.
[95] Pal, S.; Olmstead, M.M.; Armstrong, W.H. *Inorg. Chem.*, 1995, 34, 4708.
[96] Neese, F. *J. Chem. Phys.*, 2003, 118, 3939.
[97] Munzarova, M.; Kaupp, M. *J. Phys. Chem. A*, 1999, 103, 9966.
[98] Luckhurst, G.R.; Pedulli, G.F. *Mol. Phys.*, 1971, 22, 931.
[99] Perree-Fauvet, M.; Gaudemer, A.; Bonvoisin, J.; Girerd, J.-J.; Boucly-Goester, C.; Boucly, P. *Inorg. Chem.*, 1989, 28, 3533.
[100] Camenzind, M.J.; Hollander, F.J.; Hill, C.L. *Inorg. Chem.*, 1983, 22, 3776.
[101] Schäfer, K.O.; Bittl, R.; Lendzian, F.; Barynin, V.; Weyhermuller, T.; Wieghardt, K.; Lubitz, W. *J. Phys. Chem. B*, 2003, 107, 1242.
[102] Mukhopadhyay, S.; Mandal, S. K.; Bhaduri S.; Armstrong, W.H. *Chem. Rev.*, 2004, 104, 3981.
[103] Mullins, C.S.; Pecoraro, V.L. *Coord. Chem. Rev.*, 2008, 252, 416.
[104] Auger, N.; Girerd, J.-J.; Corbella, M.; Gleizes, A.; Zimmermann, J.L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 448.
[105] Sarneski, J.E.; Thorp, H.H.; Brudvig, G.W.; Crabtree, R. H.; Schulte, G.K. *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 7255.
[106] Reddy, K.R.; Rajasekharan, M.V.; Arulsamy, N.; Hodgson, D.J. *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 2283.
[107] Pal, S.; Chan, M.K. ; Armstrong, W.H. *J.Am.Chem.Soc.*,1992,114, 6398.

Partie 2 : Application aux systèmes biologiques

[1] Karlin, K.D.; Itoh, S. *Copper-Oxygen Chemistry*, 2011, Wiley VCH.
[2] Matoba, Y.; Kumagai, T.; Yamamoto, A.; Yoshitsu, A.; Sugiyama, M. *J. Biol. Chem.*, 2006, 281, 8981.
[3] Bertini, I.; Drago, R.S.; Luchinat, C. *The Coordination Chemistry of Metalloenzymes*, 1983, Springer Verlag.
[4] Reedijk, J. *Bioinorganic Catalysis*, 1993, CRC press.
[5] Solomon, E.I.; Baldwin, M.J.; Lowery, M.D. *Chem. Rev.*, 1992, 92, 521.
[6] Solomon, E.I.; Lowery, M.D. *Science*, 1993, 259, 1575.
[7] Kaim, W.; Rall, J. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1996, 35, 43.
[8] Holm, R.H.; Kennepohl, P;. Solomon, E.I.; *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2239.
[9] Rolff, M.; Schottenheim, J.; Decker, H.; Tuczek, F.; *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40, 4077.
[10] Tepper, A.W.J.W.; Lonardi, E.; Bubacco, L.; Canters, G.W. *Handbook of Metalloproteins*, 2010, Wiley VCH.
[11] Solomon, E.I.; Sundaram, U.M.; Machonkin, T.E. *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2563.
[12] Garcia-Borron, J.C.; Solano, F.; *Pigm. Cell Res.*, 2002, 15, 162.
[13] Jolley, R.L.; Evans, L.H.; Mason, H.S. *Biochem. Biophys. Res.*, 1972, 46, 878.
[14] Jolley, R.L.; Evans, L.H.; Makion, N.; Mason, H.S. *J. Biol. Chem.*, 1974, 249, 335.
[15] Sehgal, N.; Srivastava, G. *Int. J. Derm.*, 2008, 47, 1041.
[16] Boissy, R.E.; Nordlund, J.J. *Pigment Cell Res.*, 1997, 10, 12.
[17] Xu, X.; Stockes, A.H.; Freeman, W.M.; Kumer, S.C.; Vogt, B.A.; Vrana, K.E. *Mol. Brain Res.*, 1997, 45, 159.
[18] Kim, Y.-J.; Uyama, H. Cell. *Mol. Life Sci.*, 2005, 62, 1707.
[19] Briganti, S.; Camera, E.; Picardo, M. *Pigment Cell Res.*, 2003, 16, 101.
[20] Torelli, S.; Belle, C.; Gautier Luneau, I.; Pierre, J.-L.; Saint Aman, E.; Latour, J.-M; Le Pape, L.; Luneau, D. *Inorg. Chem.*, 2000, 39, 3526.
[21] Karlin, K.D.; Hayes, J.C.; Gultneh, Y.; Cruse, R.W.; McKown, J.W.; Hutchinson, J.P.; Zubieta, J. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, 106, 2121.
[22] Anderson, P.W. *Phys. Rev.*, 1950 79, 350.
[23] Anderson, P.W. *Phys. Rev.*, 1959,115, 2.
[24] Anderson, P.W. *Solid State Phys.*, 1963, 14, 99.
[25] Bencini, A.; Gatteschi, D. *EPR of Exchange Coupled Systems*, 1990, Springer Verlag.
[26] Heisenberg, W. *Z. Physik*, 1926, 38, 411.
[27] Dirac, P.A.M. *Proc. Roy. Soc.*, 1929, A123, 714.

