



HAL
open science

Étude structurale et électronique des sites de fixation de biomolécules par modélisation ab-initio de spectres d'absorption des rayons X

Mounir Arfaoui

► **To cite this version:**

Mounir Arfaoui. Étude structurale et électronique des sites de fixation de biomolécules par modélisation ab-initio de spectres d'absorption des rayons X. Physique [physics]. Paris 6, 2008. Français. NNT : 2008PA066272 . tel-04469788

HAL Id: tel-04469788

<https://theses.hal.science/tel-04469788>

Submitted on 21 Feb 2024

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Thèse de Doctorat de l'Université Pierre & Marie Curie

Spécialité

P2MC : la Physique de la Particule à la Matière Condensée

Présentée par

Mounir Arfaoui

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université Pierre & Marie Curie

**Etude structurale et électronique des sites de fixation de
biomolécules par modélisation ab-initio de spectres
d'absorption des rayons X**

Jury :

Valérie Briois Rapporteur

Yves Joly Rapporteur

Anne-Marie Cazabat Examineur

Stefano Della Longa Examineur

Delphine Cabaret Directeur de thèse

Francesco Mauri Directeur de thèse

Remerciements

Avant tout je remercie Allah pour tout.

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés (IMPMC) sur le campus de Boucicaut. Je tiens à remercier Bernard Capelle de m'y avoir accueilli. Je remercie affectueusement Delphine pour m'avoir proposé ce merveilleux sujet de thèse, de m'avoir transmis de son savoir et de m'avoir suivi et guidé régulièrement. Merci beaucoup Delphine. Je remercie Francesco Mauri et Matteo Calandra pour leurs suggestions précieuses. Je remercie également Jacques Chomillier pour avoir mis à ma disposition le programme de modélisation Insight II et de m'en avoir montré les rudiments. Je remercie mon ami Ari Seitsonen pour m'avoir guidé et conseillé dans l'utilisation du programme CPMD. Je tiens à remercier tous mes amis thésards et particulièrement mes amis de bureau Coralie Weigel, Marion Bardy, Merlin Méheut avec qui j'ai partagé une agréable et inoubliable période de la thèse.

Table des matières

Introduction générale	15
I. Modélisation de spectres d'absorption des rayons X au voisinage du seuil K du fer dans les dérivés de la myoglobine : MbCO, Mb*CO, MbCN et MbNO	19
Introduction partie I	21
1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés	25
1.1. Quelques mots sur la fonction biologique de la myoglobine	25
1.2. Structure de la myoglobine (Mb)	26
1.3. Structure des dérivés de la myoglobine (MbXY)	28
1.3.1. Structure de la carboxy-myoglobine (MbCO)	28
1.3.2. Structure de la carboxy-myoglobine photolysée (Mb*CO)	31
1.3.3. Structure de la cyano-metmyoglobine (MbCN)	33
1.3.4. Structure de la nitrosyle-myoglobine (MbNO)	34
1.3.5. Précisions sur les mesures XRD	37
2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés MbXY.	39
2.1. Données expérimentales	39
2.1.1. MbCO et Mb*CO	39
2.1.2. MbCN	43
2.1.3. MbNO	44
2.2. Analyse des spectres expérimentaux par une procédure de fit utilisant la théorie de la diffusion multiple	45
2.2.1. Résultats du fit des spectres XANES par la théorie de la diffusion multiple	45

2.2.2.	Intérêt d'être au-delà de l'approximation MT	48
3.	Modélisation et optimisation des structures issues de la PDB par la méthode Car-Parrinello	51
3.1.	Mise en œuvre du calcul d'optimisation structurale	51
3.1.1.	MbCO	51
	Sélection du cluster modèle : choix des résidus	51
	Saturation des liaisons tronquées, état de protonation du résidu His64	52
3.1.2.	Mb*CO	54
3.1.3.	MbCN et MbNO	55
3.1.4.	Code et paramètres de calcul	56
3.2.	Résultats et discussion	57
3.2.1.	MbCO	57
3.2.2.	Mb*CO	60
3.2.3.	MbCN	61
3.2.4.	MbNO	62
4.	Modélisation des spectres XANES	65
4.1.	Mise en œuvre du calcul et paramètres de convergence.	65
4.1.1.	Paramètres de convergence	66
4.1.2.	Paramètre d'élargissement et recalage en énergie des spectres calculés	70
4.2.	Résultats et discussion sur MbCO	71
4.2.1.	Simulations à partir des modèles 1A6G et 1BZR issus de la PDB	71
4.2.2.	Simulations à partir des modèles 1A6G et 1BZR optimisés	74
4.2.3.	Simulations à partir du modèle obtenu par la procédure de fit du programme MXAN	79
4.2.4.	Analyse de la région du préseuil : le rôle des orbitales $3d$ du fer	82
	Contributions dipolaires électriques <i>vs</i> contributions quadripolaires électriques	83
	Origine des pics du préseuil	83
	Influence du trou de cœur sur le préseuil	87
4.2.5.	Influence de la distance Fe-C	89
4.2.6.	Influence de la distance Fe-N _{his}	90
4.2.7.	Influence de la distance hors-plan du fer	91
4.2.8.	Influence de la distance C-O	92
4.2.9.	Influence de l'angle α	93

4.2.10. Influence de l'angle β	94
4.2.11. Influence de la distance $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	96
4.2.12. Bilan sur l'analyse structurale des spectres polarisés de MbCO	97
Cas d'une polarisation dans le plan de l'hème	98
Cas d'une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème	99
4.3. Résultats et discussion sur Mb*CO	100
4.3.1. Simulations à partir des modèles 1AJH et 1ABS issus de la PDB	100
4.3.2. Simulations à partir des modèles 1AJH et 1ABS relaxés et du modèle MXAN	102
Modèle 1AJH relaxé	102
Modèle 1ABS relaxé et modèle MXAN	103
4.4. Résultats et discussion sur MbCN	104
4.4.1. Simulations à partir des modèles 1EBC et 2JHO issus de la PDB	104
4.4.2. Simulations à partir des modèles 1EBC et 2JHO relaxés.	105
Modèle 1EBC relaxé	105
Modèle 2JHO relaxé	106
4.5. Résultats et discussion sur MbNO	107
4.5.1. Conclusion	109

II. Analyse du spectre XANES de la méthylcobaloxime, un modèle pour la vitamine B₁₂ 111

Introduction partie II 113

5. Structure des cobalamines et structure des cobaloximes 115

5.1. Structure des cobalamines	115
5.2. La cobaloxime, le modèle biochimique et sa structure	116

6. Optimisation de la structure XRD de pyCo(DH)₂CH₃ par la méthode Car-Parrinello 119

6.1. Mise en œuvre du calcul	119
6.2. Résultats	119

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans pyCo(DH)₂CH₃ 123

7.1. Description phénoménologique du spectre expérimental	123
7.2. Analyse du spectre XANES de pyCo(DH) ₂ CH ₃ par simulations <i>ab initio</i>	127

7.2.1.	Mise en œuvre du calcul	127
	Paramètres de convergence du calcul de section efficace d'absorption	127
	Dépendance angulaire de la section efficace d'absorption	128
	Calcul des densités d'états locales et partielles et représentation graphique des OM	133
7.3.	Résultats et discussion	134
7.3.1.	Calculs XANES pour la structure XRD et sa structure relaxée	134
7.3.2.	Interprétation du préseuil (pic P). Le rôle des orbitales d du cobalt.	138
7.3.3.	Influence de la distance Co-N _{pyr}	143
7.3.4.	Influence de la distance Co-CH ₃	145
7.3.5.	Influence de la distance Co-N _{dmg}	147
7.3.6.	Conclusion	148
	Bilan et Perspectives	151
	A. Calcul du XANES par une méthode de pseudopotentiels	153
A.1.	Qu'est-ce qu'un pseudopotentiel?	153
A.2.	La méthode PAW	155
A.3.	La méthode récursive de Haydock, Heine et Kelly	157

Table des figures

1.1.	Structure de la myoglobine. La chaîne polypeptidique est représentée sous forme d'un ruban, complété par les résidus des acides aminés. L'hème (représenté avec des atomes de grandes tailles) se trouve au milieu de la partie gauche de la figure.	27
1.2.	Hème : Fe-protoporphyrine IX. À gauche, formule semi-développée de l'hème et à droite, vue en perspective de l'hème sans les atomes d'hydrogène. Pour une meilleure clarté les atomes de carbone ne sont pas labelés.	28
1.3.	Environnement local du fer dans MbCO.	30
1.4.	Représentation de la maille cristalline monoclinique où est indiquée la normale au plan de l'hème noté \mathbf{a}^* (figure extraite de [62]). Le système d'axe \mathbf{a}^*bc forme une base orthogonale.	31
1.5.	Environnement local du fer dans Mb*CO.	33
1.6.	Vue locale du site du fer dans MbNO, modèle 1HJT. L'atome d'azote de NO est à l'aplomb de la distance Fe-N _p la plus courte.	36
2.1.	A droite spectres de MbCO, à gauche spectres de Mb*CO. Trait clair : spectre polarisé parallèlement au plan de l'hème ($\epsilon \parallel \mathbf{c}$ ou σ_{\parallel}). Trait foncé : spectre polarisé perpendiculairement au plan de l'hème ($\epsilon \parallel \mathbf{a}^*$ ou σ_{\perp}). . .	40
2.2.	Vue agrandie de la région du préseuil de la figure 2.1 dans MbCO (gauche) et dans Mb*CO (droite).	41
2.3.	Spectres XANES polarisés enregistrés au seuil K du fer dans MbCN [4]. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.	43
2.4.	Spectres XANES polarisés enregistrés au seuil K du fer dans MbNO. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.	44
2.5.	Comparaison entre spectres expérimentaux (cercles vides noirs) et fits MXAN (traits pleins) dans le cas de MbCO et Mb*CO à gauche (figure extraite de [61]) et de MbCN à droite (figure extraite de [4]). Voir texte pour plus de détails.	47
3.1.	Cluster utilisé pour l'optimisation structurale de MbCO.	52
3.2.	À gauche le tautomère N _ε -H et à droite le tautomère N _δ -H.	53

3.3. Cluster pour la modélisation de Mb*CO.	55
4.1. Spectres de MbCO calculés à partir de la maille de la figure 4.2 pour les deux tailles de cellules $18.5 \times 18.5 \times 18.5 \text{ \AA}^3$ et $19.6 \times 19.6 \times 19.6 \text{ \AA}^3$. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème (σ_{\parallel}). A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème (σ_{\perp}).	67
4.2. Cluster minimum de MbCO (48 atomes). L'histidine 93 est représentée par un cycle imidazole, le plan de l'hème est contenu dans le plan xy de la supercellule cubique.	68
4.3. Cluster de MbCO avec histidine distale (57 atomes) et spectre associé comparé à celui du cluster minimal.	68
4.4. Cluster avec les deux propionates de l'hème et spectre associé comparé à celui du cluster minimal.	69
4.5. A gauche, variation du paramètre γ utilisé pour le tracé de tous les spectres XANES présentés dans ce chapitre. En abscisse, les énergies sont repérées par rapport à une référence (le zéro), correspondant au dernier niveau occupé. A droite, spectres XANES obtenus avec $\gamma = 1.36 \text{ eV}$ et $\gamma(E)$	71
4.6. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des structures expérimentales 1A6G et 1BZR.	72
4.7. Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.6.	73
4.8. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir de la structure 1A6G avant et après relaxation. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	75
4.9. Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.8.	75
4.10. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir de la structure 1BZR avant et après relaxation. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	76
4.11. Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.10.	77
4.12. Comparaison entre les spectres calculés à partir deux modèles 1A6G et 1BZR optimisés. A gauche, pour une polarisation du faisceau de rayons X dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	78
4.13. Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.12.	78

4.14. Comparaison entre spectres expérimentaux et spectres calculés à partir du modèle obtenu par la procédure de fit du programme MXAN. A gauche, pour une polarisation du faisceau de rayons X dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	79
4.15. Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.14.	80
4.16. Comparaison entre spectres σ_{\perp} calculés à partir du modèle 1A6G et à partir de celui obtenu par la procédure de fit du programme MXAN. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.	80
4.17. Comparaison entre spectres σ_{\perp} calculés à partir du modèle 1A6G et à partir de celui obtenu par la procédure de fit du programme MXAN. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.	81
4.18. Comparaison entre spectres σ_{\perp} calculés à partir du modèle 1BZR par notre méthode (programme PARATEC) et le programme MXAN.	82
4.19. Contribution des transitions E1 et E2 sur les spectres calculés σ_{\parallel} (gauche) et σ_{\perp} (droite) à partir du modèle MXAN.	83
4.20. Comparaison entre les sections efficaces d'absorption calculées pour les transitions dipolaires électriques (E1) et pour les transitions quadripolaires électriques (E2) avec les orientations précisées dans le tableau 4.2.	85
4.21. Rétro-liaison π (π back-bonding). On peut caractériser la liaison Fe–CO par un transfert de charges bidirectionnel entre les orbitales de Fe et celles de CO, décrit comme suit. CO donne deux électrons (paire non liante de l'orbitale σ , située sur l'atome de carbone) à une orbitale $3d$ vide de Fe. Ensuite, l'excès de charge sur Fe est transféré sur l'orbitale antiliante π^* de CO, c'est ce transfert que l'on nomme la rétro-liaison π^* . L'orbitale d du fer possède avec l'orbitale π^* un fort recouvrement lorsque la géométrie de la chaîne Fe–C–O est linéaire, cette hybridation stabilise la liaison Fe–CO (figure extraite de [87]).	86
4.22. Comparaison entre les sections efficaces calculées avec (trait plein) et sans (trait tireté) trou de cœur. A gauche, σ_{\parallel} et à droite σ_{\perp} . Les calculs sont effectués à partir du modèle MXAN.	88
4.23. Influence de la distance Fe–C sur le spectre σ_{\perp} . Deux distances 1.77 Å et 1.82 Å sont testées pour la liaison Fe–C (la distance Fe–N _{his} est fixée à 2.15 Å). A droite, zoom sur le préseuil des spectres de gauche.	90
4.24. Influence de la distance Fe–N _{his} sur le spectre σ_{\perp} . Deux distances 2.15 Å et 2.05 Å sont testées pour la liaison Fe–N _{his} (la distance Fe–C est fixée à 1.77 Å). A droite, zoom sur le préseuil des spectres de gauche.	91

Table des figures

4.25. Influence de la distance hors plan du fer (ΔZ_{Fe}) sur le spectre calculé σ_{\perp} . A droite, agrandissement de la région du préseuil.	92
4.26. Influence de la distance C–O pour les valeurs 1.12, 1.16 et 1.20 Å. A droite, agrandissement de la région du préseuil.	93
4.27. Effet de la variation de l'angle α , pour les valeurs 5.2°, 7°, 10° et 15°. A droite, agrandissement de la région du préseuil. Ici les spectres n'étant pas comparés à l'expérience, ils ne sont pas décalés en énergie. Le zéro correspond à la valeur du niveau de Fermi du système (qui contient le trou de cœur).	94
4.28. Influence de la valeur de β sur le spectre polarisé perpendiculairement au plan de l'hème. A droite, agrandissement de la région du préseuil.	95
4.29. Influence de la distance $\langle Fe-N_p \rangle$ sur le spectre σ_{\parallel}	97
4.30. Comparaison entre le spectre σ_{\parallel} expérimental et les spectres obtenus par calcul sur 1BZR relaxé avec une configuration Fe–N _p quasi-symétrique et avec une configuration Fe–N _p distordue.	98
4.31. Comparaison entre les spectres polarisés expérimentaux et les spectres calculés à partir des structures PDB 1ABS et 1AJH. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème, à droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	101
4.32. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir du modèle 1AJH avant et après relaxation. A gauche pour une polarisation dans le plan de l'hème, à droite pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	102
4.33. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir du modèle 1ABS avant et après relaxation et à partir du modèle MXAN (1ABS_fit). A gauche pour une polarisation dans le plan de l'hème, à droite pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.	104
4.34. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des structures 1EBC et 2JHO la PDB et celui de l'expérience.	105
4.35. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des modèles 1EBC relaxé et non relaxé.	106
4.36. Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des modèles 2JHO relaxé et non relaxé.	107
4.37. Comparaison entre les spectres expérimentaux de MbNO et les spectres calculés à partir du modèle 1HJT avant et après relaxation.	108

5.1.	Structure de la méthylcobalamine (MeCbl). Quatre atomes d'azotes du macrocycle corrine (avec substituants latéraux) occupent les 1 ^{ères} positions de coordination de Co, de part et d'autre du macrocycle, un groupement benzimidazole en 5 ^{ème} position et un méthyle (CH ₃) en 6 ^{ème} position. Figure extraite de [75].	115
5.2.	Structure de la méthylcobaloxime (pyCo(DH) ₂ CH ₃). Les quatre atomes d'azotes notés N _{dmg} du macrocycle occupent les 1 ^{ères} positions de coordination de l'ion Co ³⁺ . De part et d'autre du macrocycle, se trouvent un groupement pyridine et un méthyle respectivement en 5 ^{ème} et 6 ^{ème} position de coordination de Co ³⁺ .	117
5.3.	Macrocycle (DH) ₂ (bis-diméthylglyoximato) avec le cation trivalent Co au centre. Les traits en pointillé correspondent à des liaisons hydrogènes fortes assurant la cohésion du macrocycle en l'absence du cation central.	117
6.1.	Superposition de la structure initiale de pyCo(DH) ₂ CH ₃ (en noir) avec la structure finale (en couleur). A gauche, superposition vue dans le plan du macrocycle. A droite, superposition vue dans le plan de la pyridine.	121
7.1.	Spéctre XANES expérimental de poudre (isotrope) du complexe pyCo(DH) ₂ CH ₃ , au seuil <i>K</i> du Cobalt.	124
7.2.	Spéctre quadripolaire isotrope σ_{iso} , calculé pour pyCo(DH) ₂ Me selon l'expression (7.1) obtenue en symétrie <i>C</i> _{4v} comparé au spéctre σ_{3d} , obtenu en sommant les sections efficaces d'absorption correspondant aux niveaux 3 <i>d</i> de Co ³⁺ (spéctres convolués avec $\gamma = 0.27$ eV). Nous montrons les transitions vers les états vides, comme les transitions virtuelles vers les états vides. Le zéro du calcul correspond au dernier niveau occupé.	132
7.3.	Densités d'états totales, convoluées identiquement à partir des niveaux d'énergies de Kohn-Sham de pyCo(DH) ₂ CH ₃ , issues des codes PWscf et CPMD. Les positions en énergie des niveaux discrétisés (numérotés) sont comparés aux DOS partielles de Co pour établir ultérieurement une correspondance entre la représentation des LUMOs et les transitions électroniques responsables du préseuil.	134
7.4.	Comparaison du spéctre expérimental de la méthylcobaloxime avec les spéctres isotropes (σ_{iso}) issus des calculs menés sur la structure XRD et sa structure relaxée.	135
7.5.	Comparaison du spéctre expérimental de la méthylcobaloxime avec le spéctre isotrope et ses contributions polarisées (suivant les axes de la molécule) issues du calcul mené sur la structure XRD et la structure relaxée.	136

7.6.	A gauche, superposition des spectres polarisés calculés avec un petit paramètre d'élargissement ($\gamma = 0.27$ eV), contribution dipolaire électrique uniquement. A droite, spectre isotrope obtenu à partir du graphe de gauche comparé au spectre expérimental.	138
7.7.	En haut : contributions dipolaire (E1) et quadripolaire (E2) électriques à la section efficace d'absorption isotrope σ_{iso} ($E_1 + E_2$), dans la région du préseuil. Milieu : sections efficaces d'absorption E1 et E2 sondant différentes symétries orbitales, obtenues avec un paramètre d'élargissement plus petit ($\gamma = 0.27$ eV). En bas : densités d'états projetées (projections de Löwdin) sur les niveaux $3d$ et $4p$ de Co^{3+} calculées avec trou de cœur.	139
7.8.	Représentation des trois premières orbitales moléculaires inoccupées (LUMO) associées aux transitions assignées au pic P du spectre XANES de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$. Calcul effectué avec CPMD, isosurface, $ \psi = 0.035$	141
7.9.	hybridation des états $3d_{3z^2-r^2}$ et $4p_z$ de Co avec ses ligands.	142
7.10.	Influence de la distance Co-N_{pyr} sur le spectre isotrope. A droite, agrandissement de la région du préseuil.	144
7.11.	Influence de la distance Co-N_{pyr} sur les spectres polarisés suivant l'axe de cette liaison pour la région du préseuil. A gauche la contribution dipolaire électrique σ_z et à droite la contribution quadripolaire électrique $\sigma_{3z^2-r^2}$	144
7.12.	Influence de la distance Co-CH_3 sur le spectre isotrope. A droite, agrandissement de la région du préseuil.	146
7.13.	Influence de la distance Co-CH_3 sur les spectres polarisés suivant l'axe de cette liaison pour la région du préseuil. A gauche, la contribution dipolaire électrique σ_z et à droite, la contribution quadripolaire électrique $\sigma_{3z^2-r^2}$. Paramètre d'élargissement des calculs, $\gamma = 0.27$ eV.	147
7.14.	Influence de la distance Co-N_{dmg} pour les spectres polarisés σ_x et σ_y	148

Introduction générale

Les métalloprotéines forment une classe de protéines qui utilisent les propriétés chimiques de leur site actif, un atome métallique, afin d'accomplir un large éventail de processus biologiques essentiels à la vie. Les métalloprotéines ne constituent pas moins de 30% de l'ensemble des protéines du génome humain. Les métalloenzymes des protéines spécialisées dans des activités catalytiques comme la vitamine B₁₂ accélèrent les réactions biologiques ayant lieu sur un atome métallique par des facteurs stupéfiants!

Une description détaillée de la géométrie des sites métalliques dans ces macromolécules est un pré-requis pour comprendre leur rôle. La réaction d'oxydo-réduction ou la fixation d'un ligand est généralement accompagnée par des changements structuraux de l'environnement local du métal inférieur ou de l'ordre de 0.1 Å [78]. Ces variations géométriques, relativement subtiles, ne sont pas toujours détectées par la méthode conventionnelle de diffraction des rayons X et le cristal de protéine nécessaire à la mesure n'est pas réalisable dans de nombreux cas. Dans certains cas de figure, la spectroscopie d'absorption des rayons X s'impose comme l'unique technique opérationnelle pour sonder la géométrie locale autour du site actif, lorsque le métal est spectroscopiquement "muet" par les autres méthode [68].

L'absorption des rayons X a été très largement utilisée dans plusieurs domaines scientifiques durant ces 20 dernières années [5]. La possibilité d'utiliser cette technique pour des systèmes biologiques à été montrée dans une première expérience de mesure de fluorescence par Jaclevic, *et al.* en 1977 [45]. Par la suite, d'autres études sont venues souligner le potentiel de l'absorption des rayons X pour élucider la géométrie locale autour des métaux de transitions dans les systèmes biologiques [29]. Les intérêts de la spectroscopie d'absorption des rayons X sont multiples. En effet, c'est une sonde de la structure locale autour de l'atome absorbeur, elle possède aussi une sélectivité chimique et orbitale, c'est-à-dire que l'énergie d'un seuil d'absorption est propre à un élément chimique donné et qu'il est possible d'accorder l'énergie du faisceau des rayons X pour sonder différents niveaux atomiques de l'élément absorbeur. Une des difficultés expérimentales pour une mesure d'absorption est le faible rapport signal sur bruit, inhérent à la faible concentration des métaux dans les protéines. Avec les performances croissantes en flux et en intensité des sources de lumière d'origine synchrotron, la spectroscopie d'absorption des rayons X est de-

venue une technique idéale pour l'étude des sites actifs. Parallèlement à ces développements technologiques s'est créé le label BioXAS afin de développer spécifiquement l'utilisation du rayonnement synchrotron et de rassembler différentes compétences pour l'investigation de la géométrie des sites actifs dans les métalloprotéines.

La spectroscopie XANES (X-ray Absorption Near Edge Structures) au seuil K d'un élément donné correspond à l'éjection d'un électron (photoélectron) du niveau $1s$ (niveau de cœur) vers des états inoccupés du système. Des interférences constructives ou destructives entre l'onde sortante de l'atome absorbeur et les ondes rétrodiffusées des atomes environnants donnent naissance à des modulations en intensité sur le spectre. Le caractère multiple de ces diffusions est valable jusqu'à une énergie cinétique du photoélectron d'environ 50 eV, ce mode de diffusion correspond à la région XANES du spectre d'absorption. Pour des valeurs de l'énergie cinétique plus grande (> 50 eV), la durée de vie du photoélectron est faible et les processus de diffusion simple sont majoritaires, ce mode de diffusion correspond à la région de l'EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structures).

