HAL
open science

Etude des sites métalliques et modélisation de la réactivité des métallo-β-lactamases par des calculs de chimie quantique

Malek Bou Kallaba

To cite this version:

Malek Bou Kallaba. Etude des sites métalliques et modélisation de la réactivité des métallo-β-lactamases par des calculs de chimie quantique. Autre. Université Montpellier; Université Tunis El Manar. Faculté des Sciences Mathématiques, Physiques et Naturelles de Tunis (Tunisie), 2017. Français. NNT : 2017MONTT173 . tel-01865075

HAL Id: tel-01865075

https://theses.hal.science/tel-01865075v1

Submitted on 30 Aug 2018

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.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Chimie et Physico-Chimie des Matériaux

École doctorale Sciences Chimiques Balard - ed 459

Unité de recherche Institut Charles Gerhardt Montpellier (ICGM)

En partenariat international avec l'Université de Tunis El Manar, TUNISIE

Etude des Sites Métalliques et Modélisation de la Réactivité des Métallo-β-lactamases par des Calculs de Chimie Quantique

Présentée par Malek BOUKALLABA
Le 28 juillet 2017

Sous la direction de Dorothée BERTHOMIEU
et Boutheïna KERKENI

Devant le jury composé de

Salima BOUGHDIRI, Professeur, Université de Tunis El Manar	Président du jury
Dorothée BERTHOMIEU, Directrice de recherche, Institut Charles Gerhardt Montpellier (ICGM)	Co- directrice
Boutheïna KERKENI, Professeur, Université de la Manouba	Co- directrice
Zoubeida DHAOUADI, Maître de conférences (HDR), Université de Carthage	Rapporteur
Caroline-Mellot DRAZNIEKS, Directrice de recherche, Collège de France	Rapporteur
Christine LEPETIT, Directrice de recherche, Université de Toulouse	Examinateur

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Résumé

Les métallo-β-lactamases sont des enzymes qui confèrent aux bactéries qui les produisent une résistance aux antibiotiques. La classe B représente les β-lactamases, dans lesquelles le site actif contenant un ou deux atomes de Zn favoriserait l'hydrolyse des antibiotiques. La dégradation des antibiotiques par les enzymes bactériennes est un mécanisme majeur de résistance. L'objectif de ce travail de thèse est de mettre en œuvre des outils de modélisation fondés sur des méthodes de mécanique quantique en vue de déterminer les structures de métallo-β-lactamases avec des inhibiteurs, étape nécessaire pour comprendre ultérieurement quels sont les mécanismes de réaction favorisant la dégradation d'un inhibiteur par des métallo-β-lactamases et fournir des informations qui serviront à mieux interpréter les phénomènes biologiques.

Nous avons tout d'abord déterminé les géométries et la stabilité de complexes de coordinations métalliques de systèmes modèles contenant du Zn, comme dans les sites métalliques des métallo-β-lactamases, ou du Cu, complexés à des histidines coordonnées par les Nπ ou Nτ, afin de voir s'il y a une préférence géométrique pour l'une ou l'autre des deux coordinations et voir l'influence de ces différentes coordinations possibles sur les paramètres géométriques au niveau du site métallique. Enfin la présence d'eau et l'influence du solvant aqueux a été étudiée. Grâce à ces méthodes de chimie quantique fondées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité, nous avons montré comment ces méthodes permettent d'avoir des informations structurales sur la symétrie adoptée par les centres métalliques, du Zn^{2+} et du Cu^{2+}. Cette étude structurale nous a permis de mettre en évidence des différences structurales entre ces deux ions métalliques et de déterminer les spectres vibrationnels. Ces investigations nous ont permis de mettre en évidence la nature des liaisons métal-ligand grâce à des approches topologiques. Nous avons montré que ces études préliminaires nous ont permis de choisir la meilleure méthode de calculs DFT pour étudier des centres à zinc dans des structures de β-lactamases.

Pour compléter l'étude de structures de métallo-β-lactamases, nous avons déterminé la structure de l'enzyme native L1 (β-lactamase) qui a permis de reproduire les paramètres géométriques des structures expérimentales de L1. Nous avons montré que l'approche combinant des études quantiques et classiques (QM/MM) permet de reproduire avec une très bonne confiance les paramètres structuraux de sites actifs de l'enzyme L1.

Enfin, nous avons déterminé les structures de certains sites actifs de la famille B3 des Métallo-β lactamases (Enzyme L1) pour comparer les affinités de différentes familles d'inhibiteurs synthétisées à l'IBM de Montpellier (Institut des Biomolécules de Montpellier) et prédire la structure possible de L1 avec différents inhibiteurs par des méthodes QM/MM pour voir si cette stratégie pourra être appliquée à d'autres inhibiteurs pour des métallo-β-lactamases.

Mots-clefs : chimie quantique, complexes de coordination, site actif, métallo-β-lactamases

Abstract

Metallo-β-lactamases are enzymes that give the bacteria that produce them antibiotic resistance. B Class represents the beta-lactamases, wherein one or two Zn atom(s) promote(s) β-lactams (antibiotics) hydrolysis. The major resistance mechanism is the degradation of the β-lactams by bacterial enzymes called β-lactamases. One major approach to overcome this resistance deals with combination therapy in which a β-lactam drug is given along with a β-lactamase inhibitor, which protects the former from inactivation. The objective of this thesis is to implement modeling tools based on quantum mechanical methods to determine metallo-β-lactamase structures with inhibitors, a step necessary to understand at a later stage the mechanisms of response to the degradation of the inhibitor by β-lactamases and to provide information that will serve to better interpret biological phenomena.

We have first determined the geometries and the stability of metal coordination complexes of model systems containing Zn, as in the metallo-β-lactamase metal sites, or Cu, complexed to histidines coordinated by Nπ or Nτ, in order to see if there is a geometric preference for one or the other of the two coordinations and to see the influence of these different possible coordinations on the geometrical parameters at the metallic site. Finally, the presence of water and the influence of the aqueous solvent were studied. Using these methods of quantum chemistry based on the density functional theory, we have shown how these methods provide structural information on the symmetry adopted by the metallic centers of Zn2+ and Cu2+. This structural study allows us to demonstrate structural differences between these two metal ions and to determine the vibrational spectra. These investigations were able to demonstrate the nature of the metal-ligand bonds through topological approaches. We have shown that these preliminary studies have conducted us to choose the best method of DFT calculations for studying zinc centers in β-lactamase structures.

To complete the study of metallo-β-lactamase structures, we have determined the structure of the native enzyme L1 (β-lactamase) which permitted to reproduce the geometric parameters of the experimental structures of L1. We have shown that the combination of quantum and classical approaches (QM/MM) allows to reproduce with very good confidence the structural parameters of the L1 enzyme active sites.
Finally, we have determined the structures of certain active sites in the B3 family of Metallo-β lactamases (Enzyme L1) to compare the affinities of different families synthesized at IBM in Montpellier (Institute of Biomolecules of Montpellier) and to predict the possible structure of L1 with different inhibitors by QM/MM methods to see if this strategy can be applied to other inhibitors for metallo-β-lactamases.

Keywords: quantum chemistry, coordination complexes, active sites, metallo-β-lactamases

Remerciements

En guise de remerciements, ce manuscrit de thèse représente une collaboration entre l'Université de Tunis El Manar et l'Université et l'Université de Montpellier. Elle n'a rien d'universel mais reflète pourtant bien les rencontres réalisées au cours de ces trois années.

Le travail présenté dans ce manuscrit a été mené dans un premier lieu au sein Laboratoire de Physique de la Matière Condensée (LPMC) de la Faculté des Sciences Mathématiques, Physiques et Naturelles de Tunis (FST), et dans un second lieu à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM) de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier.

Je tiens à remercier mes directrices de thèse, Madame Boutheïna Kerkeni et Madame Dorothée Berthomieu, pour m'avoir fait confiance tout au long de ces quatre années. Ils m'ont laissé autonome tout en croyant en mes capacités. Leur confiance m'a apporté des compétences qui, j'en suis sure, me seront très bénéfiques dans ma future vie active. Je les remercie aussi pour leur encadrement de grande qualité, gentillesse et optimisme tout au long de ma thèse.

Je remercie le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier qui ont financé ma thèse. Je tiens également à remercier les deux écoles doctorales de Tunisie et de France pour le suivi de ma thèse, notamment Karine Allenne la secrétaire de l'école doctorale Sciences Chimiques Balard.

Mes remerciements vont également à tous les membres du jury de ma soutenance de thèse : Madame Zoubeida Dhaouadi, Madame Caroline-Mellot Draznieks et Madame Christine Lepetit pour avoir accepté de rap- porter ma thèse ; Madame Salima Boughdiri qui a assuré la présidence du jury.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Madame Najoua Kammoun et Mamdame Samia Charfi professeurs à la Faculté des Sciences de Tunis et Directeurs de laboratoire de Physique de la matière condensée m'avoir accueilli dans leur équipe, et Monsieur Didier Tichit Directeur de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM) pour m'avoir toujours accueilli avec gentillesse pendant mes séjours en France.

Un grand merci à Isabelle Girard, secrétaire de l'ENSCM pour son aide administrative avec autant de sympathie et je tiens également à remercier toutes les personnes que j'ai pu rencontrer durant ces quatre années, au laboratoire ou pendant mes déplacements, qui ont su apporter leur contribution à mon travail par des discussions fructueuses.

Je pense également à toute ma famille et mes amis mais tout particulièrement à mes parents. Je n'aurai jamais pu réaliser de telles études et aller au bout de mes ambitions sans leur soutien. Ils m'ont toujours encouragée, écoutée et soutenue. Je tiens à leur exprimer ma plus profonde gratitude pour la confiance aveugle qu'ils ont eue en moi. Cette thèse, je vous la dédie.

Table des matières

Introduction

1 Enzymologie et inhibitions enzymatiques **9**
1.1 Les enzymes . . . 9
1.1.1 Définition et généralités . . . 9
1.1.2 Classification des enzymes . . . 9
1.1.3 Structure des enzymes . . . 10
1.1.4 Catalyse enzymatique . . . 11
1.2 Les β-lactamines . . . 12
1.2.1 Généralités sur les β-lactamines . . . 12
1.2.2 Mode d'action . . . 14
1.3 les β-lactamases . . . 15
1.3.1 Généralités sur les β-lactamases . . . 15
1.3.2 Classification des β-lactamases . . . 16
1.3.3 Résistance par production des β-lactamases . . . 18
1.4 1. Inhibiteur enzymatique . . . 19

2 Méthodologies de calcul **21**
2.1 Méthodes de calcul de Chimie Théorique (TC) . . . 21
2.1.1 Approximation de Born-Oppenheimer . . . 22
2.1.2 Approximation orbitale et déterminant de Slater . . . 24
2.2 Méthode de Hartree-Fock . . . 25
2.2.1 Les équations de Hartree-Fock . . . 27
2.2.2 Bases d'orbitales atomiques . . . 28
2.2.3 Champ auto-cohérant et limite Hartree-Fock . . . 31
2.2.4 Les méthodes Post-Hartree-Fock . . . 33
2.2.5 Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) . . . 33
2.3 Méthodes de Mécanique Moléculaire (MM) . . . 38
2.3.1 Liaisons et interactions atomiques . . . 39
2.3.2 Termes d'énergie . . . 39
2.3.3 Définitions des différents termes d'énergie . . . 40
2.3.4 Champs de Force . . . 46
2.3.5 Les différents types de champs de force . . . 46
2.4 Méthodes QM/MM . . . 48
2.4.1 Généralités . . . 48
2.4.2 La méthode hybride ONIOM . . . 49
2.5 Modèles de solvatations . . . 50
2.5.1 Etude de la solvatation par les méthodes théoriques . . . 51
2.5.2 Généralités thermodynamiques . . . 53
2.5.3 Le Modèle PCM . . . 53
2.5.4 Le Modèle C-PCM . . . 54

2.6 Méthode d'analyse topologique (ELF) 55

3 Etudes de complexes de coordination à Zinc et à Cuivre 57
3.1 Introduction 57
3.2 Le rôle des métaux dans les protéines 60
3.3 Méthodes utilisées 61
3.4 Structure de motifs zinc-4-MeIm et cuivre-4-MeIm dans la littérature . . . 62
3.5 Études DFT : calculs préliminaires 64
3.5.1 Phase gazeuse 64
3.5.2 Solvatation 69
3.5.3 Comparaison des modèles PCM et C-PCM 73
3.6 Nombres de coordination du Zinc et du cuivre 75
3.7 Analyse topologique de la Fonction de Localisation Electronique (ELF) . 77
3.8 Analyse des fréquences 79
3.9 Conclusion 84

4 Modélisations de sites actifs à Zinc 87
4.1 Introduction 87
4.2 Modélisation du site actif de la chaîne B de l'enzyme native L1 89
4.2.1 1. Préparation du fichier de données de calcul pour l'enzyme native L1 89
4.2.2 Optimisation de la chaîne L1(B) native 91
4.2.3 Résultats 93
4.3 Modélisation du complexe enzyme L1-inhibiteur II 100
4.3.1 Inhibiteur enzymatique 100
4.3.2 Optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteurs II . . . 103
4.3.3 Résultats 105
4.4 Modélisation du complexe enzyme L1-inhibiteur I 108
4.4.1 Optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteur I 108
4.4.2 Résultats 109
4.5 Conclusion 111

5 Conclusion générale 113

6 Annexe 117

Bibliographie 127

Liste des tableaux 139

Table des figures 141

Introduction

La résistance bactérienne aux antibiotiques est une menace croissante pour la santé et empêche un traitement efficace des infections. Lorsque cette résistance se développe ; les antibiotiques ne sont plus efficaces et par conséquent ne permettent pas de traiter ou guérir les malades. Les métallo-β-lactamases sont des enzymes qui confèrent aux bactéries qui les synthétisent une résistance aux antibiotiques. Les β–lactamines sont une large classe d'antibiotiques. L'inactivation enzymatique des β-lactamines par les β-lactamases est un des mécanismes majeurs de résistance. Les β-lactamines restent toujours les agents chimiothérapeutiques les plus utiles dans la lutte contre les infections bactériennes. Un des mécanismes majeurs de résistance est la dégradation des β-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes) par les enzymes bactériennes β-lactamases. Une approche importante pour surmonter cette résistance consiste à traiter par une combinaison de thérapies dans laquelle une β-lactamine est donnée avec un inhibiteur de β-lactamase, qui empêche l'activation de la β-lactamase.

L'objectif de ce travail de thèse sera de déterminer les structures des sites actifs de la famille B3 des Métallo-β-lactamases avec et sans inhibiteur. L'étude de l'effet d'inhibiteurs permet d'affiner le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme et d'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif. Cela permettra de fournir des informations qui serviront à mieux interpréter les phénomènes biologiques. Ce travail sera fait par une approche de modélisation, en utilisant des méthodes de chimie théorique fondées sur la mécanique quantique et la mécanique classique.

A cette fin, nous nous sommes basés sur l'étude structurale de certains complexes de coordinations métalliques modélisant les sites actifs de métallo-enzymes (Chapitre III). Nous déterminerons les géométries et la stabilité des structures lorsque les histidines (modélisées par des cycles méthyl-imidazoles) sont coordonnées par les $N\tau$ et N_π, afin de voir s'il y a une préférence géométrique pour l'une ou l'autre des deux coordinations et voir l'influence de ces différentes coordinations possibles sur les paramètres géométriques au niveau du site métallique. Nous montrerons comment les méthodes de chimie quantique permettent d'avoir des informations structurales sur la symétrie adoptée par les centres métalliques, du Zn^{2+} et du Cu^{2+}. Cette étude préliminaire permet de mettre en évidence des différences structurales entre ces deux ions métalliques. Nous étudierons aussi les propriétés spectroscopiques de ces complexes, à savoir leurs modes de vibration dans l'infrarouge à l'aide du logiciel VibMol. Ces spectres vibrationnels permettent de pouvoir clairement discriminer une coordination N_π d'une coordination $N\tau$ en particulier nous montrerons comment le marqueur C4=C5 des cycles des histidines conduit à des bandes spécifiques dans le domaine IR. Ensuite, nous montrerons que ces études préliminaires permettent d'étudier des centres à zinc dans des structures de métallo-β-lactamases.

Enfin, nous déterminerons les structures des sites actifs de la famille B3 des Métallo-β-lactamases (Enzyme L1) et les structures de certains de ces sites en présence de l'inhibiteur pour comparer les affinités de différentes familles synthétisées à l'IBMM à Montpellier (Chapitre IV). Nous utiliserons des méthodes de chimie quantique fondées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT, aussi des méthodes hybrides QM et QM/MM seront utilisées pour décrire les structures en prenant compte si possible de l'ensemble de la protéine considérée. Les méthodes utilisées qui sont implémentées dans le logiciel Gaussian 09, seront présentées dans le chapitre II et feront l'objet d'une validation de chaque étape de notre étude.

Ces modélisations nécessitent de calculer les états de transition pour établir les profils réactionnels. Nos calculs nous permettront de déterminer les enthalpies, énergies libres et représenter le profil énergétique ainsi que d'étudier l'effet de la rigidité du modèle, l'effet de la solvatation, etc.

CHAPITRE 1

Enzymologie et inhibitions enzymatiques

Sommaire

1.1 Les enzymes 9
1.1.1 Définition et généralités 9
1.1.2 Classification des enzymes 9
1.1.3 Structure des enzymes 10
1.1.4 Catalyse enzymatique 11
1.2 Les β-lactamines 12
1.2.1 Généralités sur les β-lactamines 12
1.2.2 Mode d'action 14
1.3 les β-lactamases 15
1.3.1 Généralités sur les β-lactamases 15
1.3.2 Classification des β-lactamases 16
1.3.3 Résistance par production des β-lactamases 18
1.4 1. Inhibiteur enzymatique 19

1.1 Les enzymes

1.1.1 Définition et généralités

Les enzymes sont des protéines, présentes dans tous les organismes vivants et responsables de la catalyse de différentes réactions chimiques, ce sont des macro-molécules majoritairement de nature protéique [1]. Elles sont capables de réaliser la plupart des réactions biochimiques avec une efficacité extraordinaire. Les réactions chimiques dans les systèmes biologiques se font rarement en l'absence d'enzymes. Au cours de ces dernières années, le nombre d'enzymes connues a considérablement augmenté et des applications multiples ont été développées en chimie analytique, en pharmacologie, en toxicologie, dans l'industrie agro-alimentaire et dans le secteur biomédical[2].

1.1.2 Classification des enzymes

Les enzymes sont hiérarchisées et classées essentiellement en fonction de la description du type de réaction catalysée et pas des caractéristiques structurales de l'enzyme ou

de la nature des substrats. Le pouvoir catalytique des enzymes permet de produire des substances et de l'énergie, indispensables au bon fonctionnement des organismes vivants. C'est en fonction de leur activité catalytique que celles-ci sont classées en six principaux groupes[1]. Une nomenclature a été proposée par la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie divisant les enzymes en six grandes classes.

Chaque classe est divisée en sous-classes et chaque sous-classe en sous-sous-classes. Un "numéro" de classification est associé à chaque enzyme et est appelé "EC number". Il se présente de la manière suivante : EC [numéro de la classe].[numéro de la sous-classe]. [numéro de la sous-sous-classe]. [numéro individuel de série dans la sous-sous classe]. Prenons l'exemple de la glucose oxydase : EC 1.1.3.4. Ce chiffre est explicité ci-dessous :
EC 1 : Oxydoréductase
EC 1.1 : Agissant sur le groupe CH-OH du donneur
EC 1.1.3 : Avec l'oxygène comme accepteur
Le dernier chiffre est le numéro individuel de l'enzyme

E.C (classe)	Classification	Type de réaction catalysée
E.C.1	Oxydoréductases	Oxydo-réduction
E.C.2	Transférases	Transfert de groupements fonctionnels
E.C.3	Hydrolases	Hydrolyse
E.C.4	Lyases	Elimination de groupement et formation de doubles liaisons
E.C.5	Isomérases	Isomérisation
E.C.6	Ligases	Formation de liaisons couplées à l'hydrolyse de l'ATP

TABLE 1.1 – Classification des enzymes[1].

1.1.3 Structure des enzymes

Plusieurs milliards d'enzymes ont été identifiées, un grand nombre d'entre elles ont été cristallisées. Ce sont toutes des protéines. Les unités structurales de base sont donc des aminoacides. Ces aminoacides sont liés entre eux par des liaisons peptidiques pour former des chaînes polypeptidiques. Les enzymes sont donc des polypeptides de masses moléculaires élevées entre 10 à 1 000 kDa.

$$NH_3^+ - CHR_1 - CO - NH - CHR_2 - CO - NH - CHR_3 - CO - ... - NH - CHR_n - COO -$$

Les groupements R possèdent souvent des fonctions NH_2 ou COOH. La liaison peptidique est formée par une liaison covalente entre un groupement α-aminé d'un acide aminé et le groupement carboxylique d'un autre acide aminé (par perte d'une molécule

d'eau). On appelle structure primaire l'ordre dans lequel les acides aminés sont disposés linéairement dans la chaîne protéique.

Les enzymes ne sont pas repliées de façon linéaire, la chaîne d'acides aminés se replie sur elle-même et forme une structure tridimensionnelle (des arrangements secondaires principalement en hélices α et en feuillets β). Des acides aminés éloignés dans la structure primaire peuvent se retrouver très proches les uns des autres dans la structure secondaire de l'enzyme. Cette structure est stabilisée grâce à la formation de liaisons hydrogènes.
La forme finale de la chaîne d'acides aminés, c'est-à-dire la structure tridimensionnelle finale qu'adopte la chaîne d'acides aminés, constitue la structure tertiaire de la protéine qui, elle, peut-être stabilisée par des ponts disulfures.
La structure finale résultant de l'assemblage des différentes chaînes constitue la structure quaternaire de la protéine. évidemment, les protéines qui ne sont formées que d'une seule chaîne d'acides aminés n'ont pas de structure quaternaire.

1.1.4 Catalyse enzymatique

La catalyse, qu'elle soit chimique ou biologique, repose sur le même principe : elle fait appel à un composé appelé catalyseur pour augmenter la vitesse de réaction sans perturber les fonctions thermodynamiques. Ainsi, la position d'équilibre (cf. cinétique chimique) d'une réaction n'est pas modifiée et peut être calculée à partir des données thermodynamiques liées au réactif (appelé substrat en terme biochimique) et au produit de réaction.
La cinétique de réaction, au contraire, dépend d'autres données liées à l'expérience même telles que la composition, la température, la pression du mélange réactionnel. Le catalyseur, d'autre part, ne doit pas être consommé au cours de la transformation.
En réalité, le catalyseur a pour fonction d'abaisser l'énergie d'activation nécessaire à la réaction afin d'augmenter le nombre de molécules susceptibles de donner lieu à la réaction.
Les enzymes sont des biomolécules très importantes parce que leur pouvoir catalytique et leur spécificité sont souvent très supérieurs à ceux des catalyseurs chimiques. L'activité des enzymes comme catalyseurs biologiques dépend à la fois des propriétés spécifiques à l'enzyme (concentrations des substrats et inhibiteurs) et des effets non spécifiques (pH, force ionique, température). Une des caractéristiques particulières de l'enzyme est son besoin fréquent de cofacteur. Le cofacteur n'est pas une protéine : il peut être un ion métallique (Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+}....), ou une molécule organique complexe appelée aussi coenzyme tels que le NAD, FAD, CoA, ATP.... Le cofacteur métallique peut aussi se fixer sur une protéine appelée apoenzyme (enzyme inactive) pour donner un complexe actif ou holoenzyme [1] qui présente une enzyme complète et active.
Le fait que toutes les enzymes soient des protéines leur confère les propriétés physicochimiques de ces macromolécules (solubilité, propriétés osmotiques et de diffusion, échanges ioniques, dénaturation thermique et labilité avec les réactifs chimiques énergiques).

1. L'holoenzyme est le complexe enzymatique catalytiquement activé par ses cofacteurs

1.2 Les β-lactamines

1.2.1 Généralités sur les β-lactamines

Les β-lactamines sont des médicaments antibiotiques actifs contre certaines bactéries et représentent la famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité pour certaines molécules et leur faible coût [3]. Elles représentent une vaste famille d'antibiotiques bactéricides qui possèdent comme structure de base le cycle β-lactame (Figure 1.1).

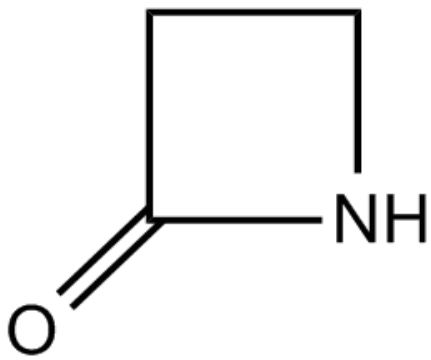


FIGURE 1.1 – Cycle β-lactame.

Les β-lactamines regroupent :

Les pénams=pénicillines qui comportent plusieurs groupes :

-Pénicilline G (voie parentérale) et (voie orale)
-Pénicilline M (méticilline)
-Pénicilline A (aminopénicilline)
-Carboxy pénicilline (ticarcilline), réservées à l'usage hospitalier, qui outre le spectre de l'ampicilline agissent sur les entérobactéries hospitalières et les pseudomonas ticarcilline-sensible.
-Uréido-pénicilline (pipéracilline), de spectre analogue à la ticarcilline, réservées à l'usage hospitalier.
-Amidino-pénicillines (pivmécillinam) spectre limité aux Entérobactéries.

Les inhibiteurs des β-lactamases : Les β-lactamases sont une famille d'enzymes responsables de la résistance de certaines bactéries vis-à-vis de certains antibiotiques β-

lactamines et les inhibiteurs des β-lactamases sont des pénams sans activité antibiotique notable ; il se fixent de façon irréversible au β-lactamases ce qui protège les β-lactamines de l'inactivation et les rend efficaces sur des bactéries productrices de β-lactamases de type pénicillinase : Oxapénam (Acide clavulanique).

Les pénems : carbapénèmes (imipénème, méropénème) réservés aux infections hospitalières à germes résistants.

Les céphems : qui comportent 3 classes : 1ère, 2ème, 3ème et 4ème génération.

Les céphalosporines monobactams (aztréonam) réservés aux infections hospitalières sévères.

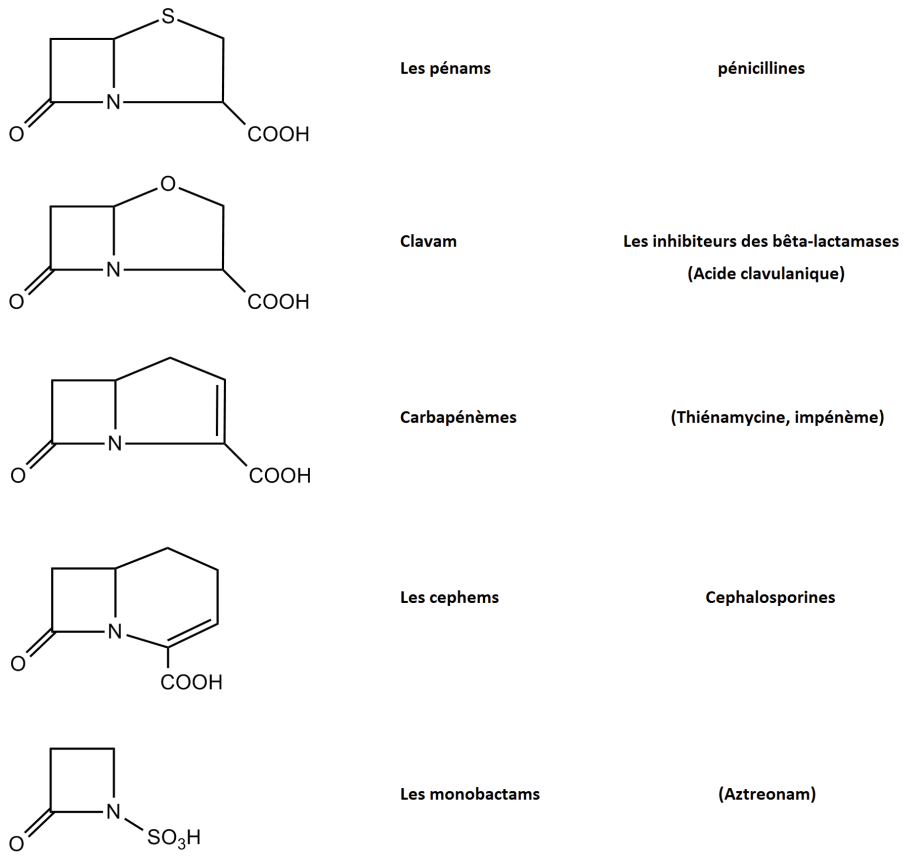


FIGURE 1.2 – Structures chimiques des principeaux noyaux des β-lactamines.

1.2.2 Mode d'action

Le mécanisme d'action est général pour toutes les molécules de la famille des β-lactamines. Les β-lactamines sont des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne) par une inactivation des principales enzymes impliquées dans cette construction et regroupés sous le terme de PLP (Protéines Liant les Pénicillines) : Transpeptidases, Endo-peptidases et Carboxypeptidases[4, 5].
En mimant la structure tridimensionnelle de la séquence D-Ala-D-Ala, les β-lactamines se comportent comme des inhibiteurs de la transpeptidase, enzyme essentielle à la synthèse de la paroi bactérienne. Elles forment une liaison covalente avec l'enzyme et empêchent donc toute activité de celle-ci, les β -lactamines sont des substrats-suicide. L'affnité est variable en fonction de la molécule et des PLP cibles ce qui explique les différences de concentration minimale inhibitrice (CMI) des différentes β-lactamines pour une même bactérie.

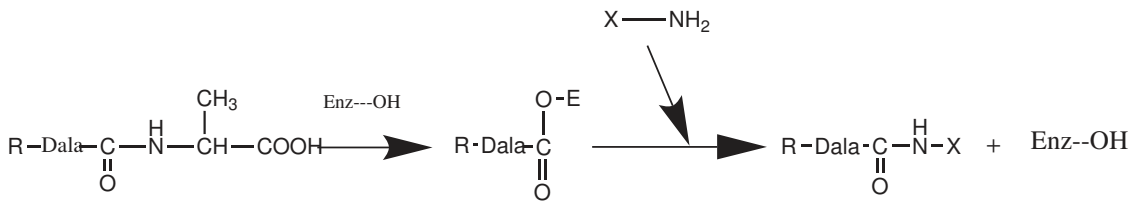


FIGURE 1.3 – Réaction de transpeptidation catalysée par la transpeptidase.

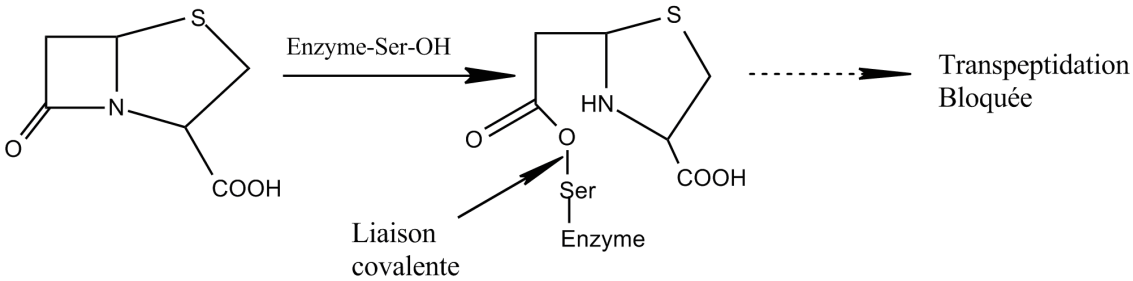


FIGURE 1.4 – Blocage de la réaction de transpeptidation par une β-lactame.

Les β-lactamines sont actives sur des bactéries en phase de croissance bactérienne car les protéines cibles sont impliquées dans le renouvellement constant de la paroi bactérienne. C'est ainsi que des bactéries placées dans un environnement qui favorise une quiescence ne permet pas une activité optimale de cette classe d'antibiotiques (température basse, sporulation, manque d'oxygène pour des bactéries aérobies préférentielles...).
Les β -Lactamines sont des antibiotiques bactéricides "temps-dépendants" dont l'activité est en fonction du temps d'exposition à une concentration supérieure à la CMI et car leur activité disparaît au fur et à mesure que leur concentration décroît au niveau de leur cible.

Pour Obtenir une efficacité maximale, il faut que la concentration au site de l'infection soit maintenue le plus longtemps possible au-dessus de la CMI de la bactérie cible.

1.3 les β-lactamases

1.3.1 Généralités sur les β-lactamases

Les maladies infectieuses sont responsables de 45 % des décès dans les pays à faibles revenus et de presque une mortalité prématurée sur deux dans le monde entier. Les infections bactériennes représentent 70 % des cas de mortalité causés par les microorganismes [6]. Les bactéries ont développé différents mécanismes pour contrecarrer l'action des β-lactamines, entre autres la modification de la cible (Protéines liants Pénicillines) qui les rend moins sensibles aux β-lactamines mais permet de maintenir son activité physiologique normale ; la production des enzymes (β-lactamases) qui inactivent les β-lactamines par modification chimique.
Les β-lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β-lactame des antibiotiques de la famille des β-lactamines (Figure 1.5) [7], donnant un produit biologiquement inactif qui perd totalement son activité antimicrobienne [8].

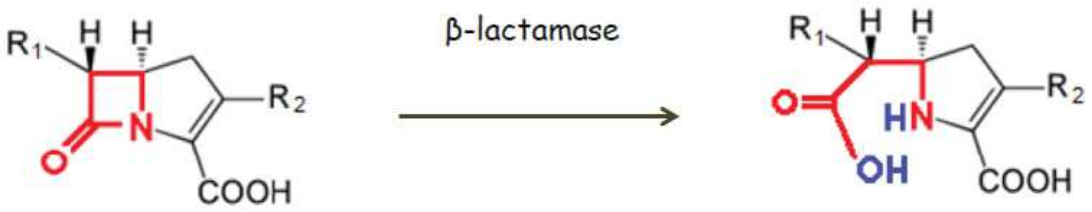


FIGURE 1.5 – Mécanisme proposé pour l''hydrolyse des carbapénèmes par une β-lactamase (noyau β-lactame en rouge et molécule d'eau en bleu) [7].

La production des β-lactamases est le mécanisme de résistance le plus répandu et le plus important des bactéries vis-à-vis des β-lactamines [3]. Plus de 290 types de β-lactamases sont décrits et classés suivant leur structure primaire en 4 classes (A-D) [9]. La plus grande partie des β-lactamases a été mise en évidence chez les bacilles à Gram négatif qui sont par ailleurs responsables de la majorité des infections hospitalières (60%) et sont de plus en plus multi-résistants.

1.3.2 Classification des β-lactamases

Les β-lactamases sont des enzymes d'inactivation, d'une extrême diversité, de type sérine ou métalloenzyme. Les β-lactamases de type sérine possèdent dans leur site actif une sérine qui intervient dans le mécanisme d'acylation au cours de l'hydrolyse des β-lactamines. Par contre l'activité des métallo-β-lactamases nécessite la présence d'ions métalliques. Généralement, les β-lactamases sont classées suivant trois schémas :

TABLE 1. Classification schemes for bacterial β-lactamases

Bush-Jacoby-Medeiros group	1989 Bush group (44)	Richmond-Sykes class (253)	Mitsuhashi-Inoue type (194)[a]	Molecular class (2, 121, 132)	Preferred substrates	Inhibited by: CA[b]	Inhibited by: EDTA	Representative enzymes
1	1	Ia, Ib, Id	CSase	C	Cephalosporins	−	−	AmpC enzymes from gram-negative bacteria; MIR-1
2a	2a	Not included	PCase V	A	Penicillins	+	−	Penicillinases from gram-positive bacteria
2b	2b	III	PCase I	A	Penicillins, cephalosporins	+	−	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2b′	Not included except K1 in class IV	CXase	A	Penicillins, narrow-spectrum and extended-spectrum cephalosporins, monobactams	+	−	TEM-3 to TEM-26, SHV-2 to SHV-6, *Klebsiella oxytoca* K1
2br	Not included	Not included	Not included	A	Penicillins	±	−	TEM-30 to TEM-36, TRC-1
2c	2c	II, V	PCase IV	A	Penicillins, carbenicillin	+	−	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	2d	V	PCase II, PCase III	D	Penicillins, cloxacillin	±	−	OXA-1 to OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	2e	Ic	CXase	A	Cephalosporins	+	−	Inducible cephalosporinases from *Proteus vulgaris*
2f	Not included	Not included	Not included	A	Penicillins, cephalosporins, carbapenems	+	−	NMC-A from *Enterobacter cloacae*, Sme-1 from *Serratia marcescens*
3	3	Not included	Not included	B	Most β-lactams, including carbapenems	−	+	L1 from *Xanthomonas maltophilia*, CcrA from *Bacteroides fragilis*
4	4	Not included	Not included	ND[c]	Penicillins	−	?	Penicillinase from *Pseudomonas cepacia*

[a] Csase, cephalosporinase; PCase, penicillinase; CXase, cefuroxime-hydrolyzing β-lactamase.
[b] CA, clavulanic acid.
[c] ND, not determined.

FIGURE 1.6 – Schémas de classification des β-lactamases des bactéries [10].

La classification de Bush-Jacoby et Medeiros [10] : établie selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse.

La classification moléculaire de Ambler [9] : tient compte de la structure primaire des différentes β-lactamases et les divise en quatre classes (A à D).

La classification de Richmond-Sykes [11] : basée sur les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel.

Les classifications fonctionnelles considèrent la fonctionnalité des β-lactamases (substrat, profil d'inhibition) et divisent aussi ces enzymes en quatre groupes (1 à 4) et plusieurs sous-groupes. Le tableau dans la figure 1.6 montre les corrélations entre la classification proposée et d'autres régimes fréquemment cités.

a) Classe A

La classe A est la plus diversifiée, Elle comprend des pénicillinases des bactéries à Gram positif, des céphalosporinases [2] inductibles (AmpA) chromosomiques ou plasmidiques, sensibles à l'acide clavulanique et les β-lactamases à spectre élargi hydrolysant les céphalosporines de 3ème génération et les monobactames. Généralement, les β-lactamases de classe A sont caractérisées par un poids moléculaire (PM) moyen de 29 KDa et un point isoélectrique [3] (pI) variable de 5,4 à 8,2. En revanche la plus part de ces enzymes sont sensibles aux inhibiteurs suicides (acide clavulanique, sulbactame et tazobactame) utilisés en médecine. Les représentants de ce groupe sont les enzymes du type TEM, SHV et plus récemment le type CTX-M.

b) Classe C

Cette classe est constituée de céphalosporinases (AmpC), chromosomiques ou plasmidiques [12], résistantes à l'acide clavulanique et le sulbactame [13]. L'hyperproduction de ces enzymes est liée au phénotype de multi-résistance observée chez certains bacilles à Gram négatif. Cependant, certaines d'entre elles sont faiblement inhibées par le tazobactame. Les β-lactamases de classe C sont généralement caractérisées par un PM moyen de 40 KDa et un pI variable compris entre 7 et 9. Les principaux représentants de ce groupe sont les β-lactamases du type, AmpC, FOX, ACT, CMY.

c) Classe D

Dans la classe D, on retrouve les oxacillinases (AmpD) qui sont les β-lactamases hydrolysant les isoxazolylpénicillines comme la cloxacilline et l'oxacilline, le plus souvent

2. Enzyme augmentant le niveau de résistance naturelle des bactéries aux antibiotiques.
3. Un point isoélectrique est la valeur du pH pour laquelle le transport d'une protéine dans un champ électrique est nul, c'est-à-dire le pH pour lequel la protéine est électriquement neutre

plasmidiques, de phénotype pénicillinases peu sensibles aux inhibiteurs, pouvant être inhibées par le NaCl. Ces enzymes sont plus ou moins résistantes à l'action de l'acide clavulanique, en revanche elles sont bien inhibées par le tazobactame [3]. Le PM des enzymes de cette classe est très variable (23 à 40 KDa) et le pI peut varier de 6 à 8,6 et les représentants de ce groupe sont les β-lactamases du type OXA.

d) Classe B

Les β-lactamases des classes A, C et D sont, comme les PLPs, des enzymes à serine active reconnaissant la penicilline, par contre celles de classe B sont des métallo-β-lactamases qui hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines et pouvant être inhibées par l'EDTA. Cette classe constitue le groupe des métallo-enzymes zinc-dépendantes, toutes les métallo-enzymes ont comme point commun, la présence sur l'ion métallique coordonné à la protéine d'un site de coordination labile permettant la fixation d'un substrat lors de la réaction enzymatique. Ces enzymes se caractérisent par un PM moyen d'environ 26 à 28 KDa et un pI compris entre 5 et 10,5. La grande importance clinique de ces enzymes est associée à l'hydrolyse des carbapenèmes, ce sont des antibiotiques qui échappent à l'activité des β-lactamases à sérine active. La plupart des métallo-β-lactamases sont insensibles aux inhibiteurs classiques (acide clavulanique, sulbactame, tazobactame), ce qui rend le choix difficile d'une antibiothérapie efficace et la production de ces enzymes par les bactéries pathogènes telles Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Bacteroides fragilis, Stenotrophomonas maltophilia, Chrysobacterium meningosepticum, et Acinetobacter baumannii.

A partir de la séquence des enzymes, cette classe est subdivisée en trois sous classes, B1, B2, et B3 [14]. La sous classe B1 contient la première MBL identifiée à partir de la bactérie Bacillus cereus [15], La première structure cristalline déterminée par diffraction de rayons X de MBL et la BcII [16]. BcII est un monomère et il est actif avec un ou deux ions Zn dans le site actif [17, 18]. Par contre la sous classe B2, l'enzyme CphA de Aeromonas, dont la structure a été récemment résolue à haute résolution, est active uniquement avec un ion Zn. Enfin, la sous-classe B3 comprend l'enzyme tétramérique L1 à partir de Stenotrophomonas maltophilia, qui est active à deux ions Zn. Les structures aux rayons X de L1 sont disponibles pour l'enzyme dans son état natif [19] ainsi que son complexe avec le produit d'hydrolyse de moxalactam [20].

1.3.3 Résistance par production des β-lactamases

La résistance aux antibiotiques est un phénomène plus ancien que l'apparition des antibiotiques. Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la production de cette bactérie ou de la tuer.

Les bactéries ont développé différent mécanismes pour résister aux β-lactamines, elles possèdent plusieurs mécanismes de résistance associés. Le mécanisme le plus important des bactéries pour contrecarrer l'activité des β-lactamines est la production d'enzyme de type β-lactamase [3]. Les β-lactamases sont des enzymes qui hydrolysent et inactivent les β-lactamines, elles catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β-lactame. Ce cycle se comporte comme un substrat-suicide d'enzymes, commun à toutes les molécules de la famille β-lactamines d'antibiotiques.

Il existe deux types de résistance par production de β-lactamase, en effet la synthèse de ces enzymes est codée ; soit par un gène chromosomique présent chez toutes les souches d'une même espèce, on parle alors de résistance naturelle aux β-lactamines ; soit par un gène porté par un élément génétique mobile de type plasmide ou transposon, et peut être présent chez une souche particulière, on parle alors de résistance acquise. L'utilisation abusive des β-lactamines est l'origine de l'apparition de nouvelles enzymes ou d'enzymes mutantes dans le domaine de la santé humaine et animale et en agriculture [21, 22, 23].

1.4 1. Inhibiteur enzymatique

L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques, et notamment dans la régulation des voies métaboliques. Puisque l'inhibition d'une enzyme peut tuer un pathogène ou corriger un déséquilibre métabolique.

Généralement, l'inhibiteur d'une enzyme est une molécule qui se lie à une enzyme et diminue son activité. Il peut également empêcher la fixation d'un substrat sur le site actif en se fixant à sa place, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui le rend inactive. En bloquant l'activité d'une enzyme par un inhibiteur, on peut également tuer un agent pathogène ou corriger un déséquilibre métabolique. De ce fait, nombreux médicaments sont des inhibiteurs d'enzymes. En outre, toutes les molécules ou ligands qui se lient aux enzymes ne sont pas des inhibiteurs ; les activateurs enzymatiques existent également et accroissent l'activité de l'enzyme, tandis que des substrats d'enzymes se lient et sont convertis en produits dans le cycle catalytique normal de l'enzyme. En enzymologie, les inhibiteurs sont très utilisés pour déterminer le mécanisme d'action d'une enzyme. La liaison d'un inhibiteur peut empêcher la pénétration d'un substrat dans le site actif de l'enzyme et / ou inhiber l'enzyme. Les inhibiteurs peuvent être réversibles ou irréversibles. Les inhibiteurs irréversibles réagissent habituellement avec les enzymes en les modifiant chimiquement (par exemple par l'intermédiaire de la formation de liaisons covalentes). Ces inhibiteurs peuvent modifier les résidus d'acides aminés clés qui sont nécessaires pour l'activité enzymatique. En revanche, les inhibiteurs réversibles se lient de manière non covalente et différents types d'inhibition sont produites selon la façon dont ils se lient à l'enzyme.

De nombreuses molécules de médicaments sont des inhibiteurs d'enzymes, de sorte que leur découverte et amélioration est un domaine actif de la recherche en biochimie et de la pharmacologie. Un médicament inhibiteur de l'enzyme est souvent jugée par sa spécificité (son absence de liaison à d'autres protéines) et sa force de complexation (sa constante de dissociation ou d'inhibition, ce qui indique la concentration nécessaire pour inhiber l'enzyme). Il est aussi nécessaire de s'assurer qu'un médicament aura peu d'effets secondaires, et donc une faible toxicité.

CHAPITRE 2

Méthodologies de calcul

Sommaire

2.1 Méthodes de calcul de Chimie Théorique (TC) 21
2.1.1 Approximation de Born-Oppenheimer 22
2.1.2 Approximation orbitale et déterminant de Slater 24
2.2 Méthode de Hartree-Fock 25
2.2.1 Les équations de Hartree-Fock 27
2.2.2 Bases d'orbitales atomiques 28
2.2.3 Champ auto-cohérant et limite Hartree-Fock 31
2.2.4 Les méthodes Post-Hartree-Fock 33
2.2.5 Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) 33
2.3 Méthodes de Mécanique Moléculaire (MM) 38
2.3.1 Liaisons et interactions atomiques 39
2.3.2 Termes d'énergie 39
2.3.3 Définitions des différents termes d'énergie 40
2.3.4 Champs de Force 46
2.3.5 Les différents types de champs de force 46
2.4 Méthodes QM/MM 48
2.4.1 Généralités 48
2.4.2 La méthode hybride ONIOM 49
2.5 Modèles de solvatations 50
2.5.1 Etude de la solvatation par les méthodes théoriques 51
2.5.2 Généralités thermodynamiques 53
2.5.3 Le Modèle PCM 53
2.5.4 Le Modèle C-PCM 54
2.6 Méthode d'analyse topologique (ELF) 55

2.1 Méthodes de calcul de Chimie Théorique (TC)

Les méthodes de calcul *ab intio* s'appuyant sur la mécanique quantique (QM) et sont fondées sur la résolution de l'équation de Schrödinger. La fonction d'onde d'un système composé de **M** atomes et **N** électrons est obtenue en résolvant l'équation de

Schrödinger[24] indépendante du temps suivante :

$$H\Psi = E\Psi \tag{2.1}$$

où E est l'énergie du système et H l'hamiltonien du système. Ψ sera fonction des coordonnées des noyaux et des électrons. Il n'est cependant pas possible de résoudre rigoureusement une telle équation à l'exception des systèmes à un électron. C'est pour cela que des approximations ont été introduites dans la méthode quantique proposées dès les années 20 afin de pouvoir résoudre cette équation d'une façon approchée.
Soit un système composé de N électrons et M noyaux (sans traitement relativiste), l'hamiltonien pour un système à couches fermées est donné par :

$$H = T_e + T_n + V_{n-e} + V_{e-e} + V_{n-n} \tag{2.2}$$

L'hamiltonien H est composé de cinq contributions : l'énergie cinétique des électrons T_e, l'énergie cinétique des noyaux T_n, l'énergie de répulsion électrostatique électron-électron V_{e-e}, l'énergie potentielle des électrons dans le champ des noyaux V_{e-n} et l'énergie de répulsion électrostatique entre noyaux V_{n-n}.