[28] Van Vleck, J.H. *The Theory of Electronic and Magnetic Susceptibilies*, 1932, OxfordUniversity.
[29] Noodleman, L. *J. Phys. Chem.*, 1981, 74, 5737.
[30] Noodleman, L.; Norman, J.G. *J. Chem. Phys.*, 1979, 70, 4903.
[31] Noodleman, L.; Davidson, E.R. *Chem. Phys.*, 1986, 109, 131.
[32] Ruiz, E.; Alemany, P.; Alvarez, S.; Cano, J.; *Inorg. Chem.*, 1997, 36, 3683.
[33] Costas, M.; Ribas, X.; Poater, A.; Lopez Valbuena, J.M.; Xifra, R.; Company, A.; Duran, M.; Sola, M. *Inorg. Chem.*, 2006, 45, 3569.
[34] Venegas-Yazigi, D.; Aravena, D.; Spodine, E.; Ruiz E.; Alvarez, S. *Coord. Chem. Rev.,* 2010, 254, 2086.
[35] Peyroux, E.; Ghattas, W.; Hardre, R.; Giorgi, M.; Faure, B.; Simaan, A.J.; Belle, C.; Reglier, M. *Inorg. Chem.*, 2009, 48, 10874.
[36] Chen, J.S.; Wei, C.; Marshall, M.R. *J. Agric. Food Chem.*, 1991, 39, 1897.
[37] Hider, R.C.; Lerch, K. *Biochem. J.*, 1989, 257, 289.
[38] Okombi, S.; Rival, D.; Bonnet, S.; Mariotte, A. M.; Perrier, E.; Boumendjel, A. *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 329.
[39] Whittaker, J.W. *Chem. Rev.*, 2003, 103, 2347.
[40] Whittaker, M.M.; Kersten, P.J.; Cullen, D.; Whittaker, J. W. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 36226.
[41] Whittaker, J.W. *Advances in Protein Chemistry*, 2002, Academic Press.
[42] Whittaker, M.M.; Kersten, P.J.; Nobuhumi, N.; Sanders-Loehr, J.; Schweizer, E.S.; Whittaker, J.W. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 681.
[43] Whittaker, J.W. *Metal Ions in Biological Systems*, 1994, Marcel Dekker.
[44] Borman, C.D.; Saysell, C.G.; Sokolowski, A.; Twitchett, M.B.; Wright, C.; Sykes, A.G. *Coord. Chem. Rev.*, 1999, 190-192, 771.
[45] McPherson, M.J.; Parsons, M.R.; Spooner, R.K.; Wilmot, C.M. *Handbook for Metalloproteins*, 2001, Wiley VCH.
[46] Rogers, M.S.; Dooley, D.M. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, 7, 189.
[47] Ito, N.; Phillips, S.E.V.; Stevens, C.; Ogel, Z.B.; McPherson, M.J.; Keen, J.N.; Yadav, K.D.S.; Knowles, P. F. *Nature*, 1991, 350, 87.
[48] Ito, N.; Philips, S.E.V.; Yadav, K.D.S.; Knowles, P. F. *J. Mol. Biol.* 1994, 794.
[49] Jazdzewski, B.A.; Tolman, W.B. *Coord. Chem. Rev.*, 2000, 200-202, 633.
[50] Itoh, S.; Taki, M.; Fukuzumi, S. *Coord. Chem. Rev.*, 2000, 198, 3.
[51] Chaudhuri, P.; Wieghardt, K. *Prog. Inorg. Chem.*, 2001, 50, 151.
[52] Whittaker, M.M.; Ballou, D.P.; Whittaker, J.W. *Biochemistry*, 1998, 37, 8426.
[53] Branchaud, B.P.; Montague-Smith, M.P.; Kosman, D.J.; McLaren, F.R. *J. Am. Chem. Soc.,* 1993, 115, 798.
[54] Wachter, R.M.; Branchaud, B.P. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1998, 1384, 43.
[55] Shimazaki, Y.; Arai, N.; Dunn, T.J.; Yajima, T.; Tani, F.; Ramogida, C.F.; Storr, T.; *Dalton Trans.*, 2011, 40, 2469.
[56] Shimazaki, Y.; Stack, D.P.; Storr, T. *Inorg. Chem.*, 2009, 48, 8383.

[57] Rotthaus, O.; Jarjayes, O.; Thomas, F.; Philouze, C.; Perez Del Valle, C.; Saint-Aman, E.; Pierre, J.-L. *Chem. Eur. J.*, 2006, 12, 2293.
[58] Rotthaus, O.; Thomas, F.; Jarjayes, O.; Philouze, C.; Saint-Aman, E.; Pierre, J.-L. *Chem. Eur. J.*, 2006, 12, 6953.
[59] Rotthaus, O.; Jarjayes, O.; Philouze, C.; Perez Del Valle, C.; Thomas, F. *Dalton Trans.*, 2009, 1792.
[60] Pratt, R. C.; Stack, D.P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 8716.
[61] Wang, Y.; DuBois, J.L.; Hedman, B.; Hodgson, K.O.; Stack, D.P. *Science*, 1998, 279, 537.
[62] Vinck, E.; Murphy, D.M.; Fallis, I.A.; Van Doorslaer, S. *Appl. Magn. Reson.*, 2010, 37, 289.
[63] Vinck, E.; Murphy, D.M.; Fallis, I.A.; Strevens, R. R.; Van Doorslaer, S. *Inorg. Chem.*, 2010, 49, 2083.
[64] Thomas, F.; Arora, H.; Philouze, C.; Jarjayes, O. *Inorg. Chim. Acta*, 2010, 363, 3122.
[65] Storr, T.; Verma, P.; Shimazaki, Y.; Wasinger, E.C.; Stack, D.P. *Chem. Eur. J.*, 2010, 16, 8980.
[66] Verma, P.; Pratt, R.C.; Storr, T.; , Wasinger, E.C.; Stack, D.P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, 108, 18600.
[67] Kurahashi, T.; Fujii, H. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 8307.
[68] Shimazaki, Y.; Tani, F.; Fului, K.; Naruta Y.; Yamauchi, O. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 10512.
[69] Shimazaki, Y.; Yajima, T.; Tani, F.; Karasawa, S.; Fukui, K.; Naruta Y.; Yamauchi, O. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 2559.
[70] Storr, T.; Wasinger, E.C.; Pratt, R.C.; Stack, D.P. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, 46, 5198.
[71] Dunn, T. J.; Ramogida, C.F.; Simmonds, C.; Paterson, A.; Wong, E.W.Y.; Chiang, L.; Shimazaki,Y.; Storr, T. *Inorg. Chem.*, 2011, 50, 6746.
[72] Storr, T.; Verma, P.; Pratt, R.C.; Wasinger, E.C.; Shimazaki, Y.; Stack, D.P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130, 15448.
[73] Klein-Gebbink, R.; Watanabe, M.; Pratt, R.C.; Stack, D.P. *Chem. Commun.*, 2003, 630.
[74] Pratt, R.C.; Stack, D.P. *Inorg. Chem.*, 2005, 44, 2367.
[75] Reed, J.E.; Arola Arnal, A.; Neidle, S.; Vilar, R. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 5992.
[76] Ottenwaelder, X.; Aukauloo, A.; Journaux, Y.; Carrasco, R.; Cano, J.; Cervera, B.; Castro, I.; Curreli, S.; Muñoz, M. C.; Rosello, A. L.; Soto, B.; Ruiz-Garcıa, R. *Dalton Trans.*, 2005, 2516.
[77] Ottenwaelder, X.; Ruiz-Garcıa, R.; Blondin, G.; Carasco, R.; Cano, J.; Lexa, D.; Journaux, Y.; Aukauloo, A. *Chem. Commun.*, 2004, 504.
[78] Ruiz, R.; Surville-Barland, C.; Aukauloo, A.; Anxolabehere-Mallart, E.; Journaux, Y.; Cano, J.; Muñoz, M.C. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1997, 745.