La région de l'EXAFS permet un traitement beaucoup plus rapide et plus simple de l'information contenue dans le spectre que celui de la région XANES. Les informations sont aussi de nature plus quantitatives. Cependant la région de l'EXAFS n'est pas aussi sensible que la région XANES à la dépendance angulaire par rapport à l'orientation de l'échantillon. Les études expérimentales de spectres XANES se font généralement sur des séries de complexes issues de la chimie de coordination relativement bien caractérisés. En effet, avec la synthèse, plusieurs paramètres comme la coordinence, l'état d'oxydation, la nature des ligands du métal peuvent être manipulés. Il s'agit alors d'interpréter les structures du spectre XANES en fonction de ces paramètres. Cette approche est séduisante dans la mesure où elle permet d'aborder des complexes modèles de systèmes biologiques plus complexes [25, 17]. Pour pousser plus loin l'analyse des spectres XANES, il est nécessaire de recourir à des modélisations de ces spectres. Nous pouvons resituer les premières études de spectres XANES couplant expériences et modélisations au milieu des années 80 à la suite des premiers calculs basés sur la théorie de la diffusion multiple réalisés par Durham *et al.* [32]. Consécutivement, les premières études sur les sites actifs sont apparues avec la myoglobine, le prototype des protéines [11].

Dans cette thèse, nous étudions par modélisation *ab-initio* de spectres XANES la structure locale du site de fixation dans des molécules d'intérêt biologique (biomolécules). Il s'agit de reproduire par le calcul sans paramètres empiriques le signal expérimental à l'aide de la seule donnée des positions atomiques de la molécule. Les calculs de spectres XANES effectués dans le cadre de cette thèse ont été réalisés à l'aide du code PARATEC [1].

C'est un code de calcul de structures électroniques dédié à la physique du solide, basé sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), dans lequel l'équipe qui m'a accueilli a implémenté le calcul de la section efficace d'absorption pour des transitions électroniques de type dipolaires électriques (E1) et quadripolaires électriques (E2) [86, 21]. Un des points essentiels sera aussi d'apporter une réponse à la question de savoir si cette approche issue de la physique du solide permet une étude suffisamment précise des spectres XANES de sites actifs dans des systèmes biologiques.

Le manuscrit est divisé en deux parties. Dans la première partie, nous étudions le site du fer dans des protéines de myoglobine en interaction avec différentes molécules diatomiques (CO, CN, NO) à l'aide de spectres XANES enregistrés au seuil K du fer. Nous souhaitons savoir si notre approche est suffisamment précise pour pouvoir discriminer parmi différents modèles structuraux obtenus par XRD. Dans une seconde partie, nous étudions un complexe modèle pour un composé actif de la vitamine B₁₂, la méthylcobaloxime. Nous analyserons le spectre isotrope de ce complexe. Pour le reproduire, nous calculons les différentes composantes dipolaire électrique et quadripolaire électrique polarisées.

Pour tous ces systèmes (myoglobine et analogue de la vitamine B₁₂), nous partons d'un modèle structural obtenu par XRD, nous relaxons cette structure par la méthode dite de recuit simulé, puis nous calculons les spectres. Afin d'évaluer la précision de notre méthode dans la description structurale et pour comprendre l'origine des structures du spectres XANES nous considérons également des modèles où seulement une liaison métal-ligand a été modifiée en termes d'angles et de distances. Nous verrons dans ces deux parties que cette approche permet contrairement à l'approche *muffin-tin* de traiter correctement la région du préseuil et d'en tirer des informations électroniques et structurales détaillées sur l'environnement de l'atome absorbeur.

Table des figures

Première partie .

**Modélisation de spectres d'absorption
des rayons X au voisinage du seuil K du
fer dans les dérivés de la myoglobine :
MbCO, Mb*CO, MbCN et MbNO**

Introduction

Dans cette partie, nous présentons une étude structurale du voisinage du site de fixation de la myoglobine (Mb) par des simulations *ab initio* de spectres d'absorption des rayons X au seuil K du fer. Des gaz moléculaires, tels que O_2 , NO ou CO naturellement présents dans notre organisme peuvent diffuser à travers Mb pour finalement se lier au fer dans une configuration géométrique bien spécifique. Ici, nous cherchons justement à caractériser la géométrie de ligands diatomiques une fois fixés au fer. Les ligands étudiés ici sont CO (le monoxyde de carbone), CN^- (l'ion cyanure) et NO (le monoxyde d'azote). En outre pour CO nous menons également une étude sur un état métastable obtenu par photolyse, où CO se trouve très proche de l'atome de fer ($\simeq 3-4 \text{ \AA}$) sans y être lié. Nous adopterons dans la suite la notation MbXY pour désigner l'ensemble des dérivés de Mb formés par la fixation du fer d'un ligand diatomique XY.

La myoglobine est une protéine apparentée à l'hémoglobine, sa fonction est de stocker l'oxygène moléculaire (O_2) pour "alimenter" le tissu musculaire en oxygène. A cet égard, l'ensemble des ligands XY que nous étudions forment une classe d'inhibiteurs pour l'activité de Mb. MbCN, la cyano-myoglobine, n'est pas biologiquement pertinente, relativement aux deux autres dérivés, MbCO et MbNO, et peu d'études lui sont consacrées. Cependant son étude sera mise à profit dans le cas présent, pour évaluer certains points de notre méthodologie.

Schématiquement la myoglobine est une chaîne formée d'acides aminés (chaîne polypeptidique) repliée autour d'un hème : une molécule de porphyrine de fer. L'hème présente une forte affinité intrinsèque pour CO et une encore plus forte pour NO. Nous avons d'une part, CO qui se lie quelque 25 000 fois plus fortement au fer de l'hème isolé en solution que O_2 , alors que dans la myoglobine ce rapport est réduit à 200 [84]. CO et NO sont produits de façon naturelle par notre organisme, par ailleurs, CO est massivement acheminé vers les poumons par les fumeurs de tabac. Comment le pire est évité ? Comment la myoglobine réprime-t-elle la préférence naturelle de l'hème pour des ligands de taille très similaire en faveur de O_2 et finalement éviter l'intoxication ? Il s'agit là d'une problématique vitale initialement posée par les biochimistes.

Dès lors que MbCO a pu être cristallisée, des expériences de diffraction des rayons

X (XRD : X-Ray Diffraction)¹ ont révélé l’architecture de cette dernière à l’échelle atomique. Mais les données disponibles actuellement ont une résolution supérieure ou égale à 1.15 Å, ce qui correspond à une incertitude sur les positions atomiques d’environ 0.05 Å. Il faut noter que la résolution indiquée par une mesure XRD² est “globale” et bien souvent la résolution “locale”, celle autour du site actif est moins bonne.

D’un point de vue biologique, on peut se demander si la structure de Mb à l’état cristallin est semblable à celle de Mb en solution, si la cristallisation pourrait être à l’origine d’une altération de la structure de Mb. Il n’est pas évident, *a priori*, que la représentation qui résulte de l’analyse par diffraction des rayons X soit en rapport avec celle qui permet la compréhension de sa fonction biologique, mais c’est bien le cas. En effet, l’état cristallin de la myoglobine est fonctionnellement actif, même si sa dynamique est beaucoup plus lente qu’en solution. A titre d’exemple nous pouvons citer la recombinaison du CO au fer suite à l’illumination du cristal. Par ailleurs les spectres d’absorption des rayons X au seuil *K* du fer de la myoglobine sont semblables en solution et dans le cristal [63].

Une alternative aux expériences XRD consiste à combiner des expériences et des modélisations de spectres d’absorption des rayons X menées au seuil *K* du fer. En s’appuyant sur une méthode *ab-initio*, nous voulons évaluer l’apport de la spectroscopie XANES en terme de précision dans la description structurale du site de fixation. Une étude dans ce sens a déjà été publiée [4]. Le XANES y est présenté comme une spectroscopie complémentaire en tant que sonde locale capable de pallier l’insuffisance de la description locale autour du fer dans MbCN des données XRD. Nous verrons que notre méthodologie nous permet de parvenir aux mêmes conclusions que l’étude en question. En supposant que la géométrie du site du fer dans la myoglobine est conservée lors de la cristallisation, il est possible de travailler sur des échantillons monocristallins, permettant ainsi de tirer parti de la polarisation du faisceau de photons X. Les mesures en polarisation permettent une analyse plus fine de l’anisotropie et donc de la distorsion du site du fer [11]. En 1999, Della Longa *et al.*, ont en effet effectué des mesures de XANES en plaçant l’échantillon de telle façon que la polarisation du faisceau soit perpendiculaire ou parallèle au plan de l’hème [62]. Les spectres ainsi obtenus présentent une dépendance angulaire remarquable. Pour accéder à l’information structurale contenue dans ces spectres, il est nécessaire de procéder à des

¹Les premières mesures sur la carboxy-myoglobine ont été effectuées par Kuriyan [57] en 1986. John Kendrew et ses collaborateurs [50, 51] sont les premiers en 1957 à obtenir la structure tridimensionnelle de la myoglobine par une étude de diffraction par rayons X (avec une résolution de 6 Å). En l’occurrence, c’était la première protéine faisant l’objet d’une telle méthode d’investigation.

²Il convient mieux de parler de données XRD puisque la mesure diffraction est traitée théoriquement, comme décrit à la fin du premier chapitre.

simulations *ab initio*. Ces simulations permettent de quantifier la sensibilité du XANES aux distances et aux angles caractérisant l'environnement atomique autour du fer et ainsi de clarifier la géométrie de la chaîne Fe–X–Y dans MbXY ainsi que la position relative de CO par rapport au plan de l'hème dans Mb*CO, la carboxy-myoglobine photolysée.

Ces informations purement géométriques seront traitées en dernier lieu par les biochimistes afin de mieux comprendre la réactivité du ligand XY vis-à-vis du fer de la myoglobine et éventuellement d'élaborer des modèles biomimétiques³. En effet, la connaissance la plus précise possible des coordonnées atomiques est essentielle pour la description fonctionnelle d'une protéine. Notre objectif est donc d'établir si la spectroscopie XANES couplée à des calculs *ab initio* permet d'obtenir et de valider une représentation structurale du site actif.

La suite de cette première partie est divisée en quatre chapitres.

- (1) Dans le premier chapitre sont abordées la structure et la fonction de la myoglobine, du fait qu'en biologie la notion de fonction est étroitement liée à la notion de structure. Nous nous intéressons à plusieurs structures dérivées de Mb issues de la PDB (Protein Data Bank⁴), où l'état d'oxydation et l'état de spin du fer est modulé par la proximité de CO ou par la présence des ligands CO, CN⁻ et NO en sixième position de coordinence. Pour MbCO, Mb*CO et MbCN, nous présentons deux modèles extraits de la PDB. Pour MbNO, il est possible d'en présenter qu'un seul.
- (2) Dans le deuxième chapitre, nous décrivons les spectres XANES expérimentaux des dérivés MbXY qui nous servent de références. Ces spectres sont acquis en lumière polarisée au seuil *K* du fer. En particulier, nous relatons l'interprétation expérimentale de la région du préseuil faite sur MbCO et sur Mb*CO par Della Longa *et al.* dans l'article [62] pour plus tard confronter ces hypothèses à nos calculs. Nous évoquons également les calculs de spectres XANES basés sur la théorie de la diffusion multiple effectués sur ces composés et publiés dans la littérature. A ce propos, nous présentons brièvement l'approximation *muffin-tin* et montrons l'intérêt d'aller au-delà de cette approche.

³Les modèles biomimétiques sont développés suivant l'idée que la fonction chimique des macromolécules réside dans la configuration de leurs centres actifs, ce qui dans le cas des metalloprotéines constitue l'environnement des atomes de métal. La complexité du travail sur ces modèles consiste à définir les points clés du site réactionnel (résidus, conformation structurale, flexibilité, coordination, états électroniques etc...), afin de construire le modèle moléculaire adéquat.

⁴Protein Data Bank, banque de données des structures de protéines et d'acides nucléiques accessible sur internet ; archives sur le site <http://www.rcsb.org/pdb/>.

- (3) Dans le troisième chapitre, nous présentons les calculs de relaxation structurale que nous avons effectués à partir des structures “XRD” issues de la PDB. L’étape de la relaxation est essentielle pour comparer entre elles des structures cristallographiques de protéines qui n’ont pas été préparées dans les mêmes conditions de température (facteur B pour l’agitation thermique) et de pH (existence possible de tautomères⁵). Ensuite ces calculs sont comparés à la littérature et discutés relativement aux structures expérimentales.
- (4) Le quatrième et dernier chapitre est dédié aux simulations des spectres XANES effectuées à partir des structures expérimentales et des structures optimisées par relaxation *ab-initio*. Nous expliquons comment les données de la relaxation sont préalablement traitées pour les inclure dans le calcul des spectres XANES. Nous traitons également la région du préseuil où nous évaluons la contribution des transitions quadripolaires électriques, permettant de sonder les orbitales *d* du fer. Nous étudions l’influence des distances et des angles caractéristiques de l’environnement proche du fer sur les structures du seuil et du préseuil dans le cas de MbCO.

⁵Les tautomères sont des composés organiques interchangeables par tautomérisation. Cette réaction a pour effet de faire migrer un atome d’hydrogène et interchange les doubles liaisons associées.

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

1.1. Quelques mots sur la fonction biologique de la myoglobine

Les vertébrés possèdent deux mécanismes principaux pour fournir à leurs cellules un flux d'oxygène continu et adapté. Le premier est un système circulatoire. En effet, en l'absence de système circulatoire qui délivre activement l'oxygène, la taille d'un organisme serait limitée à un millimètre environ, car la diffusion de l'oxygène au travers de grandes dimensions serait trop lente pour subvenir aux besoins cellulaires [84].

Le deuxième point essentiel est l'existence de molécules assurant le transport de l'oxygène pour surmonter la limitation de la solubilité de l'oxygène dans l'eau et le sang. Ces molécules sont l'hémoglobine et la myoglobine. L'hémoglobine, par les globules rouges, achemine l'oxygène depuis les poumons jusqu'aux tissus musculaires. La myoglobine relaye l'hémoglobine au niveau des tissus musculaires et fournit l'oxygène aux mitochondries, qui synthétisent alors l'adénosine triphosphate (unité d'énergie de l'ADN). Par exemple, le muscle squelettique des mammifères marins, tels que la baleine, le phoque et le marsoin, est très riche en myoglobine qui sert de réservoir d'oxygène lors de la plongée.

Toutes les myoglobines cristallisées utilisées pour établir les structures référencées à la PDB et pour mesurer les spectres XANES étudiés dans cette thèse sont des formes natives provenant de la fibre musculaire du cachalot (traduit sperm whale et abrégé SW en anglais). Outre son abondance dans le muscle, la myoglobine du cachalot possède une structure très stable vis-à-vis de la cristallisation.

Le monoxyde de carbone réduit la quantité d'oxygène disponible dans le sang et se fixe sur la myoglobine des cellules musculaires. Cette fixation entraîne une diminution de la performance musculaire. Parmi les muscles du corps, le cœur est le plus sensible à cette intoxication¹ puisque CO l'asphyxie. L'ion cyanure CN^- à l'instar de CO, constitue

¹Le monoxyde de carbone est une molécule particulièrement nocive, notamment pour la santé des fumeurs,

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

un ligand toxique de la myoglobine. Quant au ligand NO, contrairement à CN^- et à CO, il est impliqué dans plusieurs processus physiologiques dont la régulation de la pression du sang, la transmission de signaux entre neurones.

1.2. Structure de la myoglobine (Mb)

En général, les protéines transporteuses d'oxygène présentent des structures plus ou moins complexes dans lesquelles l'oxygène se fixe toujours sur un centre constitué d'un ou plusieurs atomes métalliques. Ce sont les transitions spectrales dans le domaine du visible de ces métaux qui provoquent la forte coloration de ces substances².

La myoglobine est une protéine globulaire extrêmement compacte. La dimension globale est d'environ $45 \times 30 \times 25 \text{ \AA}^3$ dans laquelle on compte près de 1300 atomes (Figure 1.1), sans compter les atomes d'hydrogène³. Les atomes se composent en acides aminés, lesquels constituent les unités structurales de base des protéines, déclinées en vingt types d'éléments fondamentaux. Un acide aminé se compose d'un squelette carboné que l'on nomme radical, permettant de l'identifier, d'un groupement carboxyle (COOH) et d'un groupement amine (NH_2). Ces trois entités sont liées à un même atome de carbone appelé carbone alpha. La liaison entre deux acides aminés est appelée liaison peptidique (entre le carbone du groupement carboxyle de l'un avec l'azote du groupement amine de l'autre.) La myoglobine est constituée de :

- 153 acides aminés, unis par des liaisons polypeptidiques, formant ainsi une chaîne polypeptidique, en forme d'hélice. Environ 75% de la chaîne polypeptidique est sous la forme d'hélice α . Il y a huit segments hélicoïdaux désignés par des lettres

car le CO est l'un des composants nocifs de la fumée du tabac. Le CO s'échappe dans la fumée par combustion du tabac qui se consume avec trop peu d'oxygène. En effet, le déficit en oxygène est alors trop important pour pouvoir former du CO_2 et il se fabrique donc uniquement du CO. En moyenne, ce dernier est 2 à 15 fois plus concentré dans la fumée qui s'échappe dans l'environnement du fumeur que dans la fumée inspirée par le fumeur. Le CO peut aussi être produit par des appareils de chauffage défectueux dans des locaux fermés. Actuellement, il tue 700 personnes par an en France. La mesure du taux de CO expiré est en bonne corrélation avec le CO lié à l'hémoglobine ou à la myoglobine. Elle est un bon reflet de l'intoxication tabagique récente puisque la demi-vie du CO dans l'organisme est d'environ 6 heures.

²Dans ces transitions le fer donne la couleur rouge à MbCO et si on substitue le fer dans un hème par un atome de magnésium alors la coloration devient verte, on a alors une molécule chlorophylle (à quelques atomes terminaux de la porphyrine près).

³Les atomes d'hydrogène ne sont visibles qu'en diffusion de neutrons. L'amplitude diffusée par diffraction des rayons X est proportionnelle au nombre d'électrons de l'atome diffuseur, donc relativement faible pour détecter les atomes d'hydrogène.

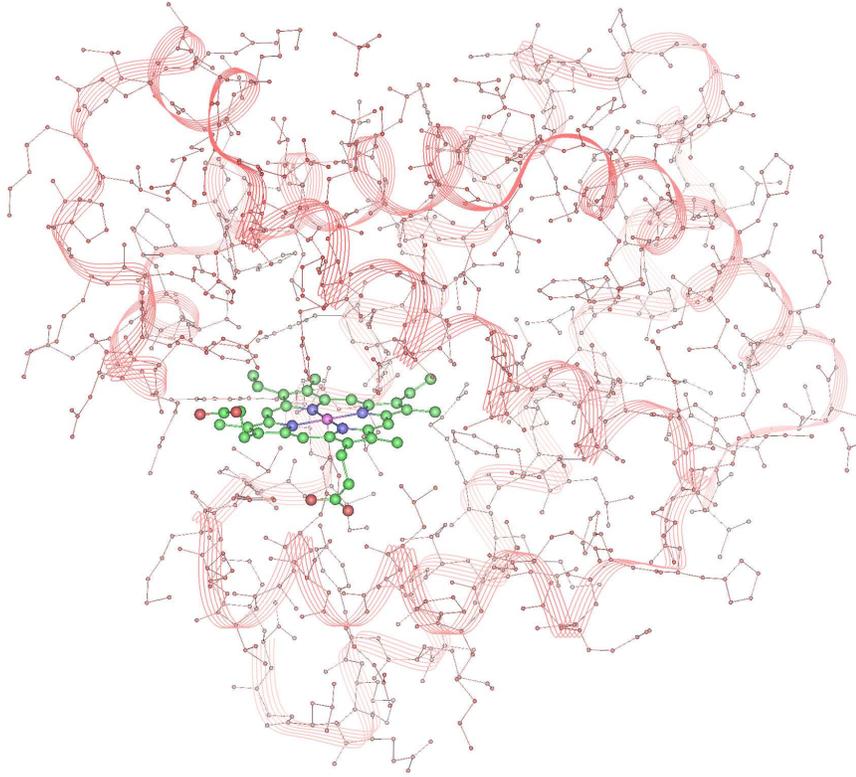


FIG. 1.1.: Structure de la myoglobine. La chaîne polypeptidique est représentée sous forme d'un ruban, complété par les résidus des acides aminés. L'hème (représenté avec des atomes de grandes tailles) se trouve au milieu de la partie gauche de la figure.

de A à H. Le premier acide aminés de l'hélice A sera noté A_1 et ainsi de suite.

- un hème (Figure 1.2) lui-même constitué d'une partie organique et d'un atome de fer. La partie organique, la *porphyrine*, est formée de quatre noyaux pyrroles. Les quatre pyrroles sont unis par des ponts méthényles ($-\text{CH}=\text{}$), pour former un noyau tétrapyrrolique. Quatre méthyle ($-\text{CH}_3$), deux vinyles ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) et deux propionates ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$) sont fixés sur le noyau tétrapyrrolique. Ces substituants peuvent être disposés de quinze façons différentes, mais seul l'un de ces isomères, appelé protoporphyrine IX, est présent dans les systèmes biologiques. L'atome de fer de l'hème se lie aux quatre azotes au centre du noyau protoporphyrinique. Le fer peut former deux autres liaisons de part et d'autre du plan de l'hème. En cinquième position la myoglobine possède un atome d'azote (N_{his}) qui appartient au résidu His93 et constitue le seul lien avec la chaîne

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

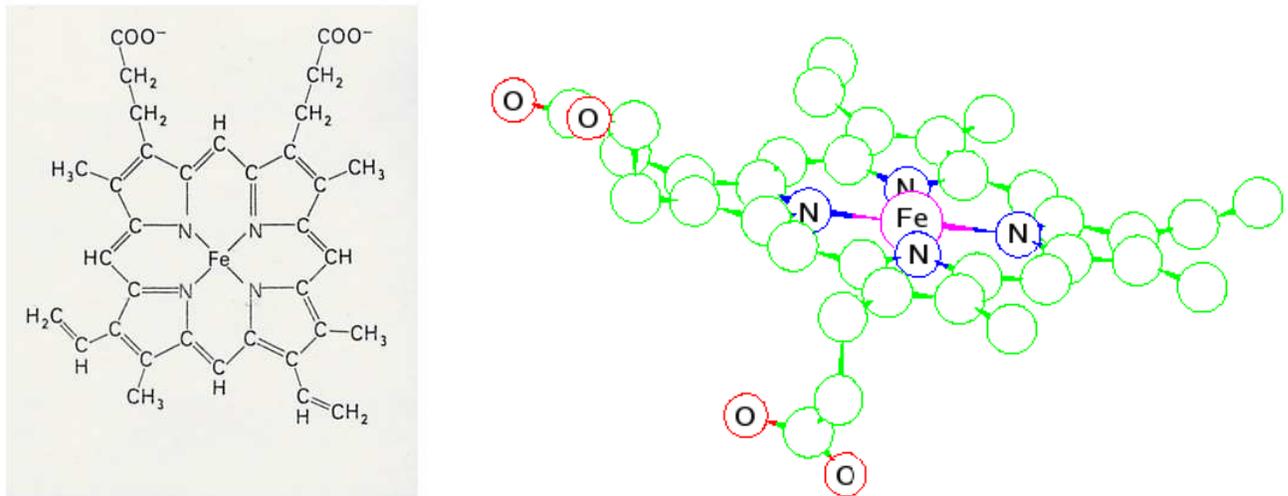


FIG. 1.2.: Hème : Fe-protoporphyrine IX. À gauche, formule semi-développée de l'hème et à droite, vue en perspective de l'hème sans les atomes d'hydrogène. Pour une meilleure clarté les atomes de carbone ne sont pas labelés.

polypeptidique. En particulier, O_2 , H_2O , CO , NO et CN^- peuvent se lier à la sixième position de coordination du fer de façon réversible ou pas lorsque le ligand est toxique.

L'hémoglobine, quant à elle, est constituée de quatre chaînes polypeptidiques, chacune abritant un hème, contrairement à la myoglobine qui est constituée d'une unique chaîne et d'un seul hème.

1.3. Structure des dérivés de la myoglobine (MbXY)

1.3.1. Structure de la carboxy-myoglobine (MbCO)

MbCO est une myoglobine qui comporte une molécule de CO liée à l'atome de fer de l'hème, en sixième position de coordination. Sur la figure 1.3 sont représentées les six liaisons du fer. Dans MbCO l'atome de fer est dans l'état d'oxydation +II, on dit aussi qu'il est à l'état ferreux. Le fer est hexacoordonné et ses voisins forment un octaèdre légèrement distordu. Le système est diamagnétique avec une valeur de spin $S=0$ dans l'état

fondamental, c'est l'état bas spin de la molécule.⁴

Nous avons extrait de la PDB deux fichiers relatifs à MbCO. Les structures de MbCO correspondantes, référencées sous les noms 1A6G et 1BZR, ont été obtenues par mesure XRD avec une résolution de 1.15 Å respectivement par Vojtěchovský *et al.* (1997) [91] et Kachalova *et al.* (1998) [49]. MbCO cristallise sous la forme d'un réseau monoclinique. Le groupe d'espace des structures cristalline 1A6G et 1BZR est $P2_1$. La maille unitaire contient deux molécules de MbCO, soit environ 3000 atomes. Une représentation de la projection de la maille cristalline dans le plan (\mathbf{a}, \mathbf{c}) est donnée sur la figure 1.4 (par souci de clarté, seul le voisinage proche de l'hème est représenté). Les paramètres de maille sont spécifiés dans le tableau 1.1.