$\hbar$ est la constante de Planck divisée par 2π, m_e est la masse de l'électron et e est sa charge. M_A est la masse du noyau A. R_{AB} est la distance entre le noyau de l'atome A et celui de l'atome B dont les charges nucléaires sont respectivement Z_A et Z_B. ∇_i^2 est le laplacien du $i^{ième}$ électron.
Cet hamiltonien ne prend pas en considération les interactions entre les électrons avec les champs extérieurs au système (par exemple : la résonance paramagnétique électronique). On utilisera par la suite les notations en unités atomiques. Par définition, l'électron a une masse d'une unité dans le système unité atomique au moyen du modèle de Bohr. L'unité atomique d'énergie, le hartree, est définie comme deux fois l'énergie de liaison de l'électron dans la première orbite de Bohr. On peut alors en déduire : $\hbar = 1$ et $e^2 = 1$.

$$H = -\sum_{i=1}^{N} \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{A=1}^{M} \frac{\nabla_A^2}{2M_A} - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M} \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^{N}\sum_{j>i}^{n} \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^{M}\sum_{B>A}^{M} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \tag{2.3}$$

La première des approximations à être introduite est celle de Born-Oppenheimer[25, 26, 27].

2.1.1 Approximation de Born-Oppenheimer

En 1927, Born et Oppenheimer [25, 26, 27] ont proposé de simplifier la résolution de l'équation (2.1) en séparant la partie électronique de la partie nucléaire dans la fonction d'onde Ψ.
Cette approximation est basée sur le fait que les électrons ont une vitesse beaucoup plus

grande que celle des noyaux, ceci étant dû à la masse beaucoup plus faible des électrons (environ 1836 fois plus petite que la masse du proton). La fonction d'onde du système solution de l'équation de Schrödinger dans l'approximation de Born et Oppenheimer peut donc s'écrire sous la forme d'un produit de deux fonctions :

$$\Psi(r,R) = \psi_e(r,R)\psi_n(R) \tag{2.4}$$

Où $\psi_n(R)$ est la fonction d'onde nucléaire, $\psi_e(r,R)$ est la fonction d'onde électronique correspondant à un jeu de positions R des noyaux figés, r et R étant respectivement les positions des électrons et des noyaux.

En négligeant la contribution de l'operateur énergie cinétique des noyaux vu que leur vitesse est très négligeable devant celle des électrons, la fonction d'onde électronique $\psi_e(r,R)$ sera alors solution de l'équation de Schrödinger électronique suivante :

$$[-\sum_{i=1}^{N}\frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^{N}\sum_{j>i}^{N}\frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^{M}\sum_{B>A}^{M}\frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}]\psi_e(r,R) = E(R)\psi_e(r,R) \tag{2.5}$$

Cette équation décrit donc le mouvement électronique dans le champ des noyaux fixes, la fonction d'onde $\psi_e(r,R)$ et l'énergie $E(R)$ dépendent des coordonnées nucléaires et l'ensemble des $E(R)$ constitue ce qu'on appelle une courbe de potentiel (pour une molécule diatomique) et intervient comme l'énergie potentielle des noyaux dans l'équation d'onde nucléaire [28].

L'équation (2.5) peut encore s'écrire :

$$[H_e + V_{n-n}]\psi_e(r,R) = E(R)\psi_e(r,R) \tag{2.6}$$

Où

$$H_e = -\sum_{i=1}^{N}\frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^{N}\sum_{j>i}^{N}\frac{1}{r_{ij}}$$

et

$$V_{n-n} = \sum_{A=1}^{M}\sum_{B>A}^{M}\frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

$\psi_e(r,R)$ est la fonction propre et E(R) est l'énergie incluant les interactions électrostatiques nucléaires solution de l'opérateur $H_e + V_{n-n}$, les indices (i,j) sont relatifs aux électrons et A et B sont relatifs aux noyaux.

Comme V_{n-n} ne dépend que des coordonnées nucléaires, $\psi_e(r,R)$ vérifie aussi l'équation suivante :

$$H_e\psi_e(r,R) = E_e\psi_e(r,R) \tag{2.7}$$

Où $E_e(R)$ est l'énergie électronique du système, et on a :

$$E(R) = E_e(R) + V_{n-n} \tag{2.8}$$

Dans le cas d'une molécule diatomique, la géométrie ne dépend que de la distance entre les noyaux. La fonction E(R) est appelée courbe de potentiel.

Notons que cette approximation est erronée lorsque deux ou plusieurs solutions de l'équation (2.7) ont des énergies voisines. Dans la majeure partie des systèmes moléculaires, cette approximation introduit une erreur. Son utilisation permet de ramener le problème à la résolution de l'équation de Schrödinger électronique pour un ensemble de géométries des noyaux.

2.1.2 Approximation orbitale et déterminant de Slater

L'approximation orbitale[29] consiste à exprimer la fonction d'onde ψ_e, solution de l'équation de Schrödinger limitée à l'hamiltonien électronique H_e décrit plus haut (Eq 2.6), par un produit de fonctions dépendantes chacune des coordonnées d'un seul électron :

$$\psi_e(1,2...,N) = \phi_1(1)\phi_2(2)...\phi_N(N) \tag{2.9}$$

Les fonctions monoélectroniques ϕ_i sont donc des orbitales moléculaires renfermant la partie spatiale aussi bien que la partie spin et sont souvent appelées spin-orbitales qui peuvent être considérées comme orthonormales.

$$< \phi_i|\phi_j >= \delta_{ij}$$

Malheureusement, cette fonction d'onde ψ_e ne satisfait pas au principe de Pauli[30] qui stipule que la fonction d'onde décrivant un système multiélectronique doit changer de signe lors de la permutation des coordonnées de deux électrons quelconques. Dans l'approximation orbitale, la fonction d'onde qui satisfait ce principe se met sous la forme d'un déterminant de Slater[31] :

$$\psi_e = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(1) & \phi_2(1) & \cdots & \phi_N(1) \\ \phi_1(2) & \phi_2(2) & \cdots & \phi_N(2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(N) & \phi_2(N) & \cdots & \phi_N(N) \end{vmatrix} ; < \phi_i|\phi_j >= \delta_{ij} \tag{2.10}$$

Pour le cas général de N électrons et N spinorbitales, où ϕ_i est une spinorbitale produit d'une orbitale d'espace par sa fonction de spin associée.

$$\psi_e(1,2...,N) = A[\phi_1(1)\phi_2(2)...\phi_N(N)] \tag{2.11}$$

où A peut être dévloppé comme une somme de permutations :

$$A = \frac{1}{\sqrt{N!}}\sum_{p=0}^{N-1}(-1)^p P = \frac{1}{\sqrt{N!}}[\mathbf{1} - \sum_{ij}\mathbf{P}_{ij} + \sum_{ijk}\mathbf{P}_{ijk} - ...] \tag{2.12}$$

1 est l'opérateur identité, tandis que la somme sur $\mathbf{P}_{ij}$ produit toutes les permutations possibles des deux coordonnées électroniques, la somme sur $\mathbf{P}_{ijk}$ donne toutes les permutations possibles de trois coordonnées électroniques, etc.

Généralement, les orbitales moléculaires sont développées en une combinaison linéaire finie d'orbitales atomiques. Cette approche est appelée LCAO (Linear Combinaison of Atomic Orbitals)[32].

2.2 Méthode de Hartree-Fock

Encore appelée approximation du "champ self consistant" SCF, Hartree (1928), Fock (1930), elle fût proposée en 1928 par Hartree [33]. Le problème électronique est un problème multi-corps et du fait de la présence des termes d'interaction entre les électrons, il est impossible de traiter séparément les différents électrons.
Toutefois, on peut séparer les variables en supposant que chaque électron se met dans le champ moyen des autres électrons.
En définissant pour chaque électron d'un système un hamiltonien de coeur h_i par :

$$\mathbf{h} = \sum_{i=1}^{N} h_i = \sum_{i=1}^{N}[-\frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}}] \tag{2.13}$$

L'hamiltonien électronique pour un système à un électron donné par l'équation (2.6) peut se mettre sous la forme suivante :

$$H_e = \sum_{i=1}^{N} h_i + \sum_{j>i}^{N}\frac{1}{r_{ij}} \tag{2.14}$$

L'énergie peut donc être écrite comme dans l'équation (2.15) :

$$E = \sum_{i=1}^{N} < \phi_i(1)|h_1|\phi_i(1) > +$$

$$\sum_{i=1}^{N}\sum_{j>i}^{N}(< \phi_i(1)\phi_j(2)|\frac{1}{r_{12}}|\phi_i(1)\phi_j(2) > - < \phi_i(1)\phi_j(2)|\frac{1}{r_{12}}|\phi_j(1)\phi_i(2) >) + V_{n-n}$$

$$E = \sum_{i=1}^{N} h_i + \sum_{i=1}^{N}\sum_{j>i}^{N}(J_{ij} - Kij) + V_{n-n} \tag{2.15}$$

$$J_{ij} =< \phi_i(1)\phi_i(2)|\frac{1}{r_{12}}|\phi_j(1)\phi_j(2) >$$

$$K_{ij} =< \phi_i(1)\phi_j(2)|\frac{1}{r_{12}}|\phi_j(1)\phi_i(2) >$$

Les intégrales J_{ij} et K_{ij} sont respectivement appelées intégrale de Coulomb et intégrale d'échange, l'intégrale de Coulomb a un équivalent en mécanique classique, alors que l'intégrale d'échange provient de la nécessité d'antisymétriser la fonction d'onde.
Les intégrales de Coulomb et d'échange décrivent les interactions entre les électrons. Le signe moins pour le terme d'échange provient du facteur $(-1)^p$ dans l'opérateur d'antisymétrie (Eq 2.12).
L'énergie peut aussi être écrite sous une forme plus symétrique que dans l'équation précédente :

$$E = \sum_{i=1}^{n} h_i + \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n}(J_{ij} - K_{ij}) + V_{n-n} \tag{2.16}$$

Pour un système à couches fermées, l'énergie électronique dans l'approximation de Hartree-Fock s'écrit :

$$E = 2\sum_{i=1}^{\frac{N}{2}} h_i + \sum_{i=1}^{\frac{N}{2}}\sum_{j=1}^{\frac{N}{2}}(2J_{ij} - K_{ij}) + V_{n-n} \tag{2.17}$$

2.2.1 Les équations de Hartree-Fock

Il s'agit ici de déterminer les orbitales moléculaires qui minimisent l'énergie donnée par l'expression (2.16), la meilleure fonction d'onde ψ_e décrivant le système doit être celle qui correspond à un minimum de l'énergie.
La variation de l'énergie, cependant, doit être effectuée de telle manière que les *OMs* (orbitales moléculaires) restent orthogonales et normalisées. L'énergie calculée est toujours supérieure à l'énergie exacte selon le principe variationnel. Ce qui signifie que le signe de l'erreur est toujours connu, donc pour obtenir l'énergie Hartree- Fock il faut minimiser l'énergie calculée en modifiant les spin-orbitales et en leur imposant une contrainte d'orthonormalisation. Il s'agit d'une optimisation sous contrainte, et peut être manipulée au moyen des multiplicateurs de Lagrange.
Lors de la dernière étape donnant la dérivation de la variation de l'énergie, il est commode d'exprimer l'énergie en termes des opérateurs de Coulomb (**J**) et d'échange (**K**).

$$E = \sum_{i}^{N} < \phi_i|\mathbf{h_i}|\phi_i > + \frac{1}{2}\sum_{ij}^{N}(< \phi_j|\mathbf{J_i}|\phi_j > - < \phi_j|\mathbf{K_i}|\phi_j >) + V_{n-n} \tag{2.18}$$

$$\mathbf{J_i}|\phi_j(2) >=< \phi_i(1)|\frac{1}{r_{12}}|\phi_i(1) > |\phi_j(2) >$$

$$\mathbf{K_i}|\phi_j(2) >=< \phi_i(1)|\frac{1}{r_{12}}|\phi_j(1) > |\phi_i(2) >$$

L'écriture de cette condition d'extrémum de l'énergie par rapport à chaque spinorbitale conduit à un ensemble d'équations appelées équations de Hartree-Fock[33] de la forme :

$$\mathbf{F}_i\phi'_i = \varepsilon_i\phi'_i \tag{2.19}$$

les orbitales ϕ'_i sont appelées OM (Orbitales Moléculaires) canoniques.
les équations (2.8) définissent un ensemble de fonctions parmi lesquelles se trouvent des spinorbitales permettant de construire un déterminant de Slater qui approche le mieux la fonction d'onde multiélectronique du système étudié.
Ces équations définissent un opérateur **F**, appelé opértateur de Fock, qui vérifie la relation :

$$\mathbf{F}_i = \mathbf{h}_i + \sum_{j}^{N}(\mathbf{J}_j - \mathbf{K}_j) \tag{2.20}$$

Les équations Hartree-Fock forment un ensemble de valeurs propres des pseudo-équations (Eq 2.8), l'opérateur de Fock dépend de toutes les *OMs* occupées par les électrons dans les opérateurs (Coulomb **J** et l'échange **K**).
Les *OMs* canoniques peuvent être considérées comme un ensemble pratique d'orbitales pour effectuer le calcul variationnel. L'énergie totale ne dépend que de la fonction d'onde totale, qui est un déterminant de Slater écrite en termes des *OMs* occupées (Eq 2.10). La fonction d'onde totale est inchangée par une transformation unitaire des *OMs* occupées (Des lignes et des colonnes peuvent être ajoutées et soustraites dans un déterminant sans affecter le déterminant lui-même). Après avoir déterminé les *OMs* canoniques, un autre ensemble d'*OMs* peut être généré en formant des combinaisons linéaires, telles que les *OMs* localisées, ou les *OMs* affichant une hybridation[34].

L'énergie totale peut être écrite en termes des énergies des *OMs* (en utilisant la définition de **F** dans les équations (2.8) et (2.3)) :

$$E = \sum_{i=1}^{N} \varepsilon_i - \frac{1}{2}\sum_{ij}^{N}(J_{ij} - K_{ij}) + V_{n-n} \tag{2.21}$$

$$\varepsilon_i =< \phi_i|\mathbf{F}_i|\phi_i >= h_i + \sum_{j}^{N}(J_{ij} - K_{ij})$$

L'énergie totale n'est pas simplement une somme des énergies des *OMs*. L'opérateur de Fock contient des termes qui décrivent la répulsion de tous les autres électrons à travers les opérateurs **J** et **K**, et la somme sur les énergies des *OMs* compte donc la répulsion électron-électron deux fois, ce qui doit être corrigé. Il est également clair que l'énergie totale ne peut pas être exacte, car elle décrit la répulsion entre un électron et tous les autres électrons, en supposant que leur répartition spatiale est décrite par un ensemble d'orbitales. La répulsion électron-électron est uniquement représentée d'une façon moyenne, et la méthode HF est donc également considérée comme une approximation de champ moyen. Comme mentionné précédemment, cela est dû à l'approximation d'un seul déterminant de Slater comme choix de fonction d'onde d'essai.

2.2.2 Bases d'orbitales atomiques

Dans les méthodes *ab initio* , ou utilise un ensemble de fonctions de bases (”basis set”)[35] à partir duquel on définit l'ensemble des orbitales moléculaires du système chimique étudié (méthode LCAO). Cet ensemble de fonctions de bases fini est, dans le cas, général, non orthonormé. Cette dernière caractéristique correspond à une intégrale de recouvrement **S** :

$$S_{ij} = \langle \chi_i | \chi_j \rangle$$

Approximation LCAO

Ces orbitales moléculaires seront prises a priori sous la forme de *combinaisons linéaires d'orbitales atomiques* (C.L.O.A ou en anglais LCAO)[32].
On considère qu'au voisinage d'un noyau, la fonction d'onde ressemble à celle de l'atome correspondant ; une fonction moléculaire globale ϕ doit donc ressembler à un mélange de toutes les orbitales atomiques χ_i et s'écrit donc :

$$\phi = \sum_{i=1}^{M} c_i \chi_i \tag{2.22}$$

Les ϕ peuvent être considérées comme des vecteurs d'un espace dont l'ensemble des M orbitales atomiques utilisées constitue la base. la taille de cette base est choisie en fonction de la qualité du calcul souhaitée.
Il existe deux types d'orbitales atomiques : les orbitales de type Slater et les orbitales de type gaussiennes.

• *Les orbitales de type Slater* (Slater type orbitales STO)[36] sont des fonctions de la forme :

$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r,\theta,\varphi) = NY_{l,m}(\theta,\varphi) r^{n-1} e^{-\zeta r} \tag{2.23}$$

ζ est un paramètre qui décrit la taille de l'orbitale, N la constante de normalisation tandis que les $Y_{l,m}(\theta,\varphi)$ sont les harmoniques sphériques.

• *Les orbitales gaussiennes* (Gaussien type orbitales GTO)[37, 35] s'écrivent en coordonnées polaires et cartésiennes.

$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r,\theta,\varphi) = NY_{l,m}(\theta,\varphi) r^{2n-2-l} e^{-\zeta r^2} \tag{2.24}$$

$$\chi_{\zeta,l_x,l_y,l_z}(x,y,z) = N x^{l_x} y^{l_y} z^{l_z} e^{-\zeta r^2} \tag{2.25}$$

La somme de l_x, l_y et l_z détermine le type de l'orbitale (par exemple $l_x + l_y + l_z = 1$ est une orbitale-p). De part leur dépendance en r^2 les orbitales de type gaussiennes représentent moins bien (par rapport aux STOs) le comportement des électrons lorsqu'ils sont très proches du noyau ainsi que lorsqu'ils en sont très éloignés. Bien que leur qualité est inférieure à celle des STOs, les $GTOs$ ont l'avantage de donner dans l'approximation LCAO une bonne représentation de OMs. Ainsi, pour obtenir une qualité équivalente à une STO, il est nécessaire de combiner plusieurs GTO_s. Par ailleurs, les orbitales gaussiennes sont commodes pour le calcul des intégrales à plusieurs centres qui peuvent être déterminées analytiquement ou numériquement à l'aide d'un schéma unidimensionnel

s'appuyant sur la règle du produit des gaussiennes.

Base Minimale

Une base minimale consiste à ne prendre que le nombre minimal de fonctions de base correspondant à tous les électrons du système. Par exemple, une seule fonction s pour l'hydrogène, deux fonctions s (1s et 2s) et un ensemble de fonctions p ($2p_x$, $2p_y$ et $2p_z$) pour le carbone.
Exemple : STO-nG ; il s'agit d'une base minimale pour laquelle n orbitales gaussiennes primitives sont ajustées à une orbitale de type Slater (STO).

Bases étendues (Double Zeta, Triple Zeta,...)

Une base étendue consiste à un doublement d'*OAs*, un triplement d'OA_s,... etc, de chaque base pour les atomes. Par exemple, pour une base Double Zeta, l'hydrogène est défini par deux *OAs* : 1s et 1s' ; le carbone est défini par 10 OA_s : 1s, 1s', 2s, 2s', 2p, 2p'.
Notation : DZ pour Double Zeta, TZ pour Triple Zeta, QZ pour Quadruple Zeta, 5Z pour Quintuple Zeta, 6Z pour Sextuple Zeta,...

Doubler, tripler,..., le nombre d'*OAs* permet de mieux décrire la répartition anisotrope des électrons dans l'espace.

Bases étendues polarisées

Ce sont des fonctions de moment angulaire supérieur à celui des fonctions précédentes. Typiquement, cela consiste à rajouter des orbitales p aux hydrogènes, d au carbone. Dans la plupart des cas où l'on ne tient pas compte de la corrélation électronique, le premier jeu de fonctions de polarisations est suffisant pour décrire les effets de polarisation électronique. Cependant, dans les méthodes incluant la corrélation électronique, il peut s'avérer crucial d'inclure plusieurs niveaux de polarisation. En utilisant les notations précédentes, on peut définir des jeux de bases différents tels que par exemple DZP (Double Zeta + Polarisation) et TZ2P (Triple Zeta + Double Polarisation).

Bases diffuses

Ce sont des fonctions avec un petit exposant. Elles permettent de mieux décrire les parties des *OMs* éloignées des noyaux.
Elle sont nécessaires pour décrire les interactions (Exemple : l'interactions de Van der Waals de longue portée [38]).

Les potentiel effectifs ou pseudo potentiels de coeur

Dans un pseudo-potentiel, les électrons de coeur et le noyau forment un potentiel effectif agissant sur les électrons de valence. Les électrons de coeur sont alors pour ainsi dire "fixés". Plusieurs pseudo-potentiels ont été mis au point commme le pseudo-potentiel LANL2DZ [39, 40] et sa version partiellement décontractée LANL2TZ.

2.2.3 Champ auto-cohérant et limite Hartree-Fock

Pour résoudre l'équation de HF(2.19), Roothan[41] a proposé d'exprimer les spin-orbitales dans un ensemble de fonctions de base selon la méthode LCAO. On obtient alors l'équation de Roothan[42, 43] :

$$FC_k = \varepsilon SC_k \tag{2.26}$$

Où ε est une matrice diagonale des énergies orbitalaires : chacun de ses éléments présente l'énergie d'un électron dans l'orbitale moléculaire. F est la matrice de Fock représentant le mouvement d'un électron dans le champ du noyau et des autres électrons, autrement dit elle présente l'effet du champ moyen crée par tous les électrons sur chaque orbitale. S est la matrice de recouvrement représentant le recouvrement entre différentes orbitales. C est la matrice formée par les coefficients des développements d'orbitales moléculaires sur les fonctions de base (chaque colonne de C est une orbitale moléculaire).

L'équation (2.26) n'est pas linéaire et doit être résolue d'une manière itérative à l'aide d'une procédure auto-cohérente nommée champ auto-cohérent[] ou méthode SCF pour le mot anglais Self Consistent Field. Cette méthode procède comme suit :

1. spécifier le système (atome ou molécule), les fonctions de base et les états électroniques à étudier (singlet, triplet,..) ainsi que leur symétrie.

2. faire une première estimation des coefficients C des orbitales moléculaires.

3. former la matrice **F**.

4. résoudre l'équation (2.26).

5. utiliser des nouveaux coefficients C des orbitales moléculaires afin de former une nouvelle matrice de Fock.

6. retourner à l'étape 5 et répéter jusqu'à atteindre une convergence des énergies définie par un seuil pré établi d'une itération à une autre. L'énergie est à son minimum. Les solutions donnent un ensemble d'orbitales, soit occupées, soit virtuelles.

La méthode SCF est résumée par la donnée de la Figure 2.1.

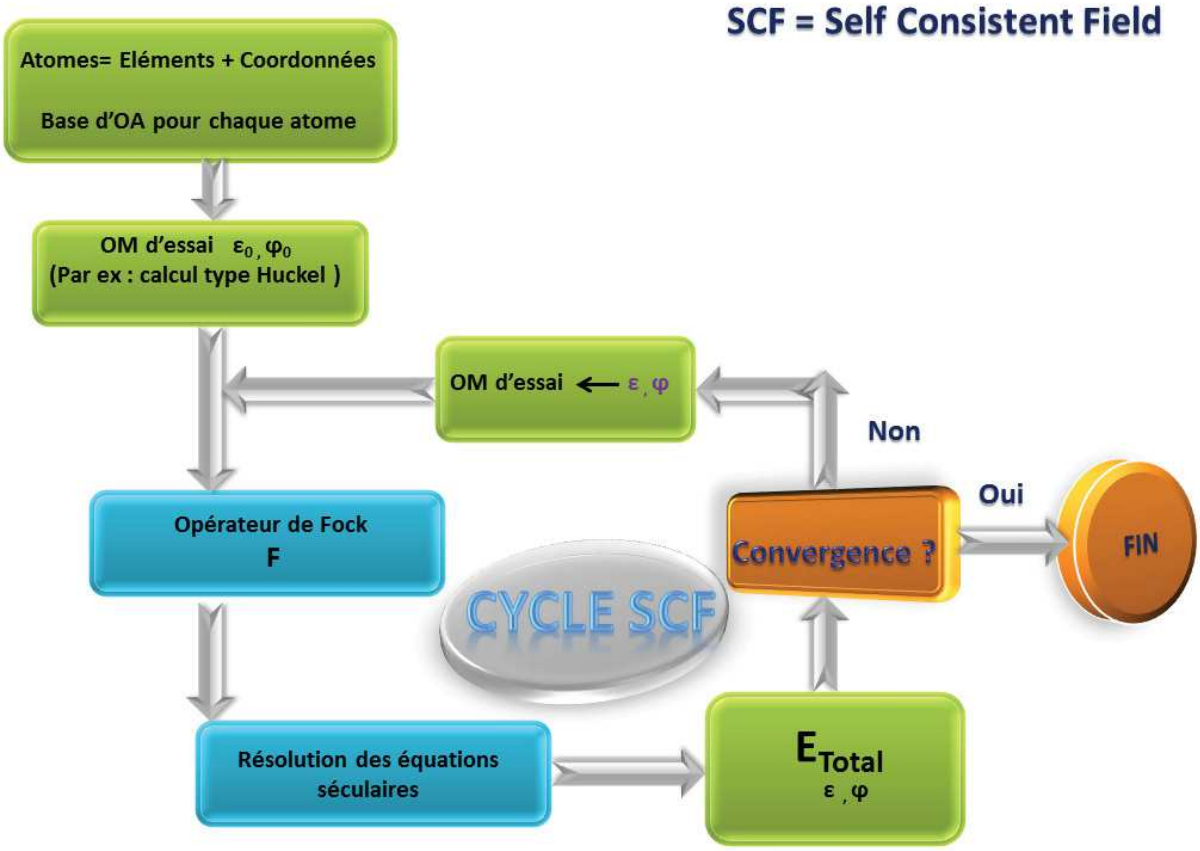


FIGURE 2.1 – Illustration de la procédure de la méthode SCF.

L'une des approximations jusqu'ici utilisée est la combinaison linéaire d'orbitales atomiques (LCAO). Supposons qu'on obtient l'énergie Hartree-Fock E1 d'une molécule à partir d'une base B1. On peut construire une base B2 à partir de B1 en ajoutant quelques fonctions de base (exemple : 6-31G* à partir de 6-31G). Parce que l'énergie Hartree-Fock est obtenue à partir du principe variationnel, l'énergie Hartree-Fock E2 obtenue à partir de B2 est plus petite : E2 < E1. Ainsi, plus la base utilisée va être "grande", plus l'énergie Hartree-Fock va diminuer, pour atteindre une limite : l'Énergie Limite Hartree-Fock.

Cette énergie n'est pas la "vraie" énergie du système.

$$E_{exacte} < E_{HF}$$

2.2.4 Les méthodes Post-Hartree-Fock

La différence entre l'énergie limite Hartree-Fock et l'énergie exacte (dans le cas d'un système non relativiste) est appelée l'énergie de corrélation. Elle est dûe au fait que les équations de Hartree-Fock utilisent l'approximation orbitale associée à un déterminant de Slater : les électrons sont décrits par des fonctions d'ondes moléculaires indépendantes.

Les équations de Hartree-Fock correspondent donc à l'approximation suivante : chaque électron a une trajectoire indépendante dans un champ moyen d'interactions dû aux autres électrons (approximation du champ moyen). La corrélation électronique correspond au fait qu'en réalité, la position de chaque électron est influencée par la position des autres électrons (à l'instant t).
Il existe différentes méthodes *ab initio* permettant de prendre en compte par le calcul cette corrélation électronique : ce sont les méthodes post-Hartree-Fock (Exemple : Méthode d'interaction de configuration (CI) [44, 45], Méthode de Møller-Plesset (MP) [46]....etc).

Dans les méthodes décrites précédemment, un système à N électrons est décrit par une fonction d'onde qui dépend de 4N variables (3N variables d'espace et n variables de spin).
De plus, ces méthodes sont très coûteuses en temps de calcul CPU [1] et en mémoire, en particulier pour des systèmes de grandes tailles.
L'idée fondamentale de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) est de réduire le nombre de variables en remplaçant la fonction d'onde par une fonctionnelle qui est "la densité électronique" $\rho(x,y,z)$ qui ne dépend que de 3 variables seulement.

2.2.5 Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

I) Principe des calculs DFT

a) Fondement de la théorie DFT

Historiquement, les premiers à avoir exprimé l'énergie en fonction de la densité furent Thomas (1927)[47], Fermi (1927, 1928) [48] et Dirac (1930) [49] sur le modèle du gaz uniforme d'électrons non interagissant.
Le but des méthodes DFT est de déterminer des fonctionnelles qui permettent de relier la densité électronique à l'énergie [50]. Cependant, la DFT a véritablement débuté avec les théorèmes fondamentaux de Hohenberg et Kohn en 1964 [51] qui établissent une relation fonctionnelle entre l'énergie de l'état fondamental et sa densité électronique.

•Théorème de Hohenberg et Kohn :

1. Le CPU Time est le temps passé par un programme sur le processeur. Ce temps est une constante : il ne dépend pas de la charge de travail de la machine

Enoncé : L'énergie d'un système moléculaire, la fonction d'onde et toutes les autres propriétés électroniques de l'état fondamental sont déterminées à partir de la densité électronique de l'état fondamental ρ(x,y,z).
Rappelons l'expression de l'hamiltionien électronique :

$$H_e = -\sum_{i=1}^{N} \frac{\nabla_i^2}{2} + \sum_{i=1}^{N} \sum_{j>i}^{N} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i=1}^{N} v(r_i) \tag{2.27}$$

$$v(r_i) = \sum_{A=1}^{M} \frac{Z_A}{r_{iA}} \tag{2.28}$$

$v(r_i)$: potentiel externe de l'électron i :
Ce potentiel correspond à l'attraction de l'électron (i) par tous les noyaux qui sont externes par rapport au système d'électrons.
ρ : exprime la densité électronique au point r. En intégrant cette densité ponctuelle sur tout l'espace, on obtient le nombre total d'électrons :

$$\int \rho(r) dr = n \tag{2.29}$$

La fonctionelle de l'énergie totale peut s'écrire comme la somme de trois fonctionnelles :

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{n-e}[\rho] + V_{e-e}[\rho] \tag{2.30}$$

avec

$$V_{n-e}[\rho] = \int \rho(r) v(r) dr \tag{2.31}$$

Par conséquent, la fonctionnelle de l'énergie peut s'écrire :

$$E[\rho] = \int \rho(r) v(r) dr + F[\rho] \tag{2.32}$$

avec

$$F[\rho] = T[\rho] + V_{e-e}[\rho] \tag{2.33}$$

La fonctionnelle F[ρ] est inconnue.

b) Méthode de Kohn et Sham

L'énergie est décomposée comme suit en termes d'énergie cinétique T, d'énergie potentielle noyaux-électrons V_{n-e} et électrons-électrons V_{e-e}, toutes des fonctionnelles de ρ.

$$E = T[\rho] + V_{n-e}[\rho] + V_{e-e}[\rho] \tag{2.34}$$

Remarque :
La répulsion nucléaire (V_{n-n}) est une constante dans l'approximation de Born-Oppenheimer,

comme mentionné plus haut.

Seul, le deuxième terme s'exprime aisément : la charge d'un volume élémentaire de coordonnée r_1 étant $\rho(r_1)dv_1$, on a :

$$V_{n-e}[\rho] = \int_{\infty} \sum_{i,A} \frac{Z_A \rho(\vec{r_1}) dv_1}{R_{iA}} \tag{2.35}$$

Les deux autres fonctionnelles sont inconnues. Une partie de l'énergie électrons-électrons peut s'exprimer sous la forme de la répulsion de deux charges ρdv placées en deux points distants de r_{12}, soit :

$$J[\rho] = \int \int \frac{\rho(\vec{r_1})\rho(\vec{r_2}) dv_1 dv_2}{r_{12}} \tag{2.36}$$

Mais ce terme, entre autres inconvénients, n'est pas corrélé, puisque le produit des densités de probabilité devrait être modulé en fonction de r_{12}. L'énergie d'échange n'y est pas non plus incluse. En outre, tous les électrons participant à la densité totale, un même électron a une certaine densité en r_1 et en r_2, de sorte que cette relation le fait interagir avec lui-même (*self interaction*) !
Suivant la méthode de Kohn-Sham [51], la densité est exprimée le plus souvent en fonction d'un déterminant de Slater d'orbitales moléculaires (monoélectroniques). Ces orbitales de Kohn- Sham φ_i ne sont pas identiques aux orbitales HF : ce sont celles d'un système fictif d'électrons sans interaction, mais possédant la même densité que le système réel. Ceci permet d'exprimer sans approximation les termes V_{n-e} et J. L'énergie cinétique de ce système, puisque l'opérateur associé est monoélectronique est :

$$T_0 = -\frac{1}{2} \sum_i \langle \varphi_i | \Delta | \varphi_i \rangle \tag{2.37}$$

Mais elle n'est pas égale à l'énergie cinétique du système réel. Tout le reste de l'énergie est regroupé dans un terme E_{xc} d'échange corrélation, soit finalement, en exprimant les densités en fonction des OMs de Kohn-Sham (KS) :

$$\begin{aligned} E &= -\frac{1}{2} \sum_i \langle \varphi_i | \Delta | \varphi_i \rangle \\ &+ \sum_i \int_{\infty} \sum_A \frac{Z_A |\varphi_i(\vec{r_1})|^2 dv_1}{R_{iA}} \\ &+ \sum_{i,j>i} \int \int |\varphi_i(\vec{r_1})|^2 \frac{1}{r_{12}} |\varphi_j(\vec{r_2})|^2 dv_1 dv_2 \\ &+ E_{xc}[\rho(\vec{r})] \end{aligned} \tag{2.38}$$

Le terme d'échange corrélation doit dépendre explicitement de r_1 et r_2. Son expression représente la principale difficulté de la méthode, et de nombreuses solutions ont été

proposées.
Ensuite, on est dans une situation assez semblable à celle de SCF. Une énergie à minimiser est exprimée en fonction des orbitales KS, également inconnues à priori. Des méthodes itératives sont donc utilisées, à partir de fonctions d'essai fournissent directement l'énergie corrélée pour calculer le terme d'énergie d'échange et corrélation E_{XC}.

II) Les différentes méthodes fondées sur la DFT

Comme nous l'avons dit, il existe de nombreuses approximations de la fonctionnelle d'échange-corrélation ; elles sont désignées dans Gaussian par un groupe de lettres (souvent les initales des auteurs) dont la première partie désigne la méthode de calcul de l'échange et la deuxième celle de la corrélation.

Exemples :

Échange	Corrélation	Fonctionnelle d'échange-corrélation
S	VWN	SVWN
S	VWN5	SVWN
B	LYP	BLYP

a) L'approximation de la densité locale

Dans un seul cas modèle, celui du gaz uniforme d'électrons (correspondant assez bien aux électrons de la bande de conduction d'un métal), on connaît les expressions exactes ou avec une excellente approximation des termes d'échange et de corrélation respectivement. Dans cette approximation LDA [52] (*Local Density Approximation*), la densité électronique est supposée localement uniforme et la fonctionnelle d'échange-corrélation est de la forme :

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r})\varepsilon_{XC}(\rho(\vec{r}))dv \tag{2.39}$$

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

$$E_{xc}^{LDA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int \rho(\vec{r})\varepsilon_{XC}(\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r}))dv \tag{2.40}$$

Le mot-clef correspondant dans Gaussian est SVWN (échange : Slater ; corrélation : Vosko,Wilk, Nusair) et SVWN5 [53, 54]. Ces méthodes fournissent souvent d'assez bonnes propriétés moléculaires (géométrie, fréquences) mais conduisent généralement à de très mauvaises données énergétiques telles que énergies de liaison etc...

b) Approximation du gradient généralisé (GGA) et fonctionnelles hybrides

Pour pallier les défauts des méthodes LDA et LSD, l'approximation du gradient généralisé considère des fonctions d'échange-corrélation dépendant non seulement de la densité en chaque point, mais aussi de son gradient, de la forme générale :

$$E_{xc}^{LDA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int f(\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla\rho_\alpha, \nabla\rho_\beta) dv \tag{2.41}$$

La partie d'échange est en général la fonctionnelle de Becke (B), la partie de corrélation celle de Lee, Yang et Parr (LYP) ou celle de Perdew-Wang (PW) avec les variantes 86 et 91.
Enfin, il s'est avéré que dans les méthodes LDA, il faut noter, que d'autre part, comme on l'a vu, la méthode HF traitait correctement l'énergie d'échange, d'où des méthodes hybrides basées sur une combinaison empirique de ces énergies avec l'énergie GGA. La plus répandue est la méthode de, Becke à trois paramètres, (B3) ; ainsi, la fonctionnelle B3LYP [55] utilise la fonctionnelle LYP pour la partie correlation. Les paramètres ont été ajustés pour reproduire les valeurs des énergies d'atomisation. La partie GGA peut être également les fonctionnelles PW91 et PW86 [56].

e) La DFT et les corrections de dispersion

Les approximations DFT standard ne décrivent pas correctement les interactions faibles (interactions intra- et intermoléculaires de van der Waals). Ces interactions ne sont pas bien modélisées par la DFT et responsables de nombreux phénomènes structuraux et énergétiques tels que le repliement des protéines, la reconnaissance moléculaire, l'empilement de molécules organiques en phase cristalline ou les assemblages supramoléculaires. Le développement d'approches pour résoudre ce problème a été un secteur de recherche et de développements pour les méthodes DFT, récemment.
Plusieurs approches ont été développées pour résoudre ce problème, les plus utilisées sont les méthodes vdW-DF dans lesquelles un terme de dispersion non-locale est inclus explicitement dans la fonctionnelle, les fonctionnelles hybrides paramétrées qui représentent une certaine dispersion (comme la fonctionnelle M062X[57]) et les corrections empiriques typiquement notées par la lettre D.
La DFT-D est une correction de dispersion empirique générale qui a été proposée par Stefan Grimme [58]pour les calculs de la fonctionnelle de la densité. Une version modifiée de l'approche avec extension à plusieurs éléments et plus de fonctionnalités a été publiée dans la référence [59] «DFT-D2». La mise en œuvre la plus récente [60] «DFT-D3», est moins empirique.

Les fonctionnelles DFT-D1, DFT-D2 et DFT-D3 corrigées par l'énergie de dispersion, comme la B3LYP-D3, ne sont pas de nouvelles fonctionnelles mais un mélange de fonctionnelles classiques et d'un terme empirique d'énergie de dispersion E_{disp}. L'énergie de dispersion est calculée séparément et ajoutée à l'énergie DFT :

$$E_{DFT-D3} = E_{DFT-KS} - E_{disp} \tag{2.42}$$

$$E_{disp} = E^{(2)} + E^{(3)} \tag{2.43}$$

Où E_{KS-DFT} est l'énergie auto-cohérente de Kohn-Sham habituelle telle qu'obtenue à partir de la fonctionelle choisie et l'énergie de correction de dispersion E_{disp} est donnée par la somme des énergies des contributions à deux et à trois corps.

Le terme à deux corps est donné par :

$$E^{(2)} = \sum_{AB} \sum_{n=6,8,10,..} s_n \frac{C_n^{AB}}{r_n^{AB}} f_{d,n}(r_{AB}) \tag{2.44}$$

la première somme désigne la somme sur toutes les paires d'atomes dans le système, C_n^{AB} représente le coefficient de dispersion moyenne (isotopique) d'ordre n (n = 6,8,10,...) pour la paire d'atomes AB, r_{ab} est la distance inter-nucléaire et $f_{d,n}$ est une fonction d'amortissement.

2.3 Méthodes de Mécanique Moléculaire (MM)

La mécanique moléculaire (MM) correspond à l'utilisation des lois de la mécanique newtonienne (mécanique classique). La MM est apparue en 1930 [61], mais s'est développée à partir des années soixante, quand les ordinateurs furent plus accessibles et plus performants. La MM est basée sur l'approximation de Born-Oppenheimer selon laquelle les électrons sont beaucoup plus rapides que les noyaux est ces derniers sont donc implicitement traités. La MM est une méthode empirique où les atomes (les noyaux) sont représentés par des sphères, et les liaisons par des ressorts de différentes forces. Les valeurs de ces forces proviennent de données expérimentales de spectroscopie vibrationnelle, de données de diffraction des RX ou des valeurs obtenues par les méthodes ab-initio. Le calcul de l'ensemble de ces forces, selon les règles établies pour les oscillateurs harmoniques, permet d'obtenir l'énergie moléculaire et de déterminer la structure tridimensionnelle. Aujourd'hui, la MM est utilisée pour interpréter les données expérimentales (RX, RMN). L'avantage principal de la MM par rapport aux autres méthodes est la rapidité des calculs. Ceci est dû à une simplification des équations du champ de forces ; il est donc possible de traiter des systèmes moléculaires comprenant un très grand nombre d'atomes.

Généralement, La MM est une méthode permettant d'étudier la structure et le comportement des molécules mais elle est moins coûteuse, plus rapide et, donc, peut être utilisée pour d'écrire les système de milliers d'atomes tels que les macromolécules [2] biologiques.

2. molécule dont la masse dépasse les milliers de dalton (le dalton est approximativement égal à la masse d'un atome d'hydrogène, soit 1,66 10^{-27} kg). C'est le cas des protéines est des acides nucléiques.

En revanche, cette méthode ne prend pas en compte la structure électronique moléculaire. Il est donc impossible d'étudier des systèmes dans lesquels les effets électroniques sont prédominants. Ainsi, la validité des résultats (résultats des énergies) ne dépend que de la paramétrisation originale des constantes internes au champ de force.

2.3.1 Liaisons et interactions atomiques

La MM considère que les atomes sont décrits par des sphères, et sont soumis à des forces d'interaction avec les autres atomes qui résultent essentiellement de la composante électronique des atomes. Donc chaque atome est représenté par une sphère de charge ponctuelle soumise à des forces d'interaction résultant des autres atomes voisins. La liaison covalente [3] est le principal type de force dirigée. Un atome peut également être soumis à différents types de champs de force. Ainsi dans une molécule organique, en plus des liaisons covalentes, les atomes sont soumis à des interactions intermoléculaires avec les atomes auxquels ils ne sont pas liés chimiquement, ce sont les interactions de van der Waals ou éventuellement les interactions électrostatiques. Chacune de ces liaisons, ou de ces interactions, sont des interactions de paires, entre deux atomes, décrites par une force qui dérive d'un potentiel. Par définition, un champ de force est constitué par l'ensemble de tous les potentiels d'interaction interatomique agissant dans le système. Il est ainsi possible de décrire les molécules organiques, les métaux, les céramiques et des matériaux ioniques. A chacune de ces interactions interatomiques correspond une énergie potentielle.

2.3.2 Termes d'énergie

Les premiers logiciels de modélisation (Allinger [62]en 1977 et Ermer [63]en 1973), traitaient des petites molécules et ont été utilisés en cristallographie pour la résolution de structures plus importantes comme celles des oligonucléotides.
Le fondement de la mécanique et de la dynamique moléculaire repose sur l'hypothèse qu'on peut approcher la surface d'énergie de Born-Oppenheimer d'une molécule par une fonction analytique [64]. Cette fonction est de la forme :

$$E_{tot} = E_{str} + E_{bond} + E_{tors} + E_{électro} + E_{vdw} + E_{l,h.} \tag{2.45}$$

$$E_{str} = \frac{1}{2}\sum_{l=1}^{n} k_l (r_l - r_{0l})^2$$

$$E_{bend} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{m} K_i (\theta - \theta_0)^2$$

3. Laision entre deux atomes résulant de la mise en commun de deux électrons provenant séparément de chacun d'eux

$$E_{tors} = \sum\sum_{n} V_n(1+\cos(n\phi-\gamma)$$

$$E_{électro} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n}\frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r r_{ij}}$$

$$E_{vdw} = \frac{1}{2}\sum_{i}\sum_{j} V(r_{ij})$$

$$E_{l,h} = \sum_{j>i}\frac{C_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{R_{ij}^{10}}$$

L'énergie potentielle totale E_{tot} d'une molécule est divisée en 6 termes qui sont attribués aux énergies de liaisons ("stretch"), aux angles ("bend"), aux torsions (les angles dihédraux), aux liaisons hydrogène et aux interactions non-liantes (forces de Van der Walls et électrostatiques).

Chacun de ces termes possédant une position d'équilibre préférentielle (longueur de liaison, angle de liaison...). La recherche de l'énergie minimale par optimisation de la géométrie joue un rôle primordial. L'énergie de la molécule est exprimée sous la forme d'une somme de contributions associées aux écarts de la structure par rapport à des paramètres structuraux de référence. A cet égard, la mécanique moléculaire ressemble aux modèles de type "tiges et boules". Un calcul MM aboutit à une disposition des noyaux telle que la somme de toutes les contributions énergétiques est minimisée ; ces résultats concernant surtout la géométrie et l'énergie du système. L'idée directrice de cette méthode est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le "champ de force", qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire. Cependant, il n'existe pas encore de modèle unique permettant de simuler tous les aspects du comportement moléculaire, mais un ensemble de modèles.

2.3.3 Définitions des différents termes d'énergie

I)Energies des liaisons covalentes

a) Energies de liaisons

La liaison chimique entre deux atomes est décrite comme un puits de potentiel harmonique. Cette approximation n'est valable qu'au voisinage de l'équilibre. La liaison ne peut se briser et elle est matérialisée par un ressort : un ressort comprimé ou dilaté emmagasine en effet de l'énergie potentielle élastique. Cette énergie potentielle emmagasinée par le ressort est égale au travail effectué par la force qui a permis de le comprimer ou de le dilater. L'énergie de liaison est :

$$E_{str} = \frac{1}{2}\sum_{l=1}^{n} k_l(r_l - r_{0l})^2 \tag{2.46}$$

où l représente la liaison étudiée, n le nombre de liaisons, k_l est la constante de force associée à cette liaison, r_{0l} la longueur d'équilibre de cette liaison et r_l la longueur de la liaison à l'instant t.

Mais cette équation n'est pas toujours assez précise pour représenter les liaisons au voisinage de l'équilibre. C'est pourquoi Allinger développa dans les années 90 un potentiel anharmonique représenté par un polynôme d'ordre 4 afin d'augmenter la précision [65, 66, 67].

$$E_{str} = \frac{1}{2}\sum_{l=1}^{n}[k_l^2(r_l - r_{0l})^2 + k_l^{'3}(r_l - r_{0l})^3 + k_l^{''4}(r_l - r_{0l})^4] \tag{2.47}$$

b) Energie angulaire

L'énergie de flexion peut être écrite avec un simple potentiel harmonique, comme dans l'équation 2.48

$$E_{bend} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{m} K_i(\theta - \theta_0)^2 \tag{2.48}$$

où m est le nombre d'angles θ, K_i est la constante de force de l'angle étudié, θ_0 l'angle de référence et θ l'angle à l'équilibre.

De la même façon, un polynôme d'ordre supérieur peut être utilisé pour décrire avec plus de précision l'énergie de déformation des angles :

$$E_{bend} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{m}[K_i(\theta - \theta_0)^2 + K_i^{'}(\theta - \theta_0)^3 + K_i^{''}(\theta - \theta_0)^4]. \tag{2.49}$$

c) Energie de torsion

La torsion d'une liaison définit un angle diédral ϕ autour de la liaison centrale entre les atomes B et C (en considérant un enchaînement d'atomes A-B-C-D).

L'expression de l'énergie de torsion est donnée par l'équation 2.49 :

$$E_{tors} = \sum_{i=1}^{p} V_{tors}. \tag{2.50}$$

Chaque potentiel de torsion V_{tors} a la forme suivante :

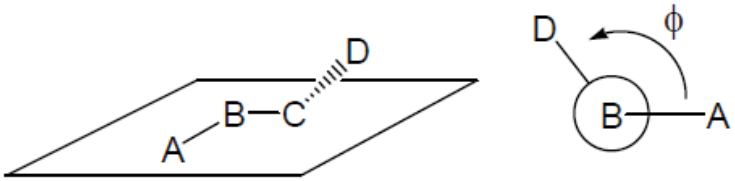


FIGURE 2.2 – L'angle de torsion (dièdre) A-B-C-D, (ϕ) est l'angle entre les plans (ABC) et (BCD).

$$V_{tors} = \sum_{n=0}^{p} V_n(1+\cos(n\phi-\gamma). \tag{2.51}$$

où V_n est une constante qui détermine la barrière de rotation autour de la liaison B-C, γ représente la phase et le nombre de termes p la périodicité. Ce potentiel est anharmonique et est représenté par plusieurs minima.
Chaque terme correspondant à un angle dièdre ϕ contient plusieurs termes en V_i : le terme en V_1 correspond à une rotation complète autour de la liaison, le terme en V_2 à un demi tour etc [62, 68].