[79] Penkert, F.N.; Weyhermuller, T.; Bill, E.; Hildebrandt, P.; Leconte, S.; Wieghardt, K. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122, 9663.
[80] Miyazato, Y.; Wada, T.; Muckerman, J.T.; Fujita, E.; Tanaka, K. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46, 5728.
[81] Adhikari, D.; Mossin, S.; Basuli, F.; Huffman, J.C.; Szilagyi, R.K.; Meyer, K.; Mindiola, D.J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130, 3676.
[82] Mankad, N.P.; Antholine, W.E.; Szilagyi, R.K.; Peters, J.C. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 3878.
[83] Glaser, T.; Heidemeier, M.; R. Froehlich, R.; Hildebrandt, P.; Bothe, E.; Bill, E. *Inorg. Chem.*, 2005, 44, 5467.
[84] Rotthaus, O.; Jarjayes, O.; Philouze, C.; Perez Del Vallee C.; Thomas, F. *Dalton Trans.*, 2009, 1792.
[85] Stubbe, J.; Van der Donk, W.A. *Chem. Rev.*, 1998, 98, 705.
[86] Stubbe, J.; Nocera, D.G.; Yee, C.S.; Chang, M.C.Y. *Chem. Rev.*, 2003, 103, 2167.
[87] Babcock, G.T.; El-Deeb, M.K.; Sandusky, P.O.; Whittaker, M.M.; Whittaker, J.W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 3727.
[88] Force, D.A.; Randall, D.W.; Britt, R.D.; Tang, X.S.; Diner, B.A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 12643.
[89] Bernard, M.T.; MacDonald, G.M.; Nguyen, A.P.; Debus, R.J.; Barry, B.A. *J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 1589.
[90] Un, S.; Tang, X.S.; Diner, B.A.; *Biochemistry*, 1996, 35, 679.
[91] Tang, X.S.; Zheng, M.; Chisholm, D.A.; Dismukes, G.C.; Diner, B.A. *Biochemistry*, 1996, 35, 1475.
[92] Diner, B.A.; Force, D.A.; Randall, D.W.; Britt, R.D. *Biochemistry*, 1998, 37, 17931.
[93] Dorlet, P.; Rutherford, W.; Un, S. *Biochemistry*, 2000, 39, 7826.
[94] Diner, B. A. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, 2001, 1503, 147.
[95] Debus, R.J. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, 2001, 1503, 164.
[96] Un, S.; Atta, M.; Fontecave, M.; Rutherford, A.W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 10713.
[97] Schmidt, P. P.; Andersson, K.K.; Barra, A.-L.; Thelander, L.; Graslund, A. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 9809
[98] Van Dam, P.J.; Willems, J.P.; Schmidt, P.P.; Potsch, S.; Barra, A.-L.; Hagen, W.R.; Hoffman, B.M.; Andersson, K.K.; Graslund, A. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 5080.
[99] Benisvy, L.; Bittl, R.; Bothe, E.; Garner, C.D.; McMaster, J.; Ross, S.; Teutloff, C.; Neese, F. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, 44, 5314.
[100] Benisvy, L.; Bill, E.; Blake, A.J.; Collison, D.; Davies, E.S.; Garner, C.D.; McArdle, G.; McInnes, E.J.L.; McMaster, J.; Rossa, S.H.K.; Wilson, C. *Dalton Trans.*, 2006, 258.

[101] Benisvy, L.; Hammond, D.; Parker, D.-J.; Davies, E.-S.; Garner, C.-D.; McMaster, J.; Wilson, C.; Neese, F.; Bothe, E.; Bittl, R.; Teutloff, C. *J. Inorg. Biochem.*, 2007, 101, 1859.
[102] Wanke, R.; Benisvy, L.; Kuznetsov, M.L.; Guedes da Silva, M.F.C.; Pombeiro, A.J.L. *Chem. Eur. J.*, 2011, 17, 11882.
[103] Okawa, H.; Furutachia, H.; Fenton, D.E. *Coord. Chem. Rev.*, 1998, 174, 51.
[104] Atkins, A.J.; Black, D.; Blake, A.J.; Marin-Becerra, A.; Parsons, S.; Ruiz-Ramirez L.; Schroder, M. *Chem. Commun.*, 1996, 457.
[105] Popescu, D.L.; Chanda, A.; Stadler, M.; Tiago de Oliveira, F.; Ryabov, A.D.; Munck, E.; Bominaar E.L.; Collins, T.J. *Coord. Chem. Rev.*, 2008, 252, 2050.
[106] Collins, T. J. *Acc. Chem. Res.*, 1994, 27, 279.
[107] Anson, F. C.; Collins, T.J.; Richmond, T.G.; Santarsiero, B.D.; Toth, J.E.; Treco, B.G.R.T. *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, 109, 2974.
[108] Sunatsuki, Y.; Hirata, R.; Motoda, Y.; Nakamura, M.; Matsumoto N.; Kai, F. *Polyhedron*, 1997, 16, 4105.
[109] Sunatsuki, Y. ; Mimura, M.; Shimada, H.; Kai F.; Matsumoto, N. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1998, 71, 167.
[110] Jimenez, C.A.; Belmar, J.B.; Alderete, J.; Delgado, F.S.; Lopez Rodriguez, M.; Pena, O.; Julve, M.; Ruiz-Perez, C. *Dalton Trans.*, 2007, 2135.
[111] Jimenez, C.A.; Belmar, J.B. *Tetrahedron*, 2005, 61, 3933.
[112] Benisvy, L.; Blake, A.J.; Collison, D.; Davies, E.S.; Garner, C.D.; McInnes, E.J.L.; McMaster, J.; Whittaker, G.; Wilson, C. *Chem. Commun.*, 2001, 1824.
[113] Benisvy, L.; Blake, A.J.; Collison, D.; Davies, E.S.; Garner, C.D.; McInnes, E.J.L.; McMaster, J.; Whittaker, G.; Wilson, C. *J. Chem. Soc., Dalton. Trans.*, 2003, 1975.
[114] Benisvy, L.; Bill, E.; Blake, A.J.; Collison, D.; Davies, E.S.; Garner, C.D.; Guindy, C.I.; McInnes, E.J.L.; McArdle, G.; McMaster, J.; Wilson C.; Wolowska, J. *Dalton Trans.*, 2004, 3647.
[115] Lachaud, F.; Quaranta, A.; Pellegrin, Y.; Dorlet, P.; Charlot, M.; Un, S.; Leibl, W.; Aukauloo, A. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2005, 44, 1536.
[116] Zhu, Q.-Y.; Wang, J.-P.; Qin, Y.-R.; Shi, Z.; Han, Q.-H.; Bian G.-Q.; Dai, J. *Dalton Trans.*, 2011, 40, 1977.
[117] Allendorf, M.D.; Bauer, C.A.; Bhaktaa R.K.; Houka, R.J.T. *Chem. Soc. Rev.*, 2009, 38, 1330.
[118] Kurmoo, M. *Chem. Soc. Rev.*, 2009, 38, 1353.
[119] Tus, A.; Rakipovic, A.; Peretin, G.; Tomic, S.; Sikic, M. *Nucleic Acids Res.*, 2012, 40, W352.
[120] Thomson, A.J.; Gray, H.B. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1998, 2, 155.
[121] Solomon, E.I.; Gorelsky, S.I.; Dey, A.J. *Comput. Chem.*, 2006, 27, 1415.
[122] Garner, C.D.J. *Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1997, 3903.
[123] Belle, C.; Rammal, W.; Pierre, J.-L. *J. Inorg. Biochem.*, 2005, 99, 1929.