TAB. 1.1.: Paramètres de la maille monoclinique de MbCO.

	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
1A6G [91]	63.800	30.630	34.420	105.80
1BZR [49]	34.910	31.040	64.730	105.53

En examinant les différences entre les structures 1A6G et 1BZR, on remarque qu'elles ne concernent que l'environnement local du fer et essentiellement la géométrie des liaisons Fe–C et C–O. Une analyse quantitative de ces différences est présentée dans le tableau 1.2, où N_p désigne les atomes d'azote pyrroliques de l'hème, N_{his} désigne l'atome d'azote de l'histidine proximale (F8) en cinquième position de coordinence (voir figure 1.3). L'atome de carbone de la liaison Fe–C est celui du ligand CO. L'angle α correspond à l'angle formé par la normale au plan de l'hème et la liaison Fe–C et l'angle β correspond à l'angle formé par la liaison Fe–C et la liaison C–O. ΔZ_{Fe} désigne la distance *hors plan* du fer. Si l'on considère l'axe z comme étant l'axe perpendiculaire au plan de l'hème, ΔZ_{Fe} est donné par :

$$\Delta Z_{Fe} = z_{\text{plan moyen}} - z_{\text{Fe}},$$

où z_{Fe} est la cote suivant z de l'atome de fer et où $z_{\text{plan moyen}}$ est la moyenne des cotes suivant z des quatre atomes d'azote N_p , premiers voisins du fer.⁵

⁴Dans son état fondamental, Mb a pour valeur de spin $S=2$ et le fer est encore dans l'état d'oxydation +II [26].

⁵Les quatre atomes N_p ne sont pas rigoureusement dans le même plan.

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

TAB. 1.2.: Données structurales du voisinage du fer dans MbCO.

Mesures XRD	Distances interatomiques (Å)				Angles (°)		Distance hors plan de Fe (Å)
	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe-N _{his}	Fe-C	C-O	α	β	ΔZ_{Fe}
Réf. PDB							
1A6G [91]	1.98(2)	2.06(2)	1.82(2)	1.09(2)	9	9(3)	0.001(9)
1BZR [49]	2.00	2.11	1.73(3)	1.12(3)	4.8(0.9)	7.4(1.9)	0.015

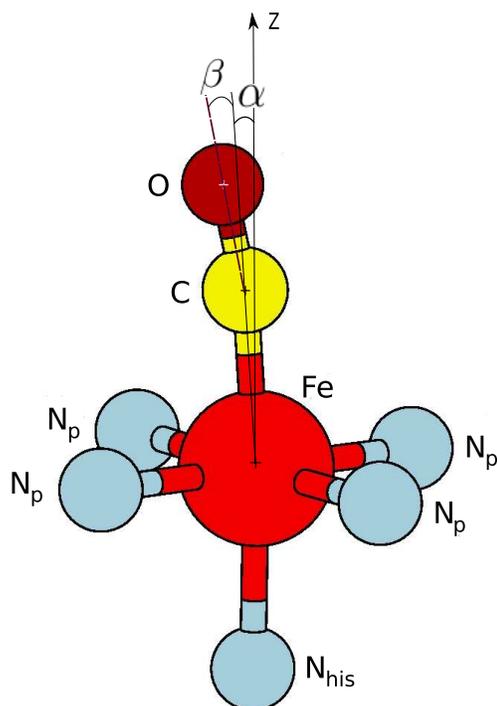


FIG. 1.3.: Environnement local du fer dans MbCO.

Le tableau 1.2 indique notamment que la distance Fe–C diffère de 0.09 Å entre les deux structures et que les angles α et β présentent un écart respectif de 4.2° et de 2.4° entre les deux modèles. On peut aussi noter que le fer se trouve dans le plan de l'hème dans le modèle 1A6G, ce qui n'est pas le cas dans le modèle 1BZR.

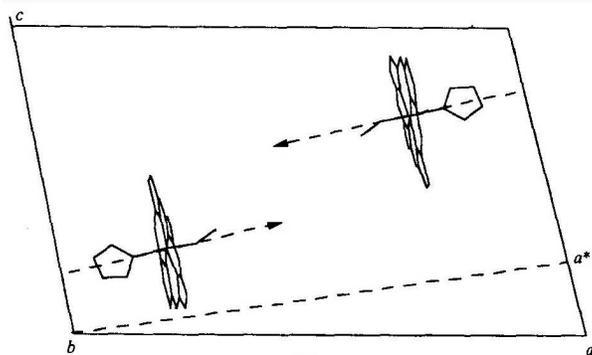
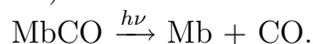


FIG. 1.4.: Représentation de la maille cristalline monoclinique où est indiquée la normale au plan de l'hème noté a^* (figure extraite de [62]). Le système d'axe a^*bc forme une base orthogonale.

1.3.2. Structure de la carboxy-myoglobine photolysée (Mb^*CO)

L'activité biologique des macromolécules est accompagnée par des changements structuraux rapides, les structures intermédiaires des réactions biologiques possèdent une durée de vie variable sur une échelle de temps allant de la femtoseconde jusqu'à la milliseconde et plus. Ainsi l'étude de la structure des intermédiaires de réactions par des méthodes spectroscopiques permettent d'élucider les mécanismes sous-jacent à l'activité, à la fonction de ces macromolécules. Ce qui fait de la myoglobine un système modèle parfait pour la biophysique c'est que des changements structuraux peuvent y être induit par illumination. Mb^*CO est le produit de la photolyse de $MbCO$ par flash éclair ou par illumination continue (dans le domaine du visible) selon la réaction



Mb^*CO est donc un système des deux entités Mb et CO dissociées suite à la rupture de la liaison covalente Fe-CO. A température ambiante cette rupture initie différentes séquences de réarrangement de conformations au sein de la protéine. Une fois dissocié, CO peut selon trois cas de figure, soit se refixer immédiatement au fer, soit diffuser pendant un moment dans la poche de l'hème puis se refixer au fer, soit s'échapper de la matrice de la protéine. A basse température (≈ 20 K), la durée de vie de l'état photolysé Mb^*CO est artificiellement prolongée. Il n'y a pas assez d'énergie thermique pour que CO puisse diffuser à plus de 3-4 Å du fer, le taux de recombinaison est négligeable pendant une heure [80]. L'atome de fer conserve le même degré d'oxydation qu'avant la photolyse (Fe^{2+}) et devient pentacoordonné. Dans ce cas le système est paramagnétique et son état de spin dans l'état fondamental est un quintupler $S = 2$; c'est l'état haut spin de la protéine. Deux

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

modèles structuraux ont été extraits de la PDB : il s'agit des modèles référencés sous les noms 1AJH et 1ABS. MbCO cristallise sous la forme d'un réseau monoclinique (groupe d'espace P_2) comme pour 1AJH, mais à l'aide d'une mutation (i.e. remplacement d'un résidu par un autre) MbCO peut cristalliser sous la forme d'un réseau hexagonal (groupe d'espace P_6) comme pour 1ABS (voir tableau 1.3).

TAB. 1.3.: Paramètres de maille de Mb*CO.

	réseau	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
1AJH [85]	monoclinique	63.450	30.440	34.130	90.0	105.7	90.0
1ABS [80]	hexagonal	90.420	90.420	45.400	90.0	90.0	120.0

Dans l'environnement proche du fer (figure 1.5), ces deux modèles diffèrent essentiellement en termes d'angles et de distances interatomiques, tels qu'ils ont été définis pour MbCO. Ces différences sont présentées dans le tableau 1.4. On constate que, en dehors des distances Fe-N_p, l'environnement du fer varie beaucoup d'un modèle à l'autre. Les distances Fe...C, C-O et l'angle β sont en effet très différents. Ceci peut se comprendre dans la mesure où CO est dans un état métastable. Les auteurs du modèle 1ABS [80] constatent notamment qu'il n'est pas possible à partir de leurs cartes de la densité électronique respectives de déterminer quelle extrémité de CO pointe vers le fer. En effet, CO peut pivoter pendant la photolyse de sorte que l'atome d'oxygène soit l'extrémité de CO la plus proche du fer. C'est le cas spéculé pour le modèle 1ABS [80]. Cependant les distances Fe...C et Fe...O données par I. Schlichting *et al.* [80] (resp. 4.14 Å et 3.60 Å) sont toutes deux très supérieures à celle donnée pour Fe...C dans le modèle 1AJH par Teng *et al.* En comparant avec les données du tableau 1.2, on remarque que plus CO est éloigné du fer, plus le fer se déplace hors du plan de l'hème en direction de l'histidine proximale. Lorsque CO n'est plus lié au fer, le fer est pentacoordiné et se trouve alors dans un état haut spin, ce qui lui confère un rayon ionique plus grand que dans son état bas spin (cas de MbCO). L'atome de fer haut spin a alors un rayon trop grand pour pouvoir se trouver au centre des quatre azotes de la porphyrine, alors que l'atome de fer bas spin a un rayon suffisamment petit pour pouvoir se rapprocher du centre des quatre azotes.

TAB. 1.4.: Données structurales du voisinage du fer dans Mb*CO.

Mesures XRD	Distances interatomiques (Å)				Angles (°)		Distance hors plan de Fe (Å)
	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe-N _{his}	Fe...C	C-O	α	β	ΔZ_{Fe}
1AJH [85]	2.00	2.11	2.84	1.21	24.4	45.9	-0.09
1ABS [80]	1.98	2.25	4.14	1.12	22.0	69.0	-0.19

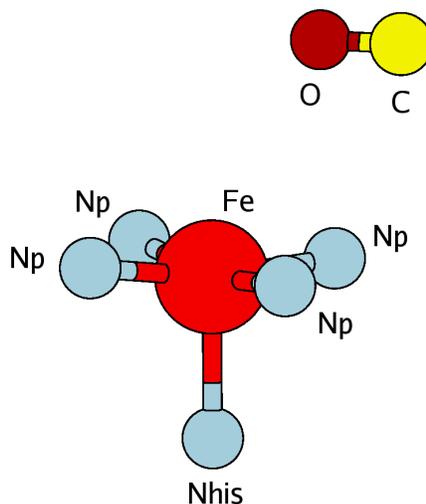


FIG. 1.5.: Environnement local du fer dans Mb*CO.

1.3.3. Structure de la cyano-metmyoglobine (MbCN)

Lorsque l'ion cyanure CN^- vient se fixer en sixième position de coordination du fer de l'hème, oxydé Fe(III), nous avons la cyano-metmyoglobine. La metmyoglobine est la forme oxydée de la myoglobine, on dit aussi que le fer est à l'état ferrique. Avec l'arrivée de l'ion CN^- sur le site de fixation, la protéine acquiert un état de spin $S=\frac{1}{2}$, c'est l'état fondamental de la cyano-metmyoglobine [30]. Nous avons étudié deux structures de MbCN⁶, il s'agit des structures 1EBC et 2JHO. MbCN cristallise dans un réseau monoclinique de groupe d'espace P2, les paramètres de maille sont indiqués dans le tableau 1.5. Bolognesi *et al.* [14] ont mesuré par XRD la structure de MbCN à l'aide d'un échantillon monocristallin à 300 K, la résolution de la mesure XRD est 1.8 Å le modèle a pour référence 1EBC. Très récemment, Arcovito *et al.* [4] ont caractérisé par XRD et par XANES la structure de

⁶En toute rigueur il faudrait utiliser l'abréviation metMbCN⁻ pour désigner la cyano-metmyoglobine, mais nous utiliserons par commodité la notation plus simple, MbCN, plus souvent rencontrée dans la littérature.

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

TAB. 1.5.: Paramètres de maille de MbCN.

	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
1EBC [14]	64.870	31.000	35.290	105.63
2JHO [4]	34.409	29.786	63.633	104.93

MbCN sous forme de monocristal, à 100 K avec une résolution de 1.4 Å. Le modèle a pour référence 2JHO. Nous donnerons plus de précisions sur cette étude dans le chapitre 2.

Comme dans MbCO, le fer dans MbCN est en environnement octaédrique distordu. Nous donnons dans le tableau 1.6 les distances et les angles caractéristiques de l'environnement du fer pour ces deux modèles. Les différences majeures entre les deux modèles concernent les distances entre le fer et ses ligands axiaux : alors que les distances Fe–C et Fe–N_{his} sont toutes deux égales à 2.02 Å pour 1EBC, elles sont respectivement de 1.92 et 2.08 Å pour 2JHO. De plus, la distance C–N est plus grande dans le modèle 2JHO que dans le modèle 1EBC et le fer se situe sous le plan de l'hème (vers l'histidine proximale) dans 1EBC alors qu'il est au-dessus dans 2JHO.

TAB. 1.6.: Données structurales du voisinage du fer dans MbCN.

Mesures XRD	Distances interatomiques (Å)				Angles (°)		Distance hors plan de Fe (Å)
	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe–N _{his}	Fe–C	C–N	α	β	ΔZ_{Fe}
1EBC [14]	2.02	2.02	2.02	1.06	5.7	13.9	-0.04
2JHO [4]	2.04	2.08	1.92	1.11	4.1	13.0	+0.03

1.3.4. Structure de la nitrosyle-myoglobine (MbNO)

Nous avons étudié le modèle 1HJT de MbNO proposé par Brucker *et al.* [19], c'est le seul modèle de myoglobine native de cachalot enregistré à la PDB. Les auteurs ont étudié la structure de MbNO à 295 K par XRD avec une résolution de 1.7 Å. MbNO cristallise dans un réseau monoclinique (groupe d'espace P2₁) comme les deux autres dérivés, MbCO et MbCN. Les paramètres de maille sont donnés dans le tableau 1.7 et les caractéristiques de l'environnement du fer sont présentées dans le tableau 1.8.

Spécifiquement, le monoxyde d'azote NO peut aussi bien se fixer en sixième position de coordinence du fer ferreux que du fer ferrique. Selon le cas la géométrie de la chaîne

1.3. Structure des dérivés de la myoglobine (MbXY)

TAB. 1.7.: Paramètres de maille de MbNO (Z=2).

	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
1HJT [19]	64.453	29.444	35.328	106.32

TAB. 1.8.: Données structurales du voisinage du fer dans MbNO d'après le modèle 1HJT.

Mesures XRD	Distances interatomiques (Å)				Angles (°)		Distance hors plan de Fe (Å)
Réf. PDB	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe-N _{his}	Fe-N	N-O	α	β	ΔZ_{Fe}
1HJT [19]	2.08	2.18(3)	1.89(4)	1.15	4.6	68(5)	-0.00(1)

Fe–N–O est totalement différente. Pour ce modèle, le fer est à l'état ferreux ($3d^6$) comme dans MbCO et la fixation de NO confère à la protéine un état de spin $S = \frac{1}{2}$ dans son état fondamental [26]. Cependant il faut noter que la liaison Fe–NO possède un caractère fortement covalent et que le phénomène de rétro-liaison délocalise l'électron non apparié du ligand NO, le long de la chaîne Fe–N–O. En effet, une manifestation de cette délocalisation a pour conséquence un affaiblissement de la liaison Fe–N_{his} (2.18 Å). Comme le montre des mesures RPE (Résonance Paramagnétique Electronique) [54, 92], l'électron non apparié de NO peuple une orbitale moléculaire possédant de manière substantielle le caractère de l'orbital $3d_{z^2}$ antiliante de Fe. La chaîne Fe–N–O est très distordue, l'angle β est de 68.0°, c'est un effet de la présence d'un électron dans l'orbitale antiliante $2\pi^*$ de NO. La distance moyenne Fe–N_p du modèle 1HJT de 2.08 Å cache des distances individuelles relativement inhomogènes avec deux liaisons Fe–N_p opposées de 2.03 et 2.13 Å. Cette asymétrie est due à l'effet de l'angle α de la liaison Fe–N(O). Une étude [79] rapporte que la liaison Fe–N_p la plus longue est toujours proche de la projection de la liaison Fe–N(O) dans le plan de l'hème. Nous montrons sur la figure 1.6 la projection du ligand NO dans le plan de l'hème. L'asymétrie est très prononcée du fait que l'atome d'azote de NO est juste à l'aplomb d'une liaison Fe–N_p (i.e. la plus courte). Nous pouvons également remarquer que dans cette structure, contrairement aux autres, les plans définis par les angles α et β ne sont pas approximativement coplanaires. L'angle diédral z -Fe–N–O qui mesure cette écart est de 65.2°. La distance Fe–N(O) de 1.89 Å est relativement courte pour une liaison normalement plus forte que la liaison Fe–C(O) (1.82 Å pour 1A6G et 1.73 Å pour 1BZR).

1. Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés

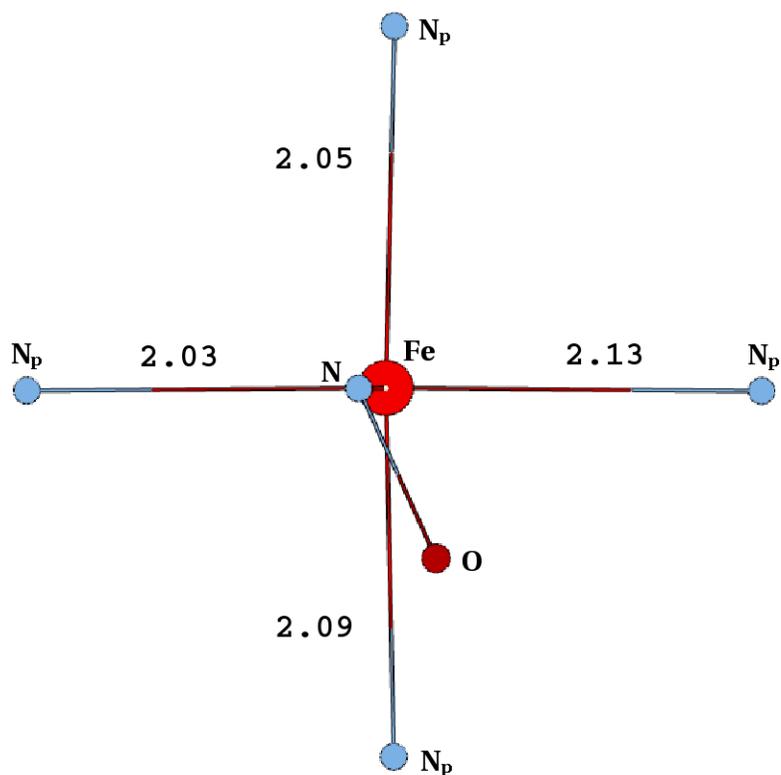


FIG. 1.6.: Vue locale du site du fer dans MbNO, modèle 1HJT. L'atome d'azote de NO est à l'aplomb de la distance Fe-N_p la plus courte.

1.3.5. Précisions sur les mesures XRD

Il faut savoir que les positions atomiques fournies dans les fichiers de la PDB ne sont pas des données expérimentales brutes, mais ont fait l'objet d'un travail de traitement de données et d'interprétations. Après purification et cristallisation de la protéine, le cristal est inséré dans un faisceau de rayons X, les faisceaux diffractés sont enregistrés par un détecteur. L'amplitude de ces réflexions, nommée facteur de structure, est la donnée directe de l'expérience. Malheureusement, le facteur de structure ne peut pas être interprété directement en terme de structure tridimensionnelle, puisque la phase des réflexions n'est pas connue. Il y a plusieurs manières de déterminer la phase, comme par exemple en utilisant une structure similaire déjà connue. Une fois la phase connue, une carte de la densité électronique peut être construite à l'aide d'un champ de force. Cette carte de la densité électronique ne permet pas de déterminer sans ambiguïté la position des atomes, sauf pour des mesures à haute résolution ($\lesssim 1 \text{ \AA}$). Ensuite, les cristallographes essaient de construire un modèle atomique compatible avec la densité électronique. Cette procédure consiste à minimiser la différence entre l'amplitude expérimentale du facteur de structure (f_o) et l'amplitude calculée pour le modèle atomique (f_c) pour toutes les réflexions. Les positions atomiques sont donc réajustées (affinées) jusqu'à convergence du facteur cristallographique :

$$R = \frac{\sum ||f_o| - |f_c||}{\sum |f_o|}$$

Cependant, le facteur R correspond à une mesure globale, non sensible à de petits détails de la structure. En outre, la plupart du temps, le potentiel du champ de forces décrivant les sites actifs, n'est pas suffisamment précis [77]. Il apparaît nécessaire de compléter ces mesures XRD par des mesures complémentaires.

La spectroscopie d'absorption des rayons X est une technique chimiquement sélective qui peut s'avérer plus sensible aux détails structuraux des sites actifs. C'est notamment ce qu'ont observé Arcovito *et al.* [19] en combinant diffraction des rayons X et XANES dans le cas de MbCN. Dans cette thèse, nous souhaitons utiliser une approche théorique pour caractériser le degré de sensibilité du XANES aux éléments caractérisant l'environnement du fer dans les divers composés MbXY. Le chapitre suivant présente les spectres XANES expérimentaux des différents dérivés MbXY, ainsi que leur analyse par un programme de fit basé sur la théorie de la diffusion multiple.

1. *Structure de la myoglobine Mb et de ses dérivés*

2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés MbXY.

2.1. Données expérimentales

2.1.1. MbCO et Mb*CO

Les mesures d'absorption des rayons X au seuil K du fer sur MbCO et Mb*CO ont été réalisées par l'équipe de Stefano Della Longa [62] du département des *scienze biochimiche* de l'université *La Sapienza*, à Rome. Ces mesures se sont déroulées sur la ligne CRG-IF BM 32 de l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility), à Grenoble, avec la participation de Jean-Louis Hazemann. La détection utilisée est une détection de fluorescence. En effet, cette technique de volume est particulièrement bien adaptée aux échantillons dilués ayant l'élément absorbant "lourd" [15, 40] comme les sites métalliques dans les protéines. Le monochromateur de la ligne est un double cristal de Si opérant sur les faces 111. La fluorescence est détectée par des photodétecteurs de germanium. La cristallisation de MbCO est obtenue par addition d'une solution de sulfate d'ammonium à 3.25M et 0.05M de phosphate tamponnée à pH 6.5 (comme préconisé par Kendrew et Parrish [52]), à une solution concentrée de la protéine préalablement saturée par CO. Le cristal de MbCO de $0.2 \times 0.2 \times 0.3 \text{ mm}^3$ est monté sur une tête goniométrique, de telle façon que l'axe \mathbf{b} de la maille monoclinique (Fig. 1.4) soit parallèle à l'axe de rotation de la tête goniométrique. L'orientation du cristal autour de cet axe est obtenue à l'aide d'un moteur de type "pas à pas", d'une précision de 0.01° (information fabricant). Cependant, la limitation en précision vient de la détermination de l'axe perpendiculaire au plan de l'hème, l'axe \mathbf{a}^* , évalué à $\pm 2^\circ$. L'acquisition des spectres de MbCO à 100 K a été réalisée (pour réduire le bruit d'origine thermique) en faisant tourner le cristal autour de l'axe \mathbf{b} (Fig.1.4). On obtient ainsi le spectre XANES pour une polarisation du faisceau, ϵ , parallèle ou perpendiculaire au plan de l'hème, soit respectivement σ_{\parallel} ou σ_{\perp} . Ensuite, pour obtenir Mb*CO le cristal est

2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés MbXY.

refroidi à une température de 20 K et illuminé continûment par lumière blanche à l'aide d'une fibre optique pendant 3 heures. La même technique d'orientation que MbCO est utilisée pour l'acquisition des spectres de Mb*CO. Les spectres correspondants sont présentés sur la figure 2.1¹. Nous avons désigné les différents pics par des lettres majuscules pour σ_{\perp} et par des lettres minuscules pour σ_{\parallel} .