II)Energies des liaisons non-covalentes

Toutes ces interactions concernent les atomes qui appartiennent à des molécules différentes ou qui sont séparés par plus de deux liaison covalentes. Les interactions sont décrites par deux termes : un terme de LENNARD-JONES, aussi appelé terme de VAN DER WAALS et un terme électrostatique.

a) Energie de Van der Waals

Les interactions van der Waals sont des interactions de type dipôle induit-dipôle induit. Tant que la distance interatomique n'est pas inférieure au rayon de van der Waals, la fonction en 6-12 simule de manière correcte l'interaction entre atomes non liés ("non bonded"). La fonction de Lennard-Jones (L-J), dite couramment potentiel "6-12", est la plus souvent utilisée dans les programmes de modélisation moléculaire. On peut cependant rencontrer quelques variantes comme la fonction de Buckingham, de Morse et la

fonction n-m.

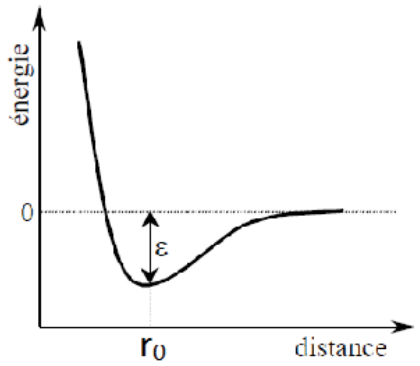


FIGURE 2.3 – Modèle des paramètres de van der Waals pour une molécule diatomique de type X-X. Energie d'interaction en fonction de la distance interatomique.

L'energie de Van der Waals est représentée par une somme de potentiels à deux corps i et j (Eq.2.51). Chaque potentiel de paire V est la somme de deux termes (Eq.2.52). Le premier correspond à des forces de dispersion, le second représente les forces répulsives.

$$E_{vdw} = \frac{1}{2}\sum_i \sum_j V(r_{ij}) \tag{2.52}$$

$$V = 2\varepsilon[(\frac{r_0}{r_{ij}})^{12} - (\frac{r_0}{r_{ij}})^6] \tag{2.53}$$

où r est la distance, r_0 est la distance pour laquelle l'énergie est nulle et ε est la profondeur du puits d'énergie minimale.

b) Energie électrostatique

Le potentiel électrostatique entre deux charges q_i et q_j de deux atomes i et j est donné par la loi de Coulomb et l'énergie coulombienne est :

$$E_{coulomb} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n}\frac{q_i q_j}{D r_{ij}} \tag{2.54}$$

où n est le nombre de charges, D est une constante effective diélectrique et r_{ij} étant la distance qui sépare les deux charges q_i et q_j.

avec

$$D = 4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r$$

ε_0 est la permittivité du vide, et pour simuler l'effet d'écran [4] des charges par le solvant, on prend une "constante diélectrique", ε_r, proportionnelle à r_{ij}, distance entre les charges (souvent $\varepsilon_r = 4 * r_{ij}$). On peut aussi opter pour la constante diélectrique plus une fonction sigmoïde de r_{ij} [69].

c) Energies de liaisons hydrogène

Les liaisons hydrogènes sont un cas particulier des liaisons de van der Waals. Elles sont en partie de nature dipôle-dipôle mais ont une énergie dix fois plus importante que celle observée pour une interaction de vdW classique. Plusieurs expressions de potentiel se rencontrent suivant les champs de forces. On peut, par exemple, utiliser une expression de type Lennard-Jones (avec des coefficients différents, par exemple 10-12), comme dans l'équation 1.11, ou encore avec la partie répulsive sous forme d'exponentielle.

$$E_{l,h} = \sum_{j>i} \frac{C_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{R_{ij}^{10}} \tag{2.55}$$

La liaison hydrogène est une interaction entre deux atomes électronégatifs. L'un est appelé donneur D et peut être un atome d'oxygène, d'azote, ou fluor et l'autre est appelé accepteur A et peut être aussi un atome d'oxygène (O), d'azote (N), ou de fluor (F). L'interaction entre le groupe D-H et l'atome A est de type électrostatique [70]

d) Termes croisés

L'indépendance de ces différents termes énergétiques représente une des approximations utilisées en mécanique moléculaire. En réalité, l'énergie de la molécule ne dépend pas de manière totalement indépendante des longueurs de liaisons et des angles de ces liaisons. Le couplage entre ces degrés de liberté peut être décrit par de nouveaux termes croisés, qui augmentent ainsi la précision du champ de force. Normalement, ces termes sont représentés par des potentiels harmoniques. Les plus importants couplages sont :

• un terme élongation-élongation : ces interactions sont importantes dans les systèmes contenant des liaisons π. Le potentiel a la forme suivante :

$$V_{str-str} = \frac{1}{2} K_{bb'} [(r - r_0)(r' - r'_0)] \tag{2.56}$$

où $K_{bb'}$ la constante de force associée aux ressorts b et b', r_0 sa longueur d'équilibre, r sa longueur à l'instant t et r'_0 la longueur d'équilibre du ressort b' et r' sa longueur à

4. caractérisée par, σ, appelée constante d'écran, représente l'effet moyen exercé par les autres électrons sur l' électron donné.

l'instant t.

• un terme élongation-flexion : l'utilisation de ce terme croisé est limitée à un angle et une liaison entre deux atomes constituant cet angle. Il a une influence importante sur la structure et les fréquences vibrationnelles du système. Sa forme est similaire à celle dans l'équation 2.55.

• un terme élongation-torsion : ce terme croisé entre un angle diédral et sa liaison centrale est décrite par un des potentiels suivants :

$$V_{str-torsion} = \sum_{i=1}^{n} K_{b\gamma}(r - r_0)\, cos\, n\gamma \tag{2.57}$$

$$V_{str-torsion} = \sum_{i=1}^{n} K_{b\gamma}(r - r_0)\,(1 + cos\, n\gamma) \tag{2.58}$$

où n le nombre de termes possibles, $K_{b\gamma}$ la constante de force du ressort b situé sur la liaison centrale de l'angle de torsion γ, r_0 sa longueur d'équilibre et r sa longueur à l'instant t.

• un terme flexion-flexion-torsion : ces termes couplent un angle diédral A-B-C-D aux deux angles A-B-C et B-C-D.

$$V_{bond-bond-torsion} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{n} k_{\theta\theta'\gamma}\,(\theta - \theta_0)\,(\theta' - \theta'_0)\, cos\, \gamma \tag{2.59}$$

où i représente le terme croisé étudié, n le nombre de termes possibles, $k_{\theta\theta'\gamma}$ la constante de force de l'angle θ (avec θ_0, son angle de référence), θ' (avec θ'_0, son angle de référence) et l'angle diédral γ.

Il existe dans la littérature de nombreux champs de force empiriques permettant de modéliser des systèmes de nature différente. L'écriture et la paramétrisation de ces champs de force diffèrent, mais ils possèdent tous des termes de valence et des termes d'interaction d'atomes non liés. L'énergie potentielle d'un système moléculaire en interaction contient plusieurs composantes qui modélisent les forces intra- et intermoléculaires et l'expression de cette énergie potentielle différente d'un champ de force à un autre, donc il faut noter que les expressions des potentiels mentionnées ci-dessus ne sont pas exactes, mais des simplifications et elles peuvent être encore plus développées ou encore plus simplifiées selon le champ de force utilisé.

2.3.4 Champs de Force

Le développement des champs de force et de leurs paramètres a commencé dans les années 60 et a nécessité plusieurs étapes. Les champs de force dans lesquels a été décrite la surface d'énergie potentielle des hydrocarbures, des protéines, des acides nucléiques, et aussi pour d'autres composants, ont été introduits et appliqués à beaucoup d'études.
Les champs de force sont un des ingrédients des logiciels de modélisation moléculaire les plus délicats à mettre en oeuvre [71]. En effet, ils contiennent tous les paramètres qui entrent en jeu dans la simulation (minimisation d'énergie ou dynamique). Celle-ci utilise ces paramètres pour calculer l'énergie moléculaire et les forces qui s'exercent sur chacun des atomes. Les champs de force contiennent les valeurs d'équilibre pour les longueurs de liaisons atomiques, les angles de liaison, les angles dièdres, les torsions hors du plan ("improper torsions") pour des atomes liés à un cycle aromatique. Dans les champs de force coexistent plusieurs types d'atomes pour chaque élément du tableau de Mendeleev, et d'autant plus que l'on retrouve l'atome en question dans des configurations différentes en géométrie ou en énergie. Par exemple, plusieurs types d'atomes sont nécessaires pour simuler un atome de carbone dans ses états de liaisons sp1, sp2 ou sp3, de même qu'un carbone sp3 engagé dans un cycle à 3,4,5 ou 6 carbones ne peut pas être représenté par le même atome dans le champ de force vu que ces différentes conformations n'ont pas les mêmes caractéristiques structurales. Le but du jeu est évidemment de décrire avec le moins de types d'*atomes* possibles toutes les configurations possibles.
Les premiers champs de force étaient plus spécifiques de certaines classes de molécules (oléfines ou ADN [72] et protéines [73]...). Les premiers calculs ont aussi montré que les forces de van der Waals sont des quantités importantes pour des simulations moléculaires correctes [62].
D'autre part, les calculs peuvent inclure le solvant, sa polarisabilité ou son rôle d'écran. Le rôle électrique du solvant est mimé par la constante diélectrique incluse dans la fonction énergie.

2.3.5 Les différents types de champs de force

Les champs de force dans lesquels a été décrite la surface d'énergie potentielle des hydrocarbures, des protéines, des acides nucléiques, et aussi pour d'autres composants, ont été introduits et appliqués à beaucoup d'études. Différents champs de force existent, ils diffèrent par trois aspects :
1. La définition de chaque terme énergétique,
2. Le nombre de termes croisés ajoutés,
3. Le type d'informations utilisé pour adapter les paramètres.

Les champs de force sont divisés en 2 classes : la classe I et la classe II.

I) Les champs de force classe I

Ce type de champ de force est utilisé pour traiter de gros systèmes, comme les protéines ou l'ADN. La forme des termes énergétiques est aussi simple que possible. Les premiers champs de force développés furent des classes I. Ils sont constitués de termes harmoniques qui décrivent les interactions des liaisons covalentes et sont paramétrés sur des observations expérimentales de spectroscopie, propriétés thermodynamiques et structures cristallines. Plus tard, des termes plus complexes furent ajoutés mais toujours paramétrés sur l'expérience ou sur des calculs de chimie quantique. Se situent dans cette classe, les champs de force suivants :
• MM1 : premier champ de force développé par Allinger [74].
• CFF-3 : champ de force développé par Ermer et Lifson [63].
• EAS : "Engler-Androse-Schleyer", basé sur le champ de force MM1 avec des termes pour les interactions des liaisons non-covalentes [75].
• MMP2 : Basé sur MM2, il repose sur des relations linéaires entre longueurs des liaisons et angles [76].
• QCFF/PI : une extension du champ de force CFF pour les systèmes π [77].
• CVFF : "Consistent Valence Force field", il inclut des termes anharmoniques et croisés. Ce champ de force a été paramétré pour 20 acides aminés et quelques hydrocarbures [78].
• AMBER : "Assisted Model Building with Energy Refinement", ce champ de force est paramétré pour l'ADN et les protéines [68].
• OPLS : Il utilise le potentiel TIP3P pour l'eau et n'a pas de potentiel pour les liaisons hydrogène [79].
• MMX : une extension de MM2 et MMP1 pour les systèmes organiques et inorganiques [80].
• CHARMM : "Chemistry at HARvard Molecular Mechanics", il est également paramétré pour les protéines, l'ADN mais aussi pour les lipides et d'autres petites molécules organiques [81].
• GROMOS : "GROningen MOlecular Simulation", ce champ de force est paramétré pour les protéines, les nucléotides, les sucres et d'autres biomolécules [82].
• GROMACS : "GROningen MAchine for Chemical Simulations", il est dérivé du champ de force GROMOS et simule les équations de mouvements de Newton pour des systèmes comprenant des centaines jusqu'à des millions de particules [83].
• DREIDING : un champ de force où les constantes de force et les paramètres de géométrie dépendent de l'hybridation au lieu de la constitution des atomes [84].

II) Les champs de force classe II

Les champs de force de classe II ont été développés pour simuler de petites molécules dans des environnements variés. Les calculs ab-initio sont utilisés pour déterminer tous les paramètres des champs de force. Ils sont la plupart du temps paramétrés sur de petites molécules. Se situent dans la classe II les champs de force suivants :

• MM3 et MM4 : ces champs de force proviennent de MM2 avec des potentiels plus complexes. Ils sont paramétrés pour des composants organiques et pour reproduire leurs fréquences de vibration [65, 85].
• CFF93-CFF94 : ce champ de force, similaire à MM4, utilise une méthodologie rigoureuse pour générer les paramètres des termes croisés [86].
• MMFF : "Merck Molecular Force Field" est semblable au MM3. Seuls les paramètres de Van der Waals ont utilisés des données expérimentales [87].
• UFF : "Universal Force Field" représente tout le tableau périodique. Les paramètres sont basés sur l'hybridation atomique [88].

Dans le domaine des protéines, les meilleurs résultats sont obtenus avec les champs de force OPLS, CHARMM et AMBER.

Les coordonnées actuelles d'une molécule, combinées aux données d'un champ de force, constituent une expression de l'énergie ou fonction cible ("target function") de la molécule. La mécanique moléculaire permet seulement d'évaluer l'enthalpie. L'entropie elle, peut être calculée par la dynamique moléculaire via l'énergie libre ("free energy perturbation", cf plus loin).
Les résultats les plus probants de la MM sont des différences d'énergie entre conformères.

2.4 Méthodes QM/MM

2.4.1 Généralités

Les méthodes de calcul de la mécanique quantique (QM) ; ab initio, DFT et semiempirique sont difficilement applicables pour le calcul de grands systèmes moléculaires contenant plus de 100 atomes. Pour décrire un système moléculaire de grande dimension des méthodes mixtes QM/MM, c'est à dire combinant une méthode QM avec une méthode MM sont une alternative. Dans ce cas l'utilisation d'une méthode hybride qui combine à la fois la mécanique-quantique et la mécanique moléculaire (MM) est envisageable. Warshel et Levitt [89] ont ouvert la voie vers ce type d'études. La méthode implique la division du système en deux parties : une petite région traitée avec une méthode à haut niveau (*High layer*) basée sur la mécanique quantique, et le reste du système (*low layer*) traité avec des méthodes classiques (MM), moins coûteuse en temps de calcul (Figure 2.3).

La région quantique contient tous les atomes qui sont directement impliqués dans la réaction chimique. Le reste du système, qui subit peu de chargements au cours de la réaction, est traité avec un champ de forces de mécanique moléculaire. La connexion entre les deux partie, QM et MM, joue un rôle très important dans la précision et l'efficacité de

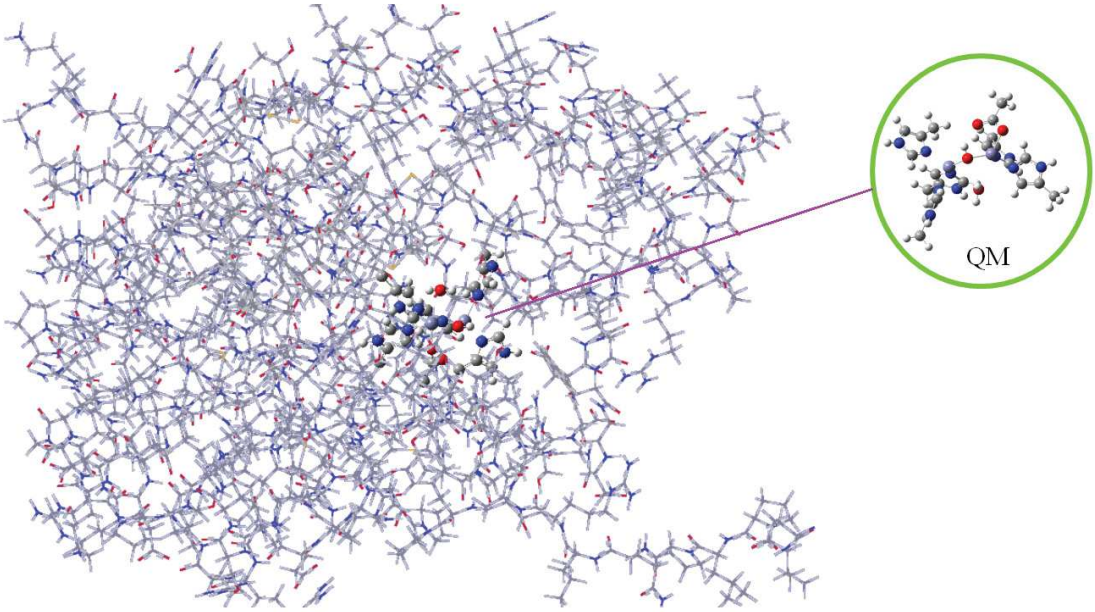


FIGURE 2.4 – Exemple d'un calcul ONIOM de 2-couches sur la chaîne B d'une MBL de stenotrophomonas maltophilia (L1) : le système modèle est représenté par des «Ball & stick» et le reste du système par des lignes.

la méthode. Il existe deux approches pour le traitement des liaisons de frontière :

Une première approche basée sur l'utilisation des atomes de saturation (*link-atom*) [90, 91]. Des atomes d'hydrogène sont ajoutés pour respecter la valence des atomes QM de frontière. Ces atomes ajoutés n'interagissent pas avec les atomes MM mais ils sont inclus dans le calcul QM.

La deuxième approche dite "*boundary-region*" (pseudo-liaison, atomes de connexion, orbitales hybrides gelées). Dans cette approche, la région frontière située entre le système QM et le système MM sera prise en compte dans les deux calculs.

2.4.2 La méthode hybride ONIOM

La méthode hybride ONIOM implémentée dans le logiciel gaussian09 a été développée initialement par Morokuma et al en 1999[92]. Généralement, cette méthode utilise l'approche des atomes de saturation (*link-atom*) pour modéliser La frontière entre le système modèle et le système extérieur.

L'énergie totale du système s'écrit :

$$E^{T}_{QM/MM} = E^{R}_{MM} + E^{M,L}_{QM} - E^{M,L}_{MM}$$

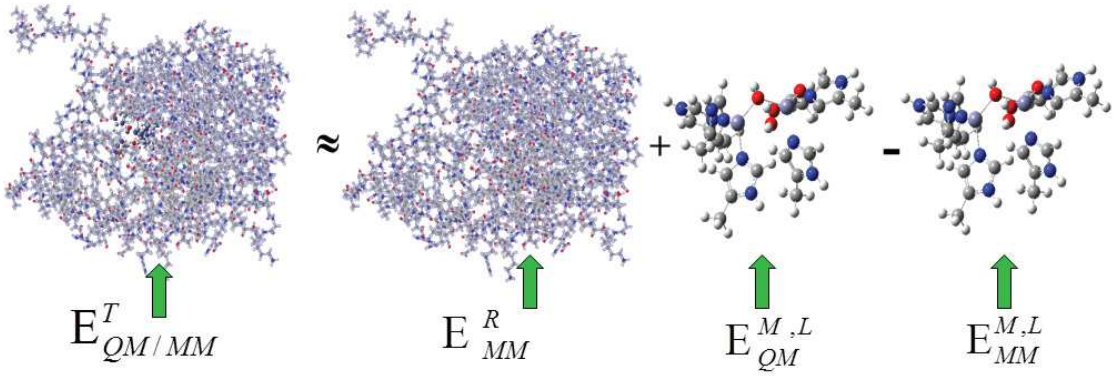


FIGURE 2.5 – Exemple d'un calcul ONIOM de 2-couches sur la chaîne B de métalloenzyme Zinc-beta-lactamase L1 de stenotrophomonas maltophilia.

L'énergie du système réel (E^{R}_{MM}) est calculée au niveau MM, et celle du système modèle et des atomes de saturation ($E^{M,L}_{QM}$) au niveau QM. L'énergie du système modèle ($E^{M,L}_{MM}$) calculée au niveau MM est ensuite soustraite afin d'éviter le double comptage de l'énergie des atomes de la région QM (Figure 2.4).

La figure 2.5, représente un exemple de fichier d'entrée d'un calcul QM/MM en utilisant le logiciel Gaussian09. Dans ce calcul, la région frontière est représentée par les atomes 3C, 5C et 11C de la région QM qui sont liés par des liaisons covalentes à quatre autres atomes de la région MM (2C, 6C, 10C et 14C). Dans le cas d'un calcul sur le système modèle ; les atomes 2C, 6C, 10C et 14C sont remplacés par quatre hydrogènes afin de respecter la valence des atomes QM de frontière.

Exemple : comme indiqué dans la Figure ci-dessous (cercle rouge) un hydrogène remplace le carbone 11.

2.5 Modèles de solvatations

La majorité des réactions chimiques et biologiques ont lieu en solution, notamment les réactions enzymatiques, s'effectuent en présence d'un solvant et il est donc important de considérer l'influence de la solvatation sur le comportement d'un système. Il existe deux façons de modéliser un solvant, dans certains cas les molécules du solvant sont directement impliquées et doivent alors être modélisées de façon explicite. Dans d'autres

```
# ONIOM(B3LYP/6-31G(d):Amber)

Job ONIOM  2 couches                                   Link atomes

0 1 0 1 0 1
C-CA--0.25  0   -4.703834   -1.841116   -0.779093 L
C-CA--0.25  0   -3.331033   -1.841116   -0.779093 L H-HA-0.1  3
C-CA--0.25  0   -2.609095   -0.615995   -0.779093 H
C-CA--0.25  0   -3.326965    0.607871   -0.778723 H
C-CA--0.25  0   -4.748381    0.578498   -0.778569 H
C-CA--0.25  0   -5.419886   -0.619477   -0.778859 L H-HC-0.1  5
H-HA-0.1    0   -0.640022   -1.540960   -0.779336 L
H-HA-0.1    0   -5.264565   -2.787462   -0.779173 L
H-HA-0.1    0   -2.766244   -2.785438   -0.779321 L
C-CA--0.25  0   -1.187368   -0.586452   -0.779356 L H-HA-0.1  3
C-CA--0.25  0   -2.604215    1.832597   -0.778608 H
H-HA-0.1    0   -5.295622    1.532954   -0.778487 H
H-HA-0.1    0   -6.519523   -0.645844   -0.778757 L
C-CA--0.25  0   -1.231354    1.832665   -0.778881 L H-HC-0.1  11
C-CA--0.25  0   -0.515342    0.610773   -0.779340 L
H-HA-0.1    0   -3.168671    2.777138   -0.778348 H   High system
H-HA-0.1    0   -0.670662    2.778996   -0.779059 L
H-HA-0.1    0    0.584286    0.637238   -0.779522 L   Low system
```

FIGURE 2.6 – Exemple d'un fichier input QM/MM.

systèmes, le solvant n'agit pas directement sur les réactifs mais fournit un environnement qui va influencer fortement le comportement des solutés. Généralement, le solvant agit seulement comme une déviation du système par rapport à son comportement en phase gazeuse, ses propriétés générales, notamment sa constante diélectrique, sont alors suffisantes pour le décrire et il n'est pas utile dans ce cas d'inclure explicitement chaque molécule de solvant dans le système.

2.5.1 Etude de la solvatation par les méthodes théoriques

Les méthodes théoriques, telles que la modélisation moléculaire permettent aujourd'hui de préciser au niveau atomique et de mieux rationaliser la relation structure/fonction des systèmes biologiques complexes dont les études expérimentales ne sont pas toujours simples à mettre en oeuvre, ni évidentes à interpréter. L'eau joue un rôle très important dans la structure des édifices biomoléculaires et il apparaît donc essentiel de bien représenter le solvant autour des solutés dans les études de modélisation moléculaire.
Deux grandes stratégies se distinguent pour représenter le solvant en modélisation, les méthodes explicites, qui représentent le solvant de façon microscopique, et les méthodes

implicites, qui représentent les effets du solvant de façon explicite [93].

Solvatation explicite

La solvatation explicite consiste à traiter un grand nombre de molécules du solvant explicitement, l'intérêt de ce modèle est qu'il rend compte d'éventuelles interactions solvant-soluté, l'inconvénient est qu'il est nécessaire d'avoir un nombre important de molécules pour obtenir une description réaliste du système, ce qui limite le choix de la méthode utilisable. Pour cette raison un nouveau type d'approche dit hybride a été développé : il mélange les approches quantique et classique. Le cœur du système est traité au niveau quantique, alors que la partie externe est traitée par l'intermédiaire d'un champ de force, ce qui permet de modéliser le solvant avec un nombre réaliste de molécules.
Les deux modèles les plus utilisées pour les simulations de dynamique moléculaire des acides nucléiques et protéines sont TIP3P [94, 95] et SPC [96] (ou SPC/E [97]).

Solvatation implicite

La solvatation implicite repose sur le fait que l'effet de l'eau sur les molécules est principalement d'ordre électrostatique. Le solvant est alors représenté comme un milieu continu, sans structure microscopique, de constante diélectrique ε, dont les propriétés diélectriques découlent des lois macroscopiques de l'électrostatique [98, 99, 100].
Ce milieu est polarisé par le soluté placé dans une cavité de forme appropriée. Dans la cavité, le milieu a une constante diélectrique de 1 (vide) et à l'extérieur de la cavité la constante diélectrique est celle du solvant et la forme de la cavité dépend du modèle de solvatation utilisé [101, 102]. Evidemment les modèles de solvatation implicites ne sont pas capables de reproduire les interactions chimiques entre le soluté et le solvant comme les liaisons hydrogènes. Cette approche implicite est souvent utilisée pour estimer l'énergie libre du soluté - solvant et des interactions dans les processus chimiques structurels, comme le pliage ou les transitions de conformation des protéines.
Parmi les méthodes implicites qui permettent le calcul de la contribution électrostatique de l'énergie libre de solvatation, on distingue plusieurs approches :

- les méthodes de continuum considèrent le solvant comme un milieu continu de constante diélectrique élevée : on trouve d'une part les méthodes basées sur l'équation de Poisson-Boltzmann [103], et d'autre part celles basées sur les interactions de paires effectives [104] ;

- les méthodes hybrides prennent en compte l'aspect moléculaire du solvant tout en restant implicite : on trouve d'une part les méthodes des dipôles de Langevin [89], qui traitent le solvant comme un fluide dipolaire, dont les équations sont basées sur les propriétés de polarisation du solvant, et d'autre part les méthodes reposant sur la théorie de la fonctionnelle de la densité des liquides, qui prennent en compte les variations de la

densité du solvant.

2.5.2 Généralités thermodynamiques

L'énergie de solvatation est définie comme la quantité d'énergie libre requise pour transférer une molécule du gaz au solvant. L'énergie libre de solvatation ΔG_{solv} peut être décomposée en trois termes [105] :

$$\Delta G_{solv} = \Delta G_{élec} + \Delta G_{vdw} + \Delta G_{cav} \tag{2.60}$$

$\Delta G_{élec}$ mesure l'interaction entre le soluté et le solvant, modélisée comme un milieu uniforme de constante diélectrique ε. Cette contribution est particulièrement importante dans le cas de solutés polaires et/ou chargés. ΔG_{vdw} est l'interaction de Van der Waals entre la molécule et le solvant, qui peut être décomposée en un terme répulsif $\Delta G_{rép}$ et un terme de dispersion attractif ΔG_{disp}. Enfin, ΔG_{cav} est l'énergie libre requise pour créer la cavité du soluté dans le solvant. Cette énergie est positive et comprend la pénalité entropique associée à la réorganisation des molécules du solvant autour de la cavité, ainsi que le travail exercé contre la pression du solvant pour former la cavité. On peut ajouter aussi à ces trois termes un terme ΔG_{hb} tenant compte des liaisons hydrogène existant entre le soluté et le solvant.
Les termes énergétiques ΔG_{vdw} et ΔG_{cav} sont souvent combinés et calculés d'après la formule suivante :

$$\Delta G_{vdw} + \Delta G_{cav} = \gamma S + b \tag{2.61}$$

S est la surface accessible du solvant et γ et b sont des constantes.
Les différents modèles de solvatation diffèrent surtout par leur méthode de traitement de la composante électrostatique $\Delta G_{élec}$. Les deux premiers travaux sur la solvatation on été les modèles développés par Born en 1920 [106] et Onsager en 1936 [107].

2.5.3 Le Modèle PCM

Les modèles précédents reposent sur l'hypothèse que toute la charge électronique du soluté est comprise dans la cavité, le modèle PCM (*Polarizable Continuum Model*) tient compte d'une polarisation auto-cohérente entre le soluté et le solvant ainsi que d'une cavité de forme plus réaliste : la cavité du soluté est définie à partir de sphères de van der Waals centrées sur chaque atome [108]. La surface de la cavité est alors découpée en un grand nombre de petits éléments de surfaces appelées tessera.

L'énergie $\Delta G_{élec}$ est alors calculée en plaçant une charge ponctuelles polarisable au centre de chaque tessera et l'ensemble de ces charges ponctuelles représente la polarisa-

tion du solvant et l'amplitude de chaque charge surfacique est proportionnelle au gradient du champ électrique en ce point. Le potentiel électrostatique total sur chaque élément de surface est égal à la somme du potentiel dû au soluté $V_{soluté}$ et du potentiel dû aux autres charges surfaciques $V_{charges}$, soit :

$$V(r) = V_{soluté}(r) + V_{charges}(r). \tag{2.62}$$

L'algorithme PCM débute par le calcul d'une valeur initiale de chaque charge ponctuelle pour chaque tessera à partir du gradient du champ électrique causé par le soluté seul :

$$q_i = -[\frac{\varepsilon - 1}{4\pi\varepsilon}]E_i \Delta S \tag{2.63}$$

Où E_i est le gradient du champ électrique et ΔS la surface de la tessera considérée. La contribution des autres charges surfaciques peut alors être calculée à partir de la loi de Coulomb. Ces charges sont modifiées de façon itérative jusqu'à leur auto-cohérence. Le potentiel $V_{charges}(r)$ est alors ajouté à l'hamiltonien du soluté ($H = H_0 + V_{charges}(r)$) et le calcul SCF débute. Après chaque cycle SCF, de nouvelles valeurs des charges surfaciques sont obtenues à partir de la nouvelle fonction d'onde pour donner une nouvelle valeur de $V_{charges}(r)$, qui est utilisée dans l'itération suivante jusqu'à ce que la fonction d'onde du soluté et les charges surfaciques convergent.
Pour calculer l'énergie $\Delta G_{élec}$, il faut ensuite tenir compte du travail effectué par la création de la distribution des charges au sein de la cavité dans le milieu diélectrique. Ceci correspond à la moitié de l'énergie de l'interaction électrostatique entre la distribution de charges du soluté et le milieu diélectrique polarisé, soit :

$$\Delta G_{élec} = \int \Psi H \Psi d\tau - \int \Psi_0 H_0 \Psi_0 d\tau - \frac{1}{2}\int V(r)\rho(r)dr \tag{2.64}$$

Un problème apparaît lors de la représentation de la distribution de charges continue sur la surface de la cavité par un ensemble de charges ponctuelles. L'utilisation de surfaces (tessera) de petite taille (typiquement 0.2) permet de limiter l'influence de ce problème.
Un autre inconvénient de ce modèle est l'extension de la fonction d'onde du soluté en dehors de la cavité. Ainsi la somme des charges sur la surface n'est pas strictement égale et de signe opposé à la charge du soluté.

2.5.4 Le Modèle C-PCM

La méthode C-PCM (*Conductor-like PCM*) est une extension du modèle PCM a été implémentée dans Gaussian [109, 110]. Dans cette méthode, la cavité atour de la molécule étudiée est définie en utilisant le modèle UA0 (*United Atom*) qui place une sphère centrée autour de chaque atome du soluté ou groupe d'atome (les hydrogènes sont inclus dans la sphère de l'atome auquel ils sont liés). La cavité UA0 emploie le modèle topologique UATM (*United Atom topological Model*) appliqué sur les rayons atomiques du champ

de force UFF. La méthode à été ensuite améliorée dans Gaussian03 et Gaussian09 avec le choix d'une série de modèles de construction de la cavité. Basé sur le modèle UA0, les cavités UAHF et UAKS utilisent des rayons optimisés avec les niveaux des méthode HF/6-31G* et PBE0/6-31G* respectivement [111]. Nous avons utilisé dans ce travail le rayon UAKS (*United atom Kohn-Sham*) qui a été paramétré sur des calculs de type DFT.

2.6 Méthode d'analyse topologique (ELF)

L'analyse topologique est en premier lieu une méthode de partition de l'espace moléculaire qui est basée sur l'évolution déterministe d'un point de l'espace sur une trajectoire. Cette trajectoire est un chemin de gradients d'une fonction potentielle locale scalaire V continue et dérivable en tout point de l'espace. Chaque trajectoire ne se coupe en aucun point de l'espace et se trouve bornée entre deux points extrema, appelés points critiques où le gradient est nul (∇ V = 0). L'ensemble des trajectoires qui finissent sur un maxima de la fonction (attracteur) constituent une variété stable qui est appelée bassin (volume de l'espace). Les trajectoires qui aboutissent sur un point selle définissent une variété instable qui est une surface de flux nul appelée séparatrice. Elle constitue une surface frontière entre les bassins.

L'analyse topologique de la densité électronique ou la densité de charge ρ(r), dans le cadre la théorie d'atomes dans une molécule (QTAIM, en anglais *Quantum Theory of Atoms in Molecules*) conçue par Richard Bader en 1970, basée sur les bassins atomiques et les charges atomiques de QTAIM[112]. Elle permet de définir des chemins de liaison et des points critiques de liaison (BCP). La nature de la liaison chimique est liée à la caractéristique des BCP en particulier le signe du laplacien de la densité électronique et les valeurs des densités d'énergie (eq.2.65) suite à la classification de l'Macchi[113].

$$H_{BCP} = G_{bcp} + V_{bcp} \tag{2.65}$$

La Fonction de Localisation Electronique (ELF) permettant de mesurer l'excès d'énergie cinétique[114, 115], et ses valeurs sont confinées entre 0 et 1. L'ELF est proche de l'unité dans les régions où les électrons sont célibataires ou forment des paires de spin antiparallèle, alors qu'elle tend vers zéro dans les régions où la probabilité de trouver le spin des électrons parallèles proches l'un de l'autre est élevée[116]. L'analyse ELF tend vers 1 dans les régions où la localisation d'électrons est élevée (couches atomiques, des liaisons chimiques et des paires d'électrons célibataires)[117], alors qu'elle a tendance à avoir des valeurs faibles aux frontières entre ces régions[118]. L'analyse topologique du champ de gradient de la ELF fournit une partition de l'espace moléculaire dans les domaines électroniques, classés dans le noyau, ne se chevauchent pas la liaison de valence et les bassins non liantes. Ces bassins sont en correspondance un à un au noyau, seul ou des paires du modèle de Lewis. Un bassin de cœur contient un noyau X (à l'exception d'un proton) et est désigné par C(X). Un bassin de liaison de valence se trouve entre deux

ou plusieurs bassins de cœur. Les bassins de valence sont en outre différenciés par leur ordre synaptique[119], qui correspond au nombre de bassins de base avec lesquels ils partagent une frontière commune. Ces bassins peuvent être soit partagés par plusieurs cœurs d'atomes (poly-synpatiques) soit par un seul cœur (mono-synaptique). Dans le premier cas, le bassin caractérise une liaison chimique, notée par V (X1. X2. X3....) et dans le deuxième cas une paire libre désignée par V (X). La population moyenne du bassin est obtenue par intégration de la densité d'un électron par rapport au volume du bassin. Ces populations ne prennent pas des valeurs entières et sont environ deux fois plus les ordres de liaison de Lewis topologiquement définies pour les bassins de liaison de valence. Les populations et les (co)variances de ces bassins de valence peuvent encore être interprétées en termes de combinaisons pondérées des structures mésomériques[120, 121].

CHAPITRE 3

Etudes de complexes de coordination à Zinc et à Cuivre

Sommaire

3.1 Introduction **57**
3.2 Le rôle des métaux dans les protéines **60**
3.3 Méthodes utilisées **61**
3.4 Structure de motifs zinc-4-MeIm et cuivre-4-MeIm dans la littérature **62**
3.5 Études DFT : calculs préliminaires **64**
3.5.1 Phase gazeuse 64
3.5.2 Solvatation 69
3.5.3 Comparaison des modèles PCM et C-PCM 73
3.6 Nombres de coordination du Zinc et du cuivre **75**
3.7 Analyse topologique de la Fonction de Localisation Electronique (ELF) **77**
3.8 Analyse des fréquences **79**
3.9 Conclusion **84**

3.1 Introduction

Les β-lactamases sont une famille d'enzymes responsable de la résistance des bactéries vis- à-vis de certains antibiotiques β-lactamines. Les β-lactamases des classes A, C et D sont, comme les protéines liant lespénicillines (PLPs), des enzymes à serine active reconnaissant la pénicilline. Dans cette thèse nous nous sommes intéressés à la classe B des β-lactamases : les metallo-β-lactamases qui hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines et pouvant être inhibées par l'EDTA [1]. Cette classe constitue le groupe des métallo-enzymes zinc-dépendantes, toutes les métallo-enzymes ont comme point commun, la présence d'un ou deux ions métalliques liés à la protéine par un site de coordination labile appelé le site actif permettant la fixation d'un substrat lors de la réaction enzymatique. L'histidine est l'amino-acide le plus souvent trouvé dans la première sphère de coordination du métal. Il joue un rôle important dans les réactions de transfert de protons dans diverses enzymes et il a fait l'objet d'une variété de recherches théoriques

1. L'EDTA (Éthylène Diamine Tétra-Acétique), ou acide éthylène diamine tétra-acétique, est un acide di-amino-tétra-carboxylique de formule $C_{10}H_{16}N_2O_8$.

et expérimentales. Les atomes d'azote du cycle imidazole de l'histidine sont désignés par *pros*(«proche», abréviation π) et *tele* («loin», abréviation τ) pour montrer leur position par rapport à la chaîne latérale. L'atome de carbone entre les deux atomes d'azote du cycle est numéroté 2 comme le montre la Figure 3.1 et l'atome de carbone à côté de l'azote τ est numéroté 5. Les atomes de carbone de la chaîne aliphatique sont désignés α et β. Cette numérotation est également être utilisée pour l'histidine substitué [122].

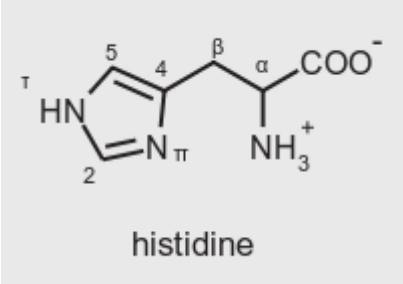
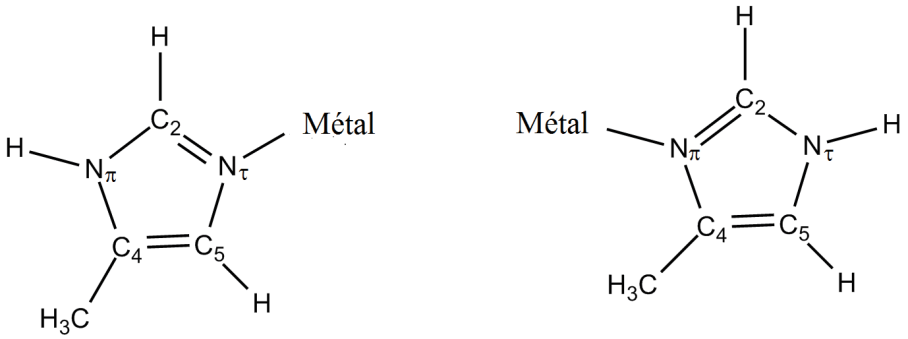


FIGURE 3.1 – Représentation de la forme de l'histidine neutre avec la notation de l'IUPAC)[122].



Coordination Nτ-métal **Coordiantion Nπ-métal**

FIGURE 3.2 – Les deux formes de coordinations (N_π et N_τ) de 4-méthyl-imidazole aux ions métalliques.

Le 4-méthyl-imidazole (4-MeIm) est fréquemment utilisé comme modèle pour l'acide aminé histidine en agissant comme un ligand monodenté [2]. Le cycle imidazole de la chaîne latérale de l'histidine possède deux atomes d'azote (N_π et N_τ). De même que l'anneau d'histidine, l'anneau 4-MeIm possède deux atomes d'azote N_π et N_τ, l'azote le plus proche du groupe méthyle noté N_π et l'azote le plus loin du groupe méthyle est noté

2. Lorsqu'un seul atome du ligand peut se lier à l'atome central.

N_τ comme le montre la figure suivante (Figure 3.2), et peut être coordonné aux ions métalliques soit par l'azote N_π ou l'azote N_τ. Dans ce chapitre, pour accélérer les calculs, l'amino-acide histidine est remplacé par 4-MeIm.

Cette thèse s'inscrit dans une thématique portant sur la compréhension de mécanismes d'action de métallo-β-lactamases. La démarche consiste à étudier des composés chimiques modèles (complexe : structure simplifiée des sites actifs), afin de mieux appréhender la chimie des protéines à zinc. A cette fin, nous avons utilisé une série de huit complexes de coordination représentés sur la Figure 3.3, et le métal peut être le cuivre (Cu) ou le zinc (Zn). Sur la figure ci-dessous (Figure 3.3), l'oxygène est donné en rouge, l'azote en bleu, le carbone en gris et l'hydrogène en blanc. Ces complexes reproduisent l'arrangement penta- ou tétra-coordonnés des ligands autour du métal et modélisent la diversité chimique observée dans les sites actifs des métallo-enzymes. Les huit complexes ont une charge positive (+II), les quatre complexes $[M\ (4\text{-MeIm})_4]^{2+}$ ont une coordination tétraédrique, tandis que les deux autres $[M\ (4\text{-MeIm})_4\ H_2O]^{2+}$ avec la présence d'une molécule d'eau comme un cinquième ligand sont penta-coordonnés. Les ligands utilisés sont du type 4-méthyl-imidazole. L'imidazole de la chaîne latérale de l'histidine possède deux tautomères neutres (deux formes protonées N_τ- et N_π-) et pour cela, chacun de nos complexes a deux conformations différentes comme le montre la Figure 3.3.

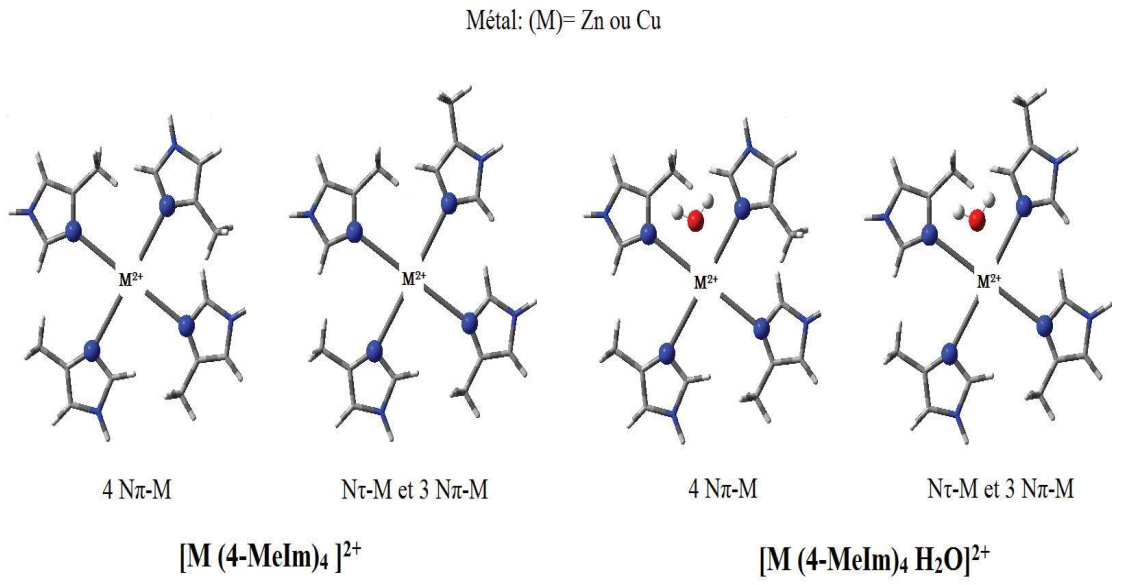


FIGURE 3.3 – Complexes de coordination métalliques modélisés. Les atomes coordonnés aux métaux sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge.

Les structures des complexes de coordination métalliques seront étudiés avec les méthodes de chimie quantique fondées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT. Les méthodes utilisées sont implémentées dans le logiciel GAUSSIAN09 [123] et sont présentées dans le chapitre II. Nous allons alors, faire une étude préliminaire qui permettra de comparer l'influence des méthodes et des modèles sur les paramètres géométriques et de définir les modes et les énergies de liaison des sites métalliques au sein des enzymes.

3.2 Le rôle des métaux dans les protéines

Dans les métalloprotéines, les ions métalliques sont souvent coordonnés avec des atomes d'azote, d'oxygène ou de soufre appartenant au cycle imidazole des histidines, ou bien le groupement thiolate des cystéines et le groupe carboxylate des aspartates. Les métaux ont un rôle structural et/ou fonctionnel primordial dans les protéines et participent à une grande diversité de processus chimiques [124]. Dans certains cas, tel le cuivre, joue un rôle important dans le métabolisme du glucose chez certaines enzymes anti-oxydantes comme la SOD ou superoxyde dismutase qui luttent contre les radicaux libres produits par l'organisme au cours de réactions de stress [125], mais il peut également permettre des réactions catalytiques. c'est le cas, en particulier des métaux de transition comme le fer, le cuivre et le manganèse qui sont impliqués dans de nombreux processus redox [124]. Parmi tous ces métaux, le zinc est celui qui présente le plus de fonctions dans les organismes vivants.

Le zinc est un stabilisateur de membranes qui module la fonction de protéines membranaires et interfère avec l'action des autres cations bivalents [3] [126], mais c'est surtout une composante nécessaire à la fonction de nombreuses métalloprotéines et intervient dans leur métabolisme de manière structurale ou catalytique [127]. Il se trouve souvent lié à des ligands histidine dans de nombreuses métallo-enzymes (doigts de zinc), à la fois dans des sites actifs ou structuraux.

Le zinc peut servir d'élément de structuration pour organiser des structures biologiques tridimensionnelles. En se liant à des sites protéiques, le cation métallique Zn (II) se débarrasse de la plupart, sinon de toutes les molécules d'eau qui lui sont coordonnées. Lorsqu'ils interagissent avec des nucléotides ou des acides nucléiques, au contraire, beaucoup de molécules d'eau restent liées et aident à organiser la structure globale. Les structures tertiaires induites par la liaison du métal, peuvent faciliter les interactions entre les macromolécules et la formation de pontages est importante pour le mécanisme d'action de certains médicaments à base d'éléments minéraux.

3. Un cation bivalent est un cation avec une charge globale de +2 et donc une valence de 2

3.3 Méthodes utilisées

Les méthodes utilisées dans ce travail sont basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) [47, 48, 49]. Les optimisations des géométries ont été effectuées en utilisant les deux fonctionnelles : M062X [57] et B3LYP [55], pour la fonctionnelle B3LYP, les interactions à longue portée ont été intégrées en utilisant la correction de dispersion de Grimme à l'ordre 3 : B3LYP-D3 [60]. Nous avons utilisé quatre bases : 6-31+G(d,p) [128], 6-311+G(d,p) [128], SDD [129] et LANL2DZ [39, 40].