[124] Diaz-Quintana, A.; Navarro, J.A.; Hervas, M.; Molina-Heredia, F.P.; Cerda, B.D. la; Rosa, M. A.D. *Photosynth. Res.*, 2003, 75, 97.
[125] Redinbo, M. R.; Yeates, T. O.; Merchant, S. J. *Bioenerg. Biomembr.*, 1994, 26, 49.
[126] Bernroitner, M.; Zamocky, M.; Pairer, M.; Furtmuller, P. G.; Peschek, G. A.; Obinger, C. *Chem. Biodivers.*, 2008, 5, 1927.
[127] Beinert, H.; Holm, R. H.; Munck, E. *Science*, 1997, 277, 653.
[128] Seward, H.E.; Roujeinikova, A.; McLean, K.J.; Munro, A.W.; Leys, D. *J. Biol. Chem.*, 2006, 281, 39437.
[129] Allakhverdiev, S.I.; Thavasi, V.; Kreslavski, V. D.; Zharmukhamedov, S.K.; Klimov, V.V.; Ramakrishna, S.; Los, D.A.; Mimuro, M.; Nishihara, H.; Carpentier, R. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.*, 2010, 11, 101.
[130] McGlynn, S.E.; Mulder, D.W.; Shepard, E.M.; Broderick, J.B.; Peters, J.W. *Dalton Trans.*, 2009, 4274.
[131] Dance, I. *Dalton Trans.*, 2010, 39, 2972.
[132] Ramaswamy, S. *Science*, 2011, 334, 914.
[133] Joseph, C.A.; Maroney, M.J. *Chem. Commun.*, 2007, 3338.
[134] Aluri, S.; de Visser, S.P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 14846.
[135] Nagashima, S.; Nakasako, M.; Dohmae, N.; Tsujimura, M.; Takio, K.; Odaka, M.; Yohda, M.; Kamiya, N.; Endo, I. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 1998, 5, 347.
[136] Hopmann, K.H.; Guo, J.-D.; Himo, F. *Inorg. Chem.*, 2007, 46, 4850–4856.
[137] Myers, L.C.; Terranova, M.P.; Ferentz, A.E.; Wagner, G.; Verdine, G.L. *Science*, 1993, 261, 1164.
[138] Myers, L.C.; Cushing, T.D.; Wagner, G.; Verdine, G.L. *Chem. Biol.*, 1994, 1, 91.
[139] Ohkubo, T.; Sakashita, H.; Sakuma, T.; Kainosho, M.; Sekiguchi, M.; Morikawa, K. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 6035.
[140] McCall, K.A.; Huang, C.; Fierke, C A. *J. Nutr.*, 2000, 130, 1437S.
[141] Yeh, A.P.; Hu, Y.; Jenney; Adams, M.W.W.; Rees, D.C. *Biochemistry*, 2000, 39, 2499.
[142] Fiedler, A.T.; Bryngelson, P.A.; Maroney, M.J.; Brunold, T.C. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 5449.
[143] Fox, D.C.; Fiedler, A.T.; Halfen, H.L.; Brunold, T.C.; Halfen, J.A. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 7627.
[144] Drennan, C.L.; Huang, S.; Drummond, J.T.; Matthews, R.G.; Lidwig, M.L. *Science*, 1994, 266, 1669.
[145] Gray, H.B.; Malmstrom, B.G.; Williams, R.J.P. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2000, 5, 551.
[146] Savelieff, M.G.; Lu, Y. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2010, 15, 461.
[147] Brines, L.M.; Shearer, J.; Fender, J.K.; Schweitzer, D.; Shoner, S.C.; Barnhart, D.; Kaminsky, W.; Lovell, S.; Kovacs, J.A. *Inorg. Chem.*, 2007, 46, 9267.
[148] Lindahl, P. A. *Biochemistry*, 2002, 41, 2097.
[149] Ragsdale, S.W.; Kumar, M. *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2515.