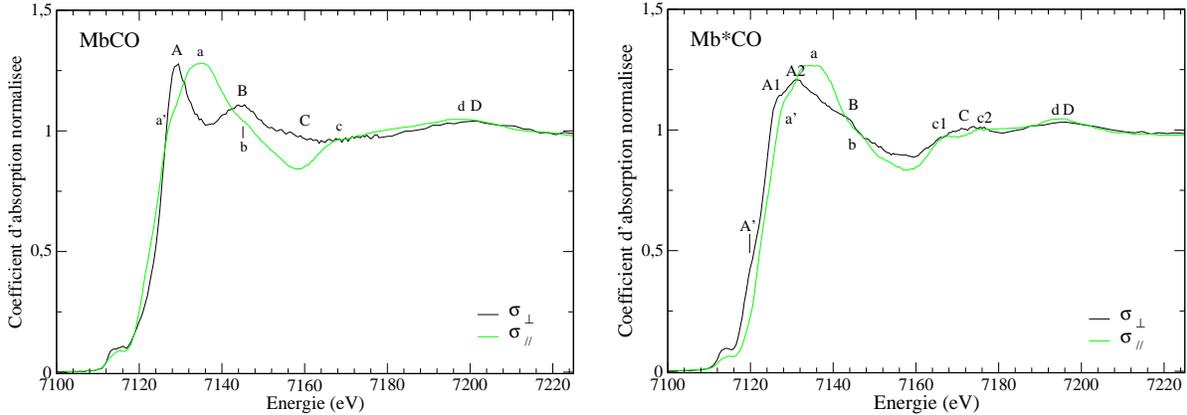


FIG. 2.1.: A droite spectres de MbCO, à gauche spectres de Mb*CO. Trait clair : spectre polarisé parallèlement au plan de l'hème ($\epsilon \parallel \mathbf{c}$ ou σ_{\parallel}). Trait foncé : spectre polarisé perpendiculairement au plan de l'hème ($\epsilon \parallel \mathbf{a}^*$ ou σ_{\perp}).

Dans le cas de MbCO (Fig. 2.1 de gauche), dans les cinquante premiers eV après le préseuil, le spectre $\epsilon \parallel \mathbf{a}^*$ (ou σ_{\perp}) présente deux pics principaux, appelés A et B, alors que le spectre $\epsilon \parallel \mathbf{c}$ (ou σ_{\parallel}) est caractérisé par une structure plus large, appelée a, précédée d'un épaulement a'. Comme le montre Bianconi *et al.* [11], les deux pics A et B sont dus à la diffusion du photoélectron le long de la chaîne Fe–C–O et de la liaison Fe–N_{his} et sont donc sensibles à la géométrie de la chaîne Fe–C–O. De la même façon, les pics d'absorption a et a' sont dûs à la diffusion multiple du photoélectron dans le plan de l'hème, leurs intensités dépendent de la planéité du macrocycle. A plus haute énergie, à partir de 7170 eV, la dépendance angulaire du seuil K du fer est faible : les spectres σ_{\parallel} et σ_{\perp} sont presque identiques. Les pics c, d et D peuvent être considérés comme les premières oscillations EXAFS². Ces pics sont donc moins sensibles à la géométrie (en termes d'arrangement tridimensionnel) de l'environnement du fer, que ceux situés à plus basse énergie.

¹Les données expérimentales nous ont été aimablement fournies par Stefano Della Longa.

²Extended X-ray Absorption Fine Structure.

Dans le cas de Mb*CO (Fig. 2.1 de droite), on remarque tout d’abord que le spectre σ_{\parallel} est assez semblable à celui de MbCO. Ce résultat n’est pas trop surprenant dans la mesure où l’on s’attend à ce que la structure du plan de l’hème ne soit pas “trop” modifiée par le départ de la molécule CO. En revanche, le spectre σ_{\perp} est très différent de celui obtenu pour MbCO. Le pic A s’est dédoublé en deux pics distincts A₁ et A₂, avec l’apparition d’un épaulement A’ dans la montée du seuil. Nous avons toujours une structure vers 7145 eV, appelée B mais elle n’est plus séparée de A₁ et A₂ par un minimum local d’absorption. Ces différences montrent que le spectre σ_{\perp} est très sensible à la géométrie des ligands axiaux.

La région du préseuil est sensible à la structure électronique de l’atome sondé par absorption des rayons X [22]. Dans MbCO, le site de l’atome sondé est octaédrique distordu, avec aux cinq premières positions de coordinence, les quatre atomes d’azote pyrrolique qui forment le plan de l’hème et l’azote de l’histidine proximale, et en sixième position de coordinence l’atome de carbone de la molécule CO. Mb*CO se différencie de MbCO par sa sixième position de coordinence non liée, du fait de la photolyse de CO. En outre, le passage de l’état bas spin à l’état haut spin du fer lors de la photolyse de CO induit un déplacement du fer hors du plan de l’hème. Au vu des modèles de la PDB présentés dans la section 1.3 de ce chapitre, ce déplacement peut être compris entre 0.075 Å et 0.189 Å.

L’existence du préseuil peut être dû à la fois à des transitions quadripolaires électriques (E₂), correspondant à des transitions $1s \rightarrow 3d$, et à des transitions dipolaires électriques (E₁) correspondant à des transitions $1s \rightarrow 4p$, les orbitales $4p$ étant hybridées avec les orbitales $3d$, puisque le site du fer dans MbCO (comme dans Mb*CO) n’est pas centrosymétrique.

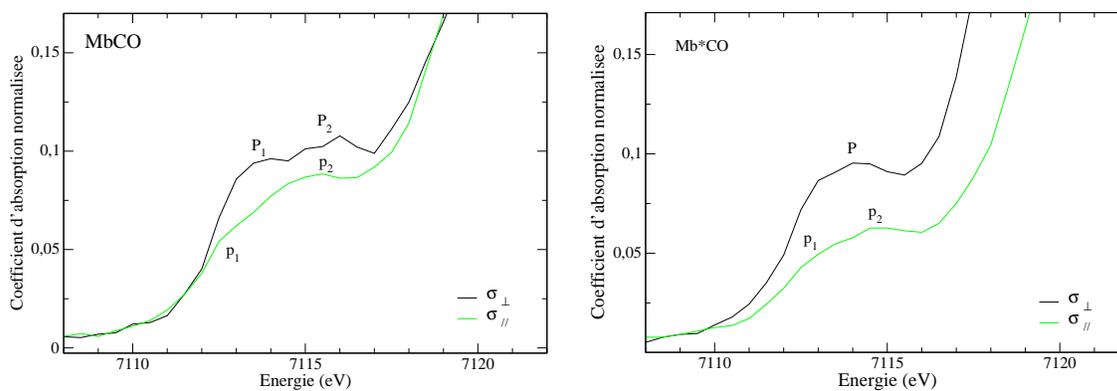


FIG. 2.2.: Vue agrandie de la région du préseuil de la figure 2.1 dans MbCO (gauche) et dans Mb*CO (droite).

La figure 2.2 correspond à une représentation agrandie de la figure 2.1 centrée sur

2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés MbXY.

TAB. 2.1.: Tentative d'attribution des pics du préseuil à des niveaux électroniques moléculaires de MbCO et de Mb*CO (d'après [62]).

Pics	MbCO	Mb*CO
P ₁	$[d_{z^2} + \sigma(\text{CO})]^*$	-
P ₂	$[d_{yz}, d_{xz} + \pi^*(\text{CO})]^*$	-
P	-	d_{z^2}
P ₁	d_{xy}	d_{xy}
P ₂	π^*_{porph} et $[d_{yz}, d_{xz} + \pi^*(\text{CO})]^*$	π^*_{porph}

la région du préseuil. Dans le cas de MbCO (Fig. 2.2 de gauche), on voit que pour les deux polarisations le préseuil possède deux pics séparés d'environ 2.5 eV. Les pics P₁ et P₂ de σ_{\perp} sont à légèrement plus haute énergie ($\simeq 1\text{eV}$) et sont plus intenses que les pics p₁ et p₂ de σ_{\parallel} . Dans le cas de Mb*CO (Fig. 2.2 de droite), σ_{\parallel} présente également deux pics distincts, p₁ et p₂, mais d'intensité plus faible que dans le cas de MbCO. En revanche, pour σ_{\perp} , on observe un pic large que l'on note P. La dépendance angulaire du préseuil K du fer varie beaucoup entre MbCO et Mb*CO. Dans la réf. [62], Della Longa *et al.* propose une analyse de l'origine des ces pics en termes d'hybridation entre les orbitales d du fer et les orbitales moléculaires du ligand CO et des ligands azote de la porphyrine. En s'appuyant sur des diagrammes d'orbitales moléculaires simplifiés représentant la structure électronique HOMO-LUMO³ de MbCO et de Mb*CO, les auteurs de la réf. [62] tentent d'attribuer les différents pics du préseuil à des transitions vers des états liés vides qui sont détaillés dans le tableau 2.1. Cette analyse ne permet pas de connaître la contribution au préseuil des transitions dipolaires et quadripolaires en terme d'amplitude. Pour aller plus loin dans l'interprétation du préseuil et pour confirmer (ou infirmer) l'analyse résumée dans le tableau 2.1, il est nécessaire de procéder à des simulations.

³HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) et LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) désignent respectivement l'orbitale moléculaire occupée la plus haute en énergie et l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse en énergie.

2.1.2. MbCN

La méthode de cristallisation de MbCN est la même que celle décrite pour MbCO (Sec. 2.1.1) [52]. Le dérivé cyano-metmyoglobin est obtenu en immergeant un cristal de myoglobine dans sa solution “mère” (celle qui a permis d’obtenir le cristal de Mb) contenant 30 mM de NaCN pendant 30 minutes. Les mesures XRD et de spectres XANES polarisés sur MbCN ont été réalisées par Arcovito *et al.* [4], sur la source de rayonnement synchrotron de Daresbury en Grande-Bretagne (ligne de lumière PX10) à 100 K avec une résolution de 1.4 Å. Le signal d’absorption des rayons X au seuil K du fer a été collecté en mode fluorescence à l’aide de quatre éléments de détection de Ge monolithiques. L’orientation pour l’acquisition des spectres XANES polarisés est la même que celle décrite pour MbCO (Sec. 2.1.1) : le cristal est repéré par son axe \mathbf{b} parallèle au plan de l’hème et correspond à l’axe de rotation de la tête goniométrique. Nous montrons sur la figure 2.3 les spectres XANES de cette étude.

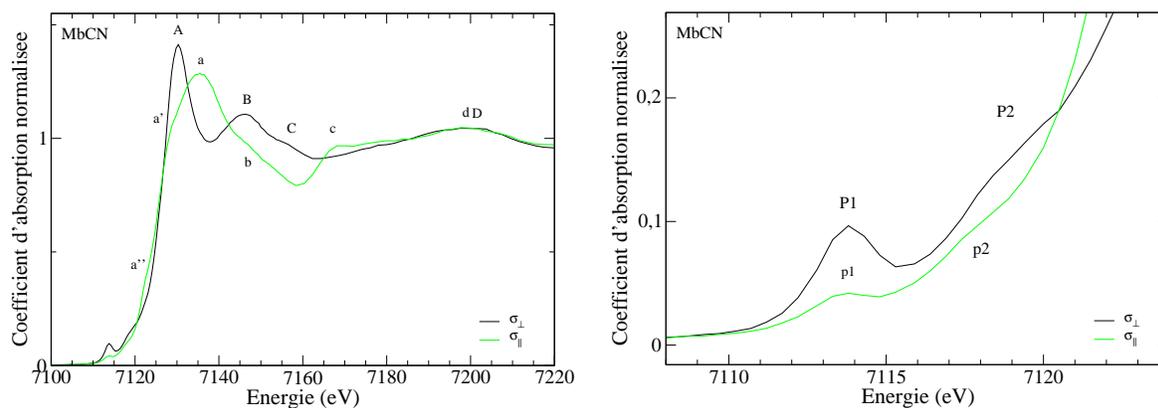


FIG. 2.3.: Spectres XANES polarisés enregistrés au seuil K du fer dans MbCN [4]. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.

Le spectre σ_{\perp} sur la figure 2.3 de gauche présente deux pics principaux désignés par les lettres A et B. Comme nous l’avons déjà évoqué pour les spectres de MbCO, ces deux pics sont sensibles à la géométrie des ligands hors du plan de l’hème. Ce spectre montre également un pic C qui se présente comme un épaulement du pic B. Le spectre σ_{\parallel} de MbCN est caractérisé par une structure plus large et moins intense, appelée a, précédée de deux épaulements a' et a'' . Ensuite vient une structure large b, qui apparaît dans la région des pics B et C pour la polarisation orthogonale. Les pics c, d et D peuvent être considérés comme les premières oscillations EXAFS.

La figure 2.3 de droite montre un agrandissement de la région du préseuil de la

2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés MbXY.

figure 2.3 de gauche. Le spectre polarisé σ_{\perp} comporte un pic P_1 très net vers 7113.8 eV, suivi d'un pic P_2 plus large, déjà engagé dans la montée du seuil. Le pic noté P_1 se situe à la même énergie que celui de MbCO (fig. 2.2). Ainsi par analogie avec MbCO, on peut en déduire que les transitions électroniques responsables de P_1 impliquent la participation des orbitales $3d_{z^2}$ du fer. Le préseuil de σ_{\parallel} présente lui aussi deux structures, p_1 et p_2 , mais de plus faible intensité que P_1 et P_2 de σ_{\perp} . On notera également que p_2 de σ_{\parallel} est à plus basse énergie que P_2 de σ_{\perp} , alors que p_1 et P_1 sont situés à la même énergie.

2.1.3. MbNO

Les mesures d'absorption des rayons X au seuil K du fer sur MbNO correspondent à la même campagne de mesures que celle de MbCN. Elles nous ont été aimablement fournies par Stefano Della Longa.

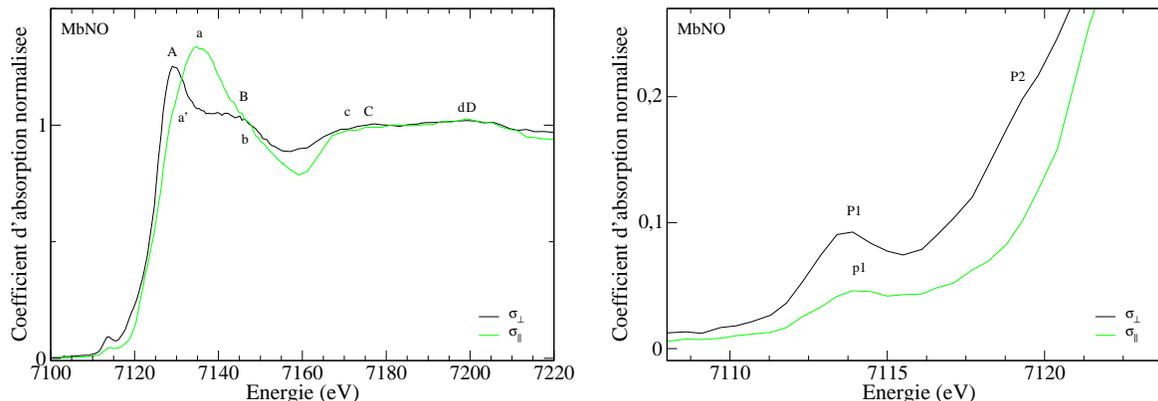


FIG. 2.4.: Spectres XANES polarisés enregistrés au seuil K du fer dans MbNO. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.

La figure 2.4 de gauche présente les deux spectres XANES polarisés. Dans les 40 premiers eV, le spectre σ_{\perp} possède deux pics principaux notés A et B, mais contrairement au cas de MbCO et de MbCN, ces deux pics ne sont pas séparés par un creux. A plus haute énergie, au-delà de 7150 eV, le spectre σ_{\perp} est caractérisé par deux structures larges appelées C et D, plus semblables à celles observées dans le cas de Mb*CO que dans le cas de MbCO et MbCN. Le spectre σ_{\parallel} , caractérisé par un pic large et intense a, précédé d'un épaulement a' et suivi de trois structures b, c et d, est tout-à-fait semblable aux spectres σ_{\parallel} de MbCO et de MbCN.

Sur la figure 2.4 de droite, représentant la région du préseuil, on remarque que le

spectre σ_{\perp} est caractérisé par deux pics P_1 et P_2 , très similaires à ceux observés pour MbCN. Le préseuil σ_{\parallel} ne présente qu'un pic p_1 situé à la même énergie que P_1 .

2.2. Analyse des spectres expérimentaux par une procédure de fit utilisant la théorie de la diffusion multiple

Les spectres XANES de MbCO, Mb*CO et MbCN présentés dans la section précédente (section 1) ont fait l'objet d'une analyse par la théorie de la diffusion multiple [61, 4] à l'aide du programme MXAN [10]. Ces résultats, obtenus par Stefano Della Longa et ses collaborateurs, ont été présentés dans la référence [61] pour MbCO et Mb*CO et dans la référence [4] pour MbCN. L'approche de calcul de MXAN utilise un potentiel de géométrie *muffin-tin* (MT) ainsi qu'une procédure de fit où les paramètres d'ajustement sont les distances entre le fer et ses premiers voisins, ainsi que la distance C–O ou C–N, et les angles α et β . Le fit est effectué sur un domaine en énergie assez étendu (*i.e.* 200 eV), incluant les premières oscillations EXAFS. Dans la suite, nous présentons les résultats obtenus pour ces trois composés, puis nous expliquons l'intérêt d'aller au delà de l'approximation MT pour mieux décrire la région proche du seuil.

2.2.1. Résultats du fit des spectres XANES par la théorie de la diffusion multiple

Pour faire un ajustement des spectres XANES polarisés, le programme MXAN effectue une minimisation de la fonction χ^2 pour les distances, Fe– N_p , Fe– N_{his} , Fe–C et C–Y (Y=O,N) et les angles α et β , pour chaque cluster test. Le cluster test comprend la porphyrine, un groupement imidazole et le ligand CY, soit 32 atomes. Durant le fit, le groupement imidazole de l'histidine proximale et le groupement pyrrole de la porphyrine suivent rigidement la position des atomes N_{his} et N_p , respectivement. Les résultats du fit des spectres XANES de MbCO, Mb*CO et MbCN sont donnés dans le tableau 2.2. Pour MbCO, comme pour MbCN, le fit s'avère très peu sensible au déplacement du fer hors du plan de l'hème et à la valeur de l'angle α . C'est pourquoi les auteurs ne donnent pas la valeur pour ces deux paramètres. En revanche, dans le cas de Mb*CO, en raison de sa plus grande valeur, le fit est sensible à l'angle α . Cela permet une évaluation sur la distance de CO au fer avec une assez bonne précision (erreur statistique de 0.07 Å [61]). Les angles

2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés MbXY.

TAB. 2.2.: Paramètres structuraux issus du fit des spectres XANES de MbCO, Mb*CO et MbCN. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Modèles	Fe-N _p	Fe-N _{his}	Fe···C	C-X(O,N)	α	β	ΔZ_{Fe}
MbCO [61]	2.00	2.06	1.83	1.07	-	14.0	-
Mb*CO [61]	2.01	2.05	3.08	1.24	37.0	31.0	-0.22
MbCN [4]	2.01	2.07	1.87	1.10	-	10.0	-

α et β sont déterminés avec une erreur de 7° et 5° respectivement. Dans tous les cas, le fit est sensible aux distances Fe-N_p, Fe-N_{his}, Fe-C et C-Y où Y=O ou Y=N. Les valeurs résultants du fit sont proches des données de 1A6G pour MbCO (tableau 1.2), de 1AJH pour Mb*CO (tableau 1.4) et de 2JHO pour MbCN (tableau 1.6).

Dans le cas de MbCN, il est utile de donner quelques précisions sur la façon dont le modèle 2JHO a été obtenu. Le modèle 2JHO résulte en effet d’une étude combinée de XRD et de XANES sur le même échantillon. Les résultats du fit par MXAN des spectres XANES polarisés sont utilisés pour contraindre l’affinement de structure réalisé sur les données XRD⁴. A titre informatif, nous reportons dans le tableau 2.3 les données relatives aux étapes successives qui ont abouti à la structure 2JHO de la PDB. La première ligne de données correspond à la méthode classique de détermination par XRD d’une structure cristallographique (les auteurs utilisent le modèle 1EBC pour construire une première “carte” de la densité électronique de MbCN). La deuxième ligne de données correspond aux résultats de fit de spectres XANES à l’aide du programme MXAN (cf. tableau 2.2). La troisième ligne de données (mesures XRD et XANES) est obtenue en utilisant les paramètres de fit précédents pour à nouveau construire une structure qui soit compatible avec la mesure XRD.

TAB. 2.3.: Données de l’environnement du fer dans MbCN illustrant les étapes successives de la construction du modèle 2JHO [4]. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Méthode	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe-N _{his}	Fe-C	C-N ⁻	β	courbe
XRD	2.04	2.08	2.02	1.10	14.0	B
Fit MXAN	2.01(3)	2.07(3)	1.87(4)	1.10(7)	10.0(7.0)	D
XRD + fit MXAN	2.04	2.08	1.92	1.11	13.0	C

⁴Cette méthodologie originale a fait l’objet d’une publication dans PNAS [4].

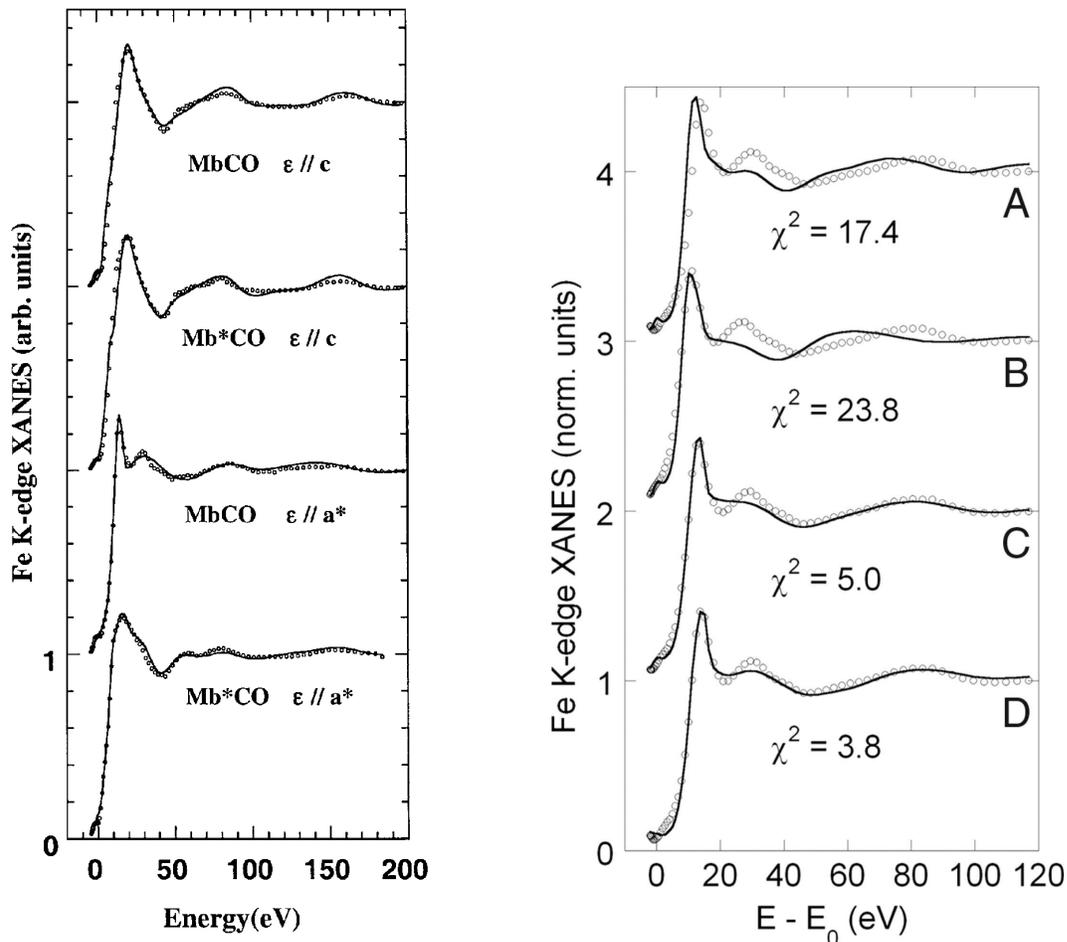


FIG. 2.5.: Comparaison entre spectres expérimentaux (cercles vides noirs) et fits MXAN (traits pleins) dans le cas de MbCO et Mb*CO à gauche (figure extraite de [61]) et de MbCN à droite (figure extraite de [4]). Voir texte pour plus de détails.

La figure 2.5 compare les spectres expérimentaux aux spectres obtenus avec MXAN à l'issue de la procédure de fit. La figure de gauche extraite de [61] concerne MbCO et Mb*CO, la figure de droite extraite de [4] concerne le cas de MbCN.

De haut en bas sur la figure de gauche sont présentés les deux fits des spectres σ_{\parallel} , notés $\epsilon // c$, puis les deux fits des spectres σ_{\perp} , notés $\epsilon // a^*$. Les fits portent sur un domaine en énergie de l'ordre de 200 eV. Sur ce domaine en énergie relativement étendu, les fits sont de bonne qualité, surtout dans le cas de Mb*CO. Dans le cas de MbCO, on s'aperçoit que l'accord dans la région 15-70 eV, relative au XANES, n'est pas pleinement satisfaisant. En effet, les pics labélisés B et C sur le spectre σ_{\perp} de MbCO de la figure 2.1 ne semblent pas bien reproduits. Au vu de la figure 2.5 de gauche, il est également difficile de se prononcer

sur l'efficacité du fit dans la région du préseuil.