Le calcul a été effectué en utilisant quatre combinaisons :

- La base 6-31+G(d,p) sur tous les atomes.

- Le pseudo potentiel SDD sur tous les atomes.

- BS1 : une combinaison de la base 6-311+G(d,p) fixée sur les ions de métaux de transition, Zn ou Cu, et la base 6-31+G(d,p) sur tous les autres atomes.

- BS2 : une combinaison du pseudo potentiel LANL2DZ [39, 40] sur les ions métalliques (Zn ou Cu) et la base 6-31+G(d,p) sur tous les autres atomes.

Le calcul est divisé en quatre parties, la première partie consiste à étudier les complexes de coordination en phase gazeuse en utilisant les fonctionnelles M062X, B3LYP, et B3LYP-D3 avec les quatre combinaisons des bases mentionnées ci-dessus.
Dans la seconde partie, le même calcul a été effectué en ajoutant en position axiale sur le métal une molécule d'eau (Complexes [M (4-MeIm)$_4$ H_2O]$^{2+}$ sur la Figure 3.3). Les fréquences ont été calculées pour toutes les structures optimisées pour confirmer l'absence de fréquences imaginaires, ce calcul nous donne des valeurs de fréquences positives, ce qui conduit à dire que chaque géométrie est bien optimisée dans un minimum d'énergie. Toutes les valeurs de fréquences sont corrigées par un facteur de correction uniforme 0,967, qui a été déterminé par J. Zheng et al [130] pour la combinaison M062X/6-31+G(d,p) et 0,965 [131] pour la combinaison de la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31+G(d,p).

Les méthodes de solvatation implicite sont introduites dans la troisième partie, qui reposent sur le fait que l'effet de l'eau sur les molécules est principalement d'ordre électrostatique. Le solvant est alors représenté comme un milieu continu, sans structure microscopique, de constante diélectrique élevée, dont les propriétés diélectriques découlent des lois macroscopiques de l'électrostatique. Dans cette partie, un modèle de solvant semi explicite a été utilisé, en combinant une des deux méthodes de solvatation implicites avec les complexes [M (4-MeIm)$_4$ H_2O]$^{2+}$ présentés sur la Figure 3.3, et l'effet du solvant a été

considéré en utilisant le modèle PCM (Polarizable Continuum Model) [108]. Nous avons utilisé le rayon UAKS (united atom Kohn-Sham) qui a été paramétré sur des calculs de type DFT. La dernière partie est la même que la précédente, mais les effets du continuum sont pris en compte par la méthode C-PCM (Conductor- Polarizable Continuum Model) [110].

Les modes normaux ont été analysés par la distribution potentielle d'énergie (PED) [132, 133] à l'aide du logiciel VibMol. Ils ont été calculés selon les référence [134, 135, 136, 137]. Pour extraire des informations précieuses et significatives de la PED, nous avons attribué les fréquences et décrit les modes combinés sur la base des contributions principales des coordonnées. Seules les contributions des modes de plus de 10% sont rapportées. Les coordonnées de symétrie ont été définies en particulier pour faciliter l'attribution des modes du cycle imidazole et ceux des ions métalliques. Les modes d'une molécule d'eau coordonnée à un ion Métal^{2+}, étirement (*stretching*), flexion (*bending*) et parapluie (*umbrella*) ont été définis de manière analogue à celles d'un groupe A-XH2. Les modes d'étirement (*stretching*), de flexion (*bending*) (composés de la déformation asymétrique et symétrique) et de torsion ont été définis pour le groupe méthyle. Les coordonnées du cycle imidazole ont été définies par le mode d'étirement (exocyc), le mode de flexion (exocyc et exocyc hors du plan), le mode de torsion exo-cyclique et le mode «*ring*» (déformation et torsion). Tous les calculs ont été effectués en utilisant le logiciel Gaussian 09 (D01) [123], et les visualisations assurées par les logiciels graphiques GaussView [138] et VMD [139]. Lorsqu'elles ne sont pas spécifiées, les énergies sont systématiquement corrigées de la ZPE calculée à 298,15 K.

L'analyse topologique de la Fonction de Localisation Electronique (ELF) a été réalisée au niveau du calcul M062X/6-31+G (d, p) avec le logiciel TopMoD [140]. Les cartes et les iso-surfaces de l'analyse ELF ont été tracées en utilisant le programme Molekel [141]. L'analyse AIM (Atoms In Molecules) a été réalisée à au niveau du calcul M062X/6-31+G (d, p) avec le logiciel AIMAll [142].

3.4 Structure de motifs zinc-4-MeIm et cuivre-4-MeIm dans la littérature

Le zinc est caractérisé par une grande flexibilité et la possibilité de présenter plusieurs nombres de coordinations. Bien qu'il soit par fois cinq fois coordonné dans les MBLs, le zinc est généralement sous forme tétraédrique dans les doigts de zinc et les métallo-enzymes. Le cuivre aussi présente des nombres de coordination variés, en particulier sous sa forme oxydée (+II), et adopte plusieurs formes de coordinations tétra-, penta- et hexaédrique. Pour la plupart des complexes du cuivre décrits dans la littérature, le cation est soit tétra-, penta- ou hexacoordonné et les géométries de coordination préférentielles sont respectivement de type plan carré, pyramide à base carrée ou pyramide

trigonale et pseudo-octaédrique [143]. Une étude de la Protein Data Bank (PDB) montre que pour les sites structuraux, les proportions des différentes coordinations tétra-, penta- et hexaédrique sont respectivement de 84, 14 et 4% [144]. Pour les sites catalytiques, elles sont respectivement de 48, 46 et 6% [145]. L'effet de la stabilisation de la protéine est donc assuré par la conformation tétraédrique des ligands, en particulier les histidines autour du zinc.

Il existe un nombre important de protéines contenant du zinc et/ou du cuivre dans leurs sites actifs. Afin de comparer nos résultats de calcul aux données expérimentales, deux protéines différentes contenant des ions métalliques tétra-coordonnés ont été considérées en se basant sur les structures de DRX : la protéine Cu,Zn-SOD présente deux formes, la frome réduite (1Q0E [146]) et celle oxydée (1E9Q [147]). Cette protéine contenant à la fois la coordination His-N_π et His-N_τ pour le cuivre et seulement une coordination His-N_τ pour le zinc. La deuxième protéine est l'anhydrase carbonique de type II (2CBA) [148] qui contient seulement le métal zinc coordonné à un His-N_π et deux His-N_τ. Les distances des liaisons moyennes Zn-N sont 2.05 Å dans l'enzyme Cu,Zn-SOD et 2.11 Å dans 2CAB. Pour la protéine Cu,Zn-SOD, les distances des liaisons moyennes Zn-N_π, Cu-N_τ et Cu-N_π sont de 2.05 Å, 2.18 Å et 2.12 Å, respectivement. Alors que dans l'anhydrase carbonique de type II (2CBA), les distances moyennes Zn-N_τ sont dans l'intervalle [2.12 et 2.01 Å] alors que Zn-N_π est de l'ordre de 2.11 Å. Comme indiqué précédemment pour la Cu(II),Zn-SOD [6], les données DRX ont rapporté quatre liaisons courtes Cu-N et une cinquième Cu-O de 2.551 Å l'absence du centre de cuivre hautement symétrique. En outre, selon l'orientation de l'anneau d'histidine, la liaison Cu-O calculée par Xerri et al [136] variait de 2.34 à 2.96 Å.

Nos résultats seront comparés avec d'autres études théoriques portant sur les complexes de zinc et de cuivre tétra-coordonnés [149, 150, 151]. Comba et al [149] ont étudié les enzymes BCPs qui renferment le motif de site actif Cu(His) 2Cys Met, et ils ont montré que la distance moyenne Cu-His est de 2.067 Å au niveau B3LYP/ CEP-31G. Une autre étude menée par Ricardo et al [125], montre que les longueurs des liaisons moyennes Zn-N et Cu-N sont 2.046Å et 2.022Å respectivement. Un travail sur le Zn(II) mené par Shi-Feng Liu et al [150] porte sur l'étude du complexe de coordination Zn (2-py-in)2(THF), les auteurs ont montré que la forme géométrique du zinc penta-coordonné est une pyramide à base carrée. Dans le Zn (2-py-in) 2 (THF), le zinc est coordonné par quatre atomes d'azote à partir de 2-(2pyridyl)Indoles dans l'intervalle compris entre 1.97 et 2.19 Å et aussi à un atome d'oxygène du THF (tétrahydrofuranne) (avec Zn-O= 2.20 Å). De même, Shu-Mei Yue et al [151] ont investigué la coordination du complexe Zn [2-(2-pyridyl) benzimidazole) H_2O] et ils ont montré que le Zn(II) est cinq fois coordonné à quatre atomes d'azote de 2-(2pyridyl) indoles dans l'intervalle : 1.97-2.19 Å et un atome d'oxygène du ligand axial du THF (tétrahydrofuranne) (Zn-O = 2.20 Å). Le Zn adopte la forme d'une pyramide à base carrée dans le cas du complexe de coordination Zn [2- (2-pyridyl) benzimidazole) H_2O] étudié par Shu-Mei Yue et al [151], où ils ont montré que le Zn(II) est cinq fois coordonné avec quatre atomes d'azote (les longueurs des liaisons

Zn-N sont 1.99, 2.00, 2.03 et 2.24 Å) et un atome d'oxygène d'une molécule d'eau avec une cinquième courte longueur de liaison (Zn-O=2.03 Å).

Dans la littérature, de nombreuses études expérimentales et théoriques ont été réalisées sur des complexes de Cu(II) contenant cinq ligands dans la première sphère de coordination du cuivre avec des géométries d'une pyramide à base carrée [152, 153, 154, 155]. le cuivre peut également présenter une bipyramide à base triangulaire [155]. Peng Chen et al [153] ont étudié le complexe [Cu(II) (His)3 $(H_2O)_2]^{2+}$ afin de déterminer les structures et les descriptions de la structure électronique des sites Cu(II) utilisant des méthodes de la théorie de la fonctionnelle de la densité et l'histidine a été modélisée comme méthyl-imidazole. Ils ont montré que la distance moyenne de liaison métal-ligand est d'environ 2.04 Å avec une longueur de liaison Cu-O avoisinant 2.33 Å. Une autre étude récente de Bertrand Xerri et al [136] porte sur l'enzyme Cu, Zn-SOD montre que les longueurs de liaisons moyennes de Cu-O et de Cu-N sont égales à 2.03Å et 2.34 Å, respectivement.

3.5 Études DFT : calculs préliminaires

3.5.1 Phase gazeuse

Le zinc tétra-coordonné étant le plus fréquent, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'étude de ce type de sites. L'étude des sites à cuivre a pour objectif de dégager la différence par rapport aux sites à zinc et pour la validation des résultats déjà obtenus avec certaines métalloprotéines. Dans tous les calculs, deux structures planes (Figure 3.4), ont été placées et utilisées comme point de départ pour effectuer l'optimisation souhaitée et pour limiter le temps de calcul aucun contre-ion n'a été ajouté.

Les énergies relatives des complexes sont énumérées dans l'annexe A (Table 6.1), et données en unités atomiques, la variation de l'énergie (ΔE) entre la structure I(A) et II(B) est donnée en kcal/mol. Pour chaque niveau de calcul deux minima correspondant respectivement aux structures I(A) et II(B), ont été déterminés.

Les deux complexes de cuivre et de zinc ont un faible écart d'énergie lorsque calculés avec la fonctionnelle B3LYP, ΔE est compris entre 3.1 et 4.0 kcal/mol. L'écart le plus faible est obtenu avec la fonctionnelle M062X aux différents niveaux de calcul et la structure la plus stable correspond à la structure A, celle qui contient un méthyle-imidazole dont le N_π est protoné. La présence d'un seul Imidazole qui a l'azote N_π-protoné rend la structure plus stable, ce qui nous permet d'affirmer que la protonation de l'azote N_π/N_τ joue un rôle très important dans la stabilité des structures des sites métalliques.

Il n'existe pas dans la littérature des exemples de nos complexes, que ce soit pour le zinc ou pour le cuivre. En revanche, il existe plusieurs travaux expérimentaux et théoriques sur les métallo-enzymes, contenant le zinc ou le cuivre à nombres variés des ligands

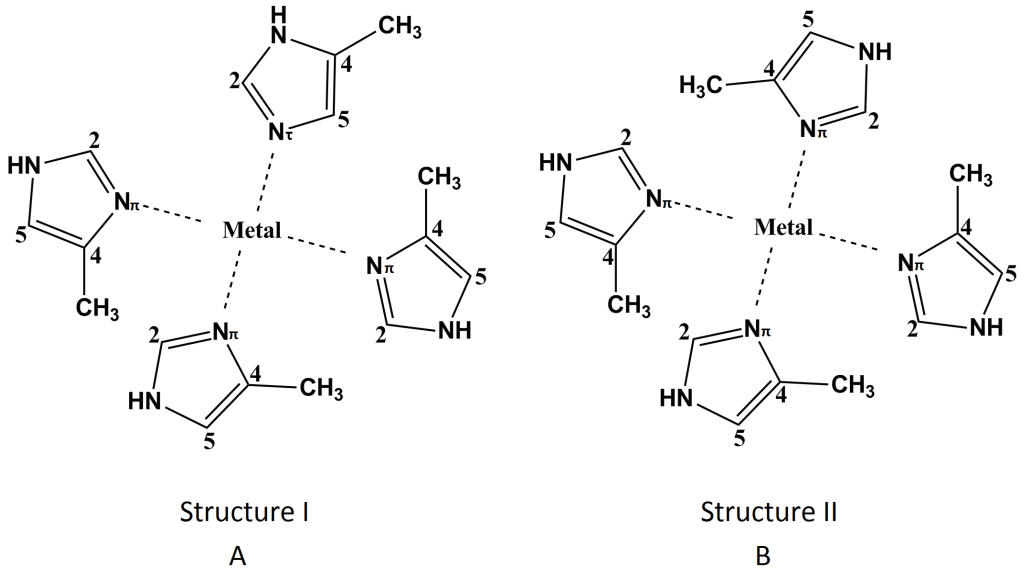


FIGURE 3.4 – Les complexes de coordination [métal-(4-méthyl-imidazole)$_4$]$^{2+}$, A et B de deux structures I et II respectivement.

histidine. L'absence de l'information sur ces enzymes en phase gazeuse, nous oblige à comparer nos complexes avec certains squelettes de sites actifs des métallo-enzymes en solution. La première question porte sur la précision et la fiabilité du niveau de calcul utilisé pour cette étude préliminaire, que ce soit pour la structure des complexes étudiés ou pour le calcul de l'énergie.

Le tableau 3.1 résume les longueurs des liaisons moyennes Métal-ligands données en Å pour les complexes de type [M (4-MeIm)$_4$]$^{2+}$, les distances Métal-N de la structure I(A) pour le zinc et le cuivre sont données en noir et celles de la structure II(B) pour les deux métaux en gris.

En optimisant la structure I(A) avec la méthode B3LYP/6-31+G(d,p) (Tableau 3.1), la distance Zn-N moyenne est de 2.047 Å, très proche de la valeur moyenne Zn-His 2.046Å obtenue par Ricardo et al [125], pour l'enzyme Cu-Zn-SOD en solution (QM/MM : HF/6-31*//Amber). Cette distance moyenne de 2.047Å est très proche de la distance moyenne Zn-His de 2,046Å obtenue à partir des données de XRD de la Cu-Zn-SOD contenant des ions métalliques tétra-coordonnés [146]. L'addition d'une base plus étendue sur le zinc 6-311+G (d,p) et la conservation de la base 6-31+G(d,p) pour tous les atomes en utilisant la même fonctionnelle B3LYP, ne varie presque pas les longueurs des liaisons Zn-N et donne une valeur moyenne de 2.048 Å. Alors que l'addition du pseudo-potentiel LANL2DZ à la place de la base 6-311+G(d,p) montre une différence de 0.05Å par rapport au résultat obtenu avec B3LYP/BS1, qui peut avoir une influence forte sur l'énergie de

cette liaison. L'utilisation de la fonctionnelle B3LYP et le pseudo-potentiel SDD résulte en une longueur de liaison moyenne Zn-N qui se rapproche légèrement des valeurs expérimentales, tout en restant surestimée de 0.025 Å. Les valeurs des longueurs de liaisons moyennes trouvées en optimisant la structure B du zinc avec la fonctionnelle B3LYP sont très proches de celles obtenues avec la structure A. Ces résultats, montrent que le choix de l'ensemble de fonctions de base influe sur les structures des complexes de coordination du zinc. D'autres fonctionnelles que B3LYP ont été testées pour apprécier également leur influence.

Métal=Zinc				
Méthodes	B3LYP	B3LYP-D3	M062X	Expt
6-31+G(d,p)	2.047	2.024	2.049	2.046[125]
	2.050	2.042	2.045	2.046[147]
SDD	2.023	2.004	2.018	
	2.026	2.004	2.019	
BS1	2.048	2.026	2.043	
	2.053	2.028	2.045	
BS2	2.104	2.082	2.078	
	2.110	2.083	2.080	
Métal=Cuivre				
Méthodes	B3LYP	B3LYP-D3	M062X	Expt
6-31+G(d,p)	2.017	1.998	2.022	2.022[125]
	2.024	2.004	2.028	
SDD	2.003	1.958	2.001	
	2.010	2.000	2.006	
BS1	2.021	2.001	2.026	
	2.028	2.008	2.031	
BS2	2.040	2.021	2.026	
	2.047	2.026	2.032	

TABLEAU 3.1 – Longueurs des liaisons moyennes Métal-N en Å pour différents complexes de type [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$]$^{2+}$. Les colonnes en gris contenant les valeurs de la structure II(B).

En comparant les distances Zn-N trouvées avec la fonctionnelle M062X et les différentes bases et pseudo-potentiels utilisés, on trouve que les écarts par rapport à B3LYP ne sont significatifs que pour le changement de la base d'orbitales atomiques, avec un raccourcissement de 0.005Å pour 6-31+G(d,p), SDD et BS1 et 0.03Å pour BS2.

L'optimisation des géométries a également été effectuée avec la fonctionnelle B3LYP-3D. Cette fonctionnelle désigne un calcul B3LYP usuel plus un terme d'énergie de correction de dispersion D3. Malgré l'étendue de cette fonctionnelle , elle nous donne des longueurs de liaisons Zn-N avec un écart variant entre 0.008 et 0.027 Å à celui trouvé avec les fonctionnelles B3LYP et M062X en fonction des différentes bases employées (Tableau 3.1). En revanche, la variation d'énergie entre les structures A et B diminue avec B3LYP-D3/6-31+G(d, p) d'environ 2 kcal/mol par rapport à B3LYP /6-31+G(d, p)et la structure A reste toujours plus stable que la structure B. Nous pouvons constater que l'influence entre les deux fonctionnelles semble non négligeable, et de même pour les autres niveaux de calcul.

Quatre combinaisons de bases ont été employées avec les fonctionnelles B3LYP, B3LYP-D3 et M062X pour décrire le complexe [Cu 4-(4-métyl-imidazole)]$^{2+}$. Pour la stabilité des géométries, et comme mentionné précédemment, on a trouvé les mêmes résultats qu'avec le complexe [Zn 4-(4-métyl-imidazole)]$^{2+}$, la structure A est plus stable que la structure B en phase gazeuse.

Les énergies relatives des complexes et la variation de l'énergie (ΔE), sont données dans l'annexe A (Table 6.1). L'étude de Comba et al [149] sur les enzymes BCPs qui ont le motif de site actif Cu(His)$_2$ Cys Met, montre que la distance moyenne Cu-His est de 2.067Å au niveau B3LYP/ CEP-31G. L'optimisation de géométrie de la structure A du cuivre, en utilisant le potentiel standard LANL2DZ fixé pour le cuivre à la place de CEP-31G, conduit aux distances moyennes Cu-N égales à 2.021Å et 2.026Å pour les deux fonctionnelles B3LYP-D3 et M062X respectivement. Ces valeurs semblent être en bon accord avec l'étude de Comba et al [149]. Une autre étude théorique menée par Ricardo et al [125], montre que la longueur de liaison moyenne Cu-N est de 2.022 Å, ce qui est en bon accord avec nos résultats. Par contre, l'utilisation de pseudo-potentiel SDD avec les différentes fonctionnelles utilisées donne une sous-estimation de la distance moyenne Cu-N (Tableau 3.1).

Pour comparer les résultats des calculs actuels avec les données expérimentales, deux protéines différentes contenant des ions métalliques tétra-coordonnés ont été prises en compte : la protéine Cu-Zn-SOD dans ses deux formes réduite (Code PDB : 1Q0E [146]) et oxydée (Code PDB : 1E9Q [147]) contenant à la fois une coordination His-N$_\pi$ et une coordination His-N$_\tau$ pour Cu. Nous avons représentés sur la Figure 3.5 la protéine Cu-Zn-SOD avec ses deux formes réduite ainsi le site actif de chaque forme. En se basant sur les données expérimentales de DRX, les distances des liaisons moyennes de Cu-N sont 2.18Å et 2.12Å pour les coordinations Cu-N$_\tau$ et Cu-N$_\pi$ respectivement. En revanche et contrairement aux résultats théoriques de la littérature, les longueurs des liaisons Cu-N calculées pour A et B, sont légèrement plus petites que celles observées en DRX.

Pour la stabilité de géométrie, l'étude du complexe de Cu(II) montre les mêmes résultats qu'avec le complexe de Zn(II) à l'état gazeux, et la stabilité joue en faveur de

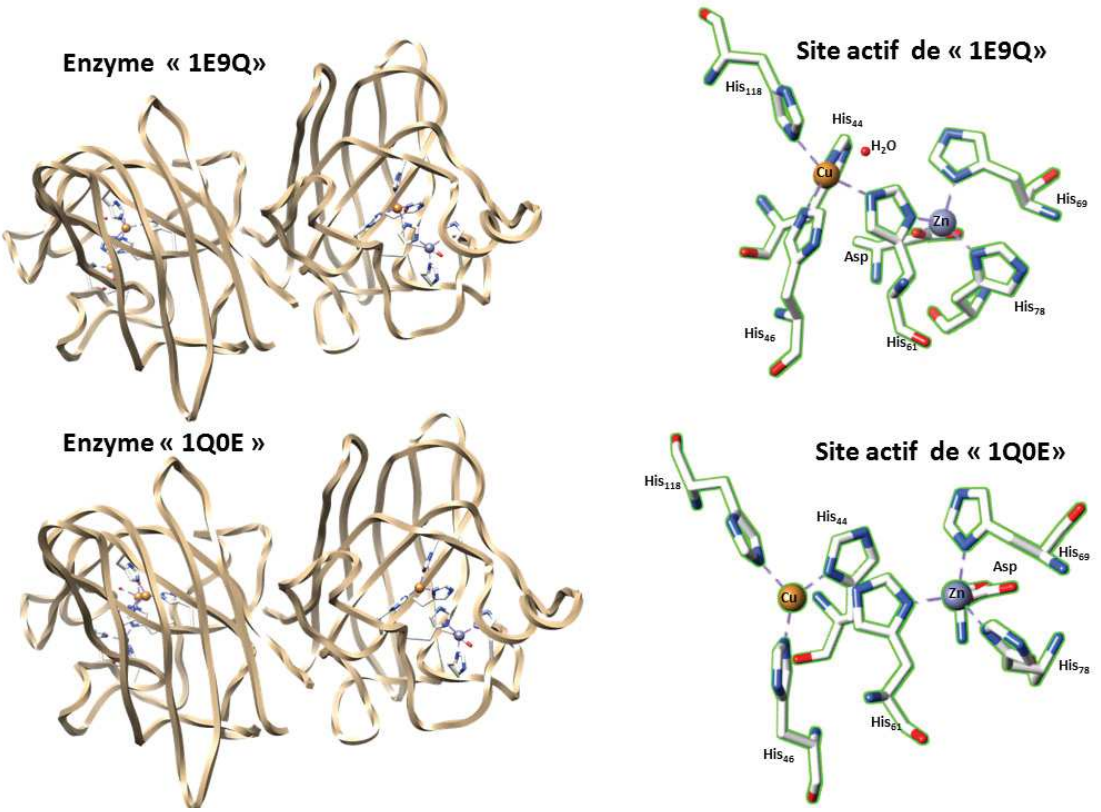


FIGURE 3.5 – Représentation graphique des structures cristallographiques de la protéine Cu-Zn-SOD dans ses deux formes réduite (Code PDB : 1Q0E [146]) et oxydée (Code PDB : 1E9Q [147]). Le site actif est en représentation «Ball & Strict» le reste en représentation «Ribbon» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet, cuivre : cuivrée.

la structure A. Les fonctionnelles B3LYP-D3 et M062X estiment bien les longueurs des liaisons Métal-N. En revanche, la fonctionnelle B3LYP-D3 réduit les longueurs des liaisons Métal-N par rapport à celles trouvées avec B3LYP et M062X. Généralement, les longueurs de liaison Métal-N_τ calculées pour A et B, sont légèrement plus petites que celles relatives à Métal-N_π (Tables 6.5 et 6.6 de l'annexe A).

En utilisant la fonctionnelle M062X on réduit légèrement les longueurs des liaisons Zn-N, mais ce n'est toujours pas le cas pour le cuivre. En outre, les calculs DFT menés dans cette thèse prédisent que les complexes de coordination adoptent systématiquement une structure tétraédrique pour Zn et Cu.

Ces calculs montrent une grande disparité des résultats que ce soit pour la longueur des liaisons Métal-N ou pour le calcul de l'énergie, ce qui rend difficile le choix entre les différentes fonctionnelles puisqu' aucune donnée structurale en phase gazeuse n'est

disponible. Dans le paragraphe suivant, nous allons ajouter en position axiale sur le métal une molécule de H_2O étant donné qu'elle est présente dans la plupart des sites actifs des métalloprotéines. Pour ce faire, on utilisera les deux fonctionnelles M062X et B3LYP-D3.

3.5.2 Solvatation

Dans cette partie une molécule d'eau a été examinée dans la première sphère de coordination des ions métalliques, afin de rendre compte de l'effet de solvatation explicite. Nous avons obtenu deux structures C et D ayant les structures II et I respectivement (Figure 3.5).

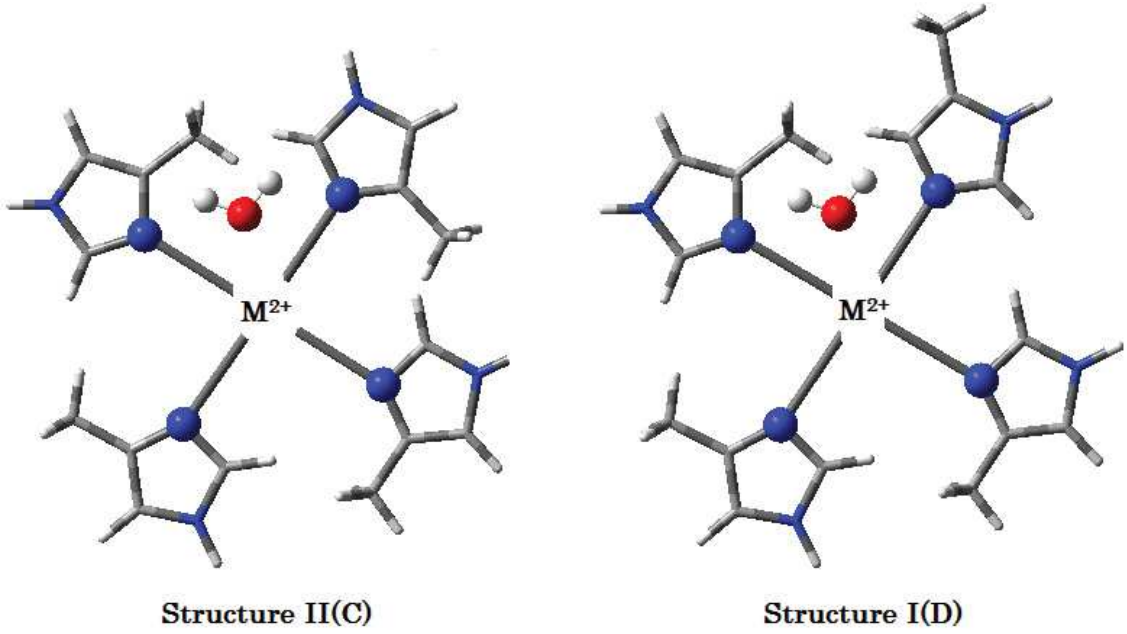


FIGURE 3.6 – Représentation graphique sur le plan de complexes de coordination métallique modélisés [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$H$_2$O]$^{2+}$, C et D des deux structures II et I respectivement. Les atomes coordonnés aux métaux sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge.

Sur la Figure 3.6, l'oxygène est représenté en rouge, l'azote en bleu, le carbone en gris et l'hydrogène en blanc. Les deux structures contenant quatre atomes d'azote avec une molécule d'eau dans la sphère de coordination de l'ion métallique, chacun lié au groupement 4-méthyl-imidazole. Chaque molécule agit comme un ligand monodenté [156] coordonné à l'ion métallique par l'atome d'azote non protoné (N_π ou N_τ) de l'imidazole hétérocyclique. Les données géométriques sélectionnées sont données dans l'annexe A

(Table 6.7 pour le zinc et Table 6.8 pour le cuivre) et les distances moyennes Métal-N et Métal-O dans le tableau 3.2. Les énergies relatives des complexes et la variation de l'énergie (ΔE) entre la structure I(C) et II(D) sont données dans l'annexe A (Table 6.3). Pour chaque niveau de calcul deux minima correspondant respectivement aux structures I(C) et II(D), ont été déterminés. Pour tenir compte des forces de dispersion et les interactions à longue portée pour ces complexes de coordination, seules les fonctionnelles B3LYP-D3 et M062X ont été utilisées. Les différences d'énergie pour les deux métaux peuvent être soit positives, négatives ou nulles, selon les méthodes de calcul utilisées.

Pour le métal Zn, les différences d'énergie entre C et D sont négatives pour tous les niveaux de calcul, sauf au niveau B3LYP-D3/SDD. En raison des petites valeurs des ΔE comprises entre -0.5 et -1.7 kcal/mol, on peut considérer qu'il n'y a pas de préférence de structure entre C contenant quatre His-N_π et D contenant un His-N_τ et trois His-N_π. En revanche, la stabilité de géométrie joue en faveur de la coordination N_τ (structure I(D)). La différence d'énergie la plus importante se trouve au niveau «B3LYP-D3/SDD» et est égale à 3.6 kcal/mol, et comme mentionné précédemment, c'est le seul niveau de calcul qui donne une valeur positive. Cette valeur significative montre clairement que la structure D est plus stable que C. D'un autre côté, cet écart d'énergie (3.6 kcal/mol) peut être dû à la sous-estimation de la longueur de la liaison Zn-N $\approx$ 2.009 Å, qui influe sur l'énergie de cette liaison en optimisant la structure D au niveau «B3LYP-D3/SDD».

En optimisant la géométrie du complexe de zinc C au niveau B3LYP-D3/6-31+G(d,p), la distance moyenne Zn-N est égale à 2.023 Å, ainsi que les angles N-Zn-N [106.3 et 119.5°] indiquent la présence de la coordination tétraédrique de l'ion central Zn(II). La molécule d'eau est assez loin du zinc (Zn-O= 4.6 Å) de telle sort que l'atome d'oxygène n'a pas directement interagi avec l'atome de zinc. De même pour la structure D avec une distance moyenne Zn-O égale à 3.8 Å. La géométrie tétraédrique est aussi le résultat de l'addition de la base 6-311+G(d,p) sur le zinc (BS1) en optimisant les deux structures C et D. Aucune variation significative pour les longueurs de liaisons moyennes Zn-N et Zn-O est notée, par contre l'addition du pseudo-potentiel LANL2DZ (BS2) sur le zinc surestime la longueur de la liaison moyenne (Zn-N environs 2.130 Å) pour les deux structures de zinc C et D.

La molécule d'eau agit comme un ligand sur le zinc lors de l'optimisation de deux structures de zinc avec la fonctionnelle M062X et la base 6-31+G(d,p), le zinc coordonné par cinq ligands donne une forme géométrique d'une pyramide déformée à base carrée (PBC) dans laquelle l'atome d'oxygène se trouve dans le plan pour la structure C. Cette forme géométrique est en accord avec celle trouvée par Shi-Feng Liu et al [150] qui ont étudié le complexe de zinc $[Zn\ (2\text{-pyin})_2(THF)]^{2+}$ coordonné par quatre atomes d'azote et un atome d'oxygène et ont montré que les distances moyennes Zn-N et Zn-O sont égales à 2.078 Å et 2.204 Å respectivement.
La distance moyenne Zn-N égale à 2.089Å est très proche de la valeur trouvée par Shi-Feng Liu et al (2.078 Å), alors que celle de Zn-O est écartée de 0.01 Å. La même tendance

Métal=Zinc			
Méthodes	B3LYP-D3	M062X	Expt
6-31+G(d,p)	2.023	2.089	2.078[150]
	2.025	2.073	
SDD	2.045	2.074	
	2.054	2.054	
BS1	2.024	2.074	
	2.027	2.074	
BS2	2.130	2.129	
	2.130	2.019	
Métal=Cuivre			
Méthodes	B3LYP-D3	M062X	Expt
6-31+G(d,p)	2.026	2.051	2.030[136]
	2.026	2.052	
SDD	2.020	2.042	2.040[153]
	1.993	2.033	
BS1	2.006	2.056	
	2.031	2.053	
BS2	2.046	2.054	
	2.039	2.048	

TABLEAU 3.2 – Longueurs de liaisons moyennes Métal-N en Å pour les complexes C et D de type [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$ $H_2O]^{2+}$. Les colonnes en gris contenant les valeurs de la structure II(C).

a été trouvée en utilisant la fonctionnelle M026X avec le pseudo potentiel SDD et la base BS1, alors qu'avec la base BS2 la distance est écartée de 0.05 Å.
Une autre étude est faite par Shu-Mei Yue et al [151] sur le complexe [Zn(II) 2-(2-pyridyl) benzimidazole) H_2O] montre que le zinc coordonné par quatre atomes d'azote et un atome d'oxygène adopte une forme géométrique d'une PBC.
L'optimisation de la structure D du complexe de zinc avec la fonctionnelle M062X et la base 6-31+G (d,p) donne une forme géométrique d'une bipyramide à base triangulaire (BPBT) dans laquelle l'atome d'oxygène se trouve au sommet et les distances moyennes Zn-N et Zn-O sont égales à 2.073 Å et 2.594 Å respectivement. Les longueurs de liaison Zn-O expliquent les formes géométriques (PBC ou BPBC) trouvées avec M062X/6-31+G(d,p), ce qui nous permet de dire que la fonctionnelle M062X traite les interactions Zn-O mieux que la fonctionnelle B3LYP-3D vu qu'on a utilisé les mêmes géométries de départ. Nous avons trouvé la même forme géométrique (BPBT) en utilisant la fonctionnelle M062X avec BS1 et BS2 alors qu'avec le pseudo potentiel SDD la molécule d'eau

n'est pas considérée comme un ligand.
Dans la littérature, la géométrie tétraédrique est connue comme la géométrie de coordination la plus préférable pour Zn(II) [157, 158]. Alors que nos résultats avec la fonctionnelle M062X montrent que le zinc adopte une forme géométrique d'une BPBT, ce qu'explique la coordination à cinq ligands dans la plus part des métalloprotéines. Le meilleur résultat structural obtenu en optimisant le complexe de zinc est celui trouvé avec la combinaison : M062X/6-31+G (d,p).

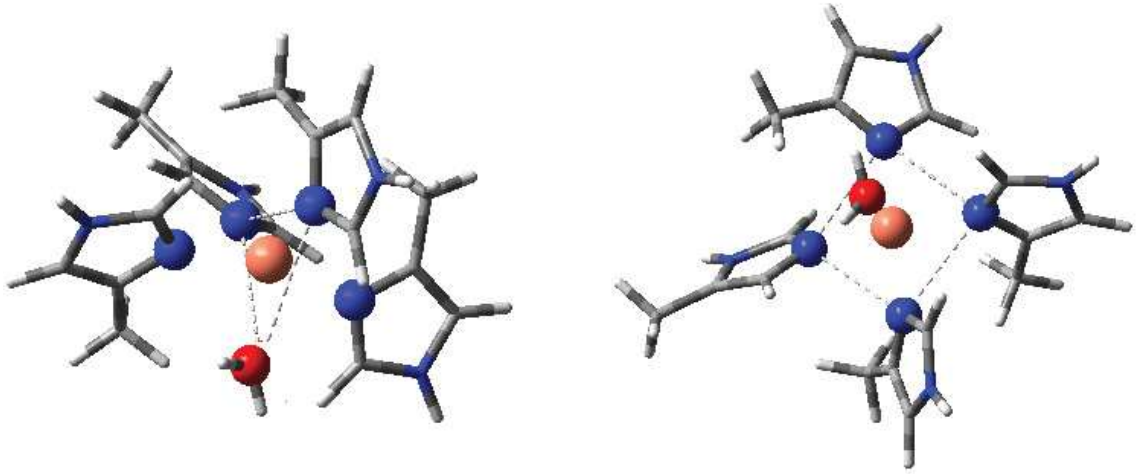


FIGURE 3.7 – Représentation graphique des deux formes géométrique (BPBT et PBC) de la structures I(D) optimisées au niveau M062X/6-31+G(d,p). Les atomes coordonnés au cuivre sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. cuivre : cuivrée.

Dans ce travail nous avons trouvé deux formes géométriques du complexe de cuivre en optimisant la structure D au niveau M062X/ 6-31+G(d,p). Les deux formes géométriques BPBT et BPC sont représentées sur la Figure 3.7, l'oxygène est donné en rouge, l'azote en bleu, le carbone en gris et l'hydrogène en blanc.
La première géométrie converge vers une forme géométrique d'une pyramide à base carrée légèrement déformée de telle sorte que le métal et l'atome d'oxygène se trouvent sur l'axe de rotation C4 (Figure 3.7), alors que la deuxième géométrie converge vers une forme géométrique d'une bipyramide à base triangulaire déformée (Figure 3.7). Toutes les fréquences calculées sont positives, ce qui implique que les énergies correspondent bien à des géométries optimisées dans un minimum. La différence d'énergie entre ces deux formes géométriques est négligeable avec un ΔE=0.15 kcal/mol et la stabilité joue en faveur de la forme géométrique d'une pyramide à base carrée qui est légèrement plus stable avec des longueursde liaisons moyennes Cu-N=2.05 Å, Cu-O=2.32 Å. Donc, la

question qui s'impose est sur la fiabilité de la méthode utilisée et la possibilité de l'existence d'un état de transition entre ces deux formes géométriques BPBT et PBC). Les deux formes géométriques trouvées avec M062X/6-31+G(d,p) ont été ré-optimisées en utilisant la fonctionnelle M062X et une base plus étendue 6-311+G(d,p) puis au niveau B3LYP-D3/6-31+g(d,p). Les résultats trouvés ne montrent aucun changement structural ce qui nous permet de dire qu'il existe peut-être un état de transition entre les deux formes géométriques où la surface d'énergie potentielle est plane.

L'optimisation de la structure D du complexe de Cu(II) conduit à une forme géométrique d'une pyramide à base carrée avec Cu-N=2.05 Å et Cu-O=2.33 Å. La différence de l'énergie ΔE est très négligeable (environ 0.02 kcal/mol) entre la structure C et D dont la forme géométrique trouvée est une pyramide à base carrée. Nos résultats au niveau M062X/ 6-31+G(d,p) sont en bon accord avec les résultats de Peng Chen et al [153] et Bertrand Xerri et al [136] . L'utilisation des pseudo-potentiels SDD, BS2 et la base BS1 avec la fonctionnelle M062X conduisent à une forme géométrique d'une bipyramide triangulaire déformée avec les mêmes distances moyennes Cu-N et Cu-O trouvées en utilisant la base 6-31+G(d,p).

En revanche, l'optimisation des structures du complexe de Cu(II) a également été effectuée avec la fonctionnelle B3LYP-D3. Toutes les formes géométriques trouvées avec M062X sont reproduites en utilisant B3LYP-D3 sauf au niveau B3LYP-D3/BS1, pour ce niveau de calcul la forme géométrique trouvée est une pyramide à base carrée alors que la géométrie de départ est celle optimisée avec M062X dont sa forme géométrique est une bipyramide à base triangulaire déformée.

3.5.3 Comparaison des modèles PCM et C-PCM

Dans cette partie, nous avons utilisé les mêmes fonctionnelles que la partie précédente, ainsi que les différentes combinaisons des bases et des pseudo-potentiels. L'optimisation des géométries a été faite à partir des structures moléculaires des complexes [Métal-(4-méthy-limidazole)$_4$ $H_2O]^{2+}$ optimisées (Figure 3.6 de la section 3.5.2 Solvatation).
L'optimisation des complexes a été réalisée en présence de l'eau comme solvant, d'une constante diélectrique $\varepsilon = 78.3553$. Les données géométriques sélectionnées utilisant le modèle PCM sont données dans l'annexe A (Table 6.9 pour le zinc et Table 6.10 pour le cuivre), alors que celles du modèle C-PCM sont énumérées dans l'annexe A (Table 6.11 pour le zinc et Table 6.12 pour le cuivre). Les énergies relatives des complexes et la variation de l'énergie (ΔE) sont données l'annexe A (Table 6.4 pour le modèle PCM et Table 6.5 pour le modèle C-PCM).

Sur la base de la littérature [150, 159], pour les aspects structuraux, les meilleurs résultats obtenus en optimisant les complexes de zinc avec le modèle PCM sont ceux trouvés au niveau M062X/6-31+G(d,p), les longueurs de liaison moyennes Zn-N et Zn-O sont égales à 2.10 Å, et 2.259 Å respectivement pour la structure I et 2.09 Å, 2.358 Å pour

la structure I(D) qui sont en accord avec les valeurs trouvées par Natalia Diaz et al [159] sur l'étude de l'enzyme MMP2 (Zn-N et Zn-O sont égales à 2.12 Å, 2.2 Å respectivement) et Shi-Feng Liu [150]. La présence de l'eau d'une manière implicite (PCM) affecte légèrement les longueurs des liaisons de 0.03 Å. Cependant, les formes géométriques ne sont pas modifiées, la structure I(D) conserve sa forme d'une pyramide à base carrée et la structure II(C) reste en tant que structure d'une bipyramide trigonale déformée.

Les mêmes données structurales sont obtenues en utilisant la fonctionnelle et la combinaison des bases BS1, par contre l'utilisation d'une seule base 6-31+G(d,p) sur tous les atomes est beaucoup moins coûteuse en temps de calcul. Comme mentionné précédemment, la fonctionnelle B3LYP-D3 sous-estime les longueurs des liaisons pour les complexes du cuivre, et même pour l'étude de ces complexes dans l'eau implicite.

Métal=Zinc			
Méthodes	B3LYP-D3	M062X	Expt
6-31+G(d,p)	2.054 (2.047)	2.101 (2.097)	2.120[159]
	2.049 (2.050)	2.095 (2.098)	2.078 [150]
SDD	2.054 (2.054)	2.076 (2.077)	
	2.022 (2.023)	2.067 (2.068)	
BS1	2.046 (2.048)	2.097 (2.099)	
	2.046 (2.052)	2.098 (2.098)	
BS2	2.148 (2.149)	2.142 (2.140)	
	2.150 (2.150)	2.142 (2.144)	
Métal=Cuivre			
Méthodes	B3LYP-D3	M062X	Expt
6-31+G(d,p)	2.020 (2.021)	2.047 (2.047)	2.030[136]
	2.023 (2.023)	2.047 (2.047)	
SDD	2.018 (2.019)	2.043 (2.043)	2.04 [153]
	2.016 (2.016)	2.034 (2.034)	
BS1	2.024 (2.024)	2.064 (2.065)	
	2.027 (2.018)	2.056 (2.054)	
BS2	2.040 (2.040)	2.052 (2.052)	
	2.042 (2.042)	2.048 (2.048)	

TABLEAU 3.3 – Longueurs des liaisons moyennes Métal-N en Å pour les complexes C et D de type [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$ $H_2O]^{2+}$ en solvant implicite PCM (C-PCM entre parenthèses et les colonnes en gris contenant les valeurs de la structure II(C)).

Le tableau ci-dessus (Tableau 3.3) regroupe les données structurales pour les longueurs de liaisons Métal-N des complexes C et D, [Métal-(4-méthyl-imidazole)$_4$ $H_2O]^{2+}$,

en utilisant deux modèles de solvatation implicite PCM et C-PCM. Les données géométriques obtenues au niveau M062X/6-31+G(d,p) de la structure I(D) des complexes de zinc et de cuivre sont données en noir et celles de la structure II(C) sont représentées en gris.

En se basant sur les données regroupées dans le tableau 3.3, les longueurs des liaisons moyennes Zn-N= 2.047 Å et Zn-O= 2.294 Å au niveau M062X/6-31+G(d,p) sont en bon accord avec les valeurs trouvées par Peng Chen et al [153]. Le modèle de solvatation C-PCM nous donne les mêmes valeurs obtenues avec le modèle PCM. Le choix du solvant implicite n'implique aucun changement significatif, ni en termes de forme, ni en termes longueurs de liaisons. En effet, les différences constatées étaient de l'ordre de 0.01 Å pour les distances et 0.04 degrés pour les angles.

Dans la partie précédente, les différences d'énergie sont soit positives, négatives ou nulles, selon les méthodes de calcul, et quel que soit le métal, Zn ou Cu. L'utilisation de solvant implicite PCM et C-PCM n'a pas modifié ces différences. D'après les résultats énergétiques que nous avons obtenus, le calcul C-PCM donne un très faible écart de 0.01 kcal/mol par rapport aux résultats obtenus avec le modèle de solvatation PCM. En se basant les présentes valeurs d'énergies calculées, et parce que les différences d'énergie peuvent être soit positives ou négatives selon les méthodes de calcul, il n y a pas de préférence prévue entre la coordination N_π et la coordination N_τ.

3.6 Nombres de coordination du Zinc et du cuivre

En phase gazeuse, avec les complexes quatre fois coordonnés, l'ion métallique coordonné à quatre ligands prend une forme géométrique tétraédrique dans tous les niveaux de calcul. En présence de l'eau comme étant cinquième ligand, un seuil inférieur à 2.5 Å pour les longueurs des liaisons Métal-N et Métal-O est actuellement défini comme la limite pour une liaison métallique Métal-N ou Métal-O pour qu'elle soit considérée comme une coordination. Des sites actifs cinq fois coordonnés sont présents dans les protéines, pour Cu(II) et Zn(II) [146].
Dans les deux structures I(D) et II(C), les nombres de coordination calculés des complexes coordonnés de cuivre et de zinc sont systématiquement cinq en utilisant la fonctionnelle M062X à l'exception des niveaux de calcul M062X / 6-31G (d, p) et M062X / BS2 pour la structure II(C) contenant le Zn (Tables 6.2, 6.3 et 6.4 de l'annexe A). Quel que soit le métal, cuivre ou zinc, des nombres de coordination différents sont calculés pour C et D selon les méthodes utilisées. Dans le cas de la fonctionnelle B3LYP-D3, des nombres de coordination de 5 ou de 4 sont prévus, en fonction des ensembles de bases, des ions métalliques et des structures I(D) et II(C). En utilisant la fonctionnelle B3LYP-D3 avec SDD et BS2, les complexes D contenant du cuivre sont quatre fois coordonnés puisque la molécule d'eau est un peu loin de la première sphère de coordination du cuivre. Dans le cas du complexe C contenant Zn(II) et calculé au niveau B3LYP-D3/6-31+G(d,p), la distance moyenne Zn-N est de 2.023 Å, et les angles N-Zn-N sont dans l'intervalle allant

de 106.3° à 119.5° indiquant la présence d'une coordination tétraédrique de Zn(II) avec un nombre de coordination de quatre, alors que la molécule d'eau n'interagit pas comme un ligand puisqu'elle n'est pas dans la première sphère de coordination du zinc.