[150] Doukov, T.I.; Iverson, T.M.; Seravalli, J.; Ragsdale, S.W.; Drennan, C.L. *Science*, 2002, 298, 567.
[151] Darnault, C.; Volbeda, A.; Kim, E.J.; Legrand, P.; Vernede, X.; Lindahl, P.A.; Fontecilla-Camps, J.C. *Nat. Struct. Biol.*, 2003, 10, 271.
[152] Svetlitchnyi, V.; Dobbek, H.; Meyer-Klaucke, W.; Meins, T.; Thiele, B.; Romer, P.; Huber, R.; Meyer, O. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2004, 101, 446.
[153] Brunold, T.C. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2004, 9, 533.
[154] Ragsdale, S.W. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, 39, 165.
[155] Bender, G.; Stich, T.A.; Yan, L.; Britt, R.D.; Cramer, S.P.; Ragsdale, S.W. *Biochemistry*, 2010, 49, 7516.
[156] Lindhal, P.A.; Graham, D.E. *Nickel and its surprising impact in nature,* 2007, John Wiley & Sons.
[157] Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.; Tignor, M.M.B.; Miller, H.L. *Contribution of Working Group I to the fourth Assessment report of the Intergovernmental Panel on climate Change,* 2007, Cambridge University Press.
[158] Ravishankara, A.R.; Daniel, J.S.; Portmann, R. W. *Science*, 2009, 326, 123.
[159] Pauleta, S.R.; Dell'Acqua, S.; Moura, I. *Coord. Chem. Rev.,* 2013, 257, 332.
[160] Kroneck, P. M. H.; Antholine, W. A.; Riester, J.; Zumft, W.G. *FEBS Lett.*, 1988, 242, 70.
[161] Riester, J.; Zumft, W.G.; Kroneck, P.M.H. *Eur. J. Biochem.*, 1989, 178, 751.
[162] Scott, R.A.; Zumft, W.G.; Coyle, C.L.; Dooley, D.M. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1989, 86, 4082.
[163] Zumft, W. G.; Kroneck, P.M.H. *Adv. Microb. Phys.*, 2006, 52, 107.
[164] Brown, K.; Djinovic-Carugo, K.; Haltia, T.; Cabrito, I.; Saraste, M.; Moura, J.J.G.; Moura, I.; Tegoni, M.; Cambillau, C. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 41133.
[165] Brown, K.; Tegoni, M.; Prudencio, M.; Pereira, A. S.; Besson, S.; Moura, J.J.; Moura, I.; Cambillau, C. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2000, 7, 191.
[166] Haltia, T.; Brown, K.; Tegoni, M.; Cambillau, C.; Saraste, M.; Mattila, K.; Djinovic-Carugo, K. *Biochem. J.*, 2003, 369, 77.
[167] Paraskevopoulos, K.; Antonyuk, S.V.; Sawers, R.G.; Eady, R.R.; Hasnain, S.S. *J. Mol. Biol.*, 2006, 362, 55.
[168] Chen, P.; Cabrito, I.; Moura, J.J.G.; Moura, I.; Solomon, E.I *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 10497.
[169] Chen, P.; DeBeer George, S.; Cabrito, I.S.; Antholine, W. E.; Moura, J.J.G.; Moura, I.; Hedman, B.; Hodgson, K. O.; Solomon, E.I. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 744.
[170] Oganesyan, V.S.; Rasmussen, T.; Fairhurst, S.; Thomson, A. J. *Dalton Trans.*, 2004, 996.
[171] Chen, P.; Gorelsky, S.I.; Ghosh, S.; Solomon, E.I. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, 43, 4132.

[172] Gorelsky, S.I.; Ghosh, S.; Solomon, E.I. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 278.
[173] Pomowski, A.; Zumft, W.G.; Kroneck, P.M.H.; Einsle, O. *Nature*, 2011, 477, 234.
[174] Mills, D.K.; Reibenspies, J.H.; Darensbourg, M.Y. *Inorg. Chem.*, 1990, 29, 4364.
[175] Colpas, G.J.; Kumar, M.; Day, R.O.; Maroney, M.J. *Inorg. Chem.*, 1990, 29, 4779.
[176] Grapperhaus, C.A.; Maguire, M.J.; Tuntulani, T.; Darensbourg, M.Y. *Inorg. Chem.*, 1997, 36, 1860.
[177] Miller, A. F. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2004, 8, 162.
[178] Fiedler, A.T.; Bryngelson, P.A.; Maroney, M.J.; Brunold, T.C. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 5449.
[179] Youn, H.-D.; Kim, E.-J.; Roe, J.-H.; Hah, Y.C.; Kang, S.-O. *Biochem. J.*, 1996, 318, 889.
[180] Choudhury, S.B.; Lee, J.W.; Davidson, G.; Yim, Y.I.; Bose, K.; Sharma, M.L.; Kang, S.O.; Cabelli, D.E.; Maroney, M.J. *Biochemistry*, 1999, 38, 3744.
[181] Gennari, M.; Retegan, M.; DeBeer, S.; Pecaut, J.; Neese, F.; Collomb, M.-N; Duboc, C. *Inorg. Chem.*, 2011, 10047.
[182] Peariso, K.; Zhou, Z.H.S.; Smith, A.E.; Matthews, R.G.; Penner- Hahn, J.E. *Biochemistry*, 2001, 40, 987.
[183] Tobin, D.A.; Pickett, J. S.; Hartman, H.L.; Fierke C.A.; Penner-Hahn, J.E. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 9962.
[184] Maret, M.; Vallee, B.L. *Methods Enzymol.*, 1993, 226, 52.
[185] Kobayashi, M.; Shimizu, H. *Eur. J. Biochem.*, 1999, 261, 1.
[186] Bennett, B. *Curr. Top. Biophys.*, 2002, 26, 49.
[187] Bennett, B. *Metals in Biology*, 2010, Springer.
[188] Ueno, Y.; Tachi, Y.; Itoh, S. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 12428.
[189] Neuba, A.; Haase, R.; Meyer-Klaucke, W.; Floerke, U.; Henkel, G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, 51, 1714.
[190] Thomas, A.M.; Lin, B.-L.; Wasinger, E.C.; Stack, T.D.P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, 135, 18912.
[191] Lamb, A.L.; Torres, A.S.; O'Halloran, T.V.; Rosenzweig, A. C. *Nat. Struct. Biol.*, 2001, 8, 751.
[192] Palumaa, P. *FEBS Lett.*, 2013, 587, 1902.
[193] Pedersen, J.T.; Hureau, C.; Hemmingsen, L.; Heegaard, N.H.H.; Ostergaard, J.; Vasak, M.; Faller, P. *Biochemistry*, 2012, 51, 1697.
[194] Jomova, K.; Valko, M. *Toxicology*, 2011, 283, 65.
[195] Rehder, D. *Angew. Chem., Int. Ed.,* 1991, 30, 148.
[196] Butler, A.; Carter, J.N.; Simpson, M.T. *Handbook on Metalloproteins*, 2001, Marcel Dekker.
[197] Du, G.; Espenson, J.H. *Inorg. Chem.*, 2005, 44, 2465.
[198] Bryngelson, P.A.; Maroney, M.J. *Ni*ckel *and Its Surprising Impact in Nature*, 2007, John Wiley & Sons.
[199] Houser, R.P.; Young, V.G.; Tolman, W.B. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 2101.
[200] Lecloux, D.D.; Davydov, R.; Lippard, S.J. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120, 6810.