Sur la figure de droite sont représentés quatre spectres σ_{\perp} calculés avec MXAN à partir de différents environnements du fer dans MbCN. La courbe A correspond au modèle 1EBC de la PDB déterminé avec une résolution de 1.8 Å (voir tableau 1.6). La courbe B correspond au modèle obtenu par XRD avec une résolution de 1.4 Å (voir première ligne du tableau 2.3). La courbe D correspond au meilleur fit MXAN, réalisé sans appliquer de restrictions en fonction des données XRD (voir deuxième ligne du tableau 2.3). C'est de cette façon qu'ont été obtenus les spectres de MbCO et Mb*CO représentés sur la figure de gauche. Enfin, la courbe C correspond au modèle 2JHO de la PDB, obtenu par combinaison des données XRD et XANES (voir troisième ligne du tableau 2.3). Le domaine en énergie est ici plus restreint que dans le cas de MbCO et Mb*CO, i.e. 120 eV. On remarque plus aisément que, quel que soit le modèle utilisé, l'accord entre théorie et expérience dans la région du préseuil et dans la région 15-40 eV n'est pas complètement satisfaisant.

Comme le soulignent les auteurs de ces travaux, les corrections *non-muffin-tin* sont essentielles dans les premiers 20–30 eV au-dessus du seuil. Il en est de même dans la préseuil, très sensible à la structure électronique du fer.

2.2.2. Intérêt d'être au-delà de l'approximation MT

Pour bien comprendre l'intérêt d'aller au delà d'un potentiel *muffin-tin*, il nous a semblé important de rappeler en quoi consiste cette approximation. C'est ce que nous faisons dans le paragraphe qui suit.

Dans un solide, le potentiel a certaines caractéristiques : près des noyaux, le potentiel est dominé par une singularité de Coulomb sur une distance de l'ordre du rayon de Bohr ($a_0 \simeq 0,52918$ Å) et ne s'écarte pas trop de la symétrie sphérique. Dans la région entre les atomes, le potentiel varie doucement et n'est jamais très profond. C'est à partir de ces considérations physiques et de leur applicabilité mathématique, qu'a été mise au point l'approximation dite *muffin-tin* pour construire le potentiel. Dans cette approximation, les noyaux atomiques sont inclus dans des sphères non-chevauchantes, appelées sphères atomiques, à l'intérieur desquelles le potentiel est à symétrie sphérique. Dans la région entre les sphères atomiques, le potentiel est choisi constant si bien que le mouvement de l'électron est gouverné par l'équation de Schrödinger pour une particule libre dont les solutions sont bien connues.

Il est indéniable que la construction du potentiel monoélectronique joue un rôle important dans la simulation des spectres XANES et contrairement à la théorie de la diffusion multiple utilisant un potentiel MT, les codes de calculs basés sur la DFT évitent d'intro-

duire des paramètres arbitraires comme les rayons *muffin-tin* pour définir le potentiel. De plus, dans le cas des matériaux à liaisons fortement covalentes, ayant des distributions de charge très unidirectionnelles, dans le cas des biomolécules, ou de matériaux dont une grande partie de la charge se trouve dans la région interstitielle, l'approximation MT est inadaptée : elle donne une représentation du potentiel beaucoup trop éloignée de la réalité [23]. Il est clair qu'une analyse fine de la région du préseuil ne peut être entreprise à l'aide d'un calcul avec l'approximation MT du potentiel. En effet le photoélectron excité devient très sensible aux détails spatio-électroniques du potentiel [22, 67]. Yves Joly [47] montre que l'approximation MT devient peu précise lorsqu'il y a abaissement du degré de symétrie de la structure étudiée. En particulier, il montre dans un calcul sur une structure hypothétique où Fe se trouve dans un octaèdre parfait lié à six atomes d'oxygènes (FeO_6), que la diminution d'une des liaisons Fe–O conduit à un désaccord entre les calculs MT et des calculs plus rigoureux avec le code de calcul FDMNES (Finite Difference Method for Near-Edge Structure). Ce code, entièrement développé par Yves Joly, fut conçu à la fin des années 1990 pour s'affranchir de l'approximation MT. Ce code a recours à une méthode numérique, la méthode des différences finies (FDM), pour résoudre l'équation de Schrödinger monoélectronique (équation différentielle tridimensionnelle). Cela consiste à faire un maillage de l'espace et à discrétiser l'équation de Schrödinger sur chacun des nœuds du réseau cristallin. Ainsi aucune restriction sur la forme du potentiel n'est nécessaire et l'on peut utiliser un potentiel complet. Suite à la divergence des deux types de calcul Y. Joly [47] montre une comparaison entre deux calculs sur MbCO polarisés dans la direction perpendiculaire au plan de l'hème, l'un par la méthode MT et l'autre par la méthode FDM. Ces deux calculs sont comparés à l'expérience [61] et montre bien que l'introduction de distorsions dans le site octaédrique rend les calculs MT moins précis que les calculs FDM.

La procédure de fit du code MXAN s'effectue sur un domaine en énergie relativement étendu (de l'ordre de 200 eV) accordant une importance limitée à la reproduction des structures des premiers eV du spectre. Dans cette thèse, nous voulons au contraire nous focaliser sur un domaine en énergie plus restreint, incluant le préseuil. Nous verrons ainsi au chapitre 4 que les calculs *ab initio* en potentiel total confirment une partie des résultats du tableau 2.2, mais aussi comment notre méthode est plus sensible aux détails structuraux que MXAN, notamment dans la région du préseuil.

2. Description des spectres XANES expérimentaux enregistrés au seuil K du fer dans les composés $MbXY$.

3. Modélisation et optimisation des structures issues de la PDB par la méthode Car-Parrinello

3.1. Mise en œuvre du calcul d'optimisation structurale

La mise en œuvre des calculs *ab initio* d'optimisation structurale des modèles dérivés de la myoglobine consiste principalement à définir le plus petit groupement d'atomes susceptibles de conduire à une représentation physico-chimique suffisamment réaliste de l'environnement du site de fixation. Dans la suite nous parlerons de cluster pour désigner un tel groupement d'atomes.

3.1.1. MbCO

Cette section détaille la mise en œuvre des calculs d'optimisation de structures dans le cas de la carboxy-myoglobine MbCO. Nous discutons le choix des résidus à prendre en compte ainsi que le problème soulevé par le choix d'un tautomère pour l'histidine distale, avec la contrainte supplémentaire d'avoir un cluster électriquement neutre.

Sélection du cluster modèle : choix des résidus

Pour la simulation nous n'avons pas besoin de prendre en compte la maille entière avec ses quelques 3000 atomes. Nous considérons une molécule réduite en faisant l'hypothèse que les résidus trop éloignés n'ont pas d'influence significative sur la géométrie finale de la molécule, puis nous insérons la molécule réduite dans une supercellule. On peut justifier cette hypothèse par le fait qu'il existe des domaines "rigides" dans la protéine qui nous permettent de considérer un résidu indépendamment d'un autre. Ces domaines rigides sont souvent les hélices de la chaîne polypeptidique constituée par les carbones α (C_α). Le cluster choisi possède une extension spatiale plus grande que celui utilisé pour le calcul

3. Modélisation et optimisation des structures issues de la PDB par la méthode Car-Parrinello

du spectre XANES. En effet, nous incluons des résidus ou groupement d'atomes qui sont importants pour contraindre l'environnement du site actif de la myoglobine. En outre, ce type de calcul nous permet une approche systématique de la structure pour comparer des structures qui n'ont pas toujours été cristallisées dans les mêmes conditions pH-métriques et de température.

Dans le cas de MbCO, nous avons considéré le cluster présenté sur la figure 3.1. Il comprend l'hème dans sa totalité, la molécule de CO, l'histidine proximale (His93), l'histidine distale (His64) et la valine 68 (Val68), soit 121 atomes. Les résidus Val68 et His64 proviennent de l'hélice E. Ces résidus sont inclus jusqu'aux carbones C_α uniquement. Le cluster ainsi défini est composé de 121 atomes, répartis autour de l'atome de fer dans un rayon d'environ 8 Å. Nous insérons finalement ce cluster dans une supercellule cubique de 21.2 Å de côté. Afin de stabiliser le système, les positions des C_α de chacun des résidus sont maintenues fixes durant toute l'optimisation de géométrie.

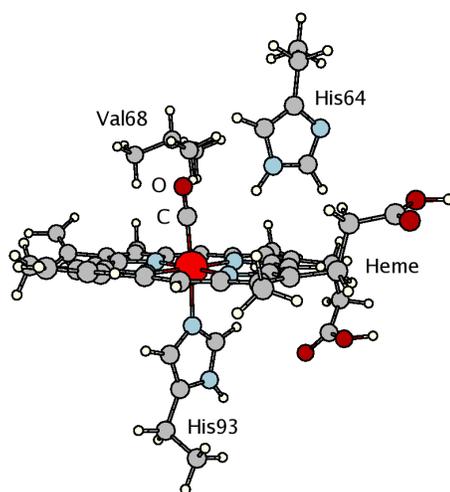


FIG. 3.1.: Cluster utilisé pour l'optimisation structurale de MbCO.

Saturation des liaisons tronquées, état de protonation du résidu His64

Afin de rendre le cluster choisi électriquement neutre, les atomes C_α ont leur couche de valence saturée par des atomes d'hydrogène au lieu de liaisons peptidiques. Pour cette même raison de neutralité, bien que la forme prédominante des groupements carboxylates

des propionates soit anionique dans le modèle 2MB5 de MbCO¹ [28], dans ces calculs ils sont considérés sous forme protonée.

Pour que l'histidine 64 soit neutre, il faut saturer l'un des atomes d'azote de l'imidazole (cycle aromatique de l'histidine), c'est-à-dire qu'il faut choisir l'un des deux tautomères N_ϵ -H ou N_δ -H (figure 3.2). Le choix du tautomère peut avoir une influence majeure sur la géométrie de la poche de l'hème, et plus précisément sur la géométrie de la chaîne Fe-C-O. Jewsbury et Kitagawa (1994) [46] ont étudié les effets de la tautomérisation par des calculs de dynamique moléculaire. Quand l'azote N_ϵ est protoné, ils montrent qu'il y a une interaction électrostatique attractive entre l'oxygène de CO et l'hydrogène de N_ϵ -H, qui stabilise la poche de l'hème en configuration fermée par l'histidine 64. Ce résultat a été confirmé par des calculs QM/MM (Quantum Mechanics/Molecular Mechanics)² par Schulze (1999), dans sa thèse [82]. En revanche avec le tautomère N_δ -H, l'interaction entre His64 et CO est plus faible, pouvant donner lieu à une plus grande mobilité de l'hélice à laquelle appartient l'histidine 64 (résidu His64), par un mouvement de rotation, peut sortir de la poche de l'hème, ouvrant ainsi une porte vers l'extérieur. Si ce mouvement de rotation n'est pas observé, alors l'azote nu N_ϵ est en interaction Van der Waals avec l'oxygène, contraignant l'inclinaison de la chaîne Fe-C-O.

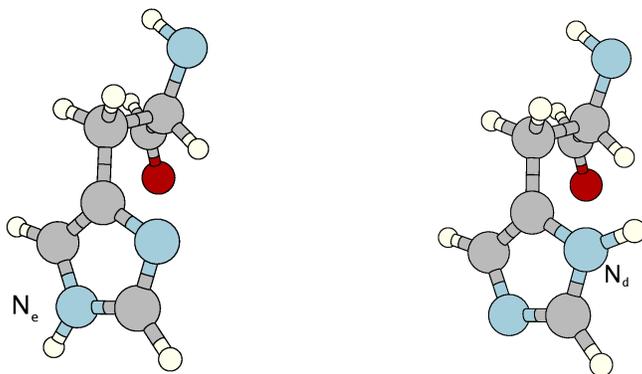


FIG. 3.2.: A gauche le tautomère N_ϵ -H et à droite le tautomère N_δ -H.

¹Cette étude est relativement ancienne, la résolution des données de diffraction correspond à 1.8 Å et la solution de MbCO pendant la cristallisation à un pH de 5.7 ce qui est relativement acide par rapport aux structures que nous étudions. Pour ces raisons nous n'avons pas sélectionné ce modèle.

²La méthode QM/MM est une technique en simulation moléculaire qui combine à la fois, la qualité d'un calcul QM (précision) et celui d'un calcul MM (vitesse), cette approche est particulièrement bien adaptée aux "grosses" molécules où une partie restreinte nécessite une très bonne représentation électronique comme c'est le cas pour le site de fixation de la myoglobine

Nous cherchons ici à connaître la forme prédominante compatible avec les conditions de préparation de l'échantillon utilisé³ dans les mesures de XANES. En effet, l'état d'ionisation d'un acide aminé dépend du pH. Perutz (1992) [71] souligne qu'à pH physiologique, l'histidine distale correspond à un groupe neutre et qu'elle est protonée sur un seul de ses atomes d'azote, qui peut être N_ϵ -H ou N_δ -H. A partir de résultats de mesures XRD effectuées sur MbCO à différents pH [94], Rabenstein et Knapp (2001) [73] ont réalisé des calculs statistiques de conformation et de protonation de l'histidine 64 dans MbCO. Par une méthode Monte-Carlo, ils déterminent la probabilité de population des deux tautomères en fonction du pH (cf. [73] fig. 4). Cette étude montre qu'à pH 6.5 le tautomère N_ϵ -H est majoritaire par rapport au tautomère N_δ -H, dans des proportions de l'ordre de 90%-10%.

Une étude expérimentale par diffusion de neutrons a été effectuée sur Mb, MbO₂ et MbCO [28] et montre le résidu His64 protoné en N_ϵ pour MbO₂ et Mb. En revanche, pour MbCO, His64 est protoné en N_δ , alors que l'échantillon a été synthétisé à pH=5.7. Ces mesures correspondent au modèle 2MB5 cité plus haut. Selon De Angelis *et al.* (2005) [3], le modèle 2MB5 refléterait une auto-oxydation pendant la mesure ($\text{Fe(II)CO} \rightarrow \text{Fe(III)OH}_2$) étant donnée la forte distorsion de Fe-C-O observée ($\beta = 34.2^\circ$). Dans la structure XRD 1BZR (pH=5.9), les auteurs suggèrent qu'il n'y a pas de proton entre CO et N_ϵ dans MbCO (i.e., le tautomère N_δ -H prédomine). Les auteurs justifient cela par rapport à une courte liaison C-O (1.12 Å) indiquant une délocalisation des électrons de valence de C vers Fe(II), due à la proximité de la paire non liante de N_ϵ .

En définitive, nous avons choisi de nous baser sur l'étude en pH et donc d'adopter le tautomères N_ϵ -H pour nos calculs. Ce choix a également été fait par De Angelis *et al.* [3] dans une étude menée sur le modèle 1BZR que nous commenterons dans la suite.

3.1.2. Mb*CO

La majorité des calculs qui sont menés sur des modèles du centre de fixation des hémoprotéines se limitent aux espèces hexacoordonnées. Nous proposons ici l'étude de la structure de Mb*CO où l'atome de fer est pentacoordonné (fig. 1.5) avec la prise en compte de la polarisation de l'état de spin (haut spin, $S=2$) des électrons du niveau 3d du fer. A notre connaissance, c'est la première fois que des études de relaxation de type DFT sont faites sur Mb*CO. Au cours du calcul de relaxation, aucune contrainte géométrique autres que celles imposées aux C_α n'a été appliquée au cluster. Le résidu Leu29 doit être considéré lors de la relaxation, puisqu'il aurait pour rôle la prévention de la fuite de CO

³L'échantillon a été synthétisé à pH 6.5.

perpendiculairement au plan de l'hème [90] Le cluster utilisé contient donc 173 atomes et

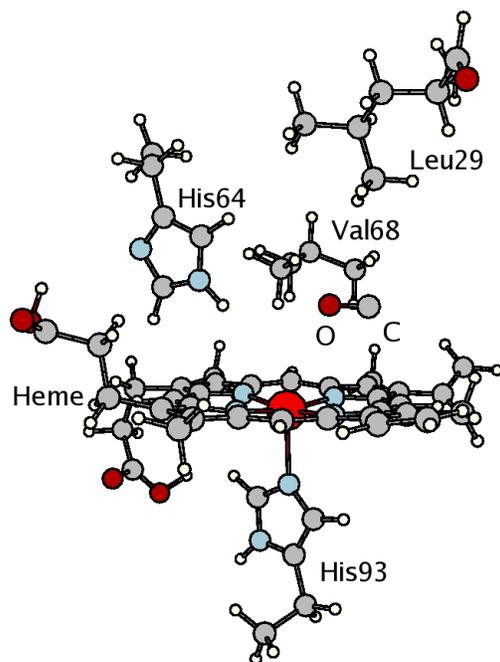


FIG. 3.3.: Cluster pour la modélisation de Mb*CO.

est inséré dans une cellule cubique de $23.3 \times 23.3 \times 23.3 \text{ \AA}^3$ de côté. Le choix de protonation du résidu His64 est le même que pour MbCO (voir sous-section précédente).

3.1.3. MbCN et MbNO

La composition des clusters utilisés pour modéliser MbCN et MbNO est semblable à celle servant à décrire MbCO ($119 + 2 (XY) = 121$ atomes) puisque l'interaction des ligands CN^- et NO avec leur environnement, c'est-à-dire les résidus de la cavité de l'hème, est telle que nous l'avons décrite pour CO. La spécificité de MbCN et de MbNO par rapport à MbCO est que ces systèmes sont paramagnétiques et donc les calculs sont polarisés en spin. Pour MbCN, le ligand XY est un monoanion, on peut noter que CN^- est isoélectronique à CO. Le fer est trivalent (état d'oxydation +III) et l'état fondamental de MbCN est un doublet, $S = \frac{1}{2}$. Pour MbNO, le ligand XY est neutre et possède un électron de plus que dans CO, il est donc paramagnétique. Le fer est à l'état ferreux comme dans MbCO. La description des états électroniques que nous venons de faire est simpliste dans le sens où le phénomène de rétro-liaison (back-bonding) prend largement part dans la liaison Fe–XY. En effet, la

densité de charge qui décrit la liaison Fe–X–Y n’est pas statique, en chimie on dit que la liaison possède une ou plusieurs formes résonnantes. Il serait intéressant d’évaluer l’effet de ce phénomène au travers du seuil K du fer par l’approche de la fonctionnelle de pénalité [72], qui permet de contraindre (énergétiquement) les niveaux d’occupations nd du métal.

Un autre fait tout aussi important pour la modélisation des spectres XANES pour MbNO est la relation qui existe [33] entre la charge formelle n localisée sur FeNO et son angle β . Cet effet a aussi pour cause le phénomène de rétro-liaison, mais diffère essentiellement par rapport à FeCO par une forte intrication entre la géométrie (angle β) et l’état électronique de la chaîne Fe–X–Y.

3.1.4. Code et paramètres de calcul

Dans toute cette étude, la modélisation du milieu par le vide est justifiée par le caractère relativement hydrophobe de la poche de l’hème. Pour tous nos calculs de relaxation nous utilisons le programme CPMD (Car-Parrinello Molecular Dynamics version 3.9.2) [2] dans le cadre de la fonctionnelle de la densité (DFT) avec un gradient de la densité de charge GGA et un gradient de correction BLYP pour le potentiel d’échange-corrélation (avec l’approximation de Becke pour l’énergie d’échange [7] et l’approximation de Lee, Yang et Parr pour l’énergie de corrélation [60]). Le pseudopotentiel (voir l’annexe A.1) de Fe comprend des corrections de cœur non linéaires afin d’améliorer la transférabilité vis-à-vis des excitations magnétiques [6]. Les paramètres de génération de pseudopotentiels sont reportés dans le tableau 3.1. Les orbitales de Kohn-Sham sont développées sur une base d’onde plane avec une énergie de coupure de 100 Ry, ce qui correspond à 5.4×10^5 ondes planes par fonction d’onde de Kohn-Sham. La zone de Brillouin de la cellule de l’espace de direct est échantillonnée au point Γ . La méthode ”Car-Parrinello” est décrite en détail dans plusieurs publications [34, 24]. Le recuit simulé est un algorithme d’optimisation inspiré d’un processus utilisé en métallurgie alternant des cycles de refroidissement lent et de réchauffage (recuit) ; le paramètre à optimiser étant l’énergie totale du système. En effet, lorsqu’un matériau fondu est refroidi lentement, les atomes s’organisent naturellement dans la configuration qui minimise l’énergie du système. Le recuit simulé arrive à ce but en appliquant le critère de Metropolis pour déterminer si une solution doit être gardée. Cette méthode a été décrite par Metropolis et al. [64] pour le cas physique d’un ensemble d’atomes en équilibre thermodynamique. Le principe de cette méthode est d’obtenir une nouvelle configuration de la géométrie du système à chaque itération de l’algorithme (à l’aide d’un paramètre fictif de température). Si la différence d’énergie par rapport à la solution précédente est inférieure à zéro, le changement est accepté. Sinon, il n’est pas

systématiquement rejeté. Pour savoir s’il est accepté, un nombre aléatoire issu de la distribution uniforme est comparé à la distribution de Boltzmann. Cette façon de procéder permet à l’algorithme de visiter puis de s’échapper des minimums locaux tout en favorisant les basses énergies.

TAB. 3.1.: Paramètres de génération des pseudopotentiels. Entre parenthèses figurent les rayons de coupure exprimés en Å.

Atome	Fe ²⁺	Fe ³⁺	O	N	C
Conf. élec.	3s ² 3p ⁶ 3d ⁶	3s ² 3p ⁶ 3d ⁵	2s ² 2p ⁴	2s ² 2p ³	2s ² 2p ²
Etats de valence	3s (0.63) 3p (0.79) 3d (0.79)	3s (0.63) 3p (0.79) 3d (0.79)	2s (0.58) 2p (0.58)	2s (0.59) 2p (0.59)	2s (0.61) 2p (0.79)
Potentiel local	d	d	p	p	p

3.2. Résultats et discussion

3.2.1. MbCO

Le tableau 3.2 donne les valeurs des distances Fe–N_p, Fe–N_{his}, Fe–C et C–O, des angles α et β , ainsi que la distance hors plan du fer (ΔZ_{Fe}) avant et après relaxation pour chacun des deux modèles 1BZR et 1A6G, sur deux clusters différents, l’un comportant la valine Val68, l’autre pas. Le tableau 3.2 donne également les résultats des calculs du type recuit simulé effectués par De Angelis *et al.* [3] à partir du modèle 1BZR et de type QM/MM effectués par Rovira *et al.* [76] à partir du modèle 2MB5. Nous avons également reporté les résultats du fit des spectres XANES de Della Longa *et al.* [61], que nous avons présentés dans la section 2.2. Les calculs menés à partir des structures 1BZR et 1A6G convergent vers une géométrie semblable. En particulier, la longueur Fe–C, initialement de 1.82 Å pour 1A6G [91] et 1.73 Å pour 1BZR [49], vaut après relaxation 1.77 Å (1BZR avec Val68 et 1A6G avec Val68). De même, la distance C–O, initialement de 1.12 Å pour 1BZR [49] et 1.09 Å pour 1A6G [91], vaut 1.16 Å après relaxation. La relaxation a eu aussi pour effet d’augmenter les distances fer–azote dans le plan (Fe–N_p) et la distance Fe–N_{his}, d’une part, et de légèrement décaler le fer au dessus du plan de l’hème, d’autre part. Les deux modèles 1A6G et 1BZR convergent en effet vers une valeur ΔZ_{Fe} de 0.05 Å. L’angle α converge vers une valeur de 8.6° pour les deux modèles alors que l’angle β vaut 6.9° pour

3. Modélisation et optimisation des structures issues de la PDB par la méthode Car-Parrinello

1BZR après relaxation (valeur initiale de 7.4°) et de 8.6° pour 1A6G (valeur initiale de 9°). Même si les deux modèles relaxés sont semblables, on peut noter une autre différence, qui concerne la distance Fe-N_{his}. Cette distance vaut 2.15 Å pour 1BZR et 2.13 Å pour 1A6G.

TAB. 3.2.: Environnement du fer dans MbCO avant et après optimisation des modèles de la PDB. Les distances sont en Å et les angles sont en degrés.