La combinaison d'une molécule d'eau avec un solvant implicite (PCM et CPCM) induit une modification significative des résultats calculés pour les complexes de coordination du cuivre, étant donné que seulement les complexes cinq fois coordonnés pour C et D sont prédits. La sphère de coordination de Zn dans les complexes D [Zn (4-MeIm)$_4$, $H_2O]^{2+}$ atteint également une valeur de cinq en utilisant la fonctionnelle M062X avec des solvants implicites, quels que soient les ensembles de bases (Table 6.4 de l'annexe A). Comme dans le cas du cuivre, pour les complexes [Zn (4-MeIm)$_4$, $H_2O]^{2+}$, les nombres de coordination sont différents selon la fonctionnelle B3LYP-D3 en fonction des ensembles de bases. Comme le montrent les Tables 6.3 et 6.4 de l'annexe A, les structures quatre fois coordonnées sont prévues pour C et D en utilisant la fonctionnelle B3LYP-D3 avec la base 6-31+G(d,p) et les ensembles de base BS1. Les structures quatre fois coordonnées sont prévues pour D en utilisant le pseudo potentiel SDD.

Les structures C et D calculées avec une coordination de cinq, ont des géométries hautement symétriques (bipyramide à base carrée ou bipyramide à base triangulaire) ou des structures intermédiaires. Dans plusieurs cas (Tables 6.2-4 de l'annexe A), une structure pyramidale carrée (comme pour B3LYP-D3/6-31+G(d,p) avec et sans solvant implicite) est calculée pour le cuivre, mais une structure de bipyramide à base triangulaire peut être calculée également (ce qui est le cas, par exemple, en utilisant B3LYP-D3/SDD pour le complexe C de zinc contenant un 4-MeIm en position apicale et un angle N-Zn-N supérieur à 110°). Ces deux structures (bipyramide à base carrée ou bipyramide à base triangulaire) peuvent être localisées avec la différence d'énergie négligeable ($\leq$ 1kJ / mol), selon les méthodes de calcul. Une structure pyramidale carrée et une structure pentagonale avec une longueur de liaison moyenne Cu-N de 2.05 Å, une longueur de liaison Cu-O de 2,32 Å (Tableau 3.3 et Figure 3.7) et avec des valeurs d'énergie très similaires ont été calculées en utilisant M062X/6-31+G(d, p) et d'autres méthodes différentes (M062X/6-31+G(d,p), M062X/6-311+G(d,p), B3LYP-D3/6-31+G(d,p) et B3LYP-D3/6-311+G(d,p)). Ces résultats indiquent clairement que la surface d'énergie potentielle est plane et conduisent à des structures très proches en énergie (seules les énergies les plus stables ont été données dans les tableaux).

Bien que les structures hautement symétriques d'une bipyramide à base carrée et bipyramide à base triangulaire sont rapportées dans la littérature, la présence de ligands 4-MeIm diminue probablement la symétrie fournissant la forme pseudo (ou déformée) pyramidale à base carrée ou bipyramide trigonale.

3.7 Analyse topologique de la Fonction de Localisation Electronique (ELF)

Afin de caractériser l'interaction de la liaison cuivre-N, l'analyse ELF a été effectuée.

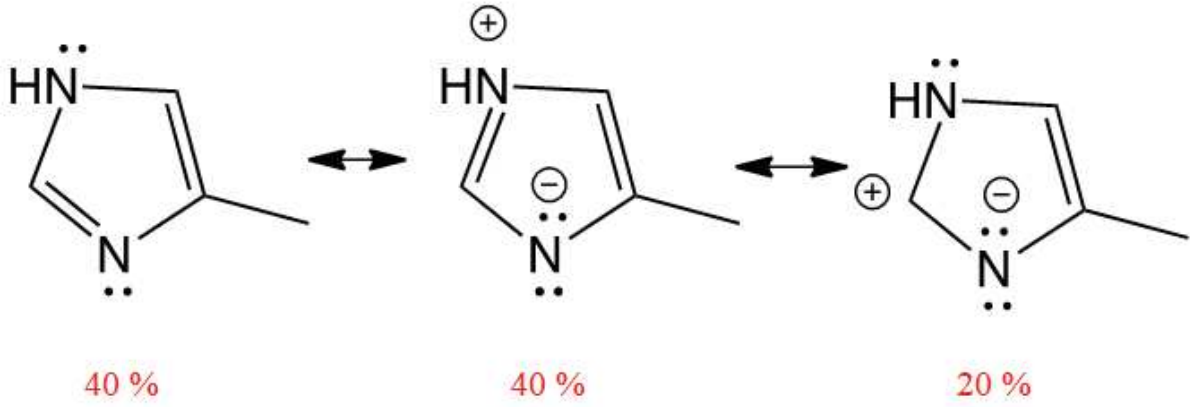


FIGURE 3.8 – Les principales formes mésomères de l'analyse ELF du 4-Méthyl-imidazole.

La carte ELF dans le plan N-C-N du complexe D [Cu (4-MeIm)$_4$ $H_2O]^{2+}$, les domaines de localisation pour ELF = 0.81, et les populations des bassins de valence de la Fonction de Localisation Electronique (ELF) sont présentés sur la Figure 6.1 de l'annexe A. Les populations ELF de certains bassins de valence de 4-MeIm sont présentées sur la Figure 6.2 de l'annexe.
Les formes mésomères les plus représentatives et leur poids, estimés à partir des populations ELF et les covariances des bassins de valence du groupement histidine, sont représentées sur la Figure ci dessus (Figure 3.8). Les principales formes présentent une description zwitterionique de la liaison d'imine C-N.

Dans l'image ELF, comme prévu, l'état formel d'oxydation du cuivre est de deux (Cu(II)) et 80% de la densité de spin est localisée au centre du cuivre. Dans les deux formes géométriques du complexe de cuivre, bipyramide à base triangulaire ou la pyramide à base carrée, la description ELF des quatre ligands 4-MeIm est équivalente et très semblable à celle du ligand 4-MeIm libre (presque les mêmes populations et covariances) (Figure 6.1 de l'annexe).

L'analyse ELF du bassin de valence di-synaptique V (Cu, N) est indicative d'une liaison dative Cu-N. Elle présente une population électronique légèrement plus grande que celle de V (N) dans le 4-MeIm libre (3.0 par rapport à 2.9 *e*). L'attracteur correspondant

est situé plus près du noyau d'azote que celui relatif au V (N) dans le 4-MeIm libre (0.636 par rapport 0.715 Å). Ces deux caractéristiques indiquent que le poids des formes mésomères zwittérioniques de 4-MeIm a légèrement augmenté dans le complexe de cuivre. La covariance entre V (Cu, N) et le bassin de cœur du cuivre, c'est- à-dire la covariance Cov[V(N), C(Cu)] = -0.18 est indicative d'une liaison dative Cu-N, même si la QTAIM de contribution atomique de Cu dans le bassin V (N) est faible (0,14 *e*, c'est- à-dire inférieure à 10% de la population du bassin). Cette liaison dative présente donc un fort caractère ionique tel que suggéré par les formes mésomères les plus représentatives correspondant à un ion Cu(II) en interaction électrostatique avec les formes mésomères zwittérioniques de 4-MeIm.

La figure ci-dessous (Figure 3.9) représente le graphe moléculaire QTAIM de la structure II(C) du complexe de cuivre optimisée au niveau M062X/6-31+G(d,p) avec une géométrie d'une bipyramide triangulaire. Selon la classification de Macchi's [113], les paramètres topologiques QTAIM aux points critiques de liaison Cu-N (resp. Cu-O) sont indicatifs d'un donneur-accepteur (datif) de liaison Cu-N (resp. Cu-O)($\Delta\rho_{bcp}\rangle 0$ et $H_{bcp}\langle 0$, comme le montre la Table 6.13 de l'annxe A). Le degré de covalence, tel que mesuré par le rapport (H_{bcp} / ρ_{bcp}) est identique pour les quatre liaisons Cu-N, mais beaucoup plus faible pour la liaison Cu-O. Les énergies d'interaction Cu-N estimées à partir de la corrélation Espinosa [160, 161] (Table 6.13 de l'annexe), sont similaires pour les quatre liaisons Cu-N et environs trois fois plus fortes que l'interaction Cu-O.

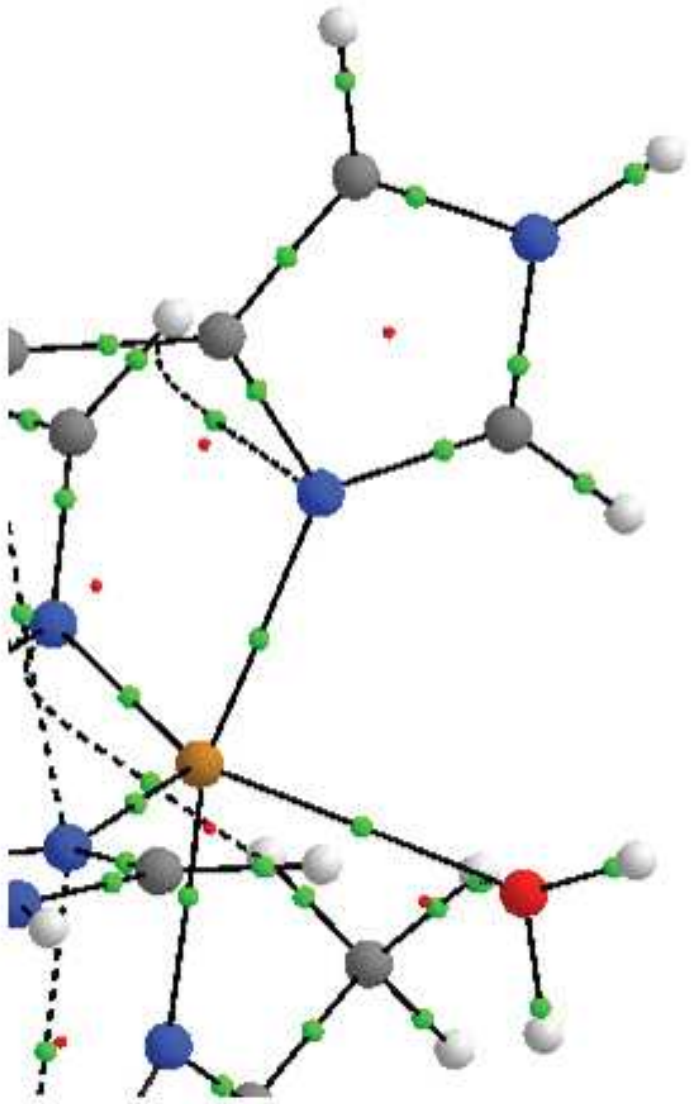


FIGURE 3.9 – Le Graphe moléculaire QTAIM de [Cu(4-MeIm)$_4$, H_2O] $^{2+}$ avec une symétrie quasi bipyramidale triangulaire, structure D calculée au niveau M062X/6-31+G(d,p). Les points critiques de liaison sont représentés sous forme de sphères vertes, Les atomes sont en représentation «Ball & Strict». azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. cuivre : cuivrée

3.8 Analyse des fréquences

Les spectroscopies vibrationnelles (Raman et infrarouge) sont particulièrement utiles pour l'identification de la coordination de l'histidine puisque certains modes sont très sensibles à la structure géométrique. Plusieurs bandes dans le domaine infrarouge ont

été utilisées comme marqueurs pour les anneaux d'imidazole neutres simplifiés pour les complexes de cuivre (II) et de zinc (II) parce qu'ils sont relativement bien identifiés. Mais il est également important de déterminer si ces modes IR peuvent être identifiés dans des systèmes mixtes et plus complexes comme la structure I dans cette étude (formes N_τ-Métal et N_π-Métal) et d'évaluer la fiabilité des méthodes de calcul.
Dans cette partie, nous avons choisi la structure I(D) optimisée dans un solvant implicite (PCM) pour l'analyses des fréquences vue que c'est une structure mixte contenant à la fois la forme N_τ-Métal et la forme N_π-Métal.

	Ce travail : calculés[a]				Littérature : calculés[b]		observés
	M062X/ 6-31+G(d,p)	[e] PED	B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	[e] PED	B3LYP/ 6-31G(d,p)	PED	Raman[c]
N_πZn							
	1625-1619	55%$\nu(C_4C_5)$	1569-1607	38%$\nu(C_4C_5)$	1603	58%$\nu(C_4C_5)$	1580
					1600	60%$\nu(C_4C_5)$	
	1542-1531	22%$\nu(C_2N_\pi)$	1490-1483	17%$\nu(C_2N_\pi)$	1522	25%$\nu(C_2N_\pi)$	1500
					1519	16%$\nu(C_2N_\pi)$	
	1356-1340	29%$\nu(C_2N_\pi)$	1300-1250	19%$\nu(C_2N_\pi)$	1324	38%$\nu(C_2N_\pi)$	1500
		23%$\nu(C_4N_\pi)$		28%$\nu(C_4N_\pi)$		14%$\nu(C_4N_\pi)$	1274
	1296-1287	18%$\nu(N_\tau C_5)$	1248-1247	21%$\nu(N_\tau C_5)$	1278	36%$\nu(N_\tau C_5)$	1232
		17%$\nu(C_4N_\pi)$		11%$\nu(C_4N_\pi)$		33%$\nu(C_4N_\pi)$	
	1167-1175	31%$\nu(C_2N_\tau)$	1163-1164	31% $\nu(C_2N_\tau)$			1194
		26% $\delta(C_2N_\tau H,$		16%$\delta(C_2N_\tau H,$			
		$C_5N_\tau H)$		$C_5N_\tau H)$			
		20% $\delta(HC_2N_\pi,$		16% $\delta(HC_2N_\pi,$			
		20% $HC_2N_\tau)$		$HC_2N_\tau)$			
	1193-1189	36% $\nu(C_5N_\tau)$	1164-1163	47% $\nu(C_5N_\tau)$			1092
		29% $\delta(C_4C_5H,$		23% $\delta(C_4C_5H,$			
		$HC_5N_\tau)$		$HC_5N_\tau)$			
N_τZn							
	1641	48%$\nu(C_4C_5)$	1585	46%$\nu(C_4C_5)$			1606
	1532	36%$\nu(C_2N_\tau)$	1489	30%$\nu(C_2N_\tau)$			1503
	1276	30%$\nu(N_\tau C_5)$	1245	14%$\nu(N_\tau C_5)$			
		48%$\nu(C_2N_\pi)$		11%$\nu(C_2N_\pi)$			
	1125	40%$\nu(N_\tau C_5)$	1097	45%$\nu(N_\tau C_5)$			1092

TABLEAU 3.4 – Modes vibrationnels calculés en cm^{-1} des bandes N_τH-MeIm et N_πH-MeIm pour la structure I du zinc avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3.

Les Tableaux (3.4 et 3.5) résument les fréquences de vibration calculées avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3 et la base 6-31+G (d, p) appartenant à différentes formes N_τ-Métal / N_π-Métal, présentes dans nos complexes métalliques.

	Ce travail : calculés[a]				Littérature : calculés[b]		observés	
	M062X/ 6-31+G(d,p)	[e] PED	B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	[e] PED	B3LYP/ 6-31G(d,p)	PED	FTIR[d]	Raman [c]
N_πCu								
	1626-1620	55%$\nu(C_4C_5)$	1567-1562	52%$\nu(C_4C_5)$	1597	58%$\nu(C_4C_5)$		1590
	1546-1533	22%$\nu(C_2N_\pi)$	1496-1481	25%$\nu(C_2N_\pi)$	1517	27%$\nu(C_2N_\pi)$		1502
	1369-1365	38%$\nu(C_2N_\pi)$ 20%$\nu(C_4N_\pi)$	1317-1312	26%$\nu(C_2N_\pi)$ 23%$\nu(C_4N_\pi)$	1323	38%$\nu(C_2N_\pi)$ 14%$\nu(C_4N_\pi)$		
N_τCu								
	1641	48%$\nu(C_4C_5)$	1585	36%$\nu(C_4C_5)$	1621 1599	52%$\nu(C_4C_5)$ 44%$\nu(C_4C_5)$	1602-1618	1594
	1545	21%$\nu(C_2N_\tau)$	1484	36%$\nu(C_2N_\tau)$	1512 1508	36%$\nu(C_2N_\tau)$ 36%$\nu(C_2N_\tau)$		1503
	1376	17%$\nu(C_2N_\tau)$ 16%$\nu(C_4N_\pi)$	1331	23%$\nu(C_2N_\tau)$ 22%$\nu(C_4N_\pi)$	1352	30%$\nu(C_2N_\tau)$ 10%$\nu(C_2N_\tau)$		
	-	-	-		1364	32%$\nu(C_2N_\tau)$		
	1289	30%$\delta(C_4C_5H, HC_5N_\tau)$ 33%$\nu(N_\tau C_5)$ 13%$\nu(C_2N_\pi)$	1252	43%$\delta(C_4C_5H, HC_5N_\tau)$ 17%$\nu(N_\tau C_5)$ 13%$\nu(C_2N_\pi)$				1274

TABLEAU 3.5 – Modes vibrationnels calculés en cm^{-1} des bandes N_τH-MeIm et N_πH-MeIm pour la structure I du cuivre avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3.

Six types de données sont indiquées dans ces tableaux :

Les spectres vibrationnels de la structure I optimisée aux niveaux B3LYP-D3/6- 31+G(d,p) et M062X/6-31+G(d,p) sont superposés sur la Figure 3.10 pour le cas du zinc et la Figure 3.11 pour le cas du cuivre.

Comme le montrent les Figures 3.10 et 3.11, nous avons trouvé une différence variant de 20 à 90 cm^{-1} entre la fréquence calculée avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3. Les meilleures fréquences sont trouvées avec B3LYP-D3, en se basant sur les comparaisons de nos résultats avec ceux de la littérature aussi bien théoriques qu'expérimentaux.

Le mode ν (NH) implique les vibrations d'étirement $\nu(N_\tau H)$ et / ou $\nu(N_\pi\text{-}H)$, pour

(a) Les fréquences calculées dans ce travail, ont été mises à l'échelle avec un facteur d'échelle uniforme de 0.979 pour la fonctionnelle M062X et 0.965 pour la fonctionnelle B3LYB-D3.

(b) Les fréquences calculées du modèle 8H (ox) du site actif, $Cu(His)_4$ H_2O $Zn(His)_3$ ASP), de l'enzyme Cu(II)-Zn-SOD [136].

(c) Les fréquences observées par Miura et al à partir du spectre Raman du cristallin pentahydrate (bis-(histidino)-zinc(II)) et d'une solution aqueuse d'un peptide 27-mer à

doigt de zinc en présence de $ZnCl_2$ [162, 163].

(d) Les fréquences du spectre FTIR de modèle 8H (ox) du site actif, ($Cu(His)_4$ H_2O $Zn(His)_3$ ASP), de l'enzyme Cu(II)-Zn-SOD [136].

(e) PED est la distribution de l'énergie potentielle en pourcentage.

(f) Les fréquences observées par Miura et al à partir des spectres Raman du cristallin déshydraté (-alanyl-L-histidino) cuivre (II) et les fréquences du spectre raman du cristallin Cu-PHGGG [163, 164].

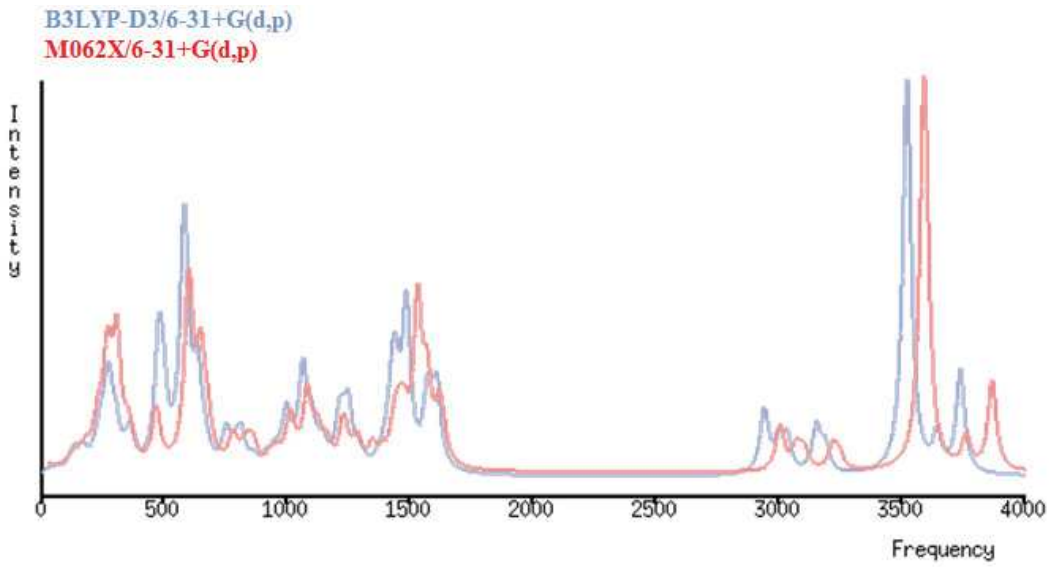


FIGURE 3.10 – Superposition des spectres IR de la structure I du zinc optimisée dans un solvant implicite (PCM) aux niveaux B3LYP-D3/6- 31+G(d,p) et M062X/6-31+G(d,p).

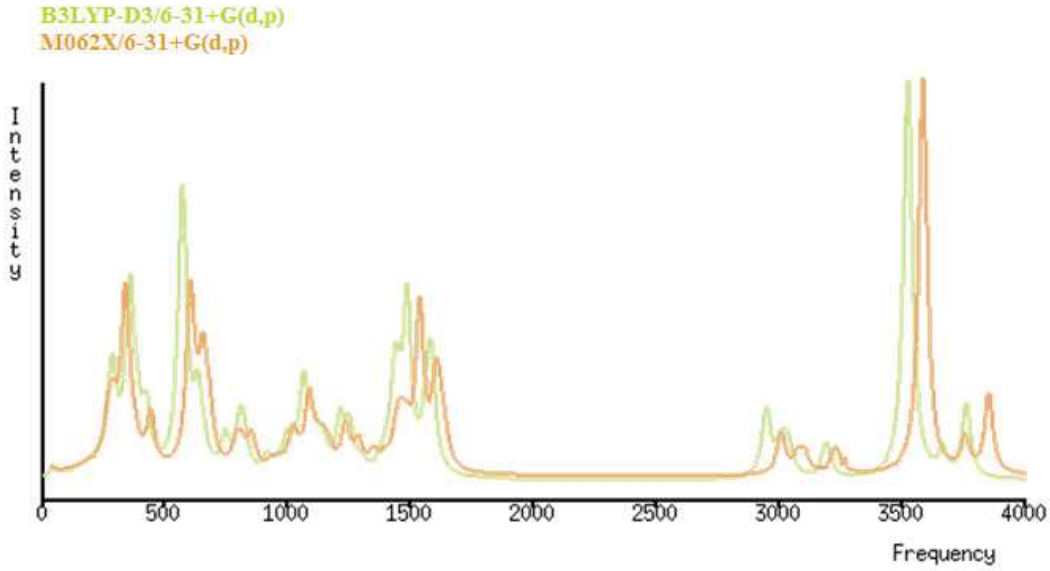


FIGURE 3.11 – Superposition des spectres IR de la structure I du cuivre optimisée dans un solvant implicite (PCM) aux niveaux B3LYP-D3/6- 31+G(d,p) et M062X/6-31+G(d,p).

les coordinations N_π-Métal et $N_\tau H$ -Métal, respectivement. En utilisant la fonctionnelle B3LYP-D3 et la base 6-31+G(d, p), les fréquences d'élongation N-H du complexe de zinc dans un solvant implicite (PCM) se trouvent dans la région (3520-3523 cm^{-1}) pour la coordination en N_π-Zn et 3515 cm^{-1} pour la coordination N_τ-Zn. De même, la vibration d'étirement N-H de complexes de cuivre pour les coordinations N_π-Cu et N_τCu sont (3522-3527 cm^{-1}) et (3512 cm^{-1}), respectivement. Ces résultats peuvent être comparés à ceux calculés par Hasegawa et al [165].

Le mode de vibration de pliage ($C2N_\tau H$, $C5N_\tau H$) contribue en tant que combinaison des modes d'étirement $\nu(C2N_\tau)$ et $\nu(N_\tau C5)$ pour la coordination N_π-Métal, tandis que le mode ($C2N_\pi H$, $C4N_\pi H$) contribue en tant que combinaison des modes ν(C4C5) et (CH3) asymétrique pour la coordination N_τ-Métal. La vibration de déformation $N_\tau H$ pour les complexes de zinc et de cuivre dans les deux solvants implicites (PCM et CPCM) se produit dans la région des fréquences (1444-1447 cm^{-1}). Cependant, les bandes de fréquences $N_\pi H$ sont dans une région inférieure. Pour le complexe de zinc, la vibration de déformation $N_\pi H$ calculée est égale à (1400 cm^{-1}) dans les deux modèles de solvatation, tandis que celle du cuivre se trouve à 1398 cm^{-1} en présence d'eau implicite (PCM et CPCM). Miura et al [163], ont attribué et enregistré les spectres de vibration Raman du Cu(II)-(-Ala-His) et Co(II)-4-méthylimidazole, la bande de fréquences $N_\pi H$ a été observée dans la région (1434-1425 cm^{-1}). Ce mode de vibration a été considéré comme un marqueur Raman $N_\pi H$ -MeIm [163, 164]. L'étude du complexe Zn(II)-4-MeIm-(H_2O)3 par Hasegawa et al [165], montre que le mode d'étirement $N_\pi H$ est égal à 1414 cm^{-1}, ce qui est en accord avec notre résultat concernant le complexe de zinc.

Le mode d'étirement C4=C5 de l'anneau d'histidine a été décrit comme une bande de marqueur de la spectroscopie Raman pour l'étude des interactions Métal-His dans les peptides et les protéines [136, 163, 164, 166]. En Utilisant la fonctionnelle B3LYP-D3/6-31+G (d, p), la vibration d'étirement C4=C5 de l'imidazole de l'hétérocycle de l'histidine est calculée dans la région (1569-1567 cm^{-1}) lorsque l'atome N_π de l'anneau imidazole agit comme un ligand du zinc et l'atome N_τ est protoné. En revanche, si le zinc est coordonné par N_τ et N_π étant protoné, ce nombre d'onde est plus élevé et égal à 1585 cm^{-1}. Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Miura et al [163, 164] (1580 cm^{-1} pour la coordination N_πZn et 1606 cm^{-1} pour la coordination N_τZn). L'étude de l'enzyme Cu(II),Zn-SOD enzyme par Xerri Bertrand et al [136] montre que la vibration C4=C5 calculée dans la région de 1603 à 1606 cm^{-1} pour la coordination N_πZn, peut être comparée avec nos résultats de fréquences calculés au niveau M062X/6-31+G(d,p) (1625-1619 cm^{-1} pour la coordination N_πZn). Dans la même étude, Xerri Bertrand et al, ont calculé la vibration C4=C5 qui se trouve dans la région (1599-1621 cm^{-1}) et correspond à la coordination N_τCu. Les bandes expérimentales observées dans le domaine FTIR à 1618 cm^{-1} et 1602 cm^{-1} correspondent à la fréquence d'étirement de C4=C5 de la coordination N_τCu, et la fréquence d'étirement C4=C5 calculée vaut 1597 cm^{-1} pour la coordination N_πCu. Ces résultats théoriques et expérimentaux peuvent être comparés avec avec les nôtres (1585 cm-1 pour la coordination N_τCu et entre 1567-1562 cm-1 pour la coordination N_πCu au niveau B3LYP-D3/6-31+G(d,p)), même s'il existe des décalages importants pour certains modes de vibration. Généralement, les décalages importants des fréquences plus élevées présentes dans nos calculs par rapport aux valeurs expérimentales sont trouvés au niveau M062X/6-31+G(d,p) et pourraient être dux au choix du facteur d'échelle. Cependant, le meilleur facteur d'échelle pour les complexes métalliques en présence du méthyle-imidazole peut être légèrement différent en raison de la taille du système et de la présence de l'ion métallique.

Les fréquences calculées des modes $\nu(C2N_\tau)$ et $\nu(C2N_\pi)$ pour la coordination N_τ-Métal et N_π-Métal, sont en bon accord avec la fréquence calculée par Xerri Bertrand et al [24]. Nous avons trouvé les mêmes tendances avec la contribution de mode $\nu(C2N_\pi)$ / $\nu(C4N_\pi)$ pour la coordination N_π-Métal et la contribution de modes $\nu(C2N_\tau)$ / $\nu(C4N_\pi)$ pour la coordination N_τ-Métal. La bande d'étirement C5-N_τ observée autour de 1100 cm^{-1} a été considérée comme un marqueur de l'état de protonation de l'histidine [167], et nos valeurs de fréquences sont en bon accord avec la littérature.

3.9 Conclusion

Dans ce chapitre, des complexes de Zn(II) et Cu(II) avec le 4-méthyl-imidazole ont été modélisés par les méthodes de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). Dans tous les niveaux de la théorie, nos calculs ont montré une préférence pour les quatre com-

plexes coordonnés contenant un N_τ lié au 4-méthyl-imidazole (Structure I) ce qui suggère que l'azote N_π joue un rôle important dans la stabilité des structures, bien que ce n'est pas le cas pour les nombres de coordination plus élevés. Dans la phase gazeuse, l'ion métallique est coordonné à quatre ligands dans une géométrie tétraédrique à tous les niveaux de calcul. En présence d'une molécule d'eau en tant que cinquième ligand, toutes les structures des quatre composés sont très différentes les unes des autres, mais certaines d'entre elles sont très symétriques telle que la pyramide à base carrée ou la bipyramide trigonale, pour Cu(II) et Zn(II) . Les formes géométriques trouvées dans ce chapitre sont en accord avec les structures expérimentales contenant Cu(II) et Zn(II) . De plus, le fait que les complexes de zinc présentent des structures différentes de celles du cuivre doit être pris en considération lors de l'utilisation de ces métaux en tant que sondes spectroscopiques pour l'étude des enzymes de zinc. Les données structurales obtenues dans l'eau en utilisant les deux modèles de solvatation implicite (PCM et C-PCM), montrent une bonne corrélation avec les études expérimentales en solution aqueuse. Nous ne rapportons pas de différences entre les résultats des deux modèles de solvatation. Cependant, le solvant joue un rôle important pour le complexe de cuivre en inversant la stabilité relative en faveur de la liaison Cu-N_π pour une combinaison spécifique d'ensemble de fonctionnelle/bases et induit des changements significatifs dans les résultats calculés pour les complexes de coordination du cuivre. Comme on le voit à partir de l'analyse topologique, l'interaction non covalente entre les anneaux neutres 4-méthylimidazole avec Cu(II) , suggère que la liaison Cu(II)-N a un fort caractère ionique. Les fréquences harmoniques calculées de nos complexes modèles des sites actifs sont en accord avec la littérature en utilisant la fonctionnelle B3LYP-D3, alors qu'elles sont un peu élevées en utilisant la fonctionnelle M062X. Nous pouvons conclure que les méthodes qui tiennent compte de l'interaction à longue portée se sont avérées très efficaces pour la modélisation des complexes modèles des sites actifs. Nous allons donc les utiliser dans le chapitre suivant.

Les travaux de recherche présentés et décrits dans ce chapitre sont publiés dans une revue internationale impactée :
Coordination complexes of 4-Methylimidazole with Zn(II) and Cu(II) in gas phase and in water : A DFT Study : Malek Boukallaba, Boutheïna Kerkeni, Christine Lepetit and Dorothée Berthomieu. Journal of Molecular Modeling. DOI : 10.1007/s00894-016-3167-x

CHAPITRE 4

Modélisations de sites actifs à Zinc

Sommaire

4.1 Introduction 87

4.2 Modélisation du site actif de la chaîne B de l'enzyme native L1 . . . 89

4.2.1 1. Préparation du fichier de données de calcul pour l'enzyme native L1 89

4.2.2 Optimisation de la chaîne L1(B) native 91

4.2.3 Résultats 93

4.3 Modélisation du complexe enzyme L1-inhibiteur II 100

4.3.1 Inhibiteur enzymatique 100

4.3.2 Optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteurs II . . 103

4.3.3 Résultats 105

4.4 Modélisation du complexe enzyme L1-inhibiteur I 108

4.4.1 Optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteur I . . . 108

4.4.2 Résultats 109

4.5 Conclusion 111

4.1 Introduction

Comme nous l'avons mentionné en introduction, nous nous concentrons sur l'étude des structures de métallo-β-lactamases en vue de voir comment des calculs QM/MM permettent de prédire les géométries et les affinités d'inhibiteurs pour des métallo-β-lactamases. L'objectif est de déterminer quelle est la méthode de calcul la mieux adaptée en vue de pouvoir l'utiliser pour d'autres métallo-β-lactamases de structures indéterminées complexées à des séries d'inhibiteurs.

La métallo-β-lactamase L1 a été reproduite, surexprimée et partiellement caractérisée par des études cinétiques et cristallographiques. Dix-sept structures cristallographiques de L1 sous plusieurs formes sont maintenant disponibles dans la base de données de protéines «Protein Data Bank» [19, 20, 168, 169, 170]. Cette enzyme existe sous la forme d'un homotétramère de ∼118 kDa en solution et à l'état cristallin, elle contient deux chaînes A et B, chacune incluant deux Zn(II) liés entre eux par une molécule d'eau et un anion hydroxyde. L'un des deux cations Zn(II) noté Zn_1, est lié à trois résidus histidine (His116, His118 et His196), tandis que l'autre, noté Zn_2, est lié à deux histidines (His121

et His263) et un anion aspartate (Asp120). Le site actif de la chaîne B de L1 est représenté sur la Figure 4.1, l'azote est donné en bleu, le carbone en gris, l'oxygène en rouge et le zinc en violet.

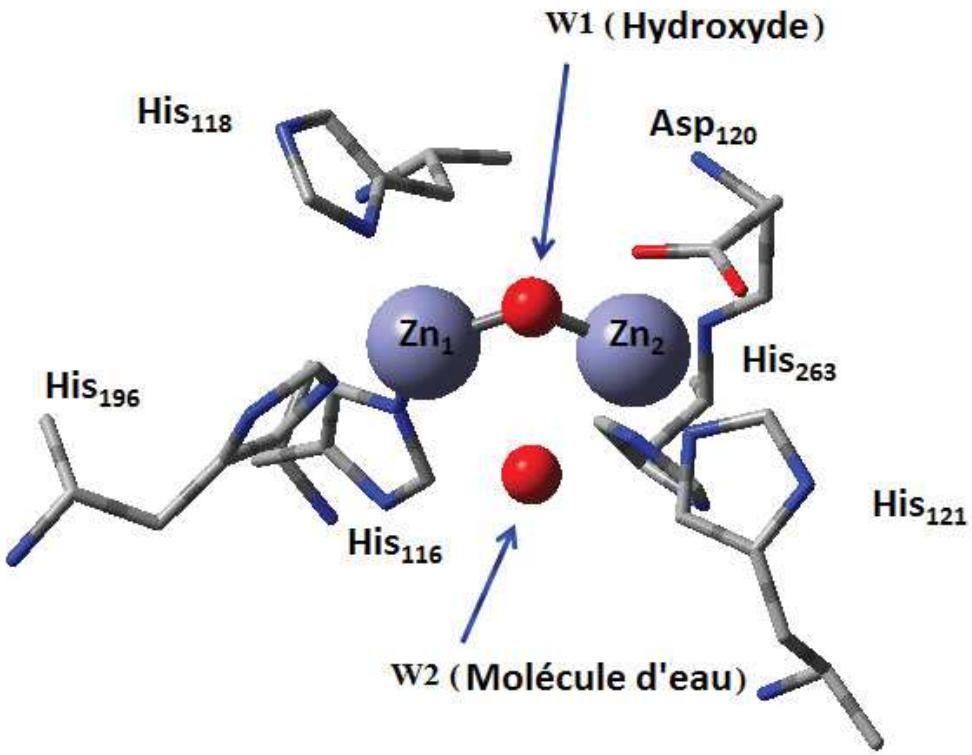


FIGURE 4.1 – Représentation graphique de la structure expérimentale du site actif de l'enzyme L1 (native), où W1 est un hydroxyde (OH^-) et W2 est une molécule d'eau (H_2O). Les deux cations de zinc, W1, et W2 sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube», azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge.

Dans ce chapitre, nous avons déterminé les structures de sites actifs de la famille B3 de métallo- β-lactamases dans leur forme native (code PDB 2FM6 [169]) et certains de ces sites en présence d'inhibiteurs pour comparer les affinités de différentes familles synthétisées dans le groupe de Jean-François Hernandez de l'IBMM à Montpellier. Les études des calculs quantiques ont été largement utilisées pour étudier la structure des ions Zn (II), l'état de protonation du site actif, et les liaisons avec les différents inhibiteurs utilisés.

L'approche QM/MM est essentielle car elle offre l'avantage de pouvoir décrire des systèmes contenant un très grand nombre d'atomes et ainsi prendre en compte l'environ-

nement proche du site actif constitué de métaux ou ions métalliques. À l'aide de cette approche, on peut atteindre une description fiable des interactions chimiques et électrostatiques au niveau du site actif décrites à l'aide d'une méthode QM, tel le transfert de charge et de polarisation[171], et qui est capable de prédire le nombre de coordination ainsi que des changements de nombre de coordination pouvant avoir lieu au cours d'une réaction. Cependant, cette approche requiert des temps de calcul longs pour une protéine telle que la L1 et nécessite de grandes ressources de calcul.

4.2 Modélisation du site actif de la chaîne B de l'enzyme native L1

4.2.1 1. Préparation du fichier de données de calcul pour l'enzyme native L1

Deux structures de l'enzyme L1 obtenues par diffraction des rayons X sont disponibles sous sa forme native : code PDB 1SML [19] et Code PDB 2FM6 [169]. L'enzyme native 2FM6 a été choisie comme système modèle dans cette étude vu qu'elle représente la structure de L1 native la plus récente .
Le téléchargement de cette dernière a été exécuté à partir de la base de données RCSB Protein Data Bank (http ://www.rcsb.org/pdb/home/home.do). Sachant que la principale différence entre la structure native L1 la plus récente (2FM6) et la structure précédente (1SML) est le doublement de l'axe C, le groupe d'espace [1] passe de P6422 à P6522 [169] ainsi que la résolution en Å. La structure 3D de L1 native "1SML" obtenue par diffraction des rayons X avec une résolution de (1.7 Å) et un pH de 7.75, alors que celle "2FM6" avec une résolution de (1.75 Å), un pH de 7.5 et elle cristallise sous la forme d'un monomère constitué de 4590 atomes.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la modélisation de la chaîne B de l'enzyme L1 contenant le site actif Di-Zn. Tout d'abord, nous avons supprimé la chaîne A de L1 à l'aide du logiciel MolProbity (site : http ://molprobity.biochem.duke.edu/). Ensuite, nous avons simplifié le modèle de l'enzyme par élimination des molécules d'eau à l'exception d'une seule molécule d'eau et un ion hydroxyde (OH^-) qui sont directement liés au site actif de l'enzyme. De plus, plusieurs substrats situés à l'extrémité des chaînes utilisées lors de la co-cristallisation ont été enlevés (6 SO_4^- et 2 Glycérol). Comme la plupart des structures cristallines sont encore sans atomes d'hydrogènes, alors nous les avons ajoutés à la structure en utilisant MolProbity qui est très efficace pour ajouter et optimiser les positions des hydrogènes [172]. Néanmoins, nous avons rencontré quelques problèmes de protonation aux extrémités de la chaîne latérale de Glu24, l'His94, et de

1. Le groupe d'espace d'un cristal est constitué par l'ensemble des symétries d'une structure cristalline, c'est-à-dire l'ensemble des isométries affines laissant la structure invariante.

Gly317.

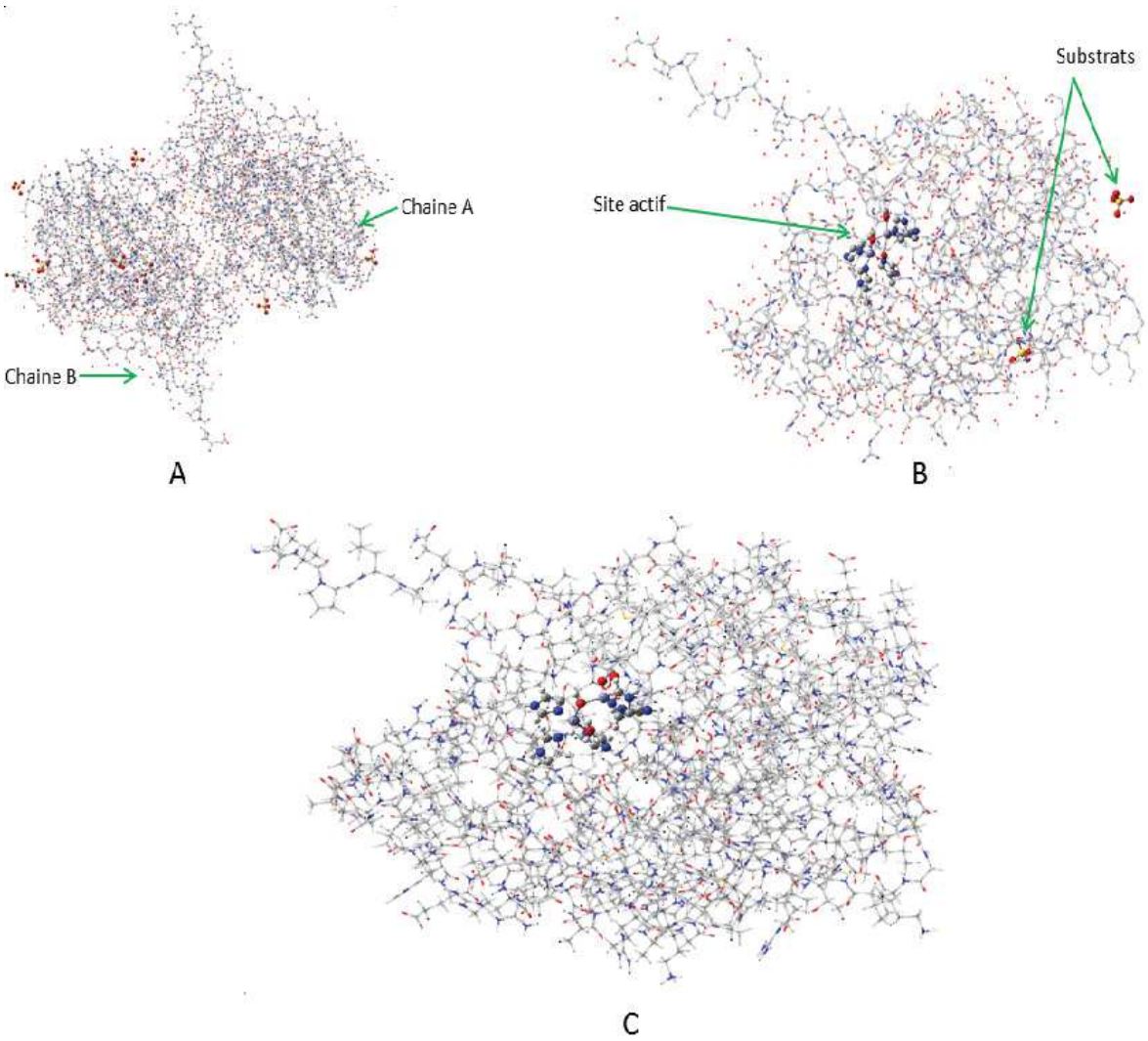


FIGURE 4.2 – Représentations graphiques de la structure expérimentale de l'enzyme L1 (A), de la chaîne B de L1 (B) et du modèle simplifié de la chaîne B de L1 (C). Le site actif est représenté en «Ball & Strict», les autre atomes étant en «wireframe» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet.

Pour cela, tous les acides aminés (AA) ont été soigneusement vérifiés en fonction de la valeur de pH. A pH 7, les AA chargés positivement sont en général les Lys, Arg et l'His, tandis que les AA, Asp et Glu ont une charge de -1 et tous les autres AA sont neutres (Non chargés à pH neutre : Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Tyr, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp et Pro). Notre modèle de l'enzyme Native L1 simplifiée et protonée ainsi que les résidus du site actif sont représentés dans la Figure 4.2. Dans le modèle simplifié, le nombre d'atomes est 3969 avec une multiplicité de 2 et une charge totale de +2. L'optimisation de l'enzyme L1 simplifiée a été exécutée à l'aide du logiciel Gaussian 09 en deux étapes qui

seront détaillées dans la suite.

4.2.2 Optimisation de la chaîne L1(B) native

Nous avons défini des systèmes de taille relativement modeste (moins de 100 atomes) pour la partie QM. Cette dernière a été calculée à l'aide de méthodes fondées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (Fonctionnelles M062X et B3LYP-D3), tandis que la partie MM a été calculée à l'aide du champ de force UFF et dans un autre cas à l'aide du champ de force Amber.

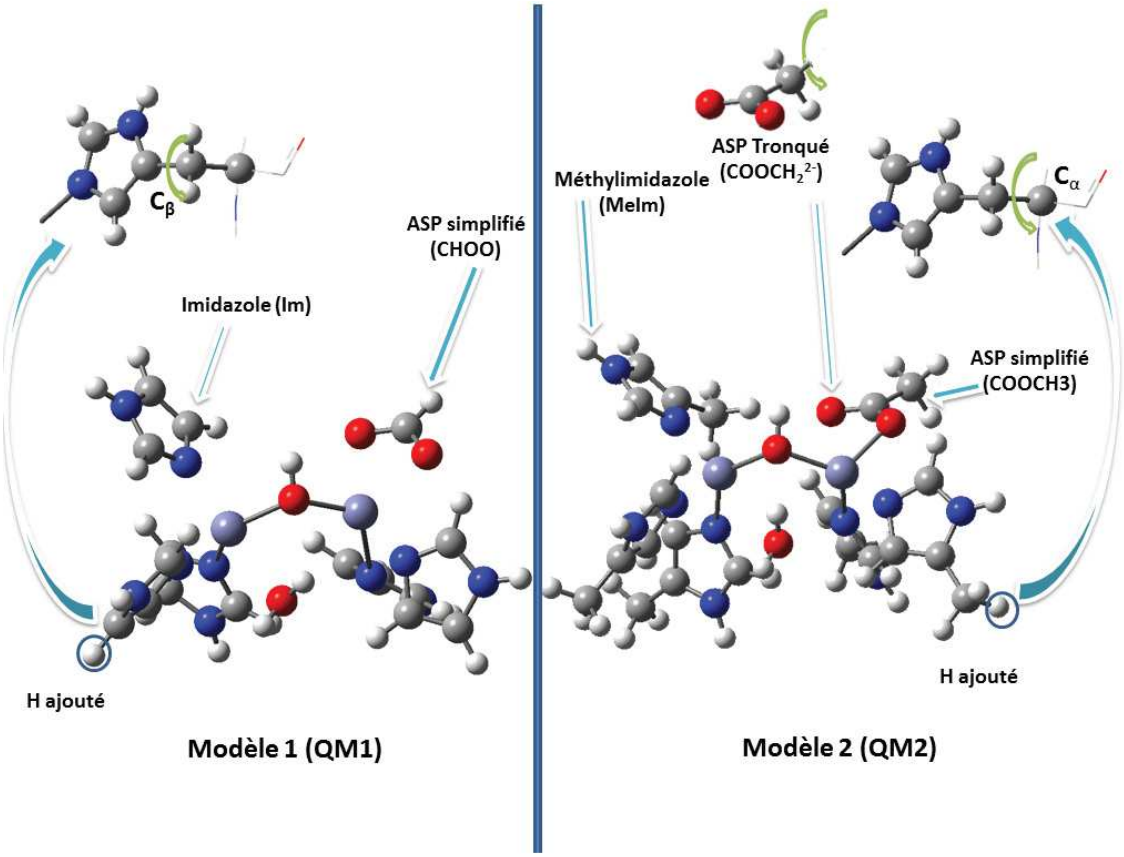


FIGURE 4.3 – Représentation graphique de la structure limitée au site actif de l'enzyme native L1. Les atomes sont en représentation «Ball & Strict», azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet.