[201] Gupta, R.; Zhang, Z.H.; Powell, D.; Hendrich, M.P.; Borovik, A.S. *Inorg. Chem.*, 2002, 41, 5100.
[202] Hagadorn, J.R.; Zahn, T.I.; Que, Jr., L.; Tolman, W.B. *Dalton Trans.*, 2003, 1790.
[203] Kuzelka, J.; Mukhopadhyay, B.; Spingler, B.; Lippard, S.J. *Inorg. Chem.*, 2004, 43, 1751.
[204] Johnston, E.M.; Dell'Acqua, S.; Ramos, S.; Pauleta, S.R.; Moura, I.; Solomon, E.I. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, 136, 614.
[205] Pauleta, S.R.; Dell'Acqua S.; Moura, I. *Coord. Chem. Rev.*, 2013, 257, 332.
[206] Chen, P.; Gorelsky, S.I.; Ghosh, S.; Solomon, E.I. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, 43, 4132.
[207] Chan, J.M.; Bollinger, J.A.; Grewell, C.L.; Dooley, D.M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 3030.
[208] Bar-Nahum, I.; Gupta, A.K.; Huber, S.M.; Ertem, M.Z.; Cramer, C.J.; Tolman, W.B. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 2812.
[209] Tolman, W.B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, 49, 1018.

Partie 3 : Perspectives et projet de recherche

[1] Warshel A.; M. Levitt, M. *J. Mol. Biol.*, 1976, 103, 227.
[2] Maseras, F.; Morokuma, K. *J. Comput. Chem.*, 1995, 16, 1170.
[3] Ferguson, S.J. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1998, 2, 182.
[4] MacKay, B. A.; Fryzuk, M.D. *Chem. Rev.*, 2004, 104, 385.
[5] Jia, H.RP.; Quadrelli, E. A. *Chem. Soc. Rev.*, 2014, 43, 547.
[6] Galloway, J.N.; Townsend, A.R.; Erisman, J.W.; Bekunda, M.; Cai, Z.; Freney, J. R.; Martinelli, L.A.; Seitzinger, S.P.; Sutton, M.A. *Science*, 2008, 320, 889.
[7] Yandulov, D.V.; Schrock, R.R. *Science*, 2003, 301,76.
[8] Arashiba, K.; Miyake, Y.; Nishibayashi, Y. *Nat. Chem.*, 2011, 3,120.
[9] Anderson, J.S.; Rittle, J.; Peters, J.C. *Nature*, 2013, 501, 84.
[10] Burgess, B.K.; Lowe, D.J. *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2983.
[11] Einsle, O.; Tezcan, F.A.; Andrade, S.L.A.; Schmid, B.; Yoshida, M.; Howard, J.B.; Rees, D.C. *Science*, 2002,297,1696.
[12] Spatzal, T.; Aksoyoglu, M.; Zhang, L.; Andrade, S.L.A.; Schleicher, E.; Weber, S.; Rees, D.C.; Einsle, O. *Science*, 2011, 334, 940.
[13] Lancaster, K.M.; Roemelt, M.; Ettenhuber, P.; Hu, Y.; Ribbe, M.W.; Neese, F.; Bergmann, U.; DeBeer, S. *Science*, 2011, 334, 974.
[14] Wiig, J. A.; Hu, Y.; Lee, C. C.; Ribbe, M. W. *Science*, 2012, 337, 1672.

[15] Hoffman, B.M.; Lukoyanov, D.; Dean, D.R.; Seefeldt, L.C. *Acc. Chem. Res.*, 2013, 46, 587.
[16] Hoffman, B.M.; Lukoyanov, D.; Yang, Z.RY.; Dean, D.R.; Seefeldt, L.C. *Chem. Rev.*, 2014, 114, 4041.
[17] Dance, I. *Chem. Commun.*, 2013, 49, 10893.
[18] Seefeldt, L.C.; Yang, Z.RY.; Duval, S.; Dean, D.R. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, 1827, 1102.
[19] Lee, C.C.; Hu, Y.; Ribbe, M.W. *Science*, 2010, 329, 642.
[20] Groysman, S.; Holm, R.H. *Biochemistry*, 2009, 48, 2310.
[21] Lee, S.C.; Holm, R.H. *Chem. Rev.*, 2004, 104, 1135.
[22] Lee, S.C.; Holm, R.H. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2003, 100, 12522.
[23] Ohki, Y.; Ikagawa, Y.; Tatsumi, K. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 10457.
[24] Nakazawa, H.; Itazaki, M. *Fe7H complexes catalysis,* 2011, Springer Verlag.
[25] Dance, I. *Inorg. Chem.*, 2013, 52, 13068.
[26] Pauleta, S.R.; Dell'Acqua, S.; Moura, I. *Coord. Chem. Rev. ,*2013, 257, 332.
[27] Kroneck, P.M.H.; Antholine, W.A.; Riester, J.; Zumft, W.G. *FEBS Lett.*, 1988, 242, 70.
[28] Riester, J.; Zumft, W.G.; Kroneck, P.M.H. *Eur. J. Biochem.*, 1989, 178, 751.
[29] Scott, R.A.; Zumft, W.G.; Coyle, C.L.; Dooley, D.M. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1989, 86, 4082.
[30] Zumft, W. G.; Kroneck, P.M.H. *Adv. Microb. Phys.*, 2006, 52, 107.
[31] Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.; Tignor, M.M.B.; Miller, H.L. *Contribution of Working Group I to the fourth Assessment report of the Intergovernmental Panel on climate Change,* 2007, Cambridge University Press.
[32] Ravishankara, A.R.; Daniel, J.S.; Portmann, R. W. *Science*, 2009, 326, 123.
[33] Brown, K.; Djinovic-Carugo, K.; Haltia, T.; Cabrito, I.; Saraste, M.; Moura, J.J.G.; Moura, I.; Tegoni, M.; Cambillau, C. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 41133.
[34] Brown, K.; Tegoni, M.; Prudencio, M.; Pereira, A.S.; Besson, S.; Moura, J.J.; Moura, I.; Cambillau, C. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2000, 7, 191.
[35] Haltia, T.; Brown, K.; Tegoni, M.; Cambillau, C.; Saraste, M.; Mattila, K.; Djinovic-Carugo, K. *Biochem. J.*, 2003, 369, 77.
[36] Paraskevopoulos, K.; Antonyuk, S.V.; Sawers, R.G.; Eady, R.R.; Hasnain, S.S. *J. Mol. Biol.*, 2006, 362, 55.
[37] Chen, P.; Gorelsky, S.I.; Ghosh, S.; Solomon, E.I. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, 43, 4132.
[38] Gorelsky, S.I.; Ghosh, S.; Solomon, E.I. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 278.
[39] Pomowski, A.; Zumft, W.G.; Kroneck, P.M.H.; Einsle, O. *Nature*, 2011, 477, 234.
[40] Lewis, N.S.; Nocera, D.G. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006, 103, 15729.
[41] Armaroli, N.; Balzani, V. *Angew. Chem. Int. Ed*., 2007, 46, 52.
[42] Eisenberg, R.; Gray, H. B. *Inorg. Chem.*, 2008, 47, 1699.
[43] Eisenberg, R. *Science*, 2009, 324, 44.