Modèles	Méthode	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe-N _{his}	Fe-C	C-O	α	β	ΔZ_{Fe}
1BZR [49]	mesures XRD	2.00	2.12	1.73(3)	1.12(3)	4.8(0.9)	7.4(1.9)	-0.015
1BZR (avec Val68)	recuit simulé	2.04/2.05	2.15	1.77	1.16	8.6	6.9	+0.05
1BZR (sans Val68)	recuit simulé	2.04/2.05	2.13	1.76	1.16	7.7	6.0	+0.04
1BZR [3]	recuit simulé	2.02	2.10	1.72	1.18	5.9	7.6	-0.03
1A6G [91]	mesures XRD	1.98(2)	2.06(2)	1.82(2)	1.09(2)	9.0	9.0(3)	-0.001(9)
1A6G (avec Val68)	recuit simulé	2.04	2.13	1.77	1.16	8.6	8.6	+0.05
1A6G (sans Val68)	recuit simulé	2.04	2.12	1.77	1.16	7.1	7.2	+0.04
2MB5 [76]	relaxation QM/MM	1.99/2.02	2.13	1.74	1.17	-	3.9	-
MbCO fit [61]	diffusion multiple	2.00(2)	2.06(3)	1.83(2)	1.07	-	14.0(4)	

Nous avons constaté que les résidus His64 et Val68 de la chaîne polypeptidique sont déterminants pour contraindre la géométrie de Fe-C-O. En particulier, on peut déduire du tableau 3.2 une mesure de l'influence du résidu Val68 sur l'environnement du fer en comparant les résultats de calculs effectués à partir des clusters 1BZR et 1A6G sans le résidu Val68 avec ceux où ce dernier est pris en compte. Cette comparaison montre que la présence du résidu Val68 induit une augmentation de la valeur de α et β : de 0.9° dans le cas de 1BZR et de 1.5° pour α et 1.4° pour β dans le cas de 1A6G. Cela montre que le résidu Val68 doit être considéré pour l'évaluation de la distorsion de la chaîne Fe-C-O. Nous constatons aussi une élongation de la liaison Fe-N_{his} (de 2.13 Å à 2.15 Å pour 1BZR et 2.12 Å à 2.13 Å pour 1A6G), lorsque le résidu Val68 est présent dans le cluster, ce qui peut paraître surprenant puisque les liaisons Fe-C et C-O qui sont plus proches de Val68 que la liaison Fe-N_{his} ne sont pas modifiées (ou du moins sont moins sensibles à la présence de Val68). Enfin, la présence de Val68 éloigne le fer du plan de l'hème de un centième d'angström.

L'effet de Val68 a peu été discuté dans la littérature : la plupart des études montrent que l'histidine His64 est le résidu déterminant pour la géométrie de Fe-C-O, même si en définitive His64 et Val68 ont une proximité à l'oxygène de Fe-C-O similaire et présente un même type d'interaction O...H. Cependant, récemment l'influence du résidu Val68 sur

la géométrie Fe–C–O a été étudiée en détail par De Angelis *et al.* en utilisant la méthode Car-Parrinello. Il s’agit d’une étude structurale du site du fer du modèle 1BZR à l’aide d’un cluster comprenant l’hème avec CO, les résidus ayant un atome compris dans un rayon de 8 Å autour de Fe, soit 13 résidus. Jusqu’à maintenant, il semble que ce soit le plus grand cluster de protéine à hème (336 atomes) traité uniquement par la mécanique quantique (et de manière *ab initio*). L’histidine distale est modélisée par le tautomère N_ε-H. Le cluster ainsi défini est ensuite placé dans une boîte cubique de 25.04 Å de côté. Les pseudopotentiels sont générés selon la méthode de Vanderbilt [89], avec la fonctionnelle PBE [70]. De Angelis *et al.* évaluent l’effet de la valine Val68 à l’aide d’un cluster plus petit comportant la valine Val68 pour seul résidu. Ils font de même avec le résidu His64. Les atomes de ces clusters réduits sont tous fixés aux positions précédemment optimisées avec le cluster à 13 résidus, excepté les atomes de la chaîne Fe–C–O. Leurs résultats montrent que Val68 est le résidu prépondérant pour reproduire la valeur de l’angle β . Les auteurs montrent que la contribution de ce résidu à l’angle β est de 7°, proche de la valeur expérimentale (i.e. 7.4°), alors que la contribution de l’histidine His64 à l’angle β n’est que de 3° (6° pour notre étude, calcul sans Val68). Nos calculs sur 1BZR, comme ceux de De Angelis *et al.* [3] donne une valeur de β en bon accord avec la valeur expérimentale (7.4(1.9)°) et montrent que les deux résidus His64 et Val68 doivent être pris en compte pour évaluer la distorsion de la chaîne Fe–C–O.

Contrairement à nos résultats sur le modèle 1BZR, De Angelis *et al.* [3] trouvent après relaxation une légère diminution des longueurs des ligands axiaux de Fe. La longueur Fe–C diminue de 1.73 Å à 1.72 Å et la longueur Fe–N_{his} diminue de 2.12 Å à 2.10 Å, alors que nous obtenons respectivement pour ces longueurs 1.77 Å et 2.15 Å après relaxation. Paradoxalement, le calcul sur le cluster avec 13 résidus et celui sur un cluster composé uniquement d’une porphyrine avec un groupement imidazole et CO pour ligand axiaux conduit à des distances fer-ligands identiques (cf. tableau 1 de la réf. [3]). Autrement dit, les distances du fer avec ses premiers voisins seraient insensibles à la présence des 12 autres résidus. La différence de taille de nos clusters respectifs n’explique donc pas les différences obtenues sur les distances relaxées. Une raison qui pourrait expliquer à la fois l’égalité des distances relaxées pour les deux clusters étudiés par De Angelis *et al.* et le désaccord concernant les distances fer premiers voisins de nos modèles respectifs peut être la formulation des fonctionnelles pour le terme d’échange et corrélation. En effet, De Angelis *et al.* ont utilisé une fonctionnelle de type GGA-PBE alors que nous avons choisi une fonctionnelle de type GGA-BLYP, plus à même de décrire le potentiel pour des liaisons à caractère covalent (en intégrant un terme d’échange de Hartree-Fock).

Comme on peut le voir dans le tableau 3.2, nos calculs mènent à des distances fer-ligands et à un angle β légèrement plus élevés que ceux obtenus par Rovira *et al.* [76], qui ont considéré le modèle 2MB5 [28] (résolu par diffusion des neutrons à 1.8 Å) comme structure de départ. Ces différences de résultats peuvent provenir des différences entre nos méthodes de calcul respectives. Dans l'étude de Rovira *et al.*, la protéine dans sa totalité (environ 1500 atomes) a pu être prise en compte grâce à un calcul de type QM/MM. Le traitement QM (DFT) concerne 63 atomes, soit la porphyrine (pour l'hème), la molécule CO et l'imidazole (pour le résidu His93), tandis que le reste de la protéine est traité par l'approche MM (champ de force). Le fragment QM est placé dans une cellule de dimension $15 \times 15 \times 10$ Å³, les fonctions d'ondes sont développées en ondes planes jusqu'à une énergie de coupure de 70 Ry. Les pseudopotentiels sont de type Troullier Martins et la fonctionnelle est GGA-BP86 [8, 69]. Les auteurs s'intéressent à l'interprétation des quatre principales bandes d'absorption dans l'infrarouge (IR) de CO dans MbCO en termes de géométries particulières entre la chaîne Fe-C-O et différents tautomères du résidu His64. Rovira *et al.* montrent en calculant les fréquences d'élongation des liaisons Fe-C et C-O que la conformation où CO interagit avec l'atome d'hydrogène du tautomère N_ε-H (même tautomère et même géométrie que ceux que nous avons retenus pour nos calculs, figure 3.2) est à l'origine de deux de ces quatre bandes d'absorption IR. En conclusion, Rovira *et al.* suggèrent à la lumière de ce travail, qu'à pH physiologique His64 est majoritairement protoné sur N_ε.

Nous discuterons les valeurs de fit obtenues par Della Longa *et al.* (dernière ligne du tableau 3.2) dans le chapitre suivant, lorsque nous comparerons les spectres polarisés calculés pour les structures 1A6G et 1BZR optimisées, avec ceux calculés pour un modèle construit à partir des valeurs de ce fit.

3.2.2. Mb*CO

Les calculs d'optimisation de structure de la carboxy-myoglobine photolysée ont été effectués à partir des modèles 1ABS [85] et 1AJH [80]. Pour 1ABS, nous avons choisi de placer l'atome de carbone de CO le plus proche possible du fer, donc à 3.60 Å. Comme nous l'avons déjà mentionné dans la section 1.3.2, selon Schlichting *et al.*, il n'est pas possible de différencier lequel de C et O est le plus proche de Fe (ainsi dans le tableau 1.4, la distance entre Fe et C est donnée à 4.14 Å, l'oxygène étant lui situé à 3.60 Å de Fe).

Les résultats sont présentés dans le tableau 3.3 où nous avons également reporté les données expérimentales des modèles 1ABS et 1AJH (déjà présentées dans le tableau 3.2) et les résultats du fit par MXAN [10] (voir tableau 2.2). La relaxation des deux modèles 1ABS

et 1AJH ne conduit pas à deux structures similaires comme c'était le cas pour MbCO. Ceci provient du fait que les deux modèles de départ présentent d'importantes différences, tant au niveau des distances Fe–N_{his}, C–O et Fe···C, qu'au niveau des angles α et β . La seule caractéristique de l'environnement du fer qui converge après relaxation des deux modèles est la distance C–O de 1.14 Å, qui est donc plus courte que celle qu'on a dans MbCO, quand la molécule CO est liée au fer (C–O = 1.16 Å). Pour la modèle 1AJH, outre la distance

TAB. 3.3.: Environnement du fer dans Mb*CO avant et après relaxation. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Modèles	Méthode	$\langle\text{Fe-N}_p\rangle$	Fe–N _{his}	Fe···C	C–O	α	β	ΔZ_{Fe}
1AJH [85]	mesures XRD	2.00	2.11	2.84	1.21	24.4	45.9	-0.09
1AJH	recuit simulé	2.08	2.12	2.93	1.14	21.1	48.6	-0.13
1ABS [80]	mesures XRD	1.98	2.25	3.60	1.12	22.0	69.0	-0.19
1ABS	recuit simulé	2.01	2.16	3.61	1.14	25.7	68.1	-0.22
Mb*CO fit [61]	diffusion multiple	2.01	2.05	3.08	1.24	37.0	31.0	-0.22

C–O qui diminue de 1.21 Å à 1.14 Å, l'effet principal de la relaxation est l'augmentation de la distance Fe···C, réduisant ainsi l'écart entre les deux modèles. Cet éloignement de CO s'accompagne d'un déplacement du fer sous la plan de l'hème. Pour le modèle 1ABS, l'effet principal de la relaxation est une diminution de la distance Fe–N_{his}, passant de 2.25 Å pour la structure expérimentale à 2.16 Å pour la structure relaxée. Cette distance relaxée se trouve ainsi plus proche de celle donnée par le modèle 1AJH avant et après relaxation. Les autres distances sont augmentées de 2 à 3 centièmes d'angström, y compris la distance hors plan du fer (ΔZ_{Fe}). Les angles ne subissent pas de grande modification lors de la relaxation.

3.2.3. MbCN

Les calculs de relaxation de MbCN ont été effectués à partir des modèles 1EBC et 2JHO. Pour ce dernier, nous sommes partis de la structure déterminée par l'étude combinée de XRD et XANES (voir section 2.2.1). Les résultats sont présentés dans le tableau 3.4. La relaxation des modèles 1EBC et 2JHO (XRD et XANES) conduit à un environnement du fer semblable. La différence entre les angles β initiaux était de 0.9° et cette différence est conservée après relaxation. La distance Fe–C vaut 1.91 Å après relaxation, ce qui donne un bon accord avec le modèle 2JHO de la PDB. Les calculs de relaxation conduisent à une

TAB. 3.4.: Environnement du fer dans MbCN avant et après relaxation. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Modèles	Méthode	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe-N _{his}	Fe-C	C-N ⁻	α	β	ΔZ_{Fe}
1EBC [14]	mesures XRD	2.02	2.02	2.02	1.06	5.7	13.9	-0.04
1EBC	recuit simulé	2.03	2.09	1.91	1.17	8.3	7.2	+0.01
2JHO [4]	mesures XRD et XANES	2.04	2.08	1.92	1.11	4.1	13.0	-0.03
2JHO	recuit simulé	2.03	2.11	1.91	1.17	7.2	6.3	+0.01

distance C–N beaucoup plus grande que la distance des modèles de la PDB : 1.17 Å au lieu de 1.06 Å pour 1EBC et 1.11 Å pour 2JHO. On retrouve ici une distance analogue à C–O qui était elle aussi supérieure aux mesures XRD et au résultat du fit (voir tableau 3.2). Si on compare les structures de MbCO et de MbCN, on s’aperçoit que la distance Fe–N_{his} est légèrement plus petite dans MbCN que dans MbCO, alors que la distance Fe–C est plus grande (1.91 Å pour MbCN et 1.77 Å pour MbCO).

3.2.4. MbNO

Les calculs de relaxation pour MbCN n’ont été faits qu’à partir d’un seul modèle de la PDB : le modèle 1HJT. Les résultats sont présentés dans la tableau 3.5.

Le plus remarquable dans la géométrie de la structure MbNO, comparée aux autres dérivés

TAB. 3.5.: Environnement du fer dans MbNO avant et après relaxation. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Modèles	Méthode	$\langle \text{Fe-N}_p \rangle$	Fe–N _{his}	Fe–N	N–O	α	β	ΔZ_{Fe}
1HJT [14]	mesures XRD	2.08	2.18	1.89	1.15	4.6	68.3	-0.04
1HJT	recuit simulé	2.05	2.20	1.76	1.20	5.9	42.1	-0.08

de Mb, est la forte distorsion de la chaîne Fe–X–Y : elle est de 68.3° pour la structure 1HJT. Après relaxation, cet angle diminue considérablement (de 26.2°) pour atteindre la valeur de 42.1°.

La distance Fe–NO est elle aussi fortement relaxée : nous avons respectivement avant et après relaxation 1.89 et 1.76 Å. La contraction correspondante de 0.13 Å reflète une interaction plus forte du ligand NO avec Fe. La distance N–O varie dans une moindre mesure, elle est allongée de 0.05 Å. Nous pouvons comprendre la faible élongation de la

distance Fe-N_{his} comme une légère augmentation de l'occupation partielle de l'orbitale 3d_{z²} antiliante de Fe par l'électron non apparié du ligand NO. L'ensemble des variations que nous venons de décrire ne sont pas indépendantes. Il semble bien que la relaxation de la distance Fe-NO relativement longue (1.89 Å) soit dans une large mesure à l'origine des modifications structurales précédemment citées.

L'angle α augmente de 4.6 à 5.9° après relaxation, mais de façon plus pertinente, l'atome d'azote de NO ne se trouve plus à l'aplomb de la liaison Fe-N_p mais approximativement à l'aplomb d'une ligne située entre deux liaisons Fe-N_p, de sorte que l'asymétrie engendrée par des liaisons Fe-N_p de différentes longueurs disparaît. La distance Fe-N_p initialement de 2.13 Å est relaxée à 2.05 Å. La distance hors plan du fer varie sensiblement (-0.04 Å). Avec la délocalisation de l'électron 2π* de NO, le fer acquiert partiellement un état paramagnétique qui comme dans le cas de Mb*CO peut entraîner un mouvement hors plan du fer.

3. *Modélisation et optimisation des structures issues de la PDB par la méthode Car-Parrinello*

4. Modélisation des spectres XANES

Les calculs de spectres XANES présentés dans toute la suite ont été réalisés à l'aide du code PARATEC [1], c'est un code basé sur la théorie de la fonctionnel de la densité (DFT) de calcul de structures électroniques dans lequel notre équipe a implémenté le calcul de la section efficace d'absorption pour des transitions électroniques de type dipolaires électriques (E1) et quadripolaires électriques (E2) [86, 21]. Nous détaillons dans l'annexe A le formalisme du calcul. PARATEC utilise une base d'ondes planes, des pseudopotentiels et des conditions aux limites périodiques. Les fonctions d'onde *all electron* sont reconstruites par la méthode PAW (projector augmented waves) mise au point par Blöchl [13]. L'implémentation du XANES repose sur la méthode récursive développée par Haydock, Heine et Kelly [43, 44]. La section efficace d'absorption s'écrit alors sous la forme d'une fraction continue qui est fonction de coefficients d'absorption nécessite donc la construction de cette base de Lanczos, réalisée par un méthode récursive, peu coûteuse en temps de calcul. Plus de détails sur cette approche peuvent être trouvés dans les réfs. [86, 21] et dans la thèse d'Emilie Gaudry [35].

4.1. Mise en œuvre du calcul et paramètres de convergence.

Comme pour les calculs d'optimisation, on considère un cluster d'atomes, dont les liaisons coupées sont saturées par des atomes d'hydrogène, que l'on insère dans une supercellule de forme cubique. Puisque les spectres XANES expérimentaux sont polarisés avec ε parallèle ou perpendiculaire au plan de l'hème, on a pris soin d'orienter le cluster dans la supercellule de façon à obtenir directement ces deux contributions. Nous avons fait en sorte d'avoir le plan de l'hème parallèle à une face du cube. Le programme utilisé fournit en sortie les contributions dipolaires électriques de la section efficace ($\sigma_x, \sigma_y, \sigma_z$) dans un repère cartésien correspondant aux axes de la supercellule. Ainsi la contribution parallèle au plan de l'hème est donné par $\sigma_{\parallel} = (\sigma_x + \sigma_y)/2$ et la contribution perpendiculaire au plan de l'hème est donné par $\sigma_{\perp} = \sigma_z$. En ce qui concerne les contributions quadripolaires électriques, il faut spécifier au programme les orientations de la polarisation ε et du vecteur

4. Modélisation des spectres XANES

d'onde \mathbf{k} du faisceau de rayon X dans ce même repère cartésien. Les transitions quadripolaires électriques peuvent être importantes dans la région du préseuil. Pour le calcul de ces transitions, nous avons orienté \mathbf{k} suivant la direction [010], puis effectué deux calculs avec ε orienté suivant [100] pour σ_{\parallel} et ε orienté suivant [001] pour σ_{\perp} .

Le calcul de la section efficace d'absorption est effectué selon les deux étapes suivantes : d'abord, on calcule la densité de charge autocohérente de la supercellule contenant un atome absorbeur possédant un trou 1s, ensuite on calcule la section efficace d'absorption. Les paramètres de convergence pour la première étape sont au nombre de deux. Il s'agit tout d'abord de l'énergie de coupure, appelée *cut-off*, du développement en ondes planes des fonctions d'onde. Le deuxième paramètre est le nombre de points \mathbf{k} utilisés pour le maillage de la première zone de Brillouin irréductible du réseau réciproque. Dans le code, celui-ci est construit suivant la procédure de Monkhorst-Pack [66]. Le calcul de la section efficace consiste à construire les coefficients a_i et b_i issus de la construction de la base de Lanczos (voir l'annexe A), pour un seuil K dans les approximations dipolaire électrique (E_1) et quadripolaire électrique (E_2). Les paramètres de convergence pour la deuxième étape sont également au nombre de deux : à nouveau le nombre de points \mathbf{k} qui est en général supérieur à celui utilisé pour la première étape et le nombre de vecteurs de la base de Lanczos.

4.1.1. Paramètres de convergence

On considère que le calcul du spectre XANES a convergé si les opérations suivantes n'ont pas d'effet sur le spectre calculé :

- (a) augmenter la taille de la supercellule,
- (b) ajouter des groupements d'atomes au cluster,
- (c) augmenter l'énergie de coupure de la base d'onde plane (*cut-off*), ajouter des points dans la zone de Brillouin et ajouter des vecteurs dans la base de Lanczos.

(a) Effets de la taille de la supercellule

Comme la méthode utilise les conditions aux limites périodiques, il faut s'assurer que la taille de la supercellule est suffisamment grande pour que deux clusters appartenant à des cellules voisines n'interagissent pas entre eux. Pour atteindre la convergence, nous avons laissé un écart de 9 Å entre deux clusters dans le plan xy et 10.5 Å selon la normale au plan de l'hème. La taille de la cellule est alors de $18.5 \times 18.5 \times 18.5$ Å³. La figure

4.1. Mise en œuvre du calcul et paramètres de convergence.

4.1 représente les spectres polarisés d'un cluster de MbCO contenant 48 atomes et inséré dans deux cellules de tailles $18.5 \times 18.5 \times 18.5 \text{ \AA}^3$ et $19.6 \times 19.6 \times 19.6 \text{ \AA}^3$. Les spectres ont clairement convergés, dans la suite on fixe la taille de la cellule à $18.5 \times 18.5 \times 18.5 \text{ \AA}^3$. En utilisant les conditions aux limites périodiques, nous faisons implicitement l'hypothèse que le désordre autour de l'atome absorbeur est négligeable ou du moins que ce désordre n'a pas d'effet sur les spectres. Les spectres que nous étudions ont été acquis sur des monocristaux refroidis à température cryogénique et nous pouvons raisonnablement représenter le cristal par duplication d'une même maille. Généralement, la simulation de la région de l'EXAFS, nécessite la prise en compte des pertes inélastiques du processus de diffusion du photoélectron par le calcul de la self-energie du photoélectron et des effets thermiques par le facteur de Debye–Waller.

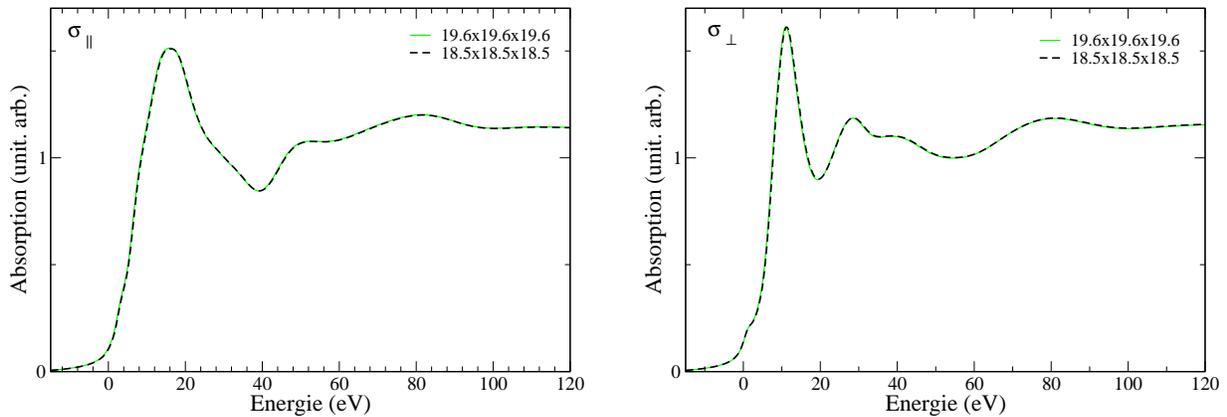


FIG. 4.1.: Spectres de MbCO calculés à partir de la maille de la figure 4.2 pour les deux tailles de cellules $18.5 \times 18.5 \times 18.5 \text{ \AA}^3$ et $19.6 \times 19.6 \times 19.6 \text{ \AA}^3$. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème (σ_{\parallel}). A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème (σ_{\perp}).

(b) Effets de la taille du cluster

La région explorée par la diffusion du photoélectron est typiquement comprise dans un rayon d'environ $6\text{-}7 \text{ \AA}$ autour de l'atome de fer. Par conséquent, le cluster que l'on utilise pour le calcul de spectre XANES peut avoir une extension spatiale plus restreinte que celle du cluster utilisé pour la relaxation. Nous considérons un cluster minimum (figure 4.2) qui comprend 48 atomes et lui ajoutons des groupements d'atomes, ensuite nous vérifions si les spectres XANES sont convergés.

Influence de l'histidine distale (imidazole).

4. Modélisation des spectres XANES

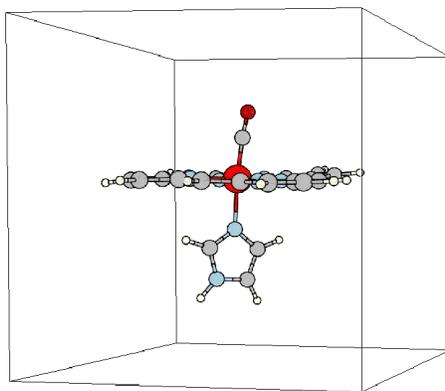


FIG. 4.2.: Cluster minimum de MbCO (48 atomes). L'histidine 93 est représentée par un cycle imidazole, le plan de l'hème est contenu dans le plan xy de la supercellule cubique.