L'utilisation de ces outils pour ce type de molécules est très fréquente depuis de nombreuses années et est réalisable sans difficulté majeure. L'utilisation des mêmes outils (QM) pour des molécules de très grande taille, comme prévu dans ce chapitre (les enzymes), pose différents problèmes techniques qu'il est nécessaire d'aborder avant toute

étude d'intérêt chimique et/ou physique. Le problème concerne la faisabilité de ces calculs, que ce soit d'un point de vue du temps de calcul nécessaire ou de la mémoire des ordinateurs disponible. Pour résoudre ce problème et comme mentionné précédemment, nous avons utilisé l'approche QM/MM dans un premier temps et malgré l'étendue de cette approche, un autre problème porte sur la façon de procéder pour déterminer ces calculs, il est impossible d'achever ces calculs directement.

Pour l'enzyme L1 native nous avons considéré les ions Zn et leur première sphère de coordination pour définir la partie QM ce qui a conduit à un modèle QM1 de 50 atomes et un modèle QM2 de 56 atomes de la chaîne B issue de la structure cristallographique (Code PDB : 2FM6) contenant 289 résidus. En partant de la structure cristallographique 2FM6, et pour obtenir le premier modèle QM1, chaque chaîne latérale d'histidine a été tronquée à la position (C_β) afin d'inclure des cycles Im^- et une grande partie de l'acide aspartique pour obtenir le groupement COO^{2-} comme le montre la figure (4.3). Le deuxième modèle QM2 a été cconstruit à partir de la même structure cristallographique, la chaîne latérale de l'histidine de ce dernier a été tronquée à la position (C_α) ce qui résulte en des cycles $MeIm^-$, et l'acide aspartique a été modélisé par le groupement $COOCH_2^{2-}$ (Figure 4.3).

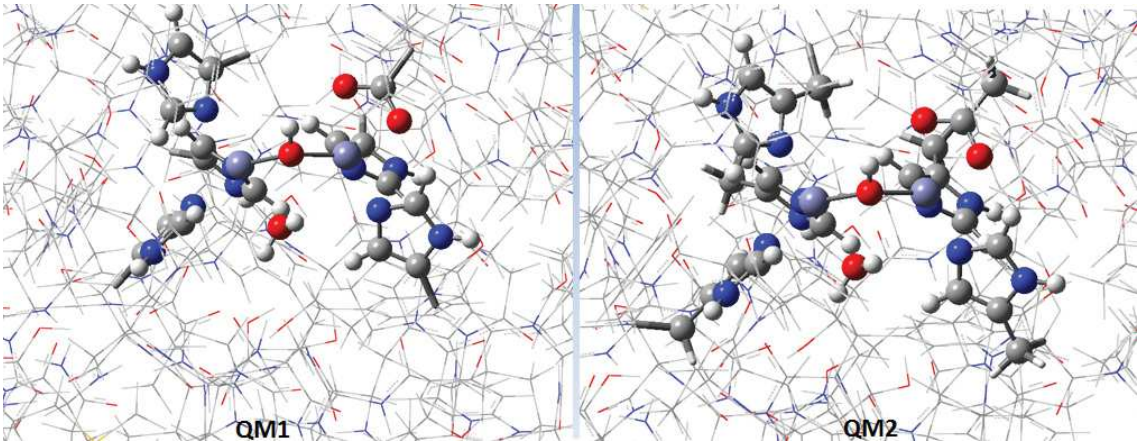


FIGURE 4.4 – Représentation graphique des modèles QM1 et QM2 optimisés au niveau M062X/6-31+g(d,p) et placés dans la structure cristallographique native. Les frontières QM/MM sont représentées par des Tubes, la partie QM est représenté en «Ball & Strict» et la partie MM est représenté en «wireframe» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet.

Afin de reproduire exactement la première sphère de coordination du site actif de L1, pour le modèle QM1, les His et l'Asp du site actif de la chaîne B de L1 sont modélisés par des imidazoles (Im) et un groupement $CHOOH_3$, respectivement. Alors que dans le modèle QM2, les His et l'Asp de L1 sont modélisés par des MeIm et un groupement $COOCH_3^-$, respectivement. En effet, le logiciel GaussView nous a permis d'ajouter des

atomes d'hydrogènes avec les coordonnées «XYZ» pour saturer les liaisons libres obtenues après la coupe du site actif pour les deux modèles. À l'aide de la visualisation en 3D de ce logiciel, chaque atome d'hydrogène ajouté a été placé dans la direction de la liaison coupée dans la structure cristallographique. Pour maintenir les contraintes géométriques de la chaîne B de L1 par rapport aux modèles QM1 et QM2, nous avons gelé les atomes hydrogènes ajoutés au modèle QM1 et chaque carbone de méthyle du modèle QM2 (c'est-à-dire les coordonnées des atomes gelés ont été fixées le long de l'optimisation des géométries).

Une fois l'optimisation des modèles QM1 et QM2 est terminée, les structures optimisées ont été placées dans la structure cristallographique initiale 2FM6 comme le montre la Figure 4.4 en supprimant tous les hydrogènes ajoutés au début (Figure 4.3).

4.2.3 Résultats

L'ensemble des résultats obtenus pour les différents niveaux de calculs est présenté le Tableau 4.1. Les différents modèles QM1 et QM2 sont analysés et les différents paramètres géométriques ont été comparés avec les données expérimentales de la structure de L1 native [169]. Les valeurs calculées (modèles QM1et QM2), des énergies, des distances Métal-ligands, des interactions à longue portée, des angles impliqués dans la coordination du site actif de L1 sont données dans le Tableau 4.1.

Les données énergétiques montrent que la stabilité de ces structures joue en faveur de la fonctionnelle B3LYP-D3 dans les modèles utilisés (QM1 et QM2) vue que la différence d'énergie ΔE=E(B3LYP-D3)-E(M062X) est négative pour les deux modèles QM1 et QM2.

À première vue, les structures calculées avec deux nombres différents d'atomes traités en QM sont relativement proches à l'exception de la distance intramoléculaire O(Asp120)-W1 qui représente l'écart le plus important que ce soit avec M062X (0.13 Å) ou B3LYP-D3 (0.19 Å). Cet écart est fortement lié au nombre d'atomes pris en compte dans la partie QM. En examinant plus finement les résultats, certaines tendances peuvent être notées : (i) les distances Métal-ligands sont identiques en utilisant la fonctionnelle M062X alors qu'on trouve un très faible écart de 0,01 Å avec la méthode B3LYP-D3 à l'exception de O(Asp120)-W1 motionnée précédemment, (ii) une diminution de la distance Zn_1-Zn_2 lorsque l'on augmente le nombre d'atomes inclus dans la partie QM avec la fonctionnelle M062X alors que cette distance ne varie pas avec la fonctionnelle B3LYP-D3. (iii) la distance W1-W2 reste la même pour les modèles QM1 et QM2 quelle que soit la méthode utilisée. (iv) Les longueurs de liaison Métal-ligand sont assez peu sensibles à la fonctionnelle M062X qu'a B3LYP-D3.

Ces résultats confirment qu'on a une légère déviation des résidus traités avec le champ de force UFF.

Méthodes	M062X :UFF 6-31+G(d,p)		B3LYP-D3 :UFF 6-31+G(d,p)		M062X :Amber 6-31+G(d,p)	R-X ([169])
	QM1	QM2	QM1	QM2	QM1	
Zn_1-N_{His196}	2.06(−0.03)	2.06(−0.03)	2.11(+0.02)	2.12(+0.03)	2.08(−0.01)	2.09
Zn_1-N_{His116}	2.12(+0.08)	2.12(+0.08)	2.01(−0.03)	2.01(−0.03)	2.06(+0.02)	2.04
Zn_1-N_{His118}	2.13(+0.03	2.12(+0.02)	2.04(+0.06)	2.03(+0.07)	2.18(+0.08)	2.10
Zn_1-W_1	1.96(+0.05)	1.96(+0.05)	1.95(+0.04)	1.96(+0.05)	1.93(+0.02)	1.91
Zn_1-W_2	2.40(−0.6)	2.40(−0.6)	3.24(+0.14)	3.22(+0.12)	2.56(−0.04)	3.10
Zn_1-Zn_2	3.47(−0.04)	3.44(−0.07)	3.50(−0.01)	3.50(−0.01)	3.40(−0.11)	3.51
W_1-W_2	2.65(+0.22)	2.65(+0.22)	2.70(+0.27)	2.70(+0.27)	2.62(+0.19)	2.43
Zn_2-W_1	1.99(+0.09)	1.98(+0.08)	2.00(+0.1)	2.00(+0.1)	2.00(+0.1)	1.90
Zn_2-W_2	3.18(+0.62)	3.16(+0.64)	3.24(+0.72)	3.28(+0.76)	2.45(−0.07)	2.52
Zn_2-N_{His121}	2.13(+0.53)	2.13(+0.53)	2.03(−0.03)	2.03(−0.03)	2.04(−0.02)	2.06
Zn_2-N_{His263}	2.08(+0.02)	2.08(+0.02)	2.03(−0.02)	2.04(−0.01)	2.05(0.0)	2.05
Zn_2-O_{Asp120}	2.06(+0.03)	2.04(+0.01)	1.95(−0.08)	1.94(−0.09)	2.00(−0.03)	2.03
O_{W1}-O_{Asp120}	3.06(−0.01)	3.13(+0.06)	3.23(+0.16)	3.31(+0.03)	3.10(+0.03)	3.07
Zn_2-O_{W1}-Zn_2	123	122	124	124	119	127
O_{Asp120}-H_{W1}	2.81	2.94	3.13	3.32	2.32	−−−
O_{W1}-Zn_1-N_{His196}	124	122	104	105	125	116
O_{W1}-Zn_1-N_{His116}	124	126	122	120	124	118
O_{W1}-Zn_1-N_{His118}	102	102	119	119	104	117
O_{W1}-Zn_2-N_{His263}	111	109	118	117	135	139
O_{W1}-Zn_2-N_{His121}	121	122	118	117	107	114
O_{W1}-Zn_2-N_{Asp120}	132	127	120	118	100	100
O_{W1}-Zn_2-O_{W2}	56	56	56	56	71	71
Énergie	-5027.51 507395	-5263.35 441556	-5028.32 370882	-5264.32 008432	-5044.51 180906	

TABLEAU. 4.1 – Données structurales de la structure L1 optimisée par différentes méthodes selon les modèles QM1/MM et QM2/MM. Les distances sont données en (Å), les angles en (°) et les énergies en (u. a). Les parenthèses correspondent à l'écart moyen entre les valeurs calculées et les valeurs expérimentales (code PDB : 2FM6).

Nous avons superposé sur la figure ci-dessous (Figure 4.5) les géométries optimisées des structures au niveau du site actif avec les deux modèles QM1 et QM2, pour les deux méthodes utilisées. La visualisation met en évidence que le modèle plus grand QM2 conduit au même résultat avec la fonctionnelle M062X mais pas avec la fonctionnelle B3LYP-D3 qui a conduit à une très claire modification de la structure calculée (Figure 4.5).

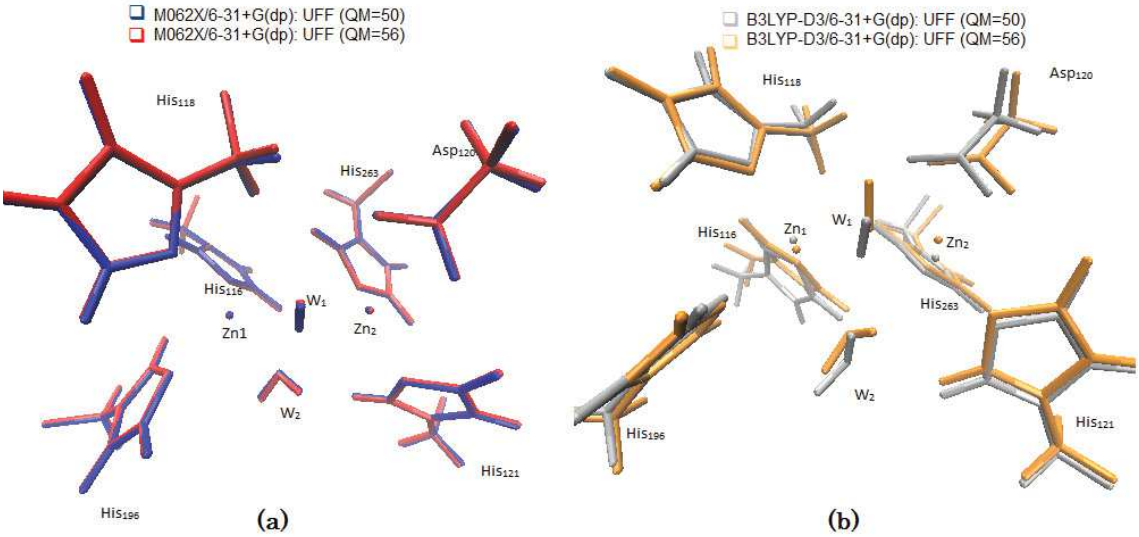


FIGURE 4.5 – Superposition des géométries optimisées de QM1 et QM2, (a) au niveau B3LYP-D3/6-31+G(d,p) :UFF, (b) M062X/6-31+G(d,p) :UFF. W1 est un hydroxyde (OH^-) et W1 est une molécule d'eau.

Quel que soit le modèle utilisé, la plus grande différence entre ces deux méthodes estl'orientation de la molécule d'eau (W2). Dans les structures optimisées au niveau B3LYP-D3/6-31+G(d,p) :UFF, un atome d'hydrogène de (W2) est orienté vers un oxygène de l'hydroxyde W1 avec une distance intramoléculaire H(W2)-O(W1) égale à 1.88 Å et 1.86 Å pour QM1 et QM2 respectivement, tandis que dans le cas de M062X les deux atomes d'hydrogène sont orientés dans le sens opposé de l'oxygène de W1 avec une distance supérieure à 3 Å de telle sorte que la molécule W2 n'agit pas comme un ligand sur le site Zn_2. La cristallographie aux rayons X détermine les positions de tous les atomes autres que l'hydrogène. De ce fait, cette information pourrait être utile pour mieux comprendre plusieurs phénomènes autour du site actif et affirme que les molécules d'eau jouent un rôle très important pour maintenir le site actif de l'enzyme native L1. En plus du pont d'hydrogène Zn_1-W1-Zn_2 susceptible d'effectuer une attaque nucléophile sur le cycle lactame instable vis-à-vis des attaques nucléophiles [173], la prédiction d'un autre pont reliant W1 et W2 à travers une liaison hydrogène H(W2)-O(W1) est possible.

Mis à part le champ de force UFF, nous avons employé le champ de force Amber pour optimiser la structure de L1 au niveau M062X/6-31+G(d,p) :Amber avec QM1. Puisque plusieurs paramètres de ce champ de force ne sont pas disponibles dans Gaussian 09 et pour réaliser un tel calcul, nous avons rassemblé plusieurs paramètres en se basant sur la littérature [174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181]. Tous les paramètres manquants dans le champ de force Amber pour l'optimisation l'enzyme native L1 sont donnés dans le ta-

bleau 4.2. En plus des paramètres des liaisons, angles, et vdw, ce type de calcul nécessite une représentation de charge partielle pour chaque atome de L1. Ces dernières ont été ajoutées automatiquement à l'aide du logiciel GaussView.

Paramètres des liaisons		
Liaison	K_r(kcal/ Å ^{2})	R_{eq} (Å)
NB-ZN	85.500	2.101
Zn-OW	48.700	2.309
ZN-CC	350.1000	1.0830
H2-ZN	357.5	1.078
O2-ZN	45.100	2.359
Paramètres des angles		
Angle	K_θ(kcal/Rad^2)	θeq (°)
NB-ZN-NB	16.100	97.900
CV-NB-ZN	44.500	123.600
CR-NB-ZN	44.500	123.600
NB-ZN-O2	20.0	115.0
NB-ZN-OW	16.100	97.900
CC-NB-ZN	44.500	123.600
C-O2-ZN	19.900	131.200
ZN-OW-HW	100.0	126.0
ZN-OW-ZN	17.540	119.000
O2-ZN-OW	8.910	173.900
Paramètres de van der waals		
	R^*	ε
ZN	1.10	0.0125

TABLEAU. 4.2 – Paramètres du champ de force Amber pour l'atome de zinc et le groupe de ligands associés.

Nous avons également comparé les paramètres géométriques optimisés avec les données expérimentales (tableau 4.1). La plupart de ces paramètres calculés montrent des accords précieux avec les données des études expérimentales de rayons X ([19, 169]). En utilisant M062X/UFF, le premier ion métallique dans la position Zn_1 est penta-coordonné avec une géométrie d'une bipyramide à base triangulaire, tandis que le site de Zn_2 est tétra-coordonné et adopte une forme géométrique d'une pyramide à base triangulaire. Les cinq ligands de Zn_1 se composent de trois résidus histidine (His116, His118 et His196), une molécule d'eau (W2) et l'hydroxyde OH^-. D'autre part, les quatre ligands de Zn_2 comprennent l'hydroxyde OH^-, His121, His263 et l'Asp120. L'utilisation de la fonctionnelle B3LYP et le champ de force UFF dans les deux modèles QM1 et QM2 conduisent à une géométrie d'un tétraèdre légèrement déformé pour les sites Zn_1 et Zn_2 et la molécule

d'eau (W2) n'agit pas comme un ligand. Le site Zn_1 est coordonné par les trois résidus histidine (His116, His118 et His196) et l'ion OH^-, alors que les quatre ligands du site Zn_2 incluent l'hydroxyde OH^-, His121, His263 et l'Asp120.

Enfin, l'optimisation de L1 avec M062X/Amber conduit à une forme géométrique tétraédrique pour le site Zn_1 et le site Zn_2 est penta-cordonné avec géométrie en forme bipyramide à base triangulaire. Les cinq ligands du Zn_1 sont l'His116, His118, His196 et l'ion OH^- et les cinq ligands de Zn_2 sont OH^-, His121, His263, Asp120 et la molécule d'eau W2. Les formes géométriques du site actif di-Zn optimisées avec la fonctionnelle M062X et le champ de force Amber sont en bon accord avec la structure aux rayons X de l'enzyme L1 native (2FM6) qui montre que le premier cofacteur métallique (Zn_1) est coordonné par trois ligands histidine (His116, His118 et His196) et un OH^- adopte une forme géométrique tétraédrique, tandis que le second (Zn_2) est penta-coordonné par l'Asp120, His121, His263 et la molécule d'eau (W2) avec une forme géométrique d'une bipyramide à base triangulaire. Comme mentionné ci-dessus, les distances expérimentales entre les ligands de protéines et les ions métalliques sont pour la plupart bien reproduites pour tous les niveaux de calcul comme indiqué dans le tableau 4.1. La seule exception est W2, dont la distance Zn_2-W2 calculée est comprise dans l'intervalle 3.17 ($\pm$0.01) Å et 3.26 ($\pm$0.02) pour M062X/UFF et B3LYP-D3/UFF, respectivement. Cependant, cette distance est nettement supérieure à la valeur expérimentale de 2.51 Å et 2.40 pour L1 native 2FM6 et 1SML, respectivement. Cet allongement de distance est à l'origine de la permutation de coordination tétra et penta entre les positions Zn_1 et Zn_2 en utilisant M062X/UFF comme le montre la figure suivante (Figure 4.6).

En effet, le déplacement inattendu de la molécule d'eau W2 de Zn_2 vers Zn_1 inverse les coordinations observées dans la structure aux rayons X de l'enzyme L1 native de telle façon qu'on trouve le site Zn_1 penta-coordonné au lieu d'être tétra-coordonné et vice versa dans le cas du site Zn_2. Cette distance (Ow2-Zn_2) influe directement sur la coordination du site métallique di-Zn. Dans le cas B3LYP-D3/UFF, la molécule d'eau W2 s'est éloignée du site Zn_2 et contrairement au niveau M062X/UFF, aucune liaison avec l'ion métallique Zn_1 mais elle a formé une forte liaison hydrogène avec l'oxygène de l'hydroxyde W1. L'origine de cette divergence peut être expliquée par l'orientation de la chaîne latérale de la serine 221 (Ser221). Une vue de la partie nucléophile inférieure du site actif a été reportée dans la Figure 4.6. En ajoutant les hydrogènes avec Molprobity pour la structure de rayons X de L1 native, l'interaction de la chaîne latérale de la Ser221 avec la molécule d'eau résulte en une forte liaison hydrogène entre l'oxygène de W2 et l'hydrogène du groupe hydroxyle sur le carbone β de la serine($H_{Ser221)}$ avec une distance de 1.89 Å .

En plus de cette interaction (Ow_2—H_{Ser221}) et suivant l'orientation de W2, peut-être existe-t-il une autre avec l'oxygène du groupe hydroxyle de la Ser221 et un atome d'hydrogène de W2. Cette hypothèse est le résultat du léger changement de la conformation de la chaîne latérale de la serine 221 et l'orientation de W2 au cours de l'optimisation de

L1 simplifiée avec M062X/Amber comme indiqué dans la Figure 4.6 (b), un allongement de la distance Ow2—H_{Ser221} (3.06 Å) et un raccourcissement de la distance Oser—Hw2 (1.8 Å) pour former une forte liaison hydrogène.

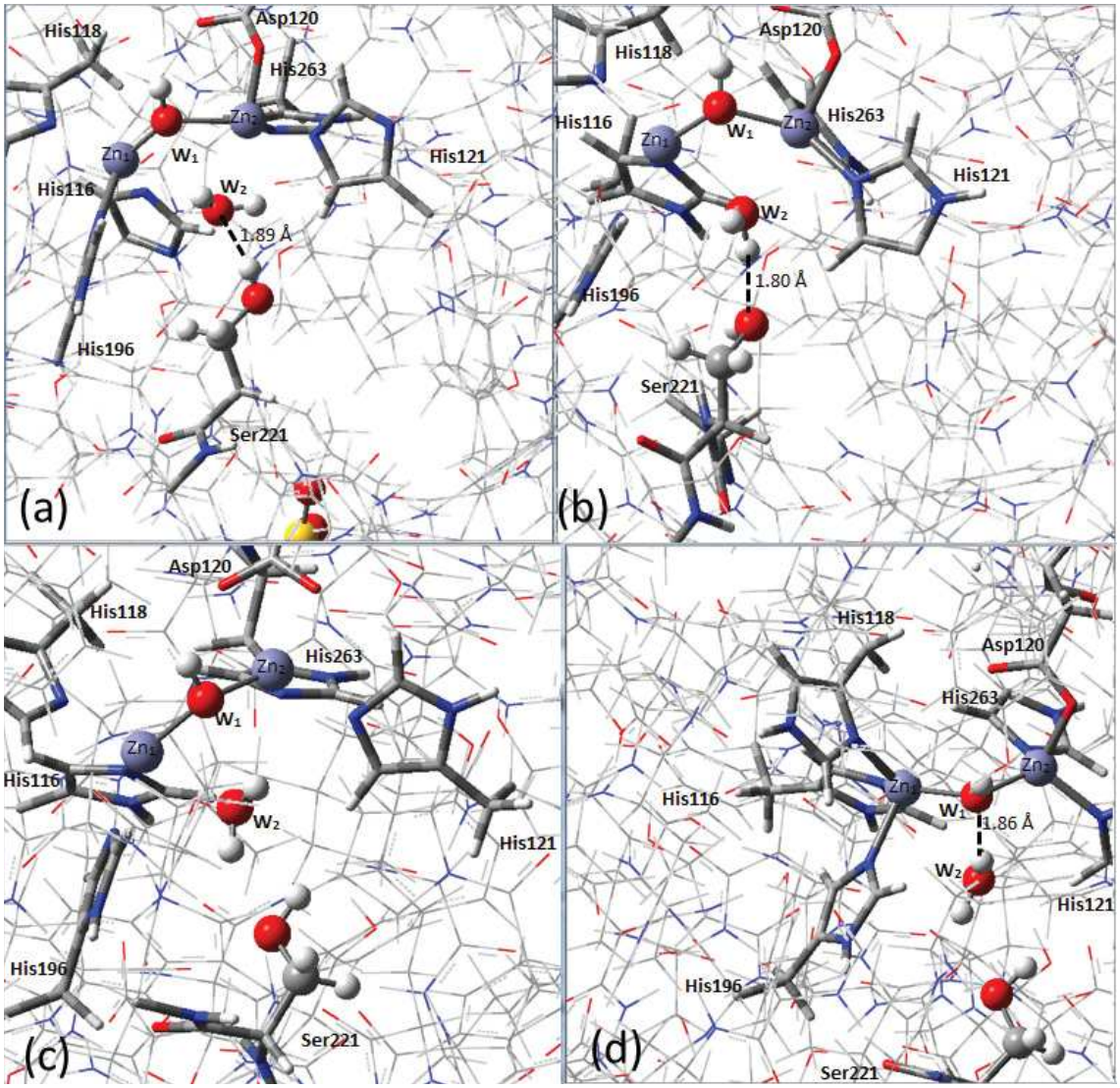


FIGURE 4.6 – Représentation graphique d'une coupe de la partie inférieure du site actif de L1. (a) Structure de L1 simplifiée optimisée au niveau M062X/6-31+G(d,p) :UFF, (b) Structure de L1 simplifiée optimisée au niveau M062X/6-31+G(d,p) : Amber, (c) Structure native L1 simplifiée, (d) Structure de L1 simplifiée optimisée au niveau B3LYPD3/ 6-31+G(d,p) :UFF. En raison de lisibilité, les atomes de zinc, W1 et W2 sont en représentation $< Ball \ \& \ Stick >$, tandis que les ligands histidines et une partie de la chaîne latérale de Ser221 sont en représentation $< tiges >$, et le reste avec des lignes. Les interactions de type liaison H sont représentées avec des traits pointillés.

Au niveau B3LYP-D3/UFF, la chaîne latérale de la Ser221 est sans interaction de type liaison H, nous avons trouvé la même distance Ow2—HSer221 (3.61 Å) qu'avec M062X/Amber et la distance Oser—Hw2 est de 3.23 Å, ce qui résulte en un changement de la coordination du site actif. Il faut noter que cet allongement de la liaison hydrogène (Ow2—HSer221) par rapport à la valeur expérimentale est sensiblement moins important ici que pour le niveau M062X/UFF (Ow2—HSer221 est de 4.34 Å), ce que indique là encore l'influence de la chaîne peptide sur la coordination du site métallique : la rigidité qu'elle impose au site actif ne permet pas au ligand de s'éloigner du métal aussi facilement qu'en présence de la seule première sphère de coordination.

Pour résumer, la molécule d'eau W2 se trouve dans la région inférieure du site métallique (nucléophile), donc il est évident qu'il n'y a pas une orientation favorable pour W2 et que cette molécule peut adopter l'une quelconque de nombreuses conformations capables chacune de faire des interactions productives influent sur la coordination de site actif. En revanche, la serine (Ser221) a une forte influence sur la coordination du site métallique.
Les angles impliqués dans la coordination du site Zn_1 et Zn_2 fluctuent autour de valeurs qui sont très proches des données expérimentales comme témoigne le Tableau 4.1. La position et l'orientation de l'hydroxyde nucléophile (OH^-)sont des facteurs importants pour maintenir la structure du site actif et jouent un rôle important au cours de la réaction de l'hydrolyse de la β-lactame. L'angle Zn_1-Ow1-Zn_2 observé expérimentalement est de 127° et 123° pour les structures aux rayons X 2FM6 et 1SML respectivement, est également bien reproduit par la méthode QM/MM. De même pour l'hydroxyde de pontage (OH^-) qui a été trouvé légèrement plus près de Zn_1 (1.96 Å) qu'à Zn_2 (2.0 Å), ce qui est en accord avec les valeurs expérimentales. Cette asymétrie est probablement due à la penta-coordination du site Zn_2, comme il est suggéré par les structures de rayons X [169]. La distance calculée entre les deux ions de zinc est égale à 3.45(±0.01) Å, ce qui est en excellent accord avec la distance expérimentale de 3.5 Å . Comme il est suggéré par plusieurs études basées sur les structures de rayons X que l'hydroxyde forme une liaison hydrogène avec l'Asp120 [182], la distance OAsp120-HW1 calculée aux niveaux M062X/UFF et B3LYP-D3/UFF est loin d'être assez courte pour établir une liaison hydrogène (La distance limite d'une liaison hydrogène est environ 2.5 Å). Cela peut être dû aux valeurs de l'angle Ow1-Zn_2-OAsp120 obtenues avec ces niveaux de calculs. En revanche, au niveau M062X/Amber une liaison hydrogène a été trouvée avec une distance OAsp120-HW1 égale à 2.32 Å.

Généralement, les paramètres géométriques de l'enzyme native L1 sont bien reproduits avec la méthode QM /MM comme le montrent les données expérimentales dans le tableau 4.1. La variation du nombre d'atomes traités en QM joue en faveur du modèle plus étendu (QM2) pour la structure optimisée avec la fonctionnelle B3LYP-D3, alors que cette variation n'a aucune influence sur les structures optimisées avec la fonctionnelle M062X L'absence de l'effet de solvant et la simplification de la structure de L1 calculée peuvent être une raison de quelques différences trouvées par rapport à la structure cristal-

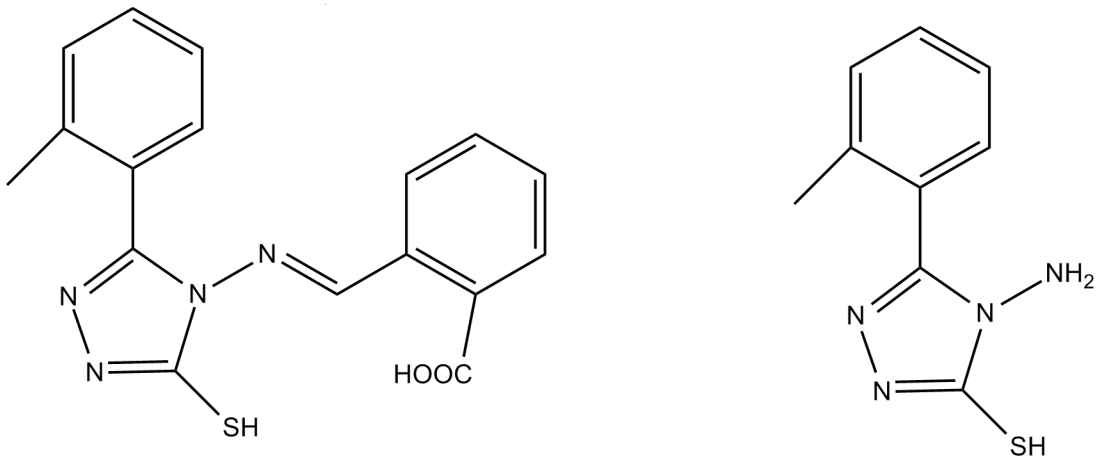
lographique. Bien que des différences existent, l'accord global entre les deux structures théoriques et expérimentales est tout à fait satisfaisant pour pouvoir toucher à notre but dans ce chapitre et modéliser L1 en présence d'inhibiteur. Néanmoins, il faut noter que la structure optimisée la plus proche de la structure expérimentale est celle calculée avec la fonctionnelle M062X et le champ de force Amber ce qui est la raison qu'elle prédise la coordination tétraédrique au niveau du site Zn_1 et la penta-coordination du site Zn_2.

4.3 Modélisation du complexe enzyme L1-inhibiteur II

4.3.1 Inhibiteur enzymatique

a. Inhibiteurs choisis

Dans ce travail, nous avons employé deux formes d'inhibiteur afin de modéliser le complexe «enzyme L1/inhibiteur», ils ont été choisis parmi les familles synthétisées à l'IBMM de Montpellier [169]. Les deux inhibiteurs sont représentés sur la Figure 4.7.



(a) Inhibiteur I (b) Inhibiteur II

FIGURE 4.7 – Représentation graphique de différents inhibiteurs employés pour la modélisation de l'enzyme L1.

Le complexe *2-(((3-mercapto-5-(2-methylphenyl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl) imino)Me) benzoic acid* est le meilleur inhibiteur de l'enzyme L1 (Figure 7a) avec une concentration

inhibitrice médiane (CI_{50}) [2] de 15 μM. Le mercapto-carboxylique et l'acide succinique ont été utilisés comme points de départ pour les recherches de bases de données [173].

Cet inhibiteur a été découvert par Olsen et al[173] en 2006, dans une étude sur la conception des pharmacophores [3] basée sur la recherche de bases de données structurales, les méthodologies d'amarrage [4] et la cinétique enzymatique expérimentale pour découvrir de nouvelles structures pour la conception d'inhibiteurs de la métallo-β-lactamase de di-zinc. Il a été ancré dans l'ancienne structure de L1 (1SML) avec le programme GOLD [173] et affiché sur la figure 8 de la publication d'Olsen et al [173]. Ils ont suggéré que l'inhibiteur I se lie au site actif de L1 à travers l'ion de soufre qui forme un pont entre les deux ions métalliques.

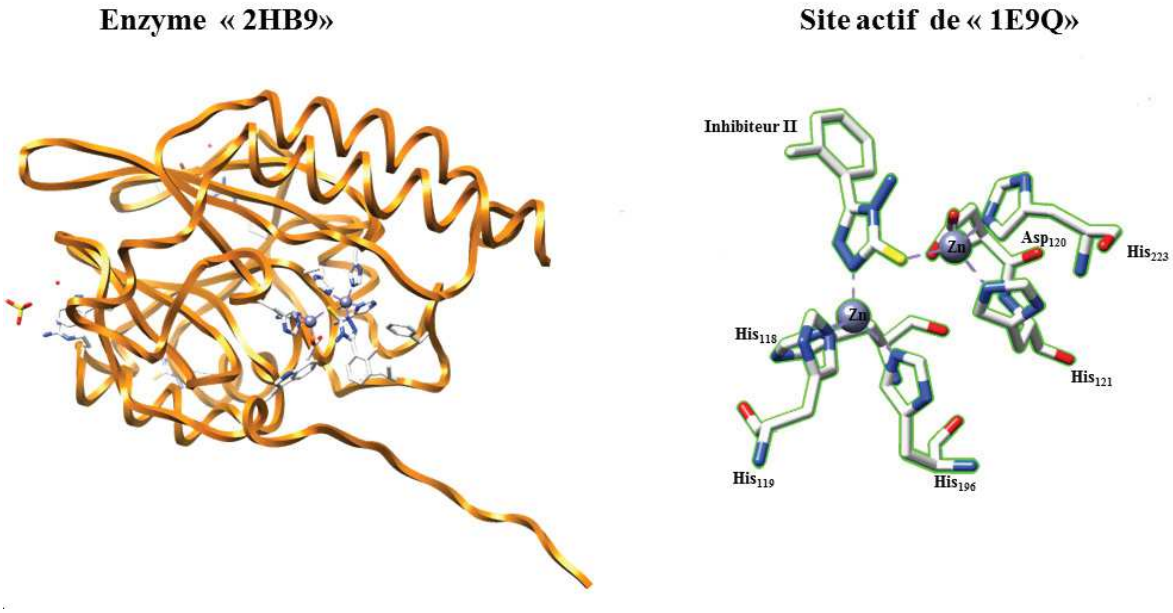


FIGURE 4.8 – Représentation graphique de la structure cristallographique du complexe Enzyme/Inhibiteur II (Code PDB : 2HB9 [169]). Le site actif est en représentation «Ball & Strict» le reste en représentation «Ribbon» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : blanc, oxygène : rouge, soufre : jaune, zinc : violet.

Le groupe carboxylate interagit avec le site Zn_1 et les deux chaînes latérale de serines (Ser221 et Ser225). Tandis que, les cycles aromatiques interagissent avec des groupes

2. CI_{50} est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique.

3. Les pharmacophores sont des ensembles d'atomes actifs utilisés dans la conception de médicaments.

4. Dans le domaine de la modélisation moléculaire, l'amarrage (en anglais, docking) est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable.

hydrophobes (Tyr33, Val35, Trp39, Phe156 et Ile162). La structure expérimentale de diffraction des rayons X du complexe Enzyme/Inhibiteur II est représentée sur la figure ci-dessus (Figure 4.8).

L'étude cristallographique de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteur I conduit à l'observation de l'inhibiteur II «4-amino-3-mercapto-5-(2- methylphenyl)-4H-1,2,4-triazole)» par Nauton et al en 2008, il a été suggéré comme le produit de l'hydrolyse de l'inhibiteur I (Inhibiteur II sur la Figure 4.7). L'inhibiteur I final est tout à fait différent de celui utilisé pour la co-cristallisation [5]. Selon les auteurs, ces différences pourraient être le résultat de nombreux facteurs : l'hydrolyse de l'inhibiteur I, un changement de mode de liaison inattendu de Zn-B au centre di-zinc ou une rotation inopinée de la chaîne latérale Tyr33. De ce fait, la modélisation des ces composés a été réalisée pour mieux comprendre ces différences. Les modes de liaison de l'inhibiteur II avec L1 sont tout à fait différents de ceux de l'inhibiteur I. Un atome d'azote du cycle triazole est lié au site Zn_1, l'atome de soufre interagirait avec le Zn_2 et l'amine cyclique supplémentaire (NH_2) avec l'Asp120.

b. Objectif

Dans la conception des inhibiteurs sur base de données structurales, la détermination précise de la structure cristalline des complexes protéine-ligand est d'une importance capitale afin d'élucider les caractéristiques des liaisons Métal-ligands. Généralement, la détermination de la structure cristalline est considérée comme une preuve ultime de la liaison du ligand fournissant un aperçu détaillé du mode de liaison spécifique du ligand à la protéine. Cette pratique est largement acceptée, mais du fait que l'état cristallin est loin des conditions physiologiques et que la flexibilité de la protéine peut être affectée par l'empilement cristallin [169], il est important de modéliser les complexes protéine-ligand par des méthodes de chimie quantique. En particulier l'approche QM/MM présente un avantage précieux pour valider le mode de liaison de la molécule dans le site actif de chaque composé.

Les structures obtenues par diffraction des rayon X révèlent dans certains cas une nouvelle structure chimique inattendue et c'est le cas de l'inhibiteur II. Comme nous l'avons dit précédemment que l'inhibiteur I se dégrade dans l'étude cristallographique de L1 et conduit à la structure de L1/inhibiteur II, alors le problème posé est de savoir si l'inhibiteur I se dégrade dans L1 avant ou après fixation sur le site actif. De ce fait, notre objectif est de connaître la possible structure de L1 avec l'inhibiteur I et avec l'inhibiteur II par modélisation QM/MM pour voir si cette stratégie pourra être appliquée à d'autres inhibiteurs pour des métallo-β-lactamases.

5. La co-cristallisation est un domaine particulier de la cristallisation permettant de lier deux solides différents dans un même réseau cristallin, sans créer ni casser de liaisons covalentes.

La structure cristallographique du système L1/inhibiteur II a été modifiée et simplifiée afin de la modéliser avec l'approche QM/MM. Pour obtenir l'inhibiteur I, la structure de départ utilisée est celle de l'enzyme L1/inhibiteur II simplifiée dans la section (4.3.2). Ensuite nous avons construit l'inhibiteur I à partir de l'inhibiteur II à l'aide du logiciel GaussView en ajoutant une forme développée de l'acide benzoïque ($C_8H_7O_2$) sur l'amine NH_2 du cycle phényle de l'inhibiteur II, afin d'obtenir l'inhibiteur I (Figure 4.7 a).

4.3.2 Optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteurs II

Une seule structure de rayons X de l'enzyme L1 de l'inhibiteur II est disponible dans la base de données des protéines (code PDB : 2HB9). Le téléchargement de cette structure a été exécuté à partir de cette base de données RCSB Protein Data Bank dont le lien a été mentionné précédemment. La structure 3D de L1 native est obtenue par diffraction aux rayons X avec une résolution (1.75 Å), un pH de 7.75 et une température de 281 K. Elle cristallise sous la forme d'un monomère constitué d'une seule chaîne contenant 266 résidus et 2259 atomes.

Pour le calcul et la préparation du fichier de calcul, nous avons procédé de la même façon pour la protéine L1 native en simplifiant le modèle du complexe enzyme/inhibiteur par élimination des molécules d'eau et de substrats situés à l'extrémité des chaînes qui ont été utilisées lors de la co-cristallisation (2 SO_4^-) à l'exception d'une autre molécule de l'inhibiteur II (située à l'extrémité de la chaîne B de l'enzyme L1) qui a été modélisée par l'approche MM. L'addition d'atomes d'hydrogènes a été faite en utilisant MolProbity). De même qu'avec l'enzyme L1 native, nous avons trouvé des problèmes similaires concernant la protonation aux extrémités des chaînes latérales de Glu24, l'His94, et de Gly317. De ce fait, tous les acides aminés (AA) ont été soigneusement vérifiés en fonction de leur pH.

L'optimisation de l'enzyme L1 en présence de inhibiteur II a été faite en deux étapes. La première étape consiste à optimiser le site actif avec le complexe II et la deuxième étape est l'optimisation de la chaîne B de l'enzyme L1. Un modèle de 74 atomes a été choisi autour du site actif de la structure cristallographique (Code PDB : 2HB9). Les chaînes latérales des acides aminés ont été tronquées de la même manière que la partie précédente. Dans la première étape de nos calculs, seulement les méthyles de chaque carbone ont été gelés afin de maintenir les contraintes géométriques de notre structure. L'optimisation de la chaîne B de l'enzyme L1 a été faite en rassemblant le modèle du site actif optimisé avec la structure cristallographique initiale. Le modèle du site actif du complexe enzyme/inhibiteur simplifié est représenté sur la Figure 4.9. Nous avons employé les mêmes méthodes utilisées pour l'optimisation de L1 native et seulement le champ Amber n'a pas été employé car ces paramètres géométriques pour un tel calcul ne sont pas encore disponibles. Dans le modèle simplifié, le nombre d'atomes est 4013 avec une multiplicité de 1 et une charge totale de -1 et l'optimisation a été exécutée à l'aide du

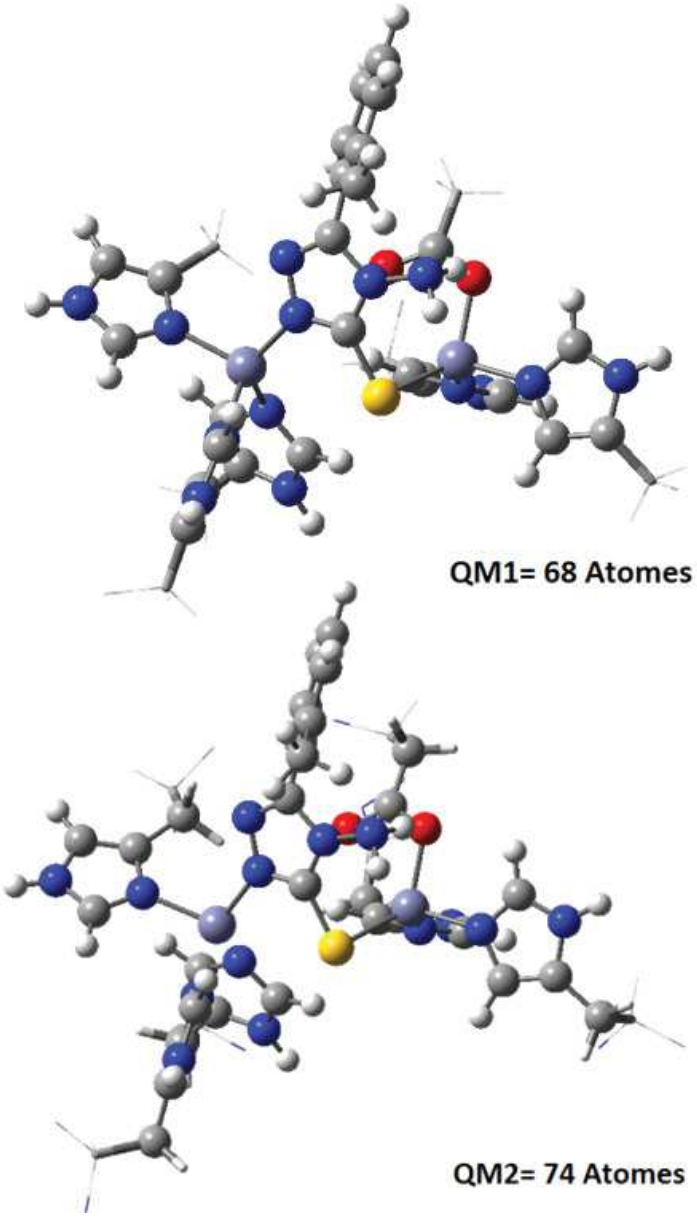


FIGURE 4.9 – Représentation graphique des structures optimisées de deux modèles QM1 et QM2 du site actif de L1 en présence de l'inhibiteur II. Azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, soufre : jaune, zinc : violet.

logiciel Gaussian 09.

4.3.3 Résultats

Nous avons utilisé deux fonctionnelles de la DFT avec la base 6-31+G(d,p) et le champ de force UFF pour l'optimisation de L1 en présence de l'inhibiteur II. Le tableau 4.3 présente les longueurs de liaisons au niveau du site actif de L1 en fonction des méthodes d'optimisation et des modèles QM utilisés : un modèle QM1 contient 68 atomes traités en QM et un modèle plus large QM2 contenant 74 atomes traités en QM comme le montre la Figure 4.10.

Plusieurs constatations peuvent être faites à partir des calculs réalisés. Premièrement, les longueurs de liaisons du site métallique de L1 en présence de l'inhibiteur II calculées au même niveau de calcul qu'avec QM1 sont systématiquement reproduites avec QM2. Les plus grands écarts sont trouvés avec l'interaction NH_2-OAsp120 qui est de 0.05 et 0.06 Å pour M062X et B3LYP-D3, respectivement. De même pour les angles et comme le montre le tableau 4.3, la plus grande différence entre les angles calculés en QM1 et QM2 est de 1°.

Contrairement aux structures de l'enzyme native L1 calculées dans la première partie, les géométries optimisées des structures au niveau du site actif avec les deux modèles QM1 et QM2 de L1 en présence de l'inhibiteur II, pour chaque méthode, sont bien superposées et aucune différence notable n'a été trouvée. En comparant les paramètres géométriques optimisés des structures calculées avec celles des données expérimentales présentées dans le tableau 4.3. nous avons remarqué que les structures calculées sont toutes relativement proches des données expérimentales ainsi que le maintien de la coordination du site métallique. En effet, l'ion métallique dans la position Zn_1 conserve sa coordination tétraédrique avec les trois atomes d'azotes de l'His196, His116, His118 et un azote du groupe triazole de l'inhibiteur II. De même pour le site Zn_2 avec une coordination tétraédrique avec trois ligands d'acides aminés His121, His263, Asp120 et le soufre de l'inhibiteur II. Une augmentation de la distance entre les deux ions métalliques de 0.24 ($\pm$0.04) Å a été trouvée par rapport à la valeur expérimentale. Cela peut être expliqué par le départ de l'anion de pontage OH^-. Les distances expérimentales Métal-ligand entre les deux ions de Zinc et les ligands de l'enzyme L1 sont en grande partie bien reproduites par la méthode QM/MM comme le montre le tableau 4.3. Les distances Zn-S calculées sont de 2,34 Å et 2,37 Å pour M062X/UFF et B3LYP-D3/UFF respectivement. Ces valeurs sont en bon accord avec la mesure expérimentale (2.3 Å). De la même façon pour la distance Zn_1-$N_{InhibiteurII}$, un très bon accord a été noté avec l'expérience en utilisant les deux fonctionnelles (M062X et B3LYP-D3).

Comme il est suggéré par diffraction de rayons X (2HB9), l'amine NH_2 formerait une liaison hydrogène avec un oxygène du carboxyle de l'Asp120, la variation de cette distance est la clé des liaisons hydrogène entre NH_2 et l'oxygène du carboxyle de l'Asp120. Parmi tous les niveaux de calcul cette distance (NH_2-O_{Asp120}=2.9 Å) a été bien reproduite comme en témoigne les valeurs de cette distance dans le tableau ci-dessous (de 2.95 ($\pm$0.03) Å) .