Bibliographie

[44] Barber, J. *Int. J. Photoenergy*, 2004, 6, 43.
[45] Kanan, M. W.; Nocera, D. G. *Science*, 2008, 321, 1072.
[46] Lewis, N. S.; Nocera, D. G. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006, 103, 15729.
[47] Ruttinger, W.; Dismukes, G. C. *Chem. Rev.*, 1997, 97, 1.
[48] Yagi, M.; Kaneko, M. *Chem. Rev.*, 2001, 101, 21.
[49] Sun, L.C.; Hammarstrom, L.; Akermark, B.; Styring, S. *Chem. Soc. Rev.*, 2001, 30, 36.
[50] McEvoy, J.P.; Brudvig, G. W. *Chem. Rev.*, 2006, 106, 4455.
[51] Lubitz, W.; Reijerse, E.J.; Messinger, J. *Energy Environ. Sci.*, 2008, 1, 15.
[52] Umena, Y.; Kawakami, K.; Shen, J.-R.; Kamiya, N. *Nature*, 2011, 473, 55.
[53] Cady, C.W.; Crabtree, R.H.; Brudvig, G.W. *Coord. Chem. Rev.*, 2008, 252, 444.
[54] Wiechen, M.; Berends, H.M.; Kurz, P. *Dalton Trans.*, 2012, 21.
[55] Najafpour, M. M.; Allakhverdiev, S.I. *Inter. J. Hydrogen. Energy*, 2012, 37, 8753.
[56] Liu, X.; Wang, F. *Coord. Chem. Rev.*, 2012, 256, 1115.
[57] Okawa, H.; Furutachia, H.; Fenton, D.E. *Coord. Chem. Rev.*, 1998, 174, 51.
[58] Atkins, A.J.; Black, D.; Blake, A.J.; Marin-Becerra, A.; Parsons, S.; Ruiz-Ramirez L.; Schroder, M. *Chem. Commun.*, 1996, 457.
[59] Popescu, D.L.; Chanda, A.; Stadler, M.; Tiago de Oliveira, F.; Ryabov, A.D.; Munck, E.; Bominaar E.L.; Collins, T.J. *Coord. Chem. Rev.*, 2008, 252, 2050.
[60] Collins, T. J. *Acc. Chem. Res.*, 1994, 27, 279.
[61] Anson, F. C.; Collins, T.J.; Richmond, T.G.; Santarsiero, B.D.; Toth, J.E.; Treco, B.G.R.T. *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, 109, 2974.
[62] Jimenez, C.A.; Belmar, J.B.; Alderete, J.; Delgado, F.S.; Lopez Rodriguez, M.; Pena, O.; Julve, M.; Ruiz-Perez, C. *Dalton Trans.*, 2007, 2135.
[63] Wiechen, M.; Berends, H. M.; Kurz, P. *Dalton Trans.*, 2012, 21.
[64] Shimazaki, Y.; Nagano, T.; Takesue, H.; Ye, B. H.; Tani, F.; Naruta, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.*,2004, 43, 98.
[65] Limburg, J.; Vrettos, J.S.; Liable-Sands, L.M.; Rheingold, A.L.; Crabtree, R.H.; Brudvig, G.W. *Science*, 1999, 283, 1524.
[66] Yagi. M.; Narita, K. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 8084.
[67] Yagi. M.; Toda. M.; Yamada. S.; Yamazaki. H. *Chem. Commun.*, 2010, 8594.
[68] Rivalta, I.; Brudvig, G.W.; Batista, V.S. *Cur. Op. Chem. Bio.*, 2012, 16, 11.
[69] Herrero, C.; Lassalle-Kaiser, B.; Leibl, W.; Rutherford, A.W.; Aukauloo, A. *Coord. Chem. Rev.*, 2008, 252, 456.
[70] Huang, P.; Hogblom, J.; Anderlund, M.F.; Sun, L.C.; Magnuson, A.; Styring, S. *J. Inorg. Bio.*, 2004, 98, 733.
[71] Huang, P.; Magnuson, A.; Lomoth, R.; Abrahamsson, M.; Tamm, M.; Sun, L.; van Rotterdam, B.; Park, J.; Hammarstrom, L.; Akermark, B.; Styring, S.P. *J. Inorg. Bio.*, 2002, 91, 159.
[72] Collins, T.J.; Gordonwylie, S.W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 4511.
[73] Collins, T.J.; Powell, R.D.; Slebodnick, C.; Uffelman, E.S. *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 899.