Ici nous testons l'influence de l'histidine distale par le calcul de deux spectres, l'un prenant en compte l'imidazole l'autre pas. Nous avons ainsi deux clusters composés respectivement de 57 atomes et 48 atomes (figure 4.3, droite). Le cluster contenant

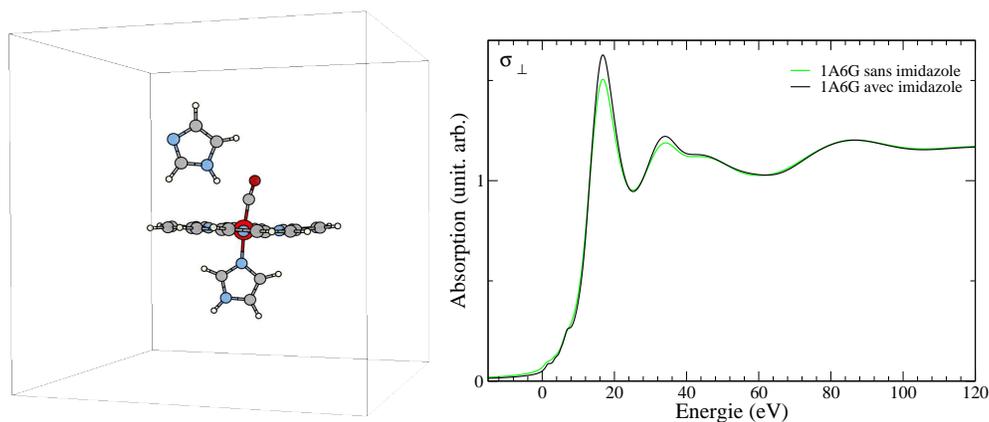


FIG. 4.3.: Cluster de MbCO avec histidine distale (57 atomes) et spectre associé comparé à celui du cluster minimal.

l'imidazole est représenté sur la figure 4.3 à gauche. La présence de l'imidazole augmente légèrement l'intensité des deux premiers pics, sans changer la position des pics ni l'allure du spectre σ_{\perp} . Autant la présence de l'histidine distale était déterminante pour l'optimisation de la chaîne Fe-C-O, autant son effet sur le spectre est de notre point de vue peu significatif. Aucun effet n'est visible sur la contribution σ_{\parallel} . Dans la

suite nous négligeons l’histidine distale.

Influence des propionates.

Les propionates correspondent aux deux “bras” de la figure 4.4 de gauche qui partent de part et d’autre du plan de l’hème. Ici nous n’avons pas testé l’effet des autres extrémités : les méthyles ($-\text{CH}_3$) et les vinyles ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) puisque la taille de ces groupements est moins importante que celle des propionates. La présence des propionates induit des modifications mineures sur le spectre. Ainsi dans la suite nous avons décidé de travailler sur le cluster minimal dans tous les composés MbXY. Notons que ce cluster minimal est également celui choisi par Della Longa et ses collaborateurs pour le fit des spectres MbCO, Mb*CO et MbCN avec MXAN (à ceci près que les calculs effectués avec MXAN ne prennent pas en compte les atomes d’hydrogène).

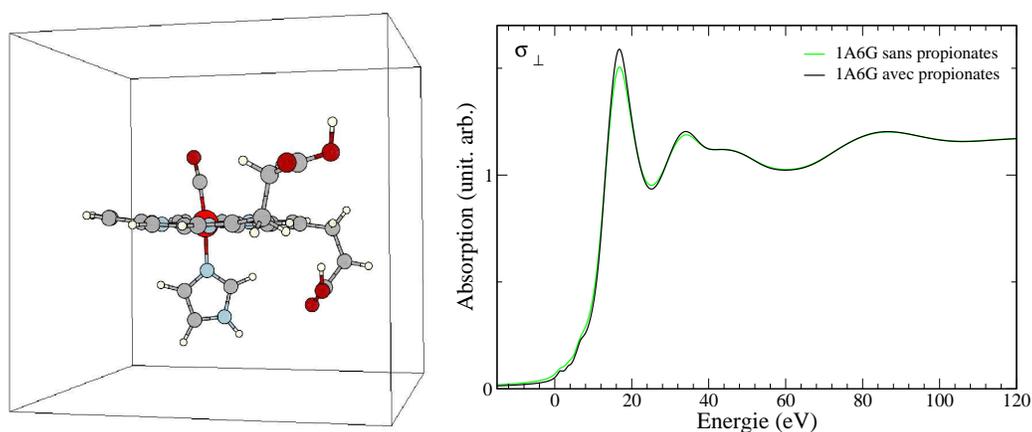


FIG. 4.4.: Cluster avec les deux propionates de l’hème et spectre associé comparé à celui du cluster minimal.

(c) Convergence en cut-off, en nombre de points k et en nombre de vecteurs dans la base de Lanczos

Les spectres XANES sont calculés dans l’approximation du gradient généralisé (GGA), en utilisant la fonctionnelle d’échange et de corrélation formulée par Perdew, Burke et Ernzerhof [70] et des pseudopotentiels qui conservent la norme de type Troullier-Martins [88]. Les paramètres de génération des pseudopotentiels sont résumés dans le tableau 4.1¹.

¹Les rayons de coupure utilisés pour générer les pseudopotentiels de l’oxygène, du carbone et de l’azote sont plus grands que ceux utilisés pour l’optimisation structurale. Le fait d’utiliser des rayons plus grands n’a pas d’influence sur la structure électronique et les états vide du système.

TAB. 4.1.: Paramètres de génération des pseudopotentiels. Entre parenthèses figurent les rayons de coupure exprimés en Å.

Atome	Fe	O	N	C	H
conf. élec.	$3s^23p^63d^6$	$2s^22p^4$	$2s^22p^3$	$2s^22p^2$	$1s^1$
Etats de valence	$3s$ (0.48) $3p$ (0.90) $3d$ (0.90)	$2s$ (0.77) $2p$ (0.77)	$2s$ (0.77) $2p$ (0.77)	$2s$ (0.76) $2p$ (0.76)	$1s$ (0.53)
Partie locale	d	p	p	p	s

Avec ces pseudopotentiels, la convergence des spectres XANES calculés a été atteinte pour une valeur de *cut-off* de 70 Ry (952.4 eV), pour un seul point \mathbf{k} de la zone de Brillouin pour la première étape du calcul (résolution autocohérente des équations de Kohn-Sham), puis 64 points de la zone de Brillouin (grille de points \mathbf{k} $4 \times 4 \times 4$) pour la seconde étape du calcul (construction de la base de Lanczos et calcul de la section efficace d'absorption). La convergence de la base de Lanczos est obtenue en calculant le spectre d'absorption (par la fraction continue) pour un paramètre d'élargissement² γ de $3 \cdot 10^{-2}$ Ry (0.41 eV). Cette valeur est volontairement inférieure à la largeur expérimentale de la raie K du fer, correspondant à la durée de vie du trou profond (1.25 eV d'après [56]), ce nous assure la bonne convergence de la base.

4.1.2. Paramètre d'élargissement et recalage en énergie des spectres calculés

Il reste un paramètre qui n'est pas un paramètre de convergence : le paramètre d'élargissement γ utilisé dans la fraction continue pour obtenir un spectre convolué directement comparable au spectre expérimental. Tout comme dans la référence [93], nous avons choisi, pour tous les spectres calculés présentés dans ce chapitre, un paramètre γ qui dépend linéairement de l'énergie à partir d'un seuil E_0 afin de rendre compte des deux modes d'amortissement du libre parcours moyen du photoélectron (voir figure 4.5 de gauche) :

$$\gamma(E) = \gamma_{CH} + 0.1(E - E_0) \quad (4.1)$$

Dans la première région, γ a une valeur constante γ_{CH} égale à 1.36 eV (cette valeur comprend la durée de vie du trou de cœur $1s$ du fer). Dans la seconde région, la variation

²Ce paramètre γ est équivalent à la demi-largeur à mi-hauteur d'une Lorentzienne.

linéaire rend compte du fait que l'énergie cinétique du photoélectron devient suffisamment élevée pour interagir inélastiquement avec les atomes environnants et que le libre parcours moyen est donc atténué. A titre indicatif, la figure 4.5 de droite montre deux spectres de MbCO, l'un obtenu avec une valeur constante pour γ égal à 0.1 Ry (1.36 eV) et l'autre avec le paramètre $\gamma(E)$ défini par l'équation (4.1).

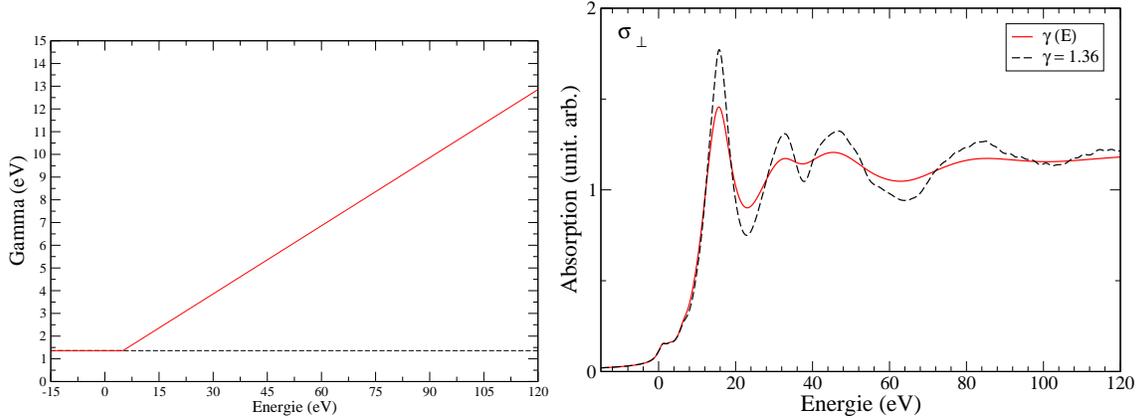


FIG. 4.5.: A gauche, variation du paramètre γ utilisé pour le tracé de tous les spectres XANES présentés dans ce chapitre. En abscisse, les énergies sont repérées par rapport à une référence (le zéro), correspondant au dernier niveau occupé. A droite, spectres XANES obtenus avec $\gamma = 1.36$ eV et $\gamma(E)$.

Afin de comparer les spectres calculés aux spectres expérimentaux, les spectres calculés sont recalés en énergie de façon à faire coïncider les positions du pic le plus intense (pic a) des spectres σ_{\parallel} . Le décalage en énergie ainsi déterminé est alors appliqué aux spectres σ_{\perp} (pour les transitions E_1 comme pour les transitions E_2).

4.2. Résultats et discussion sur MbCO

4.2.1. Simulations à partir des modèles 1A6G et 1BZR issus de la PDB

Sur la figure 4.6, nous comparons les spectres calculés à partir des modèles 1A6G et 1BZR issus de la PDB aux spectres expérimentaux. Les spectres de gauche correspondent à

4. Modélisation des spectres XANES

une polarisation du faisceau de rayon X parallèle au plan de l'hème (σ_{\parallel}) et les spectres de droite, à une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème (σ_{\perp}).

On voit que globalement les deux spectres σ_{\parallel} calculés (1A6G et 1BZR) de la figure 4.6 de gauche, sont très similaires et en bon accord avec le spectre expérimental. Les structures a, b, c et d sont bien reproduites et ne varient pas de façon significative d'un modèle à l'autre. Ceci indique que les géométries du macrocycle dans ces deux modèles sont très similaires et confirme plusieurs résultats montrant que la structure de l'hème est "rigide" [82]. En effet une superposition de ces deux macrocycles montre un écart *rms* (*root mean square* i.e., écart moyen entre les "jeux" de coordonnées des deux molécules superposées) de 0.02 Å.

En se référant au tableau 3.2, on voit que les distances Fe-N_p (azote dans le plan) sont les mêmes à ± 0.02 Å près pour les deux structures. La spectroscopie XANES est donc peu sensible à de telles différences.

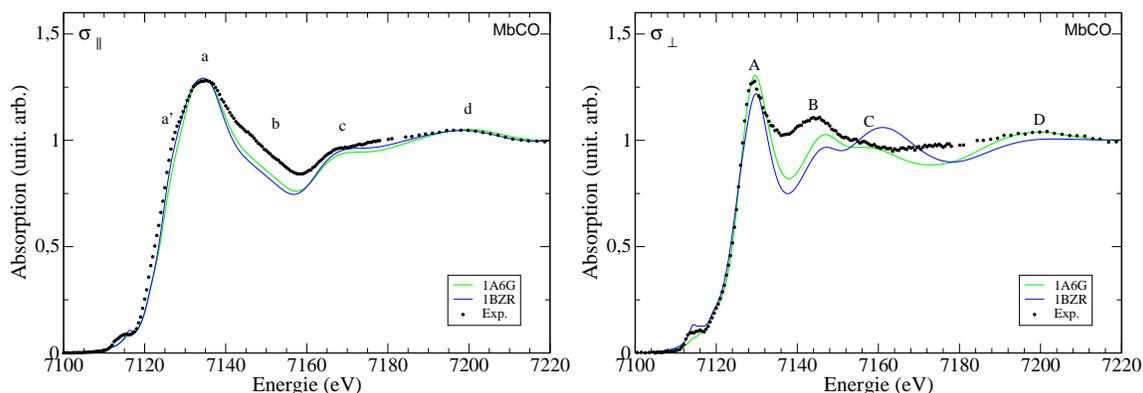


FIG. 4.6.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des structures expérimentales 1A6G et 1BZR.

Sur la figure 4.6 de droite, l'accord entre spectres calculés et spectre expérimental est moins satisfaisant que pour σ_{\parallel} . En effet, quel que soit le modèle utilisé (1A6G ou 1BZR), le pic B calculé est situé à trop haute énergie (d'environ 2.5 eV) par rapport au spectre expérimental. Contrairement au cas de σ_{\parallel} , les deux spectres σ_{\perp} calculés présentent des différences assez marquées. En particulier on observe, pour le modèle 1BZR, une baisse d'intensité du pic A et une inversion des intensités des pics B et C par rapport au spectre du modèle 1A6G. Cette inversion s'accompagne d'un léger décalage en énergie du pic C. Ainsi les structures A, B, C et D de σ_{\perp} sont globalement mieux reproduites avec le modèle 1A6G. Les différences majeures entre les deux modèles (voir tableau 1.2) sont la distance

Fe–C (1.82 Å pour 1A6G et 1.73 Å pour 1BZR), l’angle α (9° pour 1A6G et 4.8° pour 1BZR) et dans une moindre mesure l’angle β (9° pour 1A6G et 7.4° pour 1BZR). On peut donc supposer dans un premier temps que les intensités relatives des pics B et C sont reliées à ces trois paramètres.

La figure 4.7 présente un zoom de la région du préseuil pour chaque polarisation. Les spectres calculés sont la somme des contributions dipolaire électrique (E_1) et quadripolaire électrique (E_2). Le spectre σ_{\parallel} expérimental présente un pic principal, p_2 , précédé d’un

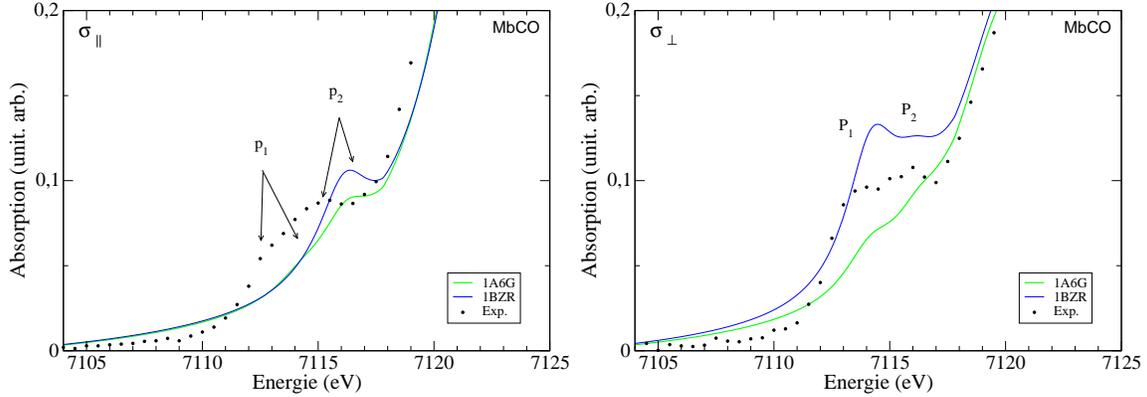


FIG. 4.7.: Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.6.

épaulement, appelé p_1 (figure 4.7 de gauche). Le pic p_2 est reproduit par les deux modèles, 1A6G et 1BZR, alors que le pic p_1 n’est visible que sur le spectre calculé à partir du modèle 1A6G. Par ailleurs, quel que soit le modèle, le préseuil calculé est situé à trop haute énergie par rapport à l’expérience. Ce décalage est d’environ 1.5 eV pour p_1 et de 1 eV pour p_2 . Un tel désaccord au niveau de la position du préseuil par rapport à la position du seuil a déjà été observé au pré-seuil K du chrome dans le rubis [37], dans l’émeraude [36] et dans le spinelle [48], où son origine a été attribuée au fait que la DFT (LDA ou GGA) ne permet pas de modéliser correctement les interactions électron-trou de cœur quand les orbitales d de l’atome absorbeur sont impliquées dans les transitions électroniques observées. Nous reviendrons sur ce point dans la section 4.2.4 où nous ferons une analyse détaillée du préseuil dans MbCO. Sur la figure 4.7 de gauche, on remarque également que le préseuil calculé pour le modèle 1BZR est plus intense que celui calculé pour le modèle 1A6G. Les différences majeures de l’environnement du fer dans le plan de l’hème entre les deux modèles sont données dans le tableau 3.2. Alors que pour 1A6G, le fer se situe dans le plan des quatre atomes d’azote, N_p , à une distance moyenne de 1.98 Å, pour 1BZR, le fer se situe légèrement en dessous du plan des quatre N_p ($\Delta_{Z_{Fe}} = -0.015$ Å)

à une distance moyenne légèrement supérieure (2.00 Å). On peut dans un premier temps attribuer les variations d'intensité du préseuil à ces différences structurales.

Pour σ_{\perp} (figure 4.7 de droite), on voit que les spectres calculés à partir des modèles 1A6G et 1BZR présentent chacun deux pics P_1 et P_2 bien distincts, tout comme le spectre expérimental. Comme pour σ_{\parallel} , le préseuil calculé est situé à trop haute énergie par rapport à l'expérience (écart d'environ 1 eV). Les intensités relatives des pics P_1 et P_2 varient beaucoup d'un modèle structural à l'autre et aucun des deux modèles ne donnent un accord satisfaisant avec le spectre expérimental. Dans un premier temps, tout comme pour les pics B et C du seuil, on peut supposer que les intensités relatives de P_1 et P_2 dépendent de la distance Fe–C et des angles α et β . Nous reviendrons plus en détail sur ces effets dans les sections 4.2.9 et 4.2.10.

4.2.2. Simulations à partir des modèles 1A6G et 1BZR optimisés

Modèle 1A6G relaxé – La figure 4.8 montre les spectres de la structure 1A6G relaxée en comparaison avec le spectre de la structure initiale (avant relaxation) et celui issu de l'expérience. On remarque que la relaxation du modèle 1A6G n'a pas d'incidence notable sur la forme spectrale de σ_{\parallel} . En revanche, pour la polarisation perpendiculaire au plan de l'hème (σ_{\perp}), la situation est différente. Tout d'abord, la structure optimisée donne lieu à une diminution des positions en énergie du pic D ainsi que du creux situé entre A et B, qui se trouve alors en meilleur accord avec l'expérience. Ces variations en énergie s'accompagnent d'une diminution de l'intensité des pics A, B et D. Enfin, avec le modèle relaxé on observe une augmentation de l'intensité du pic C, qui est en désaccord avec le spectre expérimental. On obtient ainsi un pic C trop prononcé, relativement semblable au pic C obtenu pour le modèle 1BZR avant relaxation (voir fig. 4.6 de droite). Lors de la relaxation, la distance Fe–C diminue de 1.82 Å à 1.77 Å (voir tableau 3.2). On peut donc supposer dans un premier temps que le pic C est d'autant plus intense que la distance Fe–C est courte. Ceci est cohérent avec le fait que la distance Fe–C est beaucoup plus courte dans le modèle 1BZR (1.73 Å) que dans le modèle 1A6G. Par ailleurs, la relaxation a pour effet de déplacer Fe du plan de l'hème de 0.05 Å. Cela peut également avoir une incidence sur le spectre. Nous discuterons ces hypothèses dans la suite.

La figure 4.9 est un zoom sur la région du préseuil de la figure 4.8. Pour σ_{\parallel} , on observe que l'optimisation du modèle 1A6G conduit à une disparition du pic p_1 , ainsi qu'à un déplacement vers les hautes énergies et une augmentation de l'intensité du pic p_2 . D'après le tableau 3.2, le modèle 1A6G optimisé présente des distances Fe– N_p plus grandes que le modèle 1A6G expérimental (2.04 Å au lieu de 1.98 Å en moyenne), ainsi

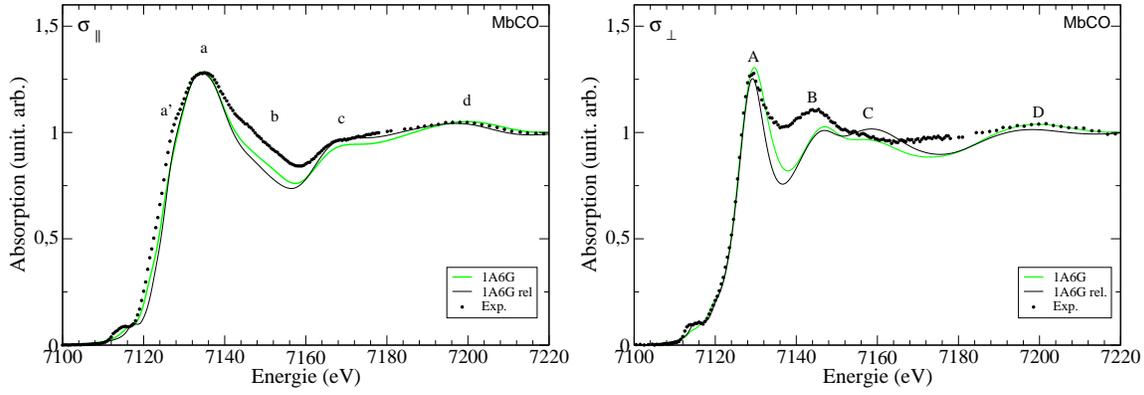


FIG. 4.8.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir de la structure 1A6G avant et après relaxation. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

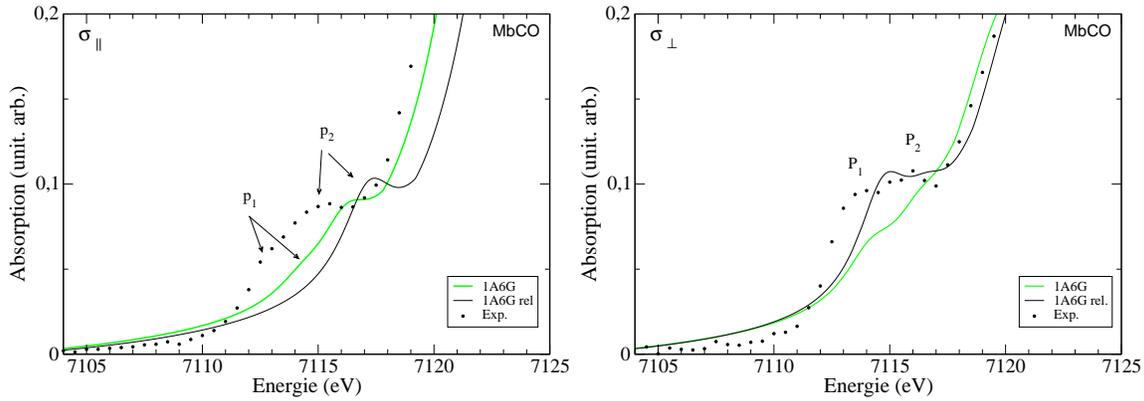


FIG. 4.9.: Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.8.

qu'un déplacement du fer au dessus du plan de l'hème ($\Delta Z_{Fe} = +0.05$ après relaxation). Sur la figure 4.7 de gauche, le pic p_1 n'était pas non plus reproduit par le modèle 1BZR, structure dans laquelle le fer est également situé hors plan de l'hème. Mais pour pouvoir corréler la présence d'un pic ou la variation d'un autre à une caractéristique structurale telle que la distance hors plan de l'hème, il est nécessaire de procéder à une analyse fine de l'origine des structures du préseuil en termes d'orbitales $3d$. C'est ce que nous ferons dans la section 4.2.4.

Pour σ_{\perp} (figure 4.9 de droite), on constate une modification des intensités relatives des pics P_1 et P_2 . Le modèle relaxé conduit à spectre du préseuil en accord satisfaisant avec l'expérience. Après relaxation, alors que l'intensité du pic P_2 est légèrement accrue,

4. Modélisation des spectres XANES

celle du pic P_1 est augmentée de façon très nette. Les angles α et β étant très peu modifiés lors de la relaxation du modèle 1A6G, ils ne semblent pas constituer pas les paramètres structuraux pertinents pour expliquer la variation d'intensité du pic P_1 . En revanche, le fait que la distance Fe–C perde cinq centièmes d'angström lors de la relaxation pourrait être à l'origine de l'augmentation d'intensité de P_1 . Nous discuterons cette hypothèse dans la section 4.2.4.