Méthodes	M062X/ 6-31+G(d,p) :UFF		B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p) :UFF		X-Ray [169]
	QM1	QM2	QM1	QM2	
Zn_1-N_{His196}	2.07	2.07	2.03	2.05	2.1
Zn_1-N_{His116}	2.07	2.08	2.06	2.06	2.1
Zn_1-N_{His118}	2.06	2.05	2.03	2.03	2.1
Zn_1-$N_{ComplexeII}$	2.00	2.00	1.96	1.97	1.9
Zn_2-N_{His121}	2.04	2.04	2.01	2.02	2.0
Zn_2-N_{His263}	2.06	2.06	2.04	2.04	2.0
Zn_2-O_{Asp120}	1.97	1.98	1.96	1.96	1.9
Zn_1-S	3.37	3.37	3.48	3.48	3.3
Zn_2-S	2.37	2.38	2.34	2.34	2.3
NH_2-O_{Asp120}	2.98	2.93	2.98	2.92	2.9
H_{NH_2}-O_{Asp120}	2.08	2.03	2.06	2.00	—
Zn_1-Zn_2	4.81	4.80	4.90	4.88	4.6
N-Zn_1-N_{His196}	116.5	116.6	112.9	113.2	109.3
N-Zn_1-N_{His116}	128.5	127.5	126.5	126.8	132.2
N-Zn_1-N_{His118}	108.4	109.8	111.8	111.8	104.1
S-Zn_2-N_{His263}	109.1	109.4	109.3	107.3	106.8
S-Zn_2-N_{His121}	115.2	117.1	115.0	119.3	119.5
S-Zn_2-N_{Asp120}	124.5	123.4	124.0	122.3	120.0
C-Zn_2-S	90.6	89.7	93	92.0	91.9
Inhi-Ile_{162}	3.31	3.35	3.31	3.35	3.37
NH_2-Trp_{39}	3.86	3.93	3.88	3.90	3.37
H_{NH_2}-H_{Trp39}	3.01	3.04	3.02	3.03	—
Énergie	-5840.665274 49	-6076.508030 88	-5841.665153 38	-6077.656322 56	

TABLEAU. 4.3 – Données structurales de l'optimisation de L1 avec l'inhibiteur II avec la méthode QM/MM, les distances sont données en (Å), les angles en (degrés) et les énergies en (u. a).

Cette suggestion a été confirmée dans nos calculs par l'intermédiaire de l'interaction de l'hydrogène de NH_2 avec l'oxygène de l'Asp120 pour une distance de l'ordre de 2.04 ($\pm$0.04) Å selon la méthode utilisée. En plus, les valeurs des angles calculées au niveau des centres métalliques ont été trouvés très proches des mesures expérimentales comme indiqué dans le tableau 4.3. Les écarts des angles calculés avec les données cristallographiques sont inférieurs à 4°. Une autre observation de Nauton el al[169] de deux courtes distances entre l'extrémité des chaînes des acides aminés autour du site actif et de l'inhi-

biteur II dans le système enzyme/Inhibiteur II suggère qu'il y a deux fortes interactions avec des groupes hydrophobes.

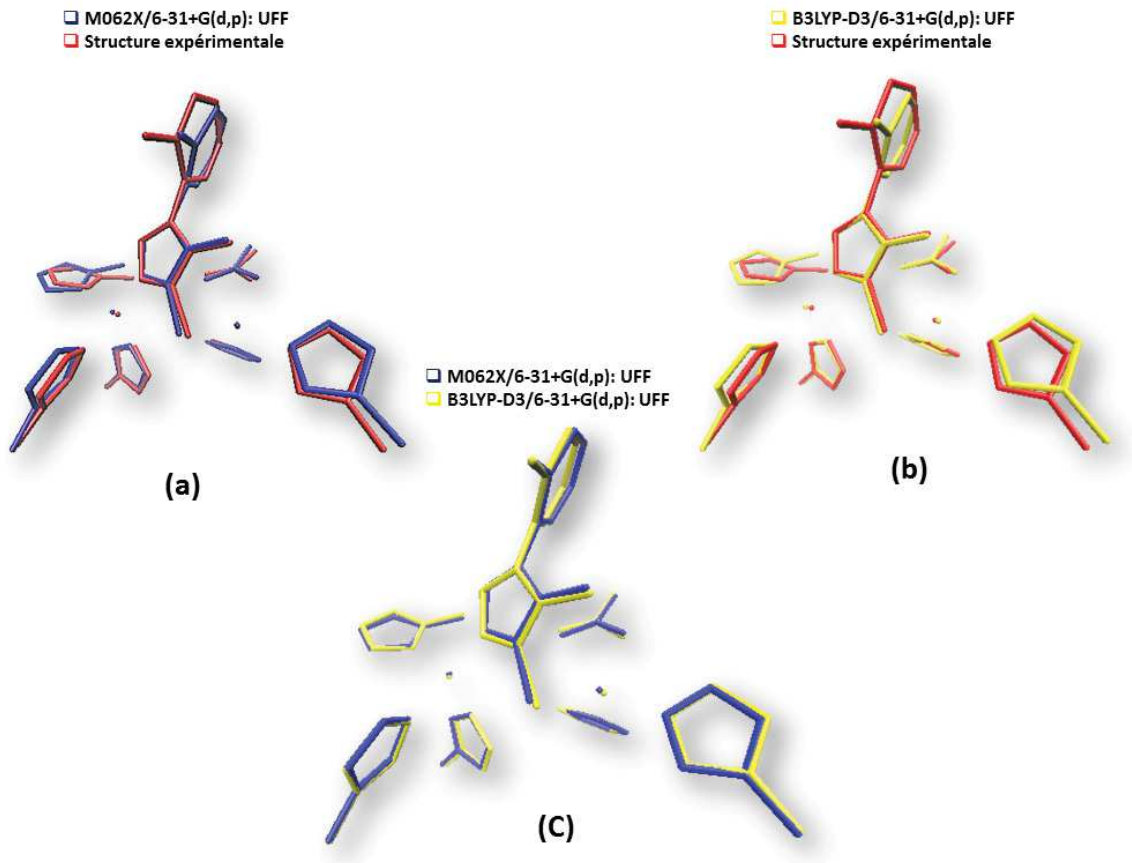


FIGURE 4.10 – (a) Superposition de la géométrie du site actif de L1 optimisée au niveau ONIOM (M062X/6-31+G(d,p) : UFF) et de la structure expérimentale, (b) Superposition de la géométrie du site actif de L1 optimisée au niveau ONIOM(B3LYP-D3/6-31+G(d,p) : UFF) et de la structure expérimentale, (c) Superposition des géométries du site actif de L1 optimisées aux niveaux ONIOM(B3LYP-D3/6-31+G(d,p) :UFF) et ONIOM (M062X/6-31+G(d,p) : UFF).

L'une entre un atome de carbone du Tryptophane et l'amine NH_2 de l'inhibiteur II (NH_2-Trp39=3.37 Å) et l'autre entre un carbone du cycle de l'inhibiteur II et l'isoleucine (CD1-Ile162=3.37 Å). Dans ce calcul, la distance de l'interaction CD1 de Ile162 avec le cycle aromatique de l'inhibiteur II a été trouvée avec des raccourcissements de 0.02 et 0.06 Å pour les modèles QM1 et QM2, respectivement. Ces valeurs montrent une bonne cohérence avec les valeurs expérimentales. De plus, un allongement de la distance de l'interaction NH_2-Trp39 a été trouvé autour de 0.53 ($\pm$0.03) Å, et cela peut être dû à l'orientation de l'hydrogène du groupe amine (NH_2) vers l'acide aspartique (Asp120)

afin d'établir une forte liaison hydrogène comme nous l'avons mentionné précédemment.

En superposant sur la figure ci-dessus (Figure 4.10 "c") les deux structures calculées (obtenues après minimisation de la structure expérimentale aux niveaux M062X/6-31+G(d,p) : UFF et B3LYP-D3/6-31+G(d,p) : UFF), aucune différence n'a été trouvée entre les deux méthodes de calcul. Sur la figure Figure 4.10 "a" et "b", nous avons superposé chaque structure calculée avec la structure expérimentale (obtenue par diffraction des rayons X), bien que des différences existent, l'accord global entre les structures théoriques et la structure expérimentale est tout à fait satisfaisant pour pouvoir modéliser le système Enzyme/Inhibiteur I.

Généralement, les résultats structurels obtenus en optimisant le système enzyme/ inhibiteur II sont en bon accord avec les données expérimentales et représentent un appui pour la modélisation du site actifs des MBLs et sur tous les sites actif à zinc et montrent l'efficacité et la fiabilité des méthodes choisies pour modéliser de tels systèmes.

4.4 Modélisation du complexe enzyme L1-inhibiteur I

4.4.1 Optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteur I

Nous rappelons que l'inhibiteur I est le meilleur inhibiteur découvert par Olsen et al en 2006 sur les recherches de bases de données avec une concentration inhibitrice médiane (CI50) de 15 μM. Nauton et al [169] ont utilisé cet inhibiteur dans une étude cristallographique mais le résultat de la diffusion de l'inhibiteur I dans le cristal de structure L1 conduit à une autre forme de l'inhibiteur II complexé avec l'enzyme L1. De ce fait, notre but a été d'identifier les différences entre ces deux formes d'inhibiteur en modélisant le complexe Enzyme L1/inhibiteur I avec les mêmes modes de liaison observés avec le système : (enzyme L1/inhibiteur II) dans l'étude de Nauton [169] comme le montre la figure ci-dessous.

Notre calcul a été fait en deux étapes, la première étape consiste à optimiser un modèle structural limité du site actif contenant 92 atomes qui a été découpé autour du site actif du complexe L1/inhibiteur I de la structure cristallographique complexée et simplifiée (la modification apportée sur l'inhibiteur II afin d'obtenir l'inhibiteur I).

Chaque chaîne latérale des histidines a été tronquée à la position (Cα) afin d'obtenir des cycles méthyl-imidazoles et une grande partie de l'acide aspartique afin d'obtenir un groupement $COOCH_2$. Puis, six atomes d'hydrogène ont été ajoutés pour saturer les liaisons libres trouvées après la coupe du site actif. Ces derniers ont été placés dans la direction de la liaison de la structure cristallographique simplifiée. Ensuite, nous avons gelé sept carbones de méthyles correspondant aux six ligands His116, His196, His118, His121

et His263 modélisés par des méthyle-imidazoles, l'Asp120 modélisée par $COOH_2$-CH_3 et un méthyle de l'inhibiteur I lors de l'optimisation pour maintenir les contraintes géométriques de la structure.

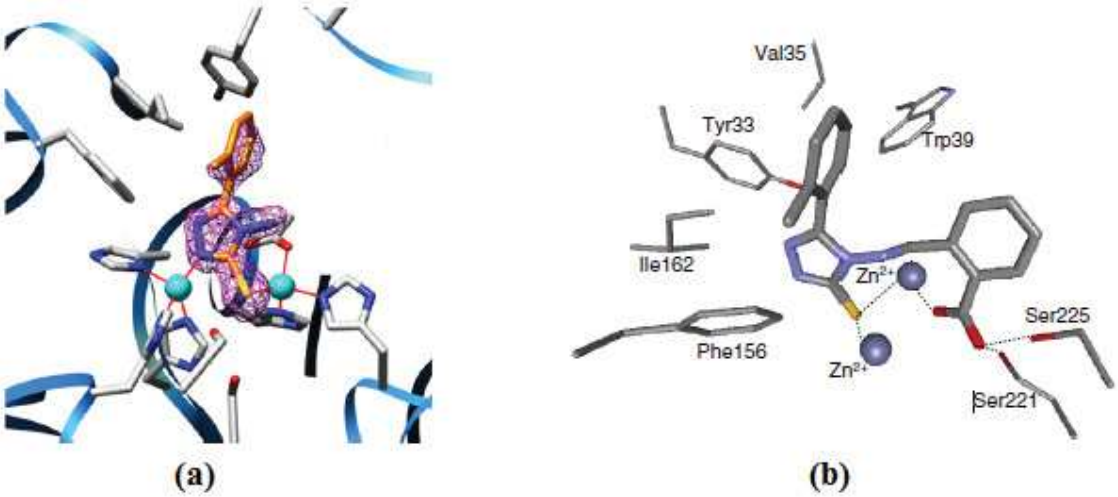


FIGURE 4.11 – Représentations des structures tridimensionnelles du site actif de L1 en présence des inhibiteurs. (a) Vue stéréo montrant l'inhibiteur II dans le site actif de L1 et les modes de liaisons Zn-S(inhibiteur) et Zn-N(inhibiteur II) [169]. (b) Vue de l'inhibiteur I ancré dans le site actif de l'enzyme L1 par le programme GOLD et montre les modes de liaisons Zn-S(inhibiteur I) suggérés par Olsen [173].

Ensuite, la géométrie optimisée du modèle limité au site actif de L1/inhibiteur I a été restitué dans la structure cristallographique simplifiée, tout en supprimant les hydrogènes ajoutés au début pour saturer les liaisons libres. Enfin, l'optimisation de la géométrie de l'enzyme entière de L1/ inhibiteur I a été faite avec un nombre total d'atomes égal à 4001 dont 86 ont été modélisés en QM et le reste avec le champ de force UFF avec une charge de -1 et une multiplicité de spin égale à 1.

4.4.2 Résultats

L'ensemble des résultats obtenus pour les différents niveaux de calculs est présenté dans le tableau 4.4. Les paramètres géométriques de la structure expérimentale de L1 avec l'inhibiteur sont comparés à ceux obtenus par nos calculs.

A partir des résultats énergétiques trouvés, nous avons constaté comme tous les calculs précédents, que la différence dénergie Δ ente M062X et B3LYP-D3 joue en faveur de la fonctionnelle B3LYP-D3 avec une valeur de 741.6 Kcal/mol. Les valeurs des distances de liaisons Métal-ligands ainsi que celles des angles de coordination du métal avec

les ligands (Tableau 4.4) sont souvent très proches ou présentent de faibles écarts avec les valeurs expérimentales. Néanmoins, en superposant les deux géométries optimisées avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D, la différence est apparue entre l'orientation de l'acide benzoïque de deux structures. De ce fait, et comme les meilleurs résultats de l'optimisation du système enzyme L1/inhibiteur II sont trouvés avec la fonctionnelle B3LYP-D3, seule cette fonctionnelle a été prise en considération dans la suite. Trois interactions de la chaîne latérale des acides aminés avec l'inhibiteur I ont été observées : le groupe carboxylate de l'inhibiteur I interagit avec l'oxygène (OG) de Ser225 et celui de Ser221 des distances égales à 3.12 Å et 3.56 Å, respectivement, mais pas d'interaction avec le site Zn_2 comme il est suggéré par Olsen et al. Le cycle aromatique interagit avec le carbone CD1 de l'Ile162 à une distance de 3.31 Å.

Méthodes	M062X/6-31+G(d,p) :UFF	B3LYP-D3/6-31+G(d,p) :UFF	X-Ray [19]
Zn_1-N_{His196}	2.08	2.06	2.1
Zn_1-N_{His116}	2.07	2.04	2.1
Zn_1-N_{His118}	2.06	2.03	2.1
Zn_1-$N_{ComplexeI}$	1.98	1.96	1.9
Zn_2-N_{His121}	2.02	2.01	2.0
Zn_2-N_{His263}	2.07	2.04	2.0
Zn_2-$O1_{Asp120}$	1.95	1.95	1.9
Zn_2-S	2.39	2.35	2.3
Zn_1-S	3.28	3.38	3.3
Zn_1-Zn_2	4.82	4.94	4.6
N-Zn_1-N_{His196}	117.0	109.5	109.3
N-Zn_1-N_{His116}	128.3	128.0	132.2
N-Zn_1-N_{His118}	107.5	109.4	104.1
S-Zn_2-N_{His263}	102.2	110.8	106.8
S-Zn_2-N_{His121}	111.9	109.7	119.5
S-Zn_2-N_{Asp120}	125.4	128.7	120.0
C-Zn_2-S	90.7	93.5	91.9
Énergie	-6298.32115681	-6299.50305333	

TABLEAU. 4.4 – Données structurales de l'optimisation du complexe L1 et inhibiteur I avec la méthode QM/MM, les distances sont données en (Å) , les angles en (°) et les énergies en (u. a).

Les distances expérimentales Métal-ligand du système enzyme L1/inhibiteur II sont en grande partie bien reproduites par la méthode QM/MM. Les deux sites métalliques des géométries optimisées ayant une coordination tétraédrique avec les mêmes ligands de la structure cristallographique (2HB9). La seule exception est l'augmentation de la distance

Zn_1-Zn_2, la valeur expérimentale est de 4.6 Å , cette distance que nous avons calculé est de 4.88 Å en optimisant le système L1/inhibiteur II a encore été allongée de 0.06 Å avec la présence de l'inhibiteur I. La distance d'interaction NH_2-OAsp120 trouvée avec l'inhibiteur II (2.9 Å) a été trouvée avec une nouvelle distance N-OAsp120 3.13 Å avec l'inhibiteur I. Une autre interaction importante est trouvée dans la structure optimisée entre l'oxygène du groupe carboxylate et l'hydrogène du carbone C5 de l'acide benzoïque. De plus, les angles expérimentaux entre les centres métalliques et les ligands ont été trouvés très proches autour des valeurs expérimentales (Tableau 4.4). Le plus grand écart trouvé est pour l'angle N-Zn_1-N_{His196} qui est d'environ 8°, alors que les autres se trouvent fluctuant autour de 3°.

4.5 Conclusion

Dans ce chapitre, trois formes différentes de l'enzyme L1 ont été modélisées par l'approche QM/MM (enzyme L1 native, enzyme L1/inhibiteur I et enzyme L1/inhibiteur II). Les propriétés géométriques des liaisons des sites métalliques dans un ensemble de données de structures cristallines de protéines à haute qualité déposées dans la Protéine Data Bank ont été examinées afin d'identifier des différences importantes entre les sites de zinc avec et sans inhibiteur qui sont directement impliqués dans la catalyse et ceux qui jouent un rôle structural.

Les distances et les angles de la première sphère de coordination du centre Di-Zn sont comparés à des valeurs expérimentales pour chaque structure optimisée. Nous avons identifié les interactions des résidus à proximité du site actif qui apparaissent aussi à contribuer à la stabilisation du site actif de zinc. Dans l'enzyme native L1, le meilleur résultat trouvé par rapport aux données géométriques expérimentales est celui en utilisant M062X/6-31+G(d,p) :Amber. Bien que des différences existent, nous constatons que l'accord global entre les deux structures théoriques et expérimentales est tout à fait satisfaisant. Un accord précieux a été trouvé en optimisant le système L1/Inhibiteur II, les paramètres géométriques ont été bien reproduits avec l'approche QM/MM des deux niveaux de calcul employés. En revanche, plusieurs changements radicaux sont rapportés en optimisant le complexe L1/inhibiteur II comme l'augmentation de la distance Zn_1-Zn_2 qui influe au niveau structural sur la rigidité du site actif et nous suggérons que cela peut être dû à la disparition de l'anion OH^- (qui a été remplacé par l'inhibiteur dans la structure cristallographique 2HB9), au milieu du pH qui influe sur la protonation des acides aminés ou de la température utilisée lors de la co-cristallisation vue que la protonation des acides aminés a été faite à un pH proche de la neutralité.

Les travaux de recherche présentés et décrits dans ce chapitre sont en cours de rédaction en vue de publication dans une revue internationale, indexée.

CHAPITRE 5

Conclusion générale

Tout au long de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la modélisation des structures des sites actifs de la famille B3 des Métallo-β-lactamases (Enzyme L1). Par ailleurs, nous avons étudié les structures de ces sites actifs en présence de deux formes d'inhibiteurs pour comparer les affinités de différentes familles de complexes (enzyme/inhibiteur) synthétisées à l'IBMM à Montpellier. A cette fin, nous avons étudié ces structures à l'aide des méthodes de chimie quantique fondées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT, plus précisément les fonctionnelles B3LYP-D3 et M062X prenant en compte les faibles interactions, ainsi que des méthodes hybrides QM/MM.

Les résultats des calculs sont présentés dans le chapitre III pour le cas des complexes de coordination, et le chapitre IV pour celui de l'enzyme L1 avec et sans inhibiteurs. L'étude réalisée dans le chapitre III basée sur des méthodes de chimie quantique est consacrée à l'étude de quatre complexes de coordination métallique $[Cu\ (4\text{-MeIm})_4]^{2+}$, $[Cu\ (4\text{-MeIm})_4\ H_2O]^{2+}$ $[Zn\ (4\text{-MeIm})_4]^{2+}$ et $[Zn\ (4\text{-MeIm})_4\ H_2O]^{2+}$ modélisant les sites actifs de métallo-enzymes tels que celui de la superoxyde dismutase. Ces études préliminaires nous ont permis de déterminer la méthode la plus adaptée pour la modélisation de ces types de complexes et d'étudier des centres actifs à zinc dans des structures de métallo-β-lactamases. Ainsi, nous avons montré que les fonctionnelles qui prennent en compte les interactions à longue potée avec la base 6-31+G(d,p) sont les plus adaptées pour le calcul de ces types de systèmes de grande taille (environ 70 atomes). En revanche, l'un des intérêts le plus important de cette étude est la détermination des géométries et de la stabilité des structures en tenant compte des différents types de protonation de 4-MeIm neutre (Nπ et Nτ). En phase gazeuse, nous avons montré que la stabilité des géométries joue en faveur des quatre complexes contenant une coordination Nτ d'un 4-MeIm avec une géométrie tétraédrique. Par contre, il n'y a pas de préférence pour l'une de ces coordinations (Nπ ou Nτ) si on augmente le nombre de ces dernières à cinq ligands en ajoutant par exemple une molécule d'eau. Les données structurales obtenues dans un solvant (ici l'eau) en utilisant les deux modèles de solvatation (PCM implicite et C-PCM), montrent une bonne corrélation avec les études expérimentales en solution aqueuse et aucune différence significative n'a été constatée entre ces deux modèles sur les paramètres géométriques calculés. Toutefois, le solvant joue un rôle important surtout pour le complexe de cuivre $[Cu\ (4\text{-MeIm})_4\ H_2O]^{2+}$ en augmentant le nombre de coordination du métal. Comme le montre l'analyse topologique, l'interaction donneur-accepteur entre les cycles 4-méthylimidazole neutres avec Cu(II), suggère que la liaison Cu(II)-N a un fort caractère ionique.

Ces résultats apportent des informations importantes sur la stabilité des sites structuraux (des complexes de zinc et de cuivre) et nous ont permis de mettre en évidence des différences structurales entre les ions métalliques (Zn et Cu) et de déterminer les spectres vibrationnels. Ces derniers permettent de pouvoir clairement discriminer une coordination Nτ d'une coordination Nπ en particulier nous avons montré comment le marqueur C4=C5 des cycles des histidines conduit à des bandes spécifiques dans le domaine IR.

Le chapitre IV concerne l'étude des structures des sites actifs de l'enzyme L1 en s'appuyant sur les méthodes QM/MM, pour identifier des différences importantes entre les sites actifs à zinc avec et sans inhibiteur. Nous avons utilisé un ensemble de données de structures cristallines de L1 à haute résolution afin d'étudier cette enzyme dans sa forme native et avec inhibiteur. Les données structurales obtenues de l'enzyme L1 native en utilisant la méthode ONIOM avec la combinaison M062X/6-31+G(d,p)/Amber sont en bon accord avec les données des structures de rayons X. Les distances et les angles de la première sphère de coordination du centre actif Di-Zn aux différents niveaux de calcul sont comparables aux valeurs expérimentales. En revanche, plusieurs changements ont été trouvés au niveau de la chaîne latérale de la SER221 et l'orientation de W2 si on utilise les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3 avec le champ de force UFF, qui semblent influer sur la rigidité du squelette du centre actif.

En présence d'inhibiteurs (I ou II) au niveau du centre actif Di-Zn de L1, la distance entre les deux ions métalliques est affectée par les différentes formes d'inhibiteurs employées ce qui est en accord avec les observations expérimentales. Néanmoins, les valeurs expérimentales des distances Zn1-Zn2 sont un peu plus courtes que celles calculées théoriquement. Nous nous suggérons l'éventualité de l'affectation de la flexibilité de l'enzyme pour expliquer cet allongement de distance (Zn1-Zn2) : soit à cause du pH du milieu vu que la protonation des acides aminés a été faite à un pH proche de la neutralité dans nos calculs (la protonation des acides aminés diffère par le pH du milieu, acide, basique ou neutre) ou de la température utilisée lors de la co-cristallisation puisque ces deux facteurs influent sur la rigidité du site actif.

L'optimisation de l'enzyme L1 en présence de l'inhibiteur II fourni des informations précieuses sur le mode de liaison du substrat au site actif des MBL,en accord avec la structure expérimentale enzyme/inhibiteur II, et les paramètres géométriques ont été bien reproduits avec toutes les méthodes QM/MM employées. Nous avons également modélisé l'inhibiteur I dans L1 et l'avons comparé avec celui trouvé expérimentalement par diffraction de rayons X (Inhibiteur II). Nos résultats montrent une bonne cohérence entre les deux structures à l'exception de quelques différences. Cependant, nous constatons que l'accord global entre les structures théoriques et expérimentales est tout à fait satisfaisant pour modéliser la réaction de l'hydrolyse de l'inhibiteur I dans L1 avec ces méthodes QM/MM. De plus, ces résultats suggèrent que le site actif de l'enzyme L1 n'intervient pas dans les processus de dégradation de l'inhibiteur I.

Dans ce travail de thèse, nous n'avons pas eu le temps suffisant pour terminer la partie

de la réactivité qui représente une proposition de la réaction de l'hydrolyse de l'inhibiteur I dans L1 pour donner le système inhibiteur II/L1. Les problématiques concernent la détermination du nombre de complexes intermédiaires afin de localiser les états de transitions et déterminer le schéma réactionnel de cette réaction. Cependant, une étude plus exhaustive concernant la détermination de structures des sites actifs de l'enzyme L1 entière (native, avec l'inhibiteur I et avec l'inhibiteur II) éventuellement à l'aide de la méthode QM/MM ou de la dynamique moléculaire, serait à envisager. Il pourrait s'agir, par exemple, d'inclure la solvatation avec de l'eau implicite «PCM et/ou C-PCM» en se basant sur le modèle QM/MM ou l'eau «TIP3P» en utilisant la dynamique moléculaire.

CHAPITRE 6

Annexe

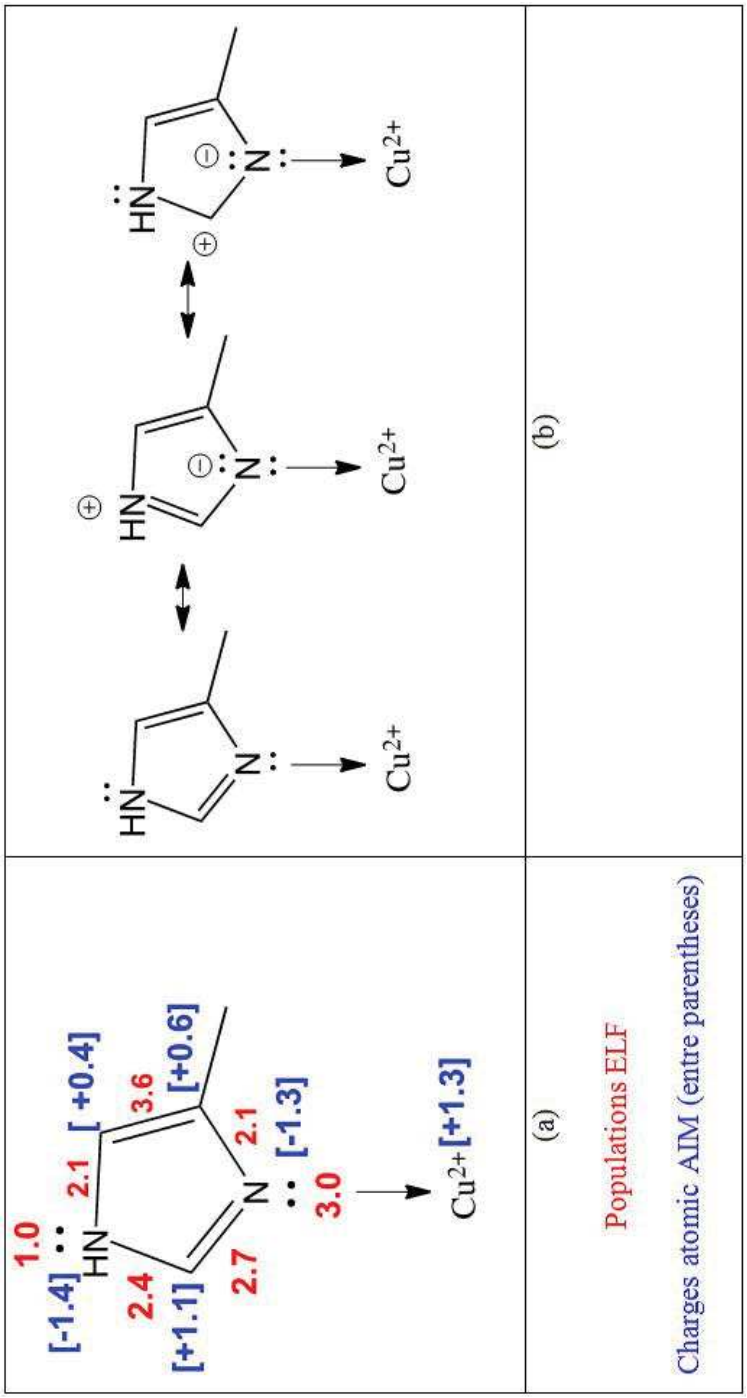


FIGURE 6.1 – (a) Les populations ELF sélectionnées (en rouge) et les charges atomiques AIM (en bleu) du complexe C [Cu (4-MeIm)$_4$ $H_2O]^{2+}$, calculées avec la méthode M062X / 6-31+G(d,p). Un seul 4-MeIm est rapporté dans la figure. (b) Les formes mésomères les plus représentatives décrivant la liaison chimique dans le complexe C.

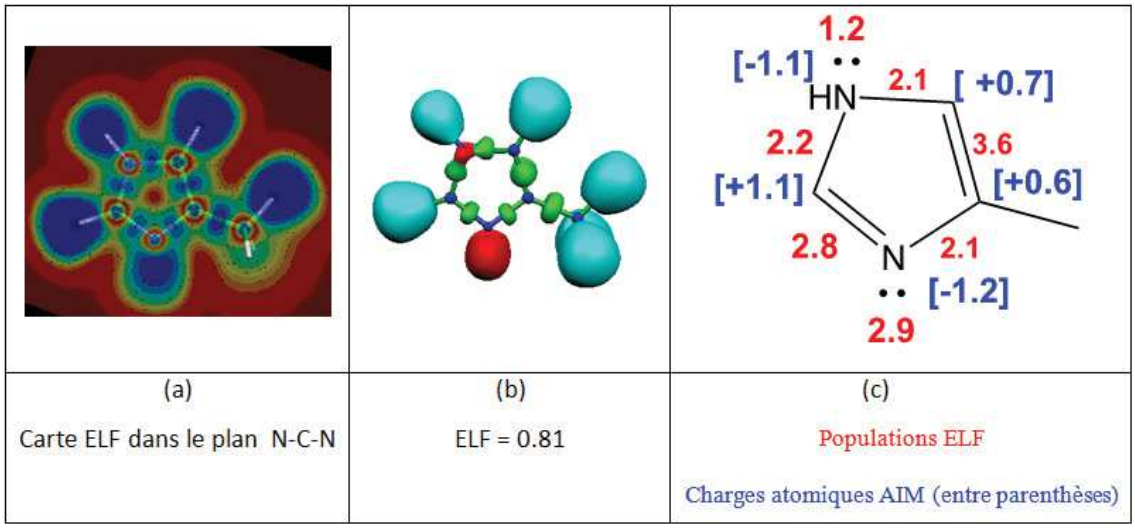


FIGURE 6.2 – (a) La carte ELF dans le plan N-C-N du ligand neutre 4-MeIm calculé en utilisant la méthode M062X/6-31+ G(d,p). (b) L'isosurface ELF (ELF =0.81). Les domaines de localisation se rapportant aux paires libres de l'imine et des groupements amine sont représentés en rouge, tandis que ceux des liaisons C-N et C-C apparaissent en vert et l'un des liaisons C-H en bleu-ciel. (c) Les populations ELF sélectionnées (en rouge) et les charges atomiques AIM (en bleu).

Méthodes	$[(C_4N_2H_6)_4(H_2O)\ Zn]^{2+}$		ΔE en	$[(C_4N_2H_6)_4(H_2O)\ Cu]^{2+}$		ΔE en
	A	B	Kcal/mol	A	B	Kcal/mol
B3LYP/6-31+G(d,p)	-2840.67233	-2840.66703	-3.32	-2701.79966	-2701.79334	-3.96
B3LYP/SDD	-1288.40794	-1288.40297	-3.12	-1258.57298	-1258.56670	-3.94
B3LYP/BS1	-2840.84401	-2840.83864	-3.37	-2701.95426	-2702.25347	-3.83
B3LYP/BS2	-1127.09393	-1127.08867	-3.30	-1257.59703	-1257.59091	-3.84
B3LYP-D3/6-31+G(d,p)	-2840.72821	-2840.72686	-0.85	-2701.85889	-2701.85616	-1.71
B3LYP-D3/SDD	-1288.46488	-1288.46378	-0.69	-1258.63260	-1258.62985	-1.72
B3LYPD3/BS1	-2840.90007	-2840.89839	-1.05	-2702.01340	-2702.01062	-1.74
B3LYP-D3/BS2	-1127.14794	-1127.14639	-0.97	-1257.65567	-1257.65307	-1.63
M062X/6-31+G(d,p)	-2840.15865	-2840.15708	-0.42	-2701.26316	-2701.26067	-1.56
M062X /SDD	-1288.05759	-1288.05687	-0.45	-1258.18419	-1258.18100	-2.00
M062X/BS1	-2840.34282	-2840.34128	-0.97	-2701.43056	-2701.42762	-1.84
M062X/BS2	-1126.48638	-1126.48487	-0.95	-1257.17834	-1257.17604	-1.44

TABLE. 6.1 – Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre A et B ayant la structure I et II, respectivement.

Méthodes	[(C4N2H6)4(H2O) Zn]$^{2+}$		ΔE en	[(C4N2H6)4(H2O) Cu]$^{2+}$		ΔE en
	C	D	Kcal/mol	C	D	Kcal/mol
B3LYP/6-31+G(d,p)	-2917.58616	-2917.58531	-0.53	-2778,72042	-2778,72012	-0.23
B3LYP-D3/SDD	-1365,30930	-1365,31505	3.60	-1335.48506	-1335.48308	-1.24
B3LYP-D3/BS1	-2917,75764	-2917,75659	-0.66	-2778.87456	-2778.87425	-0.19
B3LYP-D3/BS2	-1204.00743	-1204.00546	-1.23	-1334.51770	-1334.51947	1.11
M062X/6-31+G(d,p)	-2916.98415	-2916.98266	-0.93	-2778,09569	-2778,09573	0.02
M062X/SDD	-1364.87673	-1364.87442	-1.45	-1335.01168	-1335.00674	-3.09
M062X/BS1	-2917.16776	-2917.16623	-0.96	-2778.26227	-2778.25883	-2.16
M062X/BS2	-1203.31643	-1203.31363	-1.75	-1334.00947	-1334.00769	-1.11

TABLE. 6.2 – Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre C et D ayant la structure I et II, respectivement.

Méthodes	[(C4N2H6)4(H2O) Zn]$^{2+}$		ΔE en	[(C4N2H6)4(H2O) Cu]$^{2+}$		ΔE en
	C	D	Kcal/mol	C	D	Kcal/mol
B3LYP/6-31+G(d,p)	-2917,79697	-2917,79867	1.07	-2778,93136	-2778,93296	1.00
B3LYP-D3/SDD	-1365,51933	-1365,52334	2.51	-1335,69454	-1335,69347	-0.73
B3LYP-D3/BS1	-2917,96849	-2917,96946	0.60	-2779,08269	-2779,08715	-0.10
B3LYP-D3/BS2	-1204,22194	-1204,22145	-0.30	-1334,73062	-1334,73243	1.13
M062X/6-31+G(d,p)	-2917,19616	-2917,19546	-0.44	-2778,30539	-2778,30917	2,37
M062X/SDD	-1365,08771	-1365,08656	-0.72	-1335,22192	-1335,21878	-1.97
M062X/BS1	-2917,37866	-2917,37862	-0.05	-2778,47193	-2778,47028	-1.04
M062X/BS2	-1203,53006	-1203,52831	-1.98	-1334,21948	-1334,22572	3.90

TABLE. 6.3 – Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre C et D ayant la structure I et II, respectivement dans un solvant implicite PCM

.

Méthodes	[(C4N2H6)4(H2O) Zn]$^{2+}$		ΔE en	[(C4N2H6)4(H2O) Cu]$^{2+}$		ΔE en
	C	D	Kcal/mol	C	D	Kcal/mol
B3LYP-D3/6-31+G(d,p)	-2917,79725	-2917,79887	1.01	-2778,93141	-2778,93299	0.99
B3LYP-D3/SDD	-1365,51936	-1365,52341	2.54	-1335,69456	-1335,69351	-0.65
B3LYP-D3/BS1	-2917,96879	-2917,97008	0.81	-2779,08270	-2779,08268	-0.12
B3LYP-D3/BS2	-1204,22226	-1204,22162	-0.40	-1334,73065	-1334,73247	1.14
M062X/6-31+G(d,p)	-2917,19627	-2917,19556	-0.45	-2778,30543	-2778,30923	2,38
M062X/SDD	-1365,08777	-1365,08661	-0.72	-1335,22195	-1335,21883	-1.96
M062X/BS1	-2917,37970	-2917,37867	-0.06	-2778,47195	-2778,47034	-1.04
M062X/BS2	-1203,53029	-1203,52908	-0.76	-1334,21953	–1334,22575	3.90

TABLE. 6.4 – Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre C et D ayant la structure I et II, respectivement dans un solvant implicite C-PCM.

Structures	A					B				
Méthodes	Zn-N$_\pi$	Zn-N$_\tau$	Zn-N$_\pi$	Zn-N$_\pi$	θ	Zn-N$_\pi$	Zn-N$_\pi$	Zn-N$_\pi$	Zn-N$_\pi$	θ
B3LYP/6-31+G(d,p)	2,051	2,032	2,056	2,051	-68,2	2,055	2,033	2,055	2,059	-66,4
B3LYP/SDD	2,026	2,012	2,032	2,025	-68,1	2,031	2,010	2,029	2,035	-66,8
B3LYP/BS1	2,052	2,032	2,058	2,052	-68,4	2,058	2,035	2,055	2,063	-66,2
B3LYP/BS2	2,106	2,089	2,112	2,109	-68,0	2,115	2,094	2,108	2,119	-66,1
B3LYP-D3/6-31+G(d,p)	2,027	2,016	2,032	2,024	-67,9	2,090	2,015	2,030	2,032	-67,0
B3LYP-D3/SDD	2,009	1,996	2,005	2,007	-72,5	2,007	1,993	2,006	2,011	-67,3
B3LYP-D3/BS1	2,029	2,017	2,034	2,026	-67,9	2,031	2,016	2,030	2,035	-66,8
B3LYP-D3/BS2	2,083	2,074	2,090	2,083	-67,3	2,090	2,071	2,086	2,088	-66,9
M062X/6-31+G(d,p)	2,044	2,039	2,051	2,040	-68,0	2,049	2,035	2,046	2,048	-66,7
M062X/SDD	2,017	2,016	2,025	2,016	-69,2	2,022	2,008	2,021	2,026	-66,8
M062X/BS1	2,044	2,039	2,051	2,040	-67,9	2,048	2,035	2,045	2,052	-66,6
M062X/BS2	2,078	2,073	2,088	2,076	-66,8	2,085	2,072	2,083	2,082	-66,6

TABLE. 6.5 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe [Zn(4-MeIm)$_4$]$^{2+}$.

Structures	A					B				
Méthodes	Cu-N_π	Cu-N_τ	Cu-N_π	Cu-N_π	θ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	θ
B3LYP/6-31+G(d,p)	2,021	1,998	2,034	2,018	-42,9	2,026	2,012	2,019	2,041	-43,5
B3LYP/SDD	2,007	1,987	2,017	2,003	-43,7	2,009	1,999	2,004	2,024	-44,7
B3LYP/BS1	2,025	2,039	2,001	2,022	-42,9	2,029	2,014	2,024	2,046	-43,7
B3LYP/BS2	2,045	2,022	2,057	2,039	-39,9	2,049	2,035	2,042	2,062	-40,3
B3LYP-D3/6-31+G(d,p)	1,998	1,985	2,009	2,003	-42,1	2,011	1,999	1,993	2,015	-40,4
B3LYP-D3/SDD	1,984	1,974	1,994	1,880	-43,9	1,995	1,986	1,980	2,002	-43,6
B3LYP-D3/BS1	2,002	1,987	2,010	2,008	-42,4	2,014	2,001	1,997	2,020	-42,3
B3LYP-D3/BS2	2,023	2,006	2,033	2,022	-39,21	2,031	2,020	2,017	2,037	-38,5
M062X/6-31+G(d,p)	2,015	2,011	2,031	2,032	-46,1	2,034	2,021	2,015	2,043	-44,9
M062X/SDD	1,997	1,990	2,012	2,006	-45,7	2,009	2,000	1,994	2,021	-46,4
M062X/BS1	2,019	2,014	2,036	2,035	-45,5	2,037	2,025	2,016	2,047	-46,2
M062X/BS2	2,024	2,014	2,037	2,031	-42,7	2,037	2,025	2,021	2,046	-41,7

TABLE. 6.6 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-}MeIm)_4]^{2+}$.

Structures	A						B					
Méthodes	Zn-N_π	Zn-N_τ	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-O	θ	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-O	θ
B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	2,030	2,020	2,029	2,015	4,570	-67,3	2,021	2,025	2,029	2,025	3,836	-67,9
B3LYP-D3/SDD	2,036	2,082	2,043	2,019	2,457	-62,4	2,003	2,000	2,017	2,016	4,808	-71,9
B3LYP-D3/BS1	2,031	2,021	2,031	2,016	4,570	-67,3	2,024	2,027	2,031	2,026	3,845	-74,5
B3LYP-D3/BS2	2,133	2,138	2,147	2,103	2,329	-59,4	2,106	2,149	2,126	2,129	2,436	-71,2
M062X/ 6-31+G(d,p)	2,089	2,110	2,097	2,061	2,339	-59,2	2,062	2,095	2,073	2,065	2,594	-73,7
M062X/SDD	2,088	2,081	2,087	2,042	2,226	-55,8	2,038	2,077	2,055	2,048	2,475	-72,2
M062X/BS1	2,084	2,108	2,090	2,060	2,380	-59,5	2,063	2,093	2,063	2,630	2,607	-71,9
M062X/BS2	2,138	2,131	2,144	2,103	2,260	-55,8	2,022	2,007	2,021	2,026	2,370	-71,8

TABLE. 6.7 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-}MeIm)_4H_2O]^{2+}$.

Structures	A						B					
Méthodes	Cu-N_π	Cu-N_τ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-O	θ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-O	θ
B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	2,025	2,004	2,042	2,032	2,447	-5,6	2,023	2,005	2,043	2,032	2,482	-9,7
B3LYP-D3/SDD	2,000	2,026	2,000	2,055	2,307	-42,2	1,991	1,994	2,003	1,987	3,060	-36,0
B3LYP-D3/BS1	1,999	2,015	2,005	2,005	3,108	-39,36	2,029	2,037	2,011	2,047	2,464	9,9
B3LYP-D3/BS2	2,061	2,029	2,046	2,047	2,426	-21,0	2,046	2,028	2,063	2,050	2,413	-9,7
M062X/ 6-31+G(d,p)	2,051	2,028	2,067	2,058	2,326	-4,5	2,050	2,031	2,065	2,062	2,335	-7,0
M062X/SDD	2,014	2,047	2,021	2,085	2,206	-45,0	2,047	2,042	2,024	2,020	2,366	-35,2
M062X/BS1	2,034	2,060	2,040	2,090	2,347	-43,9	2,065	2,060	2,042	2,045	2,466	-36,0
M062X/BS2	2,059	2,045	2,048	2,063	2,35	-34,0	2,059	2,054	2,046	2,044	2,454	-33,2

TABLE. 6.8 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-}MeIm)_4H_2O]^{2+}$.

Structures	A						B					
Méthodes	Zn-N_π	Zn-N_τ	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-O	θ	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-O	θ
B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	2,055	2,036	2,053	2,037	3,472	-61,8	2,042	2,043	2,054	2,058	3,495	-68,1
B3LYP-D3/SDD	2,050	2,089	2,057	2,021	2,325	-60,6	2,013	2,013	2,027	2,037	3,467	-67,9
B3LYP-D3/BS1	2,056	2,036	2,056	2,038	3,473	-62,0	2,037	2,033	2,059	2,055	3,644	-64,3
B3LYP-D3/BS2	2,143	2,152	2,166	2,132	2,282	-55,4	2,125	2,167	2,155	2,151	2,393	-68,3
M062X/ 6-31+G(d,p)	2,100	2,123	2,108	2,073	2,259	-58,2	2,083	2,127	2,092	2,079	2,358	-69,1
M062X/SDD	2,081	2,093	2,086	2,047	2,166	-56,1	2,052	2,094	2,068	2,056	2,289	-69,2
M062X/BS1	2,079	2,106	2,107	2,098	2,363	-70,1	2,078	2,108	2,108	2,099	2,355	-70,3
M062X/BS2	2,140	2,147	2,149	2,131	2,232	-53,4	2,128	2,149	2,146	2,146	2,282	-68,2

TABLE. 6.9 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-}MeIm)_4H_2O]^{2+}$ avec PCM.

Structures	A						B					
Méthodes	Cu-N_π	Cu-N_τ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-O	θ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-O	θ
B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	2,021	1,998	2,034	2,030	2,398	-6,4	2,020	2,003	2,036	2,032	2,397	-8,7
B3LYP-D3/SDD	1,990	2,025	1,991	2,068	2,233	-44,9	2,031	2,019	2,012	2,002	2,348	-32,6
B3LYP-D3/BS	1 2,009	2,025	2,009	2,056	2,421	-40,2	2,028	2,010	2,037	2,033	2,396	-10,3
B3LYP-D3/BS2	2,053	2,018	2,046	2,044	2,357	-6,6	2,043	2,026	2,054	2,047	2,353	-9,8
M062X/ 6-31+G(d,p)	2,048	2,025	2,058	2,058	2,296	-4,7	2,045	2,027	2,058	2,060	2,294	-6,4
M062X/SDD	2,004	2,047	2,011	2,112	2,123	-49,3	2,052	2,037	2,025	2,021	2,251	-32,1
M062X/BS1	2,023	2,068	2,029	2,137	2,210	-48,2	2,075	2,060	2,039	2,049	2,356	-33,9
M062X/BS2	2,050	2,046	2,044	2,069	2,288	-33,9	2,050	2,035	2,053	2,055	2,296	-7,0

TABLE. 6.10 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-}MeIm)_4H_2O]^{2+}$ avec PCM.

Structures	A						B					
Méthodes	Zn-N_π	Zn-N_τ	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-O	θ	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-N_π	Zn-O	θ
B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	2,058	2,036	2,056	2,038	3,480	-61,7	2,041	2,044	2,054	2,060	3,500	-67,9
B3LYP-D3/SDD	2,050	2,088	2,057	2,021	2,331	-60,7	2,014	2,013	2,027	2,037	3,469	-67,7
B3LYP-D3/BS1	2,059	2,037	2,059	2,039	3,483	-61,8	2,039	2,034	2,064	2,071	2,526	-66,2
B3LYP-D3/BS2	2,145	2,153	2,167	2,131	2,295	-55,6	2,129	2,176	2,148	2,147	2,359	-66,9
M062X/ 6-31+G(d,p)	2,098	2,127	2,090	2,075	2,259	-58,6	2,084	2,129	2,094	2,084	2,345	-68,3
M062X/SDD	2,081	2,093	2,085	2,048	2,166	-56,2	2,054	2,094	2,069	2,057	2,284	-68,9
M062X/BS1	2,094	2,125	2,105	2,074	2,291	-58,7	2,079	2,107	2,108	2,099	2,356	-70,3
M062X/BS2	2,134	2,150	2,148	2,130	2,241	-54,1	2,125	2,165	2,148	2,137	2,282	-66,8

TABLE. 6.11 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-}MeIm)_4H_2O]^{2+}$ avec C-PCM.