[74] Macdonnell, F.M.; Fackler, N.L.P.; Stern, C.; Ohalloran, T.V. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 7431.
[75] Workman, J.M.; Powell, R.D.; Procyk, A.D.; Collins, T.J.; Bocian, D.F. *Inorg. Chem.*, 1992, 31, 1548.
[76] Balaban, T.S.; Bhise, A.D.; Fischer, M.; Linke-Schaetzel, M.; Roussel, C.; Vanthuyne, N. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, 42, 2140.
[77] Linke-Schaetzel, M.; Anson, C.E.; Powell, A.K.; Buth, G.; Palomares, E.; Durrant, J.D.; Balaban, T.S.; Lehn, J.-M. *Chem. Eur, J.*, 2006, 12, 1931.
[78] Balaban, T. S. *Acc. Chem. Res.*, 2005, 38, 612.
[79] Chappaz-Gillot, C.; Marek, P.L.; Blaive, B.J.; Canard, G.; Burck, J.; Garab, G.; Hahn, H.; Javorfi, T.; Kelemen, L.; Krupke, R.; Mossinger, D.; Ormos, P.; Malla Reddy, C.; Roussel, C.; Steinbach, G.; Szabo, M.; Ulrich, A.S.; Vanthuyne, N.; Vijayaraghavan, A.; Zupcanova, A.; Balaban, T.S. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134, 944.
[80] Lynd, L.R.; van Zyl, W.H.; McBride, J.E.; Laser, M. *Curr. Opin. Biotechnol*., 2005, 16, 577.
[81] Xu, Q.; Singh, A.; Himmel, M.E. *Curr. Opin. Biotechnol*., 2009, 364.
[82] Reglier, M.; Belle, C. *Copper Monuclear Monooxygenase. Encyclopedia of Metalloproteins*, 2012, Springer.
[83] Karkehabadi, S.; Hansson, H.; Kim, S.; Piens, K.; Mitchinson, C.; Sandgren, M. *J Mol Biol.*, 2008, 383, 144.
[84] Quinlan, R.J.; Sweeney M.D.; Lo Leggio, L.; Otten, H.; Poulsen, J.-C.N.; Johansen, K.S.; Krogh, K.B.R.M.; Jorgensen, C.I.; Tovborg, M.; Anthonsen, A.; Tryfona, T.; Walter, C.P.; Dupree, P.; Xu, F.; Davies, G.J.; Walton, P.H. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2011, 108, 15079.
[85] Hemsworth, G.R.; Davies, G.J.; Walton, P.H. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2013, 23, 660.
[86] Westereng, B.; Ishida, T.; Vaaje-Kolstad, G.; Wu, M.; Eijsink, V.G. et al. *PLoS One*, 2011, 6, e27807.
[87] Phillips, C.M.; Beeson, W.T.; Cate, J.H.; Marletta, M.A. *ACS Chem. Biol*., 2011, 6, 1399.
[88] Klinman, J.P. *J. Biol. Chem*., 2006, 281, 3013.
[89] Kim, S.; Stahlberg, J.; Sandgren, M.; Paton, R.S.; Beckham, G.T. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2014, 111,149.
[90] Prigge, S.T.; Eipper, B.A.; Mains, R.E.; Amzel, L.M. *Science*, 2004, 304, 864.
[91] Evans, J.P.; Ahn, K.; Klinman, J.P. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 4969.
[92] Csonka, R.; Kaizer, J.; Giorgi, M.; Reglier, M.; Hajba, L.; Mink, J.; Speier, G. *Inorg. Chem.*, 2008, 47, 6121.
[93] Ghattas, W.; Giorgi, M.; Mekmouche, M.; Tanaka, T.; Rockenbauer, A.; Reglier, M.; Hitomi, Y.; Simaan, A.J. *Inorg. Chem.*, 2008, 47, 4627.
[94] Selmeczi, K.; Giorgi, M.; Speier, G.; Reglier, M. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2006, 1022.

[95] Blain, I.; Bruno, P.; Giorgi, M.; Lojou, E.; Lexa, D.; Reglier, M. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1998 1297.
[96] Blain, I.; Giorgi, M.; De Riggi, I.; Reglier, M. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2000, 393.
[97] Blain, I.; Giorgi, M.; De Riggi, I.; Reglier, M. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2001, 205.
[98] Blain, I.; Slama, P.; Giorgi, M.; Tron, T.; Reglier, M. *Rev. Mol. Biotech.*, 2002, 90, 95.
[99] Buttner, T.; Geier, J.; Frison, G.; Harmer, J.; Calle, C.; Schweiger, A.; Schonberg, H.; Grutzmacher, H. *Science*, 2005, 307, 235.
[100] Fukuzumi, S.; Karlin, K.D. *Coor. Chem. Rev.*, 2013, 257, 187.
[101] Castillo, I.; Ugalde-Saldivar, V.M.; Rodriguez Solano, L.A.; Sanchez Eguia, B.N.; Zeglio, E.; Nordlander, E. *Dalton Trans.*, 2012, 41, 9394.
[102] Martinez-Alanis, P.R.; Sanchez Eguia, B.N.; Ugalde-Saldivar, V.M.; Regla, I.; Demare, P.; Aullon, G.; Castillo, I. *Chem. Eur. J.*, 2013, 19, 6067.
[103] Askari, M.S.; Girard, B.; Murugesu, M.; Ottenwaelder, X. *Chem. Commun.*, 2011, 47, 8055.
[104] Chaloner, L.; Askari, M.S.; Kutteh, A.; Schindler, S.; Ottenwaelder, X. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2011, 27, 4204.

Conclusion générale

[1] Lundberg, M.; Morokuma, K. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2001, John Wiley & Sons.
[2] Siegbahn, P.E. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2006, 11, 695.
[3] Gosh, A. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2006, 11, 671.
[4] Neese, F. *Coord. Chem. Rev.*, 2009, 253, 526.
[5] Neese, F.; Ames, W.; Christian, G.; Kampa, M.; Liakos, D.G.; Pantazis, D.A.; Roemelt, M.; Surawatanawong, P.; Ye, S. *Adv. Inorg. Chem.*, 2010, 62, 301.
[6] Neese, F. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2006, 11, 702.
[7] Neese, F. *Curr Opin Chem Biol.*, 2003, 7, 125.
[8] Sanchez, C.; Arribart, H.; Giraud Guille, M.M. *Nat. Mater.* 2005, 4, 277.
[9] Kraatz, H.; Metzler-Nolte, N. *Concepts and Models in Bioinorganic Chemistry*, 2006, Wiley.
[10] Hales, B. J. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2011, John Wiley & Sons.
[11] McCracken, J. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2011, John Wiley & Sons.

Bibliographie

[12] Alschuler, S.A. ; Kozyrev, B.M. *Electron Paramagnetic Resonance*, 1964, Academic Press.

[13] Solomon, E.I.; Scott, R.A.; King, R.B. *Computational Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2009*,* John Wiley & Sons.

[14] Kaupp, M.; Buhl, M.; Malkin, V.G. *Calculation of NMR and EPR Parameters: Theory and Applications,* 2004, Wiley.

[15] Warshel A.; M. Levitt, M. *J. Mol. Biol.*, 1976, 103, 227.

[16] Maseras, F.; Morokuma, K. *J. Comput. Chem.*, 1995, 16, 1170.

[17] Friener, R. A. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2011, John Wiley & Sons.

[18] Ryde, U. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2011, John Wiley & Sons.

[19] Kirchner, B.; Wennmohs, F.; Ye, S.; Neese F. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2007, 11, 134.

[20] Putz, M.V.; Mingos, D.M.P. *Applications of Density Functional Theory to Biological and Bioinorganic Chemistry*, 2013, Springer.