Structures	A						B					
Méthodes	Cu-N_π	Cu-N_τ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-O	θ	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-N_π	Cu-O	θ
B3LYP-D3/ 6-31+G(d,p)	2,021	1,998	2,034	2,300	2,398	-6,6	2,020	2,004	2,035	2,032	2,402	-8,9
B3LYP-D3/SDD	1,990	2,026	1,991	2,070	2,231	-45,1	2,031	2,018	2,013	2,003	2,346	-32,3
B3LYP-D3/BS1	2,009	2,025	2,009	2,055	2,421	-40,3	2,036	2,027	2,039	2,010	2,394	-9,1
B3LYP-D3/BS2	2,052	2,018	2,046	2,044	2,356	-6,7	2,043	2,026	2,053	2,047	2,354	-9,4
M062X/ 6-31+G(d,p)	2,048	2,026	2,058	2,057	2,294	-6.3	2,046	2,029	2,057	2,059	2,298	-7,0
M062X/SDD	2,004	2,046	2,011	2,113	2,123	-49,2	2,052	2,036	2,026	2,020	2,252	-32,0
M062X/BS1	2,023	2,068	2,029	2,140	2,205	-48,5	2,071	2,057	2,044	2,043	2,354	-33,0
M062X/BS2	2,049	2,046	2,044	2,070	2,287	-34,2	2,051	2,035	2,053	2,055	2,297	-7,2

TABLE. 6.12 – Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe [Cu(4-MeIm)$_4$ H_2O]$^{2+}$ avec C-PCM.

	ρ_{bcp}(u.a)	$\Delta\rho_{bcp}$(u.a)	H / ρ_{bcp}(u.a)	E_{int}(Kcal/mol)
Cu-N	0.0799	+0.292	-0.36	41.0
	0.0789	+0.289	-0.36	40.4
	0.0767	+0.262	-0.38	38.6
	0.0714	+0.240	-0.37	35.2
Cu-O	0.0344	+0.159	-0.09	14.4

TABLE. 6.13 – L'analyse AIM du ligand 4-MeIm coordonné dans le complexe de coordination C [Cu(4-MeIm)$_4$, H_2O] $^{2+}$ (calculés au nivau M062X/6-31+G(d,p)).

Bibliographie

[1] M. Vincent. Blood glucose : its measurement and clinical importance. *Clinica Chimica Acta*, 251 :3–17, 1996.

[2] C. Tran-Minh. *Les biocapteurs. Principes, construction et applications*. Edition Masson, Paris ; Milan ; Barcelone, 1991.

[3] DM. Livermore. β-lactamase mediated resistance : past, present and future. *J. Infect. Dis. Soc*, 6 :75–83, 1995.

[4] J. M. Ghuysen. Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu. Rev. Microbiol*, 45 :37–67, 1991.

[5] N. Nanninga. Cell division and peptidoglycan assembly in Escherichia coli. *Mol. Microbiol*, 5(45) :791–795, 1991.

[6] C. Walsh. *Antibiotics : Actions, origins, resistance*. Washington, DC : ASM Press, 2003.

[7] W. Michael, W. Crowder, J. Spencer, J. Alejandro, and J. Vila. Metallo--lactamases : Novel Weaponry for Antibiotic Resistance in Bacteria. *Acc. Chem. Res*, 39 :721–728, 2006.

[8] A. Matagne, J. Lamotte-Brasseur, and J-M. Frère. Catalytic properties of class A β-lactamases : efficiency and diversity. *Biochem. J*, 330(Pt2) :581–598, 1998.

[9] R. P. Ambler. The structure of β -lactamases. *hilos. Trans. R. Soc. Lond.(Biol.)*, 289 :321–331, 1980.

[10] K. Bush, G. A. Jacoby, and A. A. Medeiros. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemothe*, 39(6) :1211–1233, 1995.

[11] M. H. Richmond and R. B. Sykes. The beta-lactamases of gram negative bacteria and their possible physiological role. *Adv Microb Physiol*, 9 :31–88, 1973.

[12] A. Philippon, G. Arlet, and G.A. Jacoby. Plasmid-determined AmpC-type β-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, 46 :1–11, 2002.

[13] Y. Doi, J-I. Wachino, M. Ishiguro, H. Kurokawa, K. Yamane, N. Shibata, K. Shibayama, K. Yokoyama, H. Kato, T. Yagi, and Y. Arakawa. nhibitor sensitive AmpC β-lactamase variant produced by an Escherichia coli clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. Antimicrob. *Antimicrob. Agents Chemother*, 48 :2652–2658, 2004.

[14] M. Galleni, J. Lamotte-Brasseur, G.M. Rossolini, J. Spencer, O. Dideberg, J.M. Frère, and the metallo-β-lactamase working group. Standard numbering scheme for class B β-lactamases. *Antimicrob. Antimicrob. Agents Chemother*, 45 :660–663, 2001.

[15] S. uwabara and E. P. Abraham. Some properties of two extracellular beta-lactamases from Bacillus cereus 569/H. *Biochem. J*, 103 :27C–30C, 1967.

[16] A. Carfi, S. Parès, E. Duée, M. Galleni, C. Duez, and J. M. et al. Frère. The 3-D structure of a zinc metallo-beta-lactamase from Bacillus cereus reveals a new type of protein fold. *EMBO J*, 14 :4914–4921, 1995.

[17] R. Paul-Soto, M. Hernandez-Valladares, M. Galleni, R. Bauer, R. Zeppezauer, and J-M. et al. Frère. Mono- and binuclear Zn-beta-lactamase from Bacteroides fragilis : catalytic and structural roles of the zinc ions. *FEBS Letters*, 438 :137–140, 1988.

[18] R. Paul-Soto, R. Bauer, J-M. Frère, M. Galleni, W. Meyer-Klaucke, and H. et al. Nolting. Monoand binuclear Zn(II) beta-lactamase. Role of the conserved cysteine in the catalytic mechanism. *J. Biol. Chem*, 274 :13242–13249, 1999.

[19] J. H. Ullah, T. R. Walsh, I. A. Taylor, D. C. Emery, C. S. Verma, and S. J. et al. Gamblin. The crystal structure of the L1 metallo-beta-lactamase from Stenotrophomonas maltophilia at 1.7 Å resolution. *J. Mol. Biol*, 284 :125–136, 1998.

[20] J. Spencer, J. Read, R. B. Sessions, S. Howell, G. M. Blackburn, and S. J. Gamblin. Antibiotic recognition by binuclear metallo-beta-lactamases revealed by X-ray crystallography. *J. Am. Chem. Soc*, 127 :14439–14444, 2005.

[21] C. M Kunin, K. S. Johansen, A. M. Worning, and F. D. Daschne. Report of a symposium on use and abuse of antibiotics worldwide. *Rev. Infect. Dis*, 12 :12–19, 1990.

[22] W. Witte. Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans. *Ciba Found Symp*, 207 :61–71, 1997.

[23] B. H. Normark and S. Normark. Evolution and spread of antibiotic resistance. *J Intern Med*, 252 :91–106, 2002.

[24] E. Schrodinger. Quantisierung als Eigenwertproblem (Zweite Mitteilung). *Annalen der Physik*, 76 :489–527, 1993.

[25] W. Kolos and L. Wolniewicz. Accurate Adiabatic Treatment of the Ground State of the Hydrogen Molecule. *J. Chem. Phys*, 41 :3663, 1964.

[26] B.T. Sutcliffe. The Nuclear Motion Problem in Molecular Physics. *Adv. Quant. Chem*, 28 :65–80, 1997.

[27] B.T. Sutcliffe. . *Adv. Quant. Chem*, 114 :1, 2000.

[28] L. Kris and G. Heyde. *Basic Ideas and Concepts in Nuclear Physics, An Introductory Approach*. Taylor & Francis, 2004.

[29] P. W. Atkins.

[30] W. Pauli. *Z. Physik*, 16 :155, 1923.

[31] C. J. Cramer. *Essentials of computational chemistry*. John Wiley & Sons, 2002.

[32] R. S. Mulliken. . *J. Chem. Phys*, 3 :375, 1935.

[33] C. D. Sherrill and H. F. Schaefer. The Configuration Interaction Method : Advances in Highly Correlated Approaches. *Adv. Quant. Chem*, 34 :143–269, 1999.

[34] H. A. Bent. Structural chemistry of donor-acceptor interactions. *Chem. Rev*, 68 :587–648, 1968.

[35] E. R. Davidson and D. Feller. Basis set selection for molecular calculations. *Chem. Rev*, 86 :681–696, 1986.

[36] J. C. Slater. Atomic Shielding Constants. *Phys.Rev*, 36 :57, 1930.

[37] S.F. Boys. Electronic wavefunctions. I. A general method of calculation for stationary states of any molecular system. *Proc. R. Soc. Lond. A*, 200 :542–554, 1950.

[38] M. Iann GERBER. *Description des forces de van der waals*. PhD thesis, 2005.

[39] P. J. Hay and W. R. Wadt. Ab initio effective core potentials for molecular calculations - potentials for the transition-metal atoms Sc to Hg. *J. Chem. Phys*, 82(1) :270–283, 1985.

[40] P. J. Hay and W. R. Wadt. Ab initio effective core potentials for molecular calculations - potentials for K to Au including the outermost core orbitals. *J. Chem. Phys*, 82 :299–310, 1985.

[41] F. Jensen. *Introduction to Computational Chemistry*. 1999.

[42] C. C. J. Roothaan. *Reviews of Modern Physics*, 23 :69, 1951.

[43] G. G. Hall. *Proceedings of the Royal Society*, A205 :541, 1951.

[44] I. Shavitt. *Methods of Electronic Structure Theory in : The method of configuration interaction*, pages 189–275. Plenum Press, New York, 1977.

[45] A. Jugl. *Chimie Quantique Structurale et Eléments de Spectroscopie Théorique*. 1978.

[46] C. Møller and M. S. Plesset. *Phys. Rev*, 46 :618, 1934.

[47] L.H. Thomas. The calculation of atomic field. *Proc. Cambridge Phil. Roy. Soc*, 23 :542–548, 1927.

[48] E. Fermi. Un metodo statistico per la determinazione di alcune priorieta dell'atome. *Rend. Accad. Naz. Lincei*, 6 :602–607, 1927.

[49] P. A. M. Dirac. Note on exchange phenomena in the Thomas-Fermi atom. *Proc. Cambridge Phil. Roy. Soc*, 26 :376–385, 1930.

[50] R. G. Parr and W. Yang. *Density-functional theory of atoms and molecules*. Oxford university press, 1989.

[51] P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev*, 136 :B846–871, 1964.

[52] E. H. Lieb and S. Oxford. An Improved Lower Bound on the Indirect Coulomb Energy. *Int.J.Quant.Chem*, 19 :427–439, 1981.

[53] J. C. Slater. *Quantum theory of molecules and solids / Vol. 4, The self-consistent field for molecules and solids.* McGraw-Hill, New York, 1974.

[54] S. H. Vosko, L. Wilk, and M. Nusair. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for spin density calculation : A critical analysis. *Can. J. Phys*, 80 :1200–1211, 1980.

[55] T. Yanai, D. Tew, and N. Handy. A new hybrid exchange-correlation functional using the coulomb-attenuating method(cam-b3lyp). *Chem. Phys. Lett*, 393 :51–57, 2004.

[56] J.P. Perdew. *Unified Theory of Exchange and Correlation Beyond the Local Density Approximation, in Electronic Structure of Solids '91*, pages 11–20. Akademie Verlag, Berlin, 1991.

[57] Y. Zhao and D. G. Truhlar. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements : Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theor. Chem. Acc*, 120(1) :215–241, 2008.

[58] S Grimme. Accurate description of van der Waals complexes by density functional theory including empirical corrections. *J. Comp. Chem*, 25(12) :1463–1473, 2004.

[59] S Grimme. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. *J. Comp. Chem*, 27(15) :1787–1799, 2006.

[60] S Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, and H. Krieg. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu . *J. Chem. Phys*, 132 :154104, 2010.

[61] D. H Andrews. *Phys. Rev*, 36 :544, 1930.

[62] N. Allinger. Conformational Analysis. 130. MM2. A hydrocarbone force field utilizing V 1 and V 2 torsional terms. *J. Am. Chem. Soc*, 99(25), 1977.

[63] O. Ermer and S. Lifson. Consistent force field calculations. III. Vibrations, conformations, and heats of hydrogenation of nonconjugated olefins. *J. Am. Chem. Soc*, 95 :4121–4132, 1973.

[64] P. K. Weiner and P. A. Kollman. AMBER : Assisted Model Building with Energy Refinement. A general program for modeling molecules and their interactions. *J. Comp.Chem*, 3(3) :287–303, 1981.

[65] N. Allinger, H. Yuh, and J. H. Lii. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc*, 111(23) :8551–8566, 1989.

[66] J. H. Lii and N. Allinger. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 2. Vibrational frequencies and thermodynamics. *J. Am. Chem. Soc*, 111(23) :8566–8575, 1989.

[67] J. H. Lii and N. Allinger. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 3. The van der Waals' potentials and crystal data for aliphatic and aromatic hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc*, 111(23) :8576–8582, 1989.

[68] S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, and P. K. Weiner. A new force field for molecular mechanical simulation of Nucleic acids and Proteins. *J. Amer. Chem. Soc*, 106(3) :765–784, 1984.

[69] R. Lavery, H. Sklenar, K. Zakrzewska, and B. Pullman. The flexibility of the nucleic acids : (II). The calculation of internal energy and applications to mononucleotide repeat DNA. *J. Biomol. Struct. Dyn*, 3(5) :989–1014, 1986.

[70] L. Pauling. *The nature of the chemical bond.* . Cornell University Press, Ithaca, NY, 1939.

[71] D. A. Pearlman and P. A. Kollman. Evaluating the assumptions underlying force field development and application using free energy conformational maps for nucleosides. *J. Am. Chem. Soc*, 113 :7167–7177, 1991.

[72] M. Levitt. How many base-pairs per turn does DNA have in solution and in chromatin ? Some theoretical calculations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75(23) :640–644, 1978.

[73] B. Gelin and M. Karplus. Side-chain torsional potentials : Effect of dipeptide, protein, and solvent environnement. *Biochemistry*, 18 :1256–1268, 1979.

[74] N. Allinger and J. T. Sprague. Conformational analysis. XC. Calculation of the structures of hydrocarbons containing delocalized electronic systems by the molecular mechanics method. *J. Am. Chem. Soc*, 95 :3893–3907, 1973.

[75] E. M. Engler, J. D. Androse, and P. R. Schleyer. *J. Am. Chem. Soc*, 95 :8005–8025, 1973.

[76] J. T. Sprague, J. C. Taij, Y. Young, and N. Allinger. The MMP2 calculational method. *J. Comp. Chem*, 8 :581–603, 1987.

[77] A. Warshel. Quantum Mechanical Consistent Force Field (QCFF/PI) Method : Calculations of Energies, Conformations and Vibronic Interactions of Ground and Excited States of Conjugated Molecules. *Israel J. Chem*, 11(5) :709, 1973.

[78] P. Dauber-Osguthorpe, V. A. Roberts, D. J. Osguthorpe, J. Wol, M. Genest, and A. T. Hagler. Structure and energetics of ligand binding to proteins : Escherichia coli dihydrofolate reductase-trimethoprim, a drug-receptor system. *Proteins*, 4(1) :31–47, 1988.

[79] W. L. Jorgensen and J. Tirado-Rives. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. *J. Am. Chem. Soc*, 110(6) :1657–1666, 1988.

[80] J. J. Gajewski, K. E. Gilbert, and J. McKelvey. MMX an Enhanced Version of MM2. *Adv. in Molecular Modeling*, 2 :65–92, 1990.

[81] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, and M. Karplus. A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *J. Comp. Chem*, 4 :187–217, 1983.

[82] J. Hermans, H. J. C. Berendsen, W. F. Van Gunsteren, and J. P. M Postma. A Consistent Empirical Potential for Water-Protein Interactions. *Biopolymers*, 23 :1513–1518, 1984.

[83] H. Bekker, H. J. C. Berendsen, E. J. Dijkstra, S. Achterop, R. Van Drunen, D. Van Der Spoeln, A. Sijbers, H. Keegstra, B. Reitsma, and M. K. R. Renardus. *Physics Computing*, 92 :252–256, 1993.

[84] S. L. Mayo, B. D. Olafson, and W. A. Goddard. DREIDING : a generic force field for molecular simulations. *J. Phys. Chem*, 94(26) :8897–8909, 1990.

[85] N. Allinger, K. Chen, and J. H. Lii. An Improved Force Field (MM4) for Saturated Hydrocarbons. *J. Comp. Chem*, 17 :642–668, 1996.

[86] M. J. Hwang, T. P. Stocksch, and A. T. Hagler. Derivation of Class II Force Fields. II. Derivation and Characterization of a Class II Force Field, CFF93, for the Alkyl Functional Group and Alkane Molecules. *J. Am. Chem. Soc*, 116 :2515–2525, 1994.

[87] T. A. Halgren. The representation of van der Waals (vdW) interactions in molecular mechanics force fields : potential form, combination rules, and vdW parameters. *J. Am. Chem. Soc*, 114 :7827–7843, 1992.

[88] A. K. Rappe, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard III, and W. M. Skiff. UFF, a Rule-Based Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. *J. Am. Chem. Soc*, 114 :10035, 1992.

[89] A. Warshel and M. Levitt. Theoretical studies of enzymic reactions : dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme. *J. Mol. Biol*, 103 :227–249, 1976.

[90] J.M. Wilson, R.J. Bayer, and D.J. Hupe. Structure-Reactivity Correlations for the Thiol-Disulfide Interchange Reaction. *J. Am. Chem. Soc*, 99(24) :7922–7926, 1977.

[91] D.M. Rothwarf and H.A. Scheraga. Equilibrium and kinetic constants for the thiol-disulfide interchange reaction between glutathione and dithiothreitol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89 :7944–7948, 1992.

[92] S. Dapprich, I. Komáromi, K. S. Byun, K. Morokuma, and M. J. Frisch. A New ONIOM Implementation in Gaussian 98. Part 1. The Calculation of Energies, Gradients and Vibrational Frequencies and Electric Field Derivatives. *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 461-462 :1–21, 1999.

[93] N. L . Íevy. *Solvatation des macromolécules complexes : une approche fonctionnelle de l'équation de Poisson-Boltzmann*. PhD thesis, 2002.

[94] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, and M. L. Klein. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Am. Chem. Phys*, 79 :926–935, 1983.

[95] W. L. Jorgensen and J. D. Madura. Temperature and size dependence for monte carlo simulations of TIP4P water. *Mol. Phys*, 56 :1381–1392, 1985.

[96] H.J.C. Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. Van Gunsteren, and J. Hermans. *Interaction models for water in relation to protein hydration, in : Intermolecular Forces*, pages 331–342. B. pullman edition, 1981.

[97] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, and T. P. Straatsma. The missing term in eective pair potentials. *J. Phys. Chem*, 91 :6269–6271, 1987.

[98] B. Honig, K. Sharp, and A. Yang. Macroscopic models of aqueous solutions : biological and chemical applications. *J. Phys. Chem*, 97 :1101–1109, 1993.

[99] T. Simonson. Macromolecular electrostatics : continuum models and their growing pains. *Curr. Opin. Struct. Biol*, 11(2) :243–252, 2001.

[100] T. Simonson. Electrostatics and dynamics of proteins. *Rep. Prog. Phys*, 66 :737–787, 2003.

[101] J. Tomasi, B. Mennucci, and R. Cammi. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chem. Rev*, 105(8) :2999–3094, 2005.

[102] C. J. Cramer and D. G. Truhlar. Implicit Solvation Models : Equilibria, Structure, Spectra, and Dynamics. *Chem. Rev*, 99(8) :2161–2200, 1999.

[103] J. D. Jackson. *Classical electrodynamics*. New York, 3rd edition, 1999.

[104] A. Hassan, F. Guarnieri, and E. L. Mehler. A general treatment of solvent effects based on screened coulomb potentials. *J. Phys. Chem. B*, 104 :6478–6489, 2000.

[105] A. R. Leach. *Molecular Modelling : Principles and application*. Pearson, 2nd edition, 2001.

[106] M. Born. Volumen und Hydratationswärme der Ionen. *Zeitschrift für Physik*, 1(1) :45–48, 1920.

[107] L. J. Onsager. *Am. Chem. Sco*, 58 :1486, 1936.

[108] M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, and V. Barone. New Developments in the Ploarizable Continuum Model for Quantum Mecanical Classical Calculations on Molecules in Solution. *J. Chem. Phys*, 117 :43–54, 2002.

[109] V. Barone and M. Cossi. *J. Am. Chem. Phys*, 102 :1995, 1998.

[110] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, and V. Barone. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. *J. Comp. Chem*, 24 :669–681, 2003.

[111] V. Barone, M. Cossi, and J. Tomasi. *J. Am. Chem. Phys*, 107 :3210, 1997.

[112] R. F. W. Bader. *Atoms in molecules*. Oxford University Press, Oxford, UK, 1990.

[113] P. Macchi, D. M. Proserpio, and A. Sironi. Experimental electron density in a transition metal dimer : Metal-metal and metal-ligand bonds. *J. Am. Chem. Soc.*, 120 :13429–13435, 1998.

[114] A. D. Becke and K. E. Edgecombe. A simple measure of electron localization in atomic and molecular systems. *J. Chem. Phys*, 92 :5397–5403.

[115] B. Silvi and A. Savin. Classification of Chemical-Bonds Based on Topological Analysis of Electron Localization Functions. *Nature*, (371) :683–686, 1994.

[116] B. Silvi, I. Fourre, and M. E. Alikhani. The topological analysis of the electron localization function. A key for a position space representation of chemical bonds. *Monatshefte Fur Chemie*, 136 :855–879, 2005.

[117] J. Poater, M. Duran, M. Solà, and B. Silvi. Theoretical evaluation of electron delocalization in aromatic molecules by means of atoms in molecules (AIM) and electron localization function (ELF) topological approaches. *Chem. Rev*, 105 :3911–3947, 2005.

[118] B. Silvi, C. Gatti, and R. J. Gillespie. *Comprehensive Inorganic Chemistry II : From Elements to Applications*, volume 9. Elsevier.

[119] B. Silvi. *J. Mol. Struct.*, 614 :3–10, 2002.

[120] C. Lepetit, B. Silvi, and R. Chauvin. ELF analysis of out-of-plane aromaticity and in-plane homoaromaticity in carbon[N]annulenes and [N]pericyclynes. *J. Phys. Chem. A*, 107 :464–473, 2003.

[121] B. Silvi. How topological partitions of the electron distributions reveal delocalization. *J. Phys. Chem. Chem. Phys.*, 6 :256–260, 2004.

[122] IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*. 2nd ed. (the "Gold Book") (Eds. : A. D. McNaught, A. Wilkinson), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.

[123] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Had, and D. J. Fox. Gaussian 09, Revision D.01. *Gaussian Inc, Wallingford.*, page 2013.

[124] T. Dudev and C. Lim. Principles governing Mg, Ca, and Zn binding and selectivity in proteins. *Chem. Rev*, 103 :773–788, 2003.

[125] R. J. F. Branco, P. A. Fernandes, and M. J. Ramos. Molecular Dynamics Simulations of the Enzyme Cu, Zn Superoxide Dismutase. *J. Phys. Chem. B*, 110 :16754–16762, 2006.

[126] M. Chvapil. Effect of zinc on cells and biomembranes. *Med. Clin. North. Am*, 57 :376–377., 1976.

[127] S. Khaled, J.F. Brun, L Bardet, and G. Cassanas. Importance physiologique du zinc dans l'activité physique . *Science & Sports*, 12(3) :179–191, 1997.

[128] R. Ditchfield, W. J. Hehre, and J. A. Pople. Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules. *J. Chem. Phys*, 54 :724, 1971.

[129] M. Dolg, H. Stoll, H. Preuss, and R. M. Pitzer. Relativistic and correlation effects for element 105 (hahnium, Ha) : a comparative study of M and MO (M = Nb, Ta, Ha) using energy-adjusted ab initio pseudopotentials. *J. Chem. Phys*, 97(22) :5852–5859, 1993.

[130] I. M. Alecu, J. Zheng, Y. Zhao, and D. G. Truhlar. Computational thermochemistry : Scale factor databases and scale factors for vibrational frequencies obtained from electronic model chemistries. *J. Chem. Theory. Comput*, 6(9) :2872–2887, 2010.

[131] J. P. Merrick, D. Moran, and L. Radom. An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors. *J. Phys. Chem A*, 11 :11683–11700, 2007.

[132] J. C. Decius. Complete sets and redundancies among small vibrational coordinates. *J. Chem. Phys*, 17 :1315, 1949.

[133] P. Pulay, G. Fogarasi, F. Pang, and J. E. Boggs. Systematic ab Initio Gradient Calculation of Molecular Geometries, Force Constants, and Dipole Moment Derivatives. *J. Am. Chem. Soc*, 101 :2550–2560, 1979.

[134] P. Youkharibache. *Systèmes de coordonnées dans l'étude des vibrations moléculaires. Détermination ab initio des champs de force : confrontation expérimentale et transférabilité.* PhD thesis, 1986.

[135] M. Tadjeddine and J. P. Flament. Ab initio interpretation of sum frequency generation spectra of 4-cyanopyridine adsorbed on Au(1 1 1). *J. Chem. Phys*, 265(1) :27–46, 2001.

[136] B. Xerri, H. Petitjean, F. Dupeyrat, and al. Mid- and far-infrared marker bands of the metal coordination sites of the histidine side chains in the protein Cu,Zn-superoxide dismutase. *Eur. J. Inorg. Chem*, 27 :4650–4659, 2014.

[137] B. Xerri, J. P. Flament, H. Petitjean, and al. Vibrational modeling of copper-histamine complexes : Metal-ligand IR modes investigation. *J. Phys. Chem. B*, 113(45) :15119–15127, 2009.

[138] R. Dennington, T. Keith, and J. Millam. GaussView, Version 5. *Semichem Inc. Shawnee Mission. KS*, page Semichem Inc, 2009.

[139] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten. VMD : Visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph*, 14(1) :33–38, 1996.

[140] S. Noury, X. Krokidis, F. Fuster, and B. Silvi. Computational tools for the electron localization function topological analysis. *Comput. Chem*, 23 :597–604, 1999.

[141] S. Portmann and HP. Lüthi. MOLEKEL : An Interactive Molecular Graphics Tool. *Chimia*, 54 :766–770, 2000.

[142] T. A. Keith. AIMAll (Version 16.01.09), TK Gristmill Software, Overland Park KS U. 2016(aim.tkgristmill.com).

[143] N. Rollet. *Etude des propriétés de coordination de nouveaux ligands macrocycliques vis-à-vis de cations métalliques en vue de l'utilisation de leurs complexes pour l'imagerie médicale nucléaire Fin de la conversation* . PhD thesis, 2011.

[144] K. Patel, A. Kumar, and S. Durani. Analysis of the structural consensus of the zinc coordination centers of metalloprotein structures. *Biochim. Biophys. Acta*, 1774(10) :1247–1253, 2007.

[145] I. L. Alberts, K. Nadassy, and S. J. Wodak. Analysis of zinc binding sites in protein crystal structures. *Protein. Sci.*, 7(8) :1700–1716., 1998.

[146] M. A. Hough and S. S. Hasnain. Structure of fully reduced bovine copper zinc superoxide dismutase at 1.15 Å. *Structure*, 11(8) :937–946, 2003.

[147] M. A. Hough, R. W. Strange, and S. S. Hasnain. Conformational variability of the Cu site in one subunit of bovine CuZn superoxide dismutase : the importance of mobility in the Glu119-Leu142 loop region for catalytic function. *J. Mol. Biol*, 304(2) :2314–241, 2000.

[148] K. Hakansson, M. Carlsson, L. A. Svensson, and A. Liljas. Structure of native and apo carbonic anhydrase II and structure of some of its anion-ligand complexes. *J. Mol. Biol*, 227 :1192–1204, 1992.

[149] P. Comba and R. Remenyi. A new molecular mechanics force field for the oxidized form of blue copper proteins. *J. Comp. Chem*, 23(7) :697–705, 2002.

[150] S. F. Liu, Q Wu, H. L. Schmider, H. Aziz, N. X. Hu, Z. Popovic, and S Wang. Syntheses , Structures , and Electroluminescence of New Blue / Green. *J. Am. Chem. Soc*, 122 :3671–3678, 2000.

[151] S. M. Yue, H. B. Xu, J. F. Ma, Z. M. Su, Y. H. Kan, and H. J Zhang. Design and syntheses of blue luminescent zinc(II) and cadmium(II) complexes with bidentate or tridentate pyridyl-imidazole ligands. *Polyhedron*, 25 :635–644, 2006.

[152] H. Ohtsu, Y. Shimazaki, A. Odani, O. Yamauchi, W. Mori, S. Itoh, and S. Fukuzumi. Synthesis and characterization of imidazolate-bridged dinuclear complexes as active site models of Cu,Zn-SOD. *J. Am. Chem. Soc*, 122 :5733–5741, 2000.

[153] P. Chen, J. Bell, B. A Eipper, and E. I. Solomon. Oxygen activation by the noncoupled binuclear copper site in peptidylglycine alpha-hydroxylating monooxygenase. Spectroscopic Definition of the Resting Sites and the Putative Cu^{II}_{M}-OOH Intermediate. *Biochemistry*, 43 :5735–5747, 2004.

[154] N. J. Blackburn, F. C. Rhames, M. Ralle, and S. Jaron. Major changes in copper coordination accompany reduction of peptidylglycine monooxygenase : implications for electron transfer and the catalytic mechanism. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 5 :341–353, 2000.

[155] A. Pasquarello, I. Petri, P. S. Salmon, O. Parisel, R. Car, E. Toth, D. H. Powell, H. E. Fischer, L. Helm, and A. E. Merbach. First solvation shell of the Cu(II) aqua ion : evidence for fivefold coordination. *Science (New York, NY)*, 291, 856–859.

[156] B. Barszcz, T. Glowiak, and J. Jezierska. Crystal and molecular structures of eight-coordinate (CuN4O4) and six-coordinate (CuN4O2) Cu(II) complexes with 4-methyl-5-imidazole-carboxaldehyde or 1-benzyl-2-hydroxymethylimidazole, respectively - Spectroscopic and potentiometric studies. *Polyhedron*, 18(27) :3713–3721, 1999.

[157] M. Laitaoja, J. Valjakka, and J. Jänis. Zinc coordination spheres in protein structures. *Inorg. Chem.*, 19(52) :10983–10991.

[158] T. Dudev and C. Lim. Tetrahedral vs Octahedral Zinc Complexes with Ligands of Biological Interest : A DFT/CDM Study . *J. Am. Chem. Soc*, 45(122) :11146–11153, 2000.

[159] N. Díaz, Suárez., and T. L. Sordo. Quantum Chemical Study on the Coordination Environment of the Catalytic Zinc Ion in Matrix Metalloproteinases. *J. Phys. Chem. B*, 47(110) :24222–24230, 2006.

[160] E. spinosa, E. Molins, and C. Lecomte. Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities. *J. Chem. Phys. Lett.*, 285 :170–173, 1998.

[161] E. Espinosa, I. Alkorta, I. Rozas, and al. About the evaluation of the local kinetic, potential and total energy densities in closed-shell interactions. *J. Chem. Phys. Lett.*, 336 :457–461, 2001.

[162] T. Miura, T. Satoh, and H. Takeuchi. Role of metal-ligand coordination in the folding pathway of zinc finger peptides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1384(1) :171–179, 1998.

[163] T. Miura, T. Satoh, A. Hori-i, and H. Takeuchi. Raman Marker Bands of Metal Coordination Sites of Histidine Side Chains in Peptides and Proteins. . *J. Raman Spectrosc*, 29 :41–47, 1998.

[164] T. Miura, A. Hori-i, H. Mototani, and H. Takeuchi. Raman spectroscopic study on the copper(II) binding mode of prion octapeptide and its pH dependence. *Biochemistry*, 38(35) :11560–11569, 1999.

[165] K. Hasegawa, T. A. Ono, and T. Noguchi. Ab initio density functional theory calculations and vibrational analysis of zinc-bound 4-methylimidazole as a model of a histidine ligand in metalloenzymes. *J. Phys. Chem. A*, 106 :3377–3390, 2002.

[166] Y. . El Khoury and P. Hellwig. Infrared spectroscopic characterization of copper-polyhistidine from 1,800 to 50 cm-1 : Model systems for copper coordination. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 14(1) :23–24, 2009.

[167] T. Noguchi, Y. Inoue, and X. S. Tang. Structure of a histidine ligand in the photosynthetic oxygen-evolving complex as studied by light-induced fourier transform infrared difference spectroscopy. . *Biochemistry*, 38 :10187–10195, 1999.

[168] J. Crisp, R. Conners, J.D. Garrity, A.L. Carenbauer, M. W. Crowder, and J. Spencer. Structural basis for the role of Asp-120 in metallo-beta-lactamases. *Biochemistry*, 46 :10664–10674, 2007.

[169] L. Nauton, R. Kahn, G. Garau, J.F. Hernandez, and O. Dideberg. Structural Insights into the Design of Inhibitors for the L1 Metallo-β-lactamase from Stenotrophomonas maltophilia. *J. Mol. Biol*, 375 :257–269, 2008.

[170] P. Hinchliffe, M. M. González, M. F. Mojica, J. M. González, V. Castillo, C. Saiz, M. Kosmopoulou, C. L. Tooke, L. I. Llarrull, G. Mahler, R. A. Bonomo, A. J. Vila, and J. Spencer. Cross-class metallo--lactamase inhibition by bisthiazolidines reveals multiple binding modes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 113 :E3745, 2016.

[171] S. U. Ivan, L. Nathan, and J. M. Todd. Charge Transfer and Polarization in Solvated Proteins from Ab Initio Molecular Dynamics. *J. Phys. Chem. Lett.*, 14(2) :1789–1793, 2011.

[172] B. C. Vincent, W. B. 3rd. Arendall, J. H. Jeffrey, A. K. Daniel, M. I. Robert, J. K. Gary, W. M. Laura, S. R. Jane, and C. R. David. MolProbity : all-atom structure validation for macromolecular crystallography. *Acta Cryst.*, D66 :12–21, 2010.

[173] L. Olsen, S. Jost, H. W. Adolph, I. Pettersson, L. Hemmingsen, and F. S. Jorgensen. New leads of metallo-beta-lactamase inhibitors from structure based pharmacophore design. *Bioorg. Med. Chem.*, 14 :2627–2635, 2006.

[174] WD. Cornell and al. *J. Am. Chem. Soc.*, 117 :5179–5197, 1995.

[175] U. Ryde. Molecular dynamic simulations of alcohol dehydrogenase with a four- or five-coordinate catalytic zinc ion. *Proteins, Struct. Funct. Genet*, 21 :40–56, 1995.

[176] U. Ryde. The coordination chemistry of the structural zinc ion in alcohol dehydrogenase studied by ab initio quantum chemical calculations. *Eur. Biophys. J*, 24 :213–221, 1996.

[177] U. Ryde. The coordination of the catalytic zinc ion in alcohol dehydrogenase studied by combined quantum chemical and molecular mechanical calculations. *J. Comput.-Aided Mol. Design*, 10 :153–164, 1996.

[178] Jr. Merz and M. Kenneth. C02 Binding to Human Carbonic Anhydrase II. *J. Am. Chem. Soc*, 113 :406–411, 1991.

[179] Jr. Merz, M. Kenneth, and al. Structural Survey of Zinc-Containing Proteins and Development of the Zinc AMBER Force Field (ZAFF). *J. Chem. Theory. Comput*, 6 :2935–2947, 2010.

[180] H. LiHong and R. Ulf. Comparison of Methods to Obtain Force-Field Parameters for Metal Sites. *J. Chem. Theory. Comput*, 7 :2452–2463, 2011.

[181] Jr. Merz, M. Kenneth, and al. Rational Design of Particle Mesh Ewald Compatible Lennard-Jones Parameters for +2 Metal Cations in Explicit Solvent. *J. Chem. Theory. Comput*, 9 :2733–2748, 2013.

[182] D. G. James, L. C. Anne, R. H. Lissa, and W. C. Michael. Metal Binding Asp-120 in Metallo--lactamase L1 from Stenotrophomonas maltophilia Plays a Crucial Role in Catalysis. *J. Biol. Chem.*, 279 :920–927, 2004.

Liste des tableaux

1.1 Classification des enzymes[1]. 10

3.1 Longueurs des liaisons moyennes Métal-N en Å pour différents complexes de type [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$]$^{2+}$. Les colonnes en gris contenant les valeurs de la structure II(B). 66

3.2 Longueurs de liaisons moyennes Métal-N en Å pour les complexes C et D de type [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$ H_2O]$^{2+}$. Les colonnes en gris contenant les valeurs de la structure II(C). 71

3.3 Longueurs des liaisons moyennes Métal-N en Å pour les complexes C et D de type [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$ H_2O]$^{2+}$ en solvant implicite PCM (C-PCM entre parenthèses et les colonnes en gris contenant les valeurs de la structure II(C)). 74

3.4 Modes vibrationnels calculés en cm^{-1} des bandes N_τH-MeIm et N_πH-MeIm pour la structure I du zinc avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3. 80

3.5 Modes vibrationnels calculés en cm^{-1} des bandes N_τH-MeIm et N_πH-MeIm pour la structure I du cuivre avec les fonctionnelles M062X et B3LYP-D3. 81

4.1 Données structurales de la structure L1 optimisée par différentes méthodes selon les modèles QM1/MM et QM2/MM. Les distances sont données en (Å), les angles en (°) et les énergies en (u. a). Les parenthèses correspondent à l'écart moyen entre les valeurs calculées et les valeurs expérimentales (code PDB : 2FM6). 94

4.2 Paramètres du champ de force Amber pour l'atome de zinc et le groupe de ligands associés. 96

4.3 Données structurales de l'optimisation de L1 avec l'inhibiteur II avec la méthode QM/MM, les distances sont données en (Å), les angles en (degrés) et les énergies en (u. a). 106

4.4 Données structurales de l'optimisation du complexe L1 et inhibiteur I avec la méthode QM/MM, les distances sont données en (Å) , les angles en (°) et les énergies en (u. a). 110

6.1 Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre A et B ayant la structure I et II, respectivement. 119

6.2 Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre C et D ayant la structure I et II, respectivement. 120

6.3 Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre C et D ayant la structure I et II, respectivement dans un solvant implicite PCM 120

6.4 Les différences d'énergie ΔE calculées en (kcal/ mol) entre C et D ayant la structure I et II, respectivement dans un solvant implicite C-PCM. . . . 121

6.5 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-MeIm})_4]^{2+}$. 121
6.6 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-MeIm})_4]^{2+}$. 122
6.7 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-MeIm})_4H_2O]^{2+}$. 122
6.8 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-MeIm})_4H_2O]^{2+}$. 123
6.9 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-MeIm})_4H_2O]^{2+}$ avec PCM. 123
6.10 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-MeIm})_4H_2O]^{2+}$ avec PCM. 124
6.11 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Zn(4\text{-MeIm})_4H_2O]^{2+}$ avec C-PCM. 124
6.12 Les longueurs de liaison Metal-Ligand calculées (en Å) et les angles dièdres $\theta(NNNN)$ pour les structures A et B, repectivement, de complexe $[Cu(4\text{-MeIm})_4\ H_2O]^{2+}$ avec C-PCM. 125
6.13 L'analyse AIM du ligand 4-MeIm coordonné dans le complexe de coordination C $[Cu(4\text{-MeIm})_4, H_2O]^{2+}$ (calculés au nivau M062X/6-31+G(d,p)). 125

Table des figures

1.1 Cycle β-lactame. 12
1.2 Structures chimiques des principeaux noyaux des β-lactamines. 13
1.3 Réaction de transpeptidation catalysée par la transpeptidase. 14
1.4 Blocage de la réaction de transpeptidation par une β-lactame. 14
1.5 Mécanisme proposé pour l''hydrolyse des carbapénèmes par une β-lactamase (noyau β-lactame en rouge et molécule d'eau en bleu) [7]. 15
1.6 Schémas de classification des β-lactamases des bactéries [10]. 16

2.1 Illustration de la procédure de la méthode SCF. 32
2.2 L'angle de torsion (dièdre) A-B-C-D, (ϕ) est l'angle entre les plans (ABC) et (BCD). 42
2.3 Modèle des paramètres de van der Waals pour une molécule diatomique de type X-X. Energie d'interaction en fonction de la distance interatomique. 43
2.4 Exemple d'un calcul ONIOM de 2-couches sur la chaîne B d'une MBL de stenotrophomonas maltophilia (L1) : le système modèle est représenté par des «Ball & stick» et le reste du système par des lignes. 49
2.5 Exemple d'un calcul ONIOM de 2-couches sur la chaîne B de métalloenzyme Zinc-beta-lactamase L1 de stenotrophomonas maltophilia. 50
2.6 Exemple d'un fichier input QM/MM. 51

3.1 Représentation de la forme de l'histidine neutre avec la notation de l'IUPAC)[122]. 58
3.2 Les deux formes de coordinations (N_π et N_τ) de 4-méthyl-imidazole aux ions métalliques. 58
3.3 Complexes de coordination métalliques modélisés. Les atomes coordonnés aux métaux sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. 59
3.4 Les complexes de coordination [métal-(4-méthyl-imidazole)$_4$]$^{2+}$, A et B de deux structures I et II respectivement. 65
3.5 Représentation graphique des structures cristallographiques de la protéine Cu-Zn-SOD dans ses deux formes réduite (Code PDB : 1Q0E [146]) et oxydée (Code PDB : 1E9Q [147]). Le site actif est en représentation «Ball & Strict» le reste en représentation «Ribbon» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet, cuivre : cuivrée. 68
3.6 Représentation graphique sur le plan de complexes de coordination métallique modélisés [(métal)-(4-méthylimidazole)$_4$H$_2$O]$^{2+}$, C et D des deux structures II et I respectivement. Les atomes coordonnés aux métaux sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. 69

3.7 Représentation graphique des deux formes géométrique (BPBT et PBC) de la structures I(D) optimisées au niveau M062X/6-31+G(d,p). Les atomes coordonnés au cuivre sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. cuivre : cuivrée. 72

3.8 Les principales formes mésomères de l'analyse ELF du 4-Méthyl-imidazole. 77

3.9 Le Graphe moléculaire QTAIM de [Cu(4-MeIm)$_4$, H_2O] $^{2+}$ avec une symétrie quasi bipyramidale triangulaire, structure D calculée au niveau M062X/6-31+G(d,p). Les points critiques de liaison sont représentés sous forme de sphères vertes, Les atomes sont en représentation «Ball & Strict». azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. cuivre : cuivrée 79

3.10 Superposition des spectres IR de la structure I du zinc optimisée dans un solvant implicite (PCM) aux niveaux B3LYP-D3/6- 31+G(d,p) et M062X/6-31+G(d,p). 82

3.11 Superposition des spectres IR de la structure I du cuivre optimisée dans un solvant implicite (PCM) aux niveaux B3LYP-D3/6- 31+G(d,p) et M062X/6-31+G(d,p). 83

4.1 Représentation graphique de la structure expérimentale du site actif de l'enzyme L1 (native), où W1 est un hydroxyde (OH^-) et W2 est une molécule d'eau (H_2O). Les deux cations de zinc, W1, et W2 sont en représentation «Ball & Strict» et le reste en représentation «Tube», azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge. 88

4.2 Représentations graphiques de la structure expérimentale de l'enzyme L1 (A), de la chaîne B de L1 (B) et du modèle simplifié de la chaîne B de L1 (C). Le site actif est représenté en «Ball & Strict», les autre atomes étant en «wireframe» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet. 90

4.3 Représentation graphique de la structure limitée au site actif de l'enzyme native L1. Les atomes sont en représentation «Ball & Strict», azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet. 91

4.4 Représentation graphique des modèles QM1 et QM2 optimisés au niveau M062X/6-31+g(d,p) et placés dans la structure cristallographique native. Les frontières QM/MM sont représentées par des Tubes, la partie QM est représenté en «Ball & Strict» et la partie MM est représenté en «wireframe» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, zinc : violet. 92

4.5 Superposition des géométries optimisées de QM1 et QM2, (a) au niveau B3LYP-D3/6-31+G(d,p) :UFF, (b) M062X/6-31+G(d,p) :UFF. W1 est un hydroxyde (OH^-) et W1 est une molécule d'eau. 95

4.6 Représentation graphique d'une coupe de la partie inférieure du site actif de L1. (a) Structure de L1 simplifiée optimisée au niveau M062X/6-31+G(d,p) :UFF, (b) Structure de L1 simplifiée optimisée au niveau M062X/6-31+G(d,p) : Amber, (c) Structure native L1 simplifiée, (d) Structure de L1 simplifiée optimisée au niveau B3LYPD3/ 6-31+G(d,p) :UFF. En raison de lisibilité, les atomes de zinc, W1 et W2 sont en représentation $< Ball$ & $Stick >$, tandis que les ligands histidines et une partie de la chaîne latérale de Ser221 sont en représentation $< tiges >$, et le reste avec des lignes. Les interactions de type liaison H sont représentées avec des traits pointillés. 98

4.7 Représentation graphique de différents inhibiteurs employés pour la modélisation de l'enzyme L1. 100

4.8 Représentation graphique de la structure cristallographique du complexe Enzyme/Inhibiteur II (Code PDB : 2HB9 [169]). Le site actif est en représentation «Ball & Strict» le reste en représentation «Ribbon» pour des raisons de lisibilité, azote : bleu, carbone : blanc, oxygène : rouge, soufre : jaune, zinc : violet. 101

4.9 Représentation graphique des structures optimisées de deux modèles QM1 et QM2 du site actif de L1 en présence de l'inhibiteur II. Azote : bleu, carbone : gris, hydrogène : blanc, oxygène : rouge, soufre : jaune, zinc : violet. 104

4.10 (a) Superposition de la géométrie du site actif de L1 optimisée au niveau ONIOM (M062X/6-31+G(d,p) : UFF) et de la structure expérimentale, (b) Superposition de la géométrie du site actif de L1 optimisée au niveau ONIOM(B3LYP-D3/6-31+G(d,p) : UFF) et de la structure expérimentale, (c) Superposition des géométries du site actif de L1 optimisées aux niveaux ONIOM(B3LYP-D3/6-31+G(d,p) :UFF) et ONIOM (M062X/6-31+G(d,p) : UFF). 107

4.11 Représentations des structures tridimensionnelles du site actif de L1 en présence des inhibiteurs. (a) Vue stéréo montrant l'inhibiteur II dans le site actif de L1 et les modes de liaisons Zn-S(inhibiteur) et Zn-N(inhibiteur II) [169]. (b) Vue de l'inhibiteur I ancré dans le site actif de l'enzyme L1 par le programme GOLD et montre les modes de liaisons Zn-S(inhibiteur I) suggérés par Olsen [173]. 109

6.1 (a) Les populations ELF sélectionnées (en rouge) et les charges atomiques AIM (en bleu) du complexe C [Cu (4-MeIm)$_4$ $H_2O]^{2+}$, calculées avec la méthode M062X / 6-31+G(d,p). Un seul 4-MeIm est rapporté dans la figure. (b) Les formes mésomères les plus représentatives décrivant la liaison chimique dans le complexe C. 118

6.2 (a) La carte ELF dans le plan N-C-N du ligand neutre 4-MeIm calculé en utilisant la méthode M062X/6-31+ G(d,p). (b) L'isosurface ELF (ELF =0.81). Les domaines de localisation se rapportant aux paires libres de l'imine et des groupements amine sont représentés en rouge, tandis que ceux des liaisons C-N et C-C apparaissent en vert et l'un des liaisons C-H en bleu-ciel. (c) Les populations ELF sélectionnées (en rouge) et les charges atomiques AIM (en bleu). 119