Modèle 1BZR relaxé – La figure 4.10 montre les spectres calculés à partir des structures 1BZR avant et après relaxation en comparaison avec le spectre expérimental. Comme dans le cas de 1A6G, la relaxation du modèle 1BZR n'a pas d'effet significatif sur le spectre σ_{\parallel} calculé (figure 4.10 de gauche). Pour σ_{\perp} (figure 4.10 de droite), en revanche, l'effet de la relaxation est plus prononcé. En particulier, on observe un décalage vers les basses énergies des pics C et D, ainsi que du creux situé entre A et B. Ces variations de position en énergie s'accompagnent d'une augmentation de l'intensité des pics A et B et d'une diminution de l'intensité du pic C. Cette dernière observation corrobore l'hypothèse émise dans le paragraphe précédent à savoir qu'une augmentation de la distance Fe–C se traduit par une diminution de l'intensité du pic C. En effet, on rappelle que dans le cas de 1BZR (voir tableau 3.2) la relaxation a pour effet d'augmenter la distance Fe–C de 1.73 Å à 1.77 Å. Nous reviendrons plus en détail sur ce point dans la suite de ce chapitre. Les variations spectrales engendrées par la relaxation du modèle 1BZR conduisent à un spectre σ_{\perp} en meilleur accord avec le spectre expérimental, mais cet accord demeure insatisfaisant.

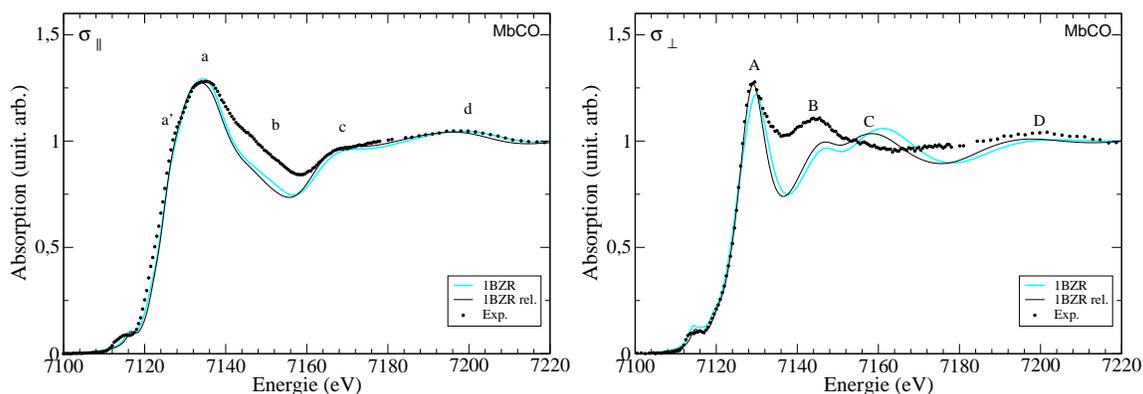


FIG. 4.10.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir de la structure 1BZR avant et après relaxation. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

La région du préseuil de la figure 4.10 est représentée sur la figure 4.11. Pour σ_{\parallel}

(figure de gauche), on observe que le spectre obtenu à partir du modèle 1BZR relaxé est légèrement décalé vers les hautes énergies. Cet effet n'est pas significatif. Pour σ_{\perp} , on observe également ce décalage, mais on remarque surtout une variation des intensités relatives des pics P_1 et P_2 . La relaxation du modèle 1BZR provoque une augmentation de la distance Fe-C, une augmentation de l'angle α et une diminution de l'angle β (voir tableau 3.2). Une analyse plus fine de l'origine des pics P_1 et P_2 est nécessaire pour comprendre le rôle joué par chacun de ces trois paramètres

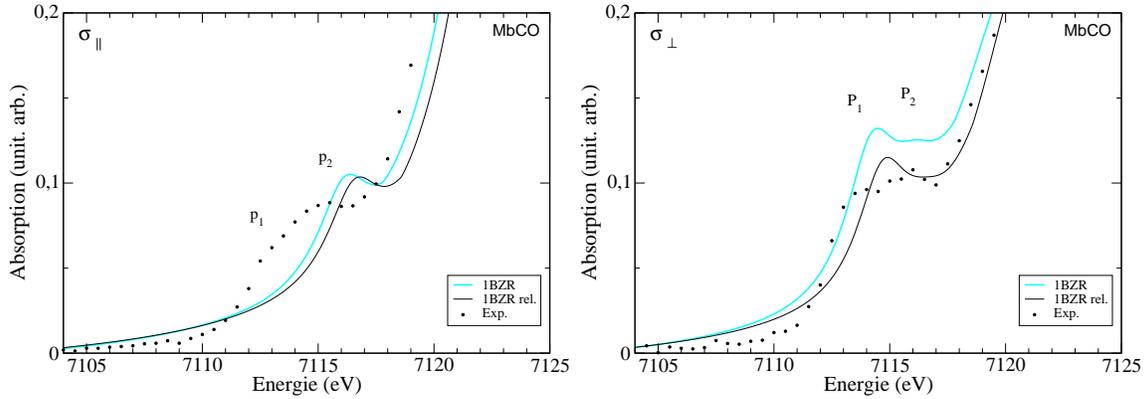


FIG. 4.11.: Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.10.

Comparaison entre les deux modèles relaxés – Avant de clore cette sous-section, il nous semble important de comparer entre eux les spectres calculés à partir des deux modèles relaxés (fig. 4.12). Les spectres σ_{\parallel} des deux modèles (figure de gauche) se superposent exactement montrant une très bonne convergence de la structure des macrocycles. Les spectres σ_{\perp} sont très similaires. On observe une légère différence entre les intensités relatives des pics. Ceci peut peut-être s'expliquer par la différence entre les valeurs de β qui vaut 6.9° pour 1BZR relaxé et 8.6° pour 1A6G relaxé. L'angle α , les distances Fe-C, C-O et Fe- N_p sont identiques et les distances Fe- N_{his} ne diffèrent que de 0.02 \AA .

Dans la région du préseuil (fig. 4.13), les deux spectres σ_{\parallel} se superposent parfaitement, comme dans la région du seuil. Les deux spectres σ_{\perp} présentent à nouveau des différences d'intensités relatives des pics P_1 et P_2 , qui sont probablement liées aux différences de valeurs de l'angle β . L'influence de l'angle β et des autres paramètres structuraux fera l'objet d'une étude plus détaillée dans la suite de ce chapitre. On notera toutefois que le degré de sensibilité des structures du préseuil aux paramètres structuraux (distances Fe-ligands, angles) n'est pas le même que celui des structures du seuil. En effet, on observe

4. Modélisation des spectres XANES

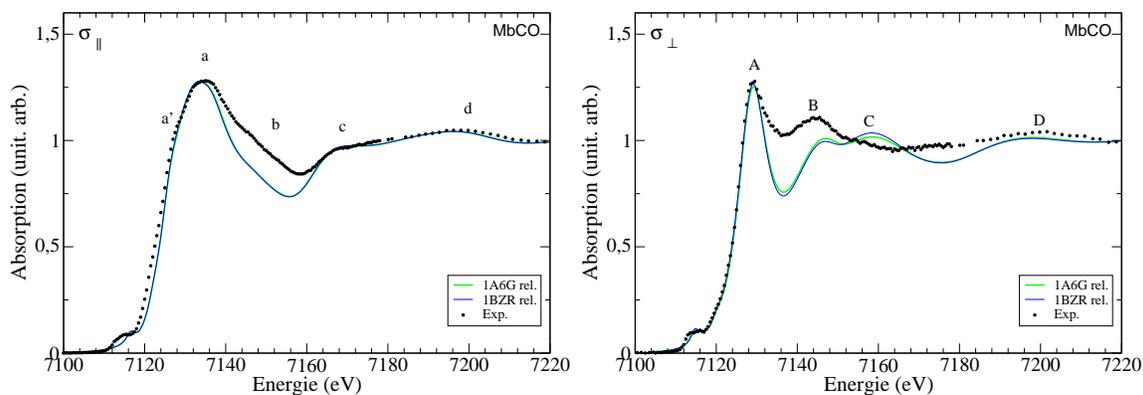


FIG. 4.12.: Comparaison entre les spectres calculés à partir deux modèles 1A6G et 1BZR optimisés. A gauche, pour une polarisation du faisceau de rayons X dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

un accord théorie-expérience assez remarquable avec le modèle 1A6G relaxé (fig. 4.13 de droite), alors que celui-ci est médiocre dans la région du seuil (fig. 4.12 de droite).

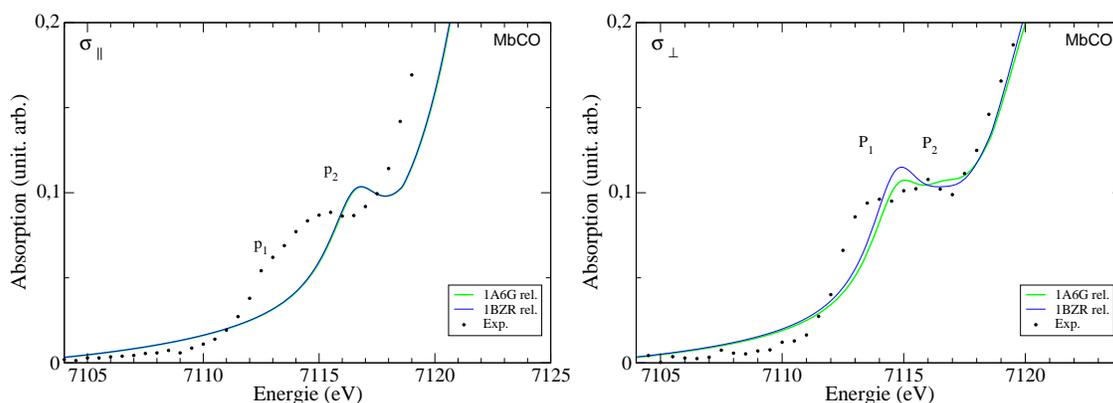


FIG. 4.13.: Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.12.

En définitive, nous constatons que les modèles relaxés ne conduisent pas à un accord satisfaisant avec le spectre expérimental σ_{\perp} . Le rapport d'intensité des pics B et C est mieux reproduit avec le modèle 1A6G de départ. On peut en déduire que la distance Fe-C de 1.82 Å est à priori plus réaliste que celle donnée par minimisation de l'énergie totale (1.77 Å). Cette valeur de 1.82 Å est proche de celle qui résulte du fit effectué à l'aide du programme MXAN. Pour poursuivre notre analyse des spectres XANES polarisés MbCO, nous utilisons dans la section suivante un cluster construit à partir des données du fit

(dernière ligne du tableau 3.2).

4.2.3. Simulations à partir du modèle obtenu par la procédure de fit du programme MXAN

La figure 4.14 compare les spectres σ_{\parallel} et σ_{\perp} expérimentaux avec les spectres calculés à partir du modèle obtenu par Della Longa *et al.* [61]. Comme nous l'avons déjà expliqué au chapitre 2 (section 2.2), ce modèle résulte d'une procédure de fit des spectres polarisés réalisé par le code de programme de diffusion multiple MXAN. Les paramètres structuraux de l'environnement du fer dans ce modèle sont indiqués dans la dernière ligne du tableau 3.2. Les auteurs de [61] ne précisant pas dans leur article la valeur de l'angle α , ni la position du fer par rapport au plan de l'hème, nous avons construit ce modèle en prenant les mêmes valeurs que celles du modèle 1A6G pour ces deux paramètres (i.e. $\alpha = 9^{\circ}$ et $\Delta Z_{Fe} = -0.001 \text{ \AA}$). Comme pour tous les spectres σ_{\parallel} présentés jusqu'ici, l'accord entre

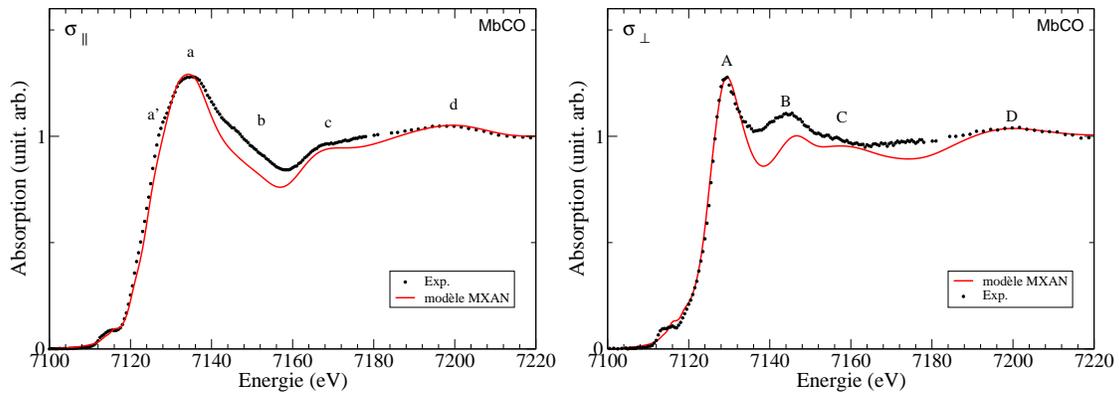


FIG. 4.14.: Comparaison entre spectres expérimentaux et spectres calculés à partir du modèle obtenu par la procédure de fit du programme MXAN. A gauche, pour une polarisation du faisceau de rayons X dans le plan de l'hème. A droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

théorie et expérience est très bon. Pour σ_{\perp} , l'accord est relativement bon, même si un désaccord réel est visible dans la région 7130-7160 eV. Ainsi les défauts précédemment observés ne sont pas corrigés avec ce modèle pourtant optimisé par ajustement sur les spectres XANES.

La figure 4.15 présente un agrandissement de la région du préseuil de la figure 4.14. Pour σ_{\parallel} , les pics p_1 et p_2 sont assez bien reproduits. Pour σ_{\perp} , les pics P_1 et P_2 sont présents

4. Modélisation des spectres XANES

sur le spectre calculés mais avec des intensités relatives mal reproduites, P_2 étant beaucoup trop intense par rapport à P_1 .

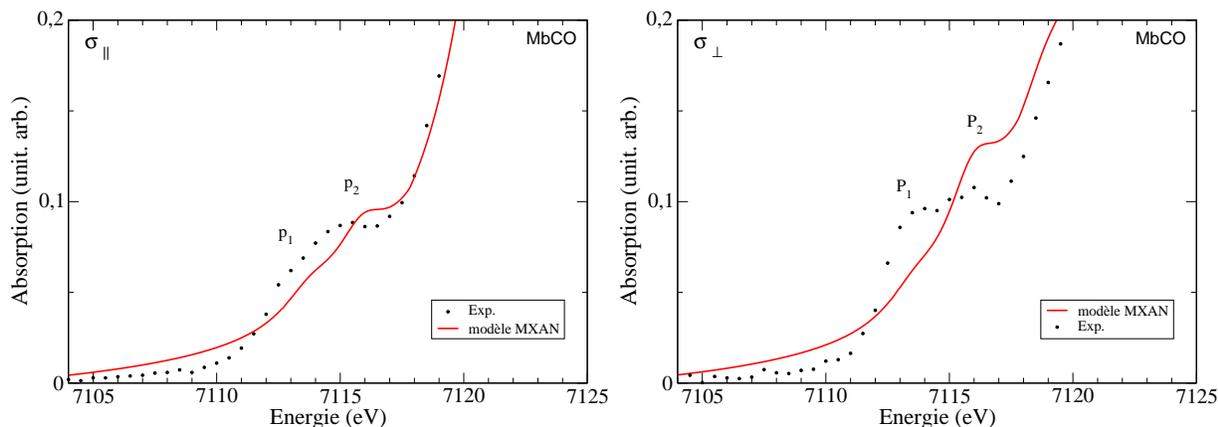


FIG. 4.15.: Agrandissement de la région du préseuil des spectres de la figure 4.14.

Comme nous l'avons déjà vu, les paramètres structuraux de l'environnement du fer résultant du fit sont très proches du modèle 1A6G de la PDB. De fait, les spectres calculés présentés sur les figures 4.14 et 4.15 sont très similaires aux spectres calculés à partir du modèle 1A6G. Pour s'en convaincre, une comparaison pour σ_{\perp} est présentée sur la figure 4.16. La différence significative entre les deux modèles concerne l'intensité du

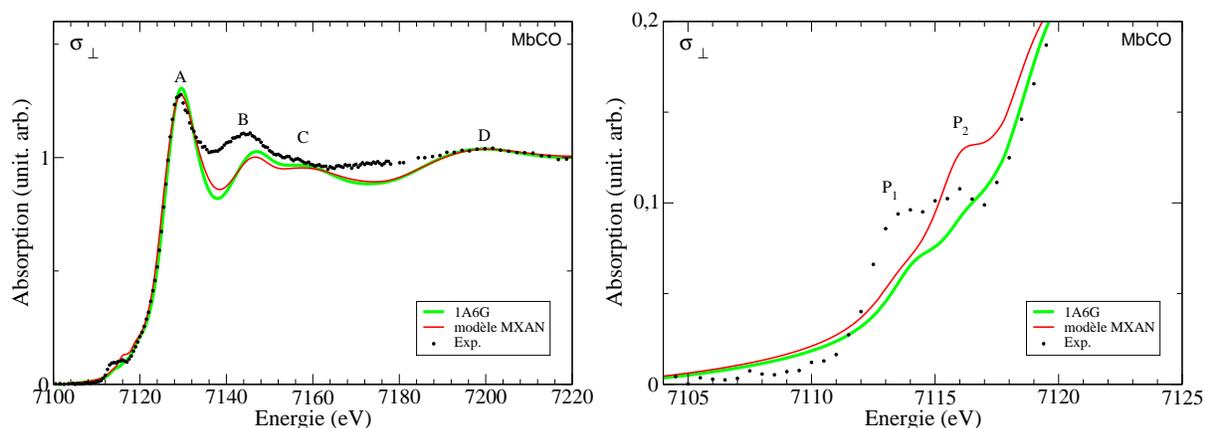


FIG. 4.16.: Comparaison entre spectres σ_{\perp} calculés à partir du modèle 1A6G et à partir de celui obtenu par la procédure de fit du programme MXAN. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.

pic P_2 du préseuil qui, selon l'interprétation donnée par Stefano Della Longa *et al.* [62]

(voir tableau 2.1), impliquerait une hybridation entre les orbitales d_{xz} et d_{yz} du fer et l'orbitale moléculaire antiliante π^* de CO. D'un point de vue structural, cette hybridation doit dépendre de l'angle β . De fait, la différence principale entre les deux modèles est la valeur de β (9° pour 1A6G et 14° pour le modèle MXAN).

Le spectre σ_\perp calculé à partir du modèle issu du fit MXAN semble en moins bon accord avec l'expérience que le spectre calculé directement avec MXAN, que nous avons présenté dans la section 2.2, figure 2.5 de gauche. Nous avons extrait de cette dernière figure le spectre calculé afin de faciliter la comparaison avec le nôtre. Cette comparaison est présentée sur la figure 4.17. Le spectre calculé par MXAN se confond quasiment avec le spectre expérimental,

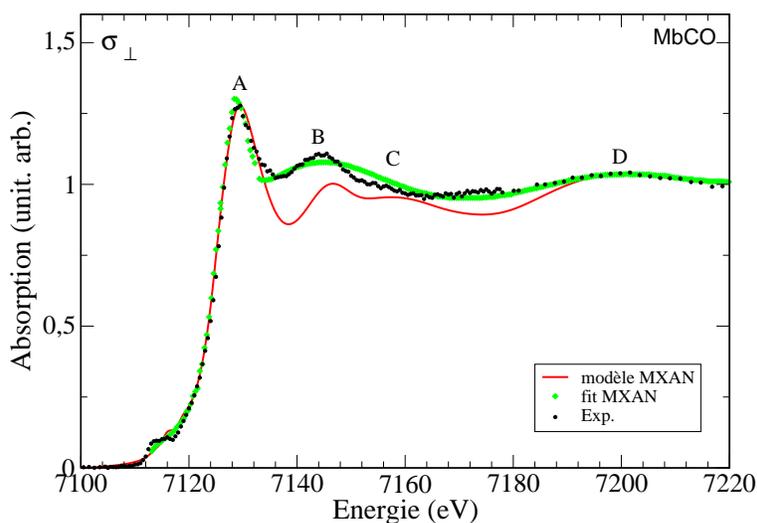


FIG. 4.17.: Comparaison entre spectres σ_\perp calculés à partir du modèle 1A6G et à partir de celui obtenu par la procédure de fit du programme MXAN. La figure de droite est un agrandissement de la région du préseuil de la figure de gauche.

mais pour autant, les pics B et C ne sont pas pleinement reproduits. Ce meilleur accord apparent peut provenir de l'utilisation par MXAN d'un paramètre d'élargissement plus adapté, dont les variations en fonction de l'énergie sont plus fortes dans la zone de désaccord.³ En revanche, ce qui demeure inexpliqué, c'est la surestimation de la position du pic B dans notre calcul, problème qui semble moins marqué dans la simulation MXAN.

De ce qui précède, on pourrait conclure que notre approche, qui n'a pas recours à l'approximation *muffin-tin*, n'est pas nécessaire. Cependant notre approche est d'un point

³Le libre parcours moyen du photoélectron est en effet calculé à partir de la partie imaginaire de la self-energie de type Hedin-Lundqvist.

4. Modélisation des spectres XANES

de vue fondamentale plus précise que celle du programme **MXAN** dans le sens où le potentiel y est total et la relaxation électronique sous l'effet du trou de cœur y est calculée de façon autocohérente en considérant un trou $1s$ sur l'atome absorbeur (pas d'approximation $Z+1$). De plus, il se peut que le fait que le programme **MXAN** utilise un paramètre de convolution plus large et mieux adapté que celui que nous utilisons puisse masquer des désaccords dans cette région sensible du spectre XANES. Pour conclure cette sous-section et afin de souligner que pour un même modèle structural, les deux approches théoriques conduisent à nouveau à des spectres calculés sensiblement différents, nous avons aussi extrait de la ref. [61] le spectre σ_{\perp} calculé par **MXAN** à partir du modèle 1BZR. Nous le comparons à notre propre calcul 1BZR sur la figure 4.18. Sur cette figure, on voit clairement que les 80 premiers

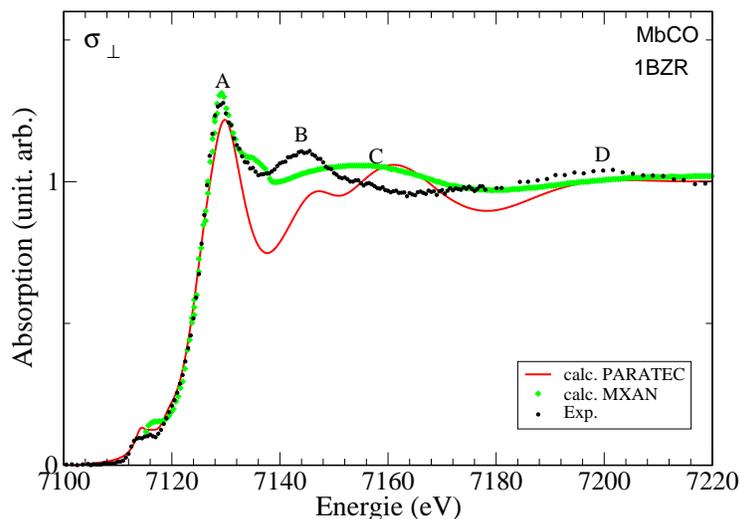


FIG. 4.18.: Comparaison entre spectres σ_{\perp} calculés à partir du modèle 1BZR par notre méthode (programme PARATEC) et le programme MXAN.

eV du spectre dépendent de l'approche théorique utilisée (potentiel autocohérent total ou *muffin-tin*, modélisation du trou de cœur, paramètre de convolution).

4.2.4. Analyse de la région du préseuil : le rôle des orbitales $3d$ du fer

Tous les spectres calculés présentés jusqu'ici sont la somme de contributions dipolaires électriques (E1) et quadripolaires électriques (E2). Nous rappelons que pour ces dernières, le vecteur d'onde \mathbf{k} est placé parallèlement à l'axe y de la cellule (donc dans le plan de l'hème) et le vecteur polarisation $\boldsymbol{\varepsilon}$ parallèlement à l'axe x pour σ_{\parallel} et parallèlement à l'axe z pour σ_{\perp} . La molécule (i.e. le cluster) est orientée de telle façon que les axes x

et y coïncident à peu près avec les liaisons Fe–N_p dans le plan de l'hème. L'axe z fait par construction un angle α avec la liaison Fe–C.

Dans cette sous-section, nous voulons d'abord connaître la proportion de chaque type de transitions, E1 et E2. Ensuite, nous nous intéressons à l'origine des pics du préseuil pour chaque polarisation en s'attachant à préciser l'implication des orbitales 3d vides du fer.

Contributions dipolaires électriques *vs* contributions quadripolaires électriques

La figure 4.19 montre les sections efficaces d'absorption E1 et E2 calculées dans le cas du modèle issu du programme MXAN, ainsi que leur somme (déjà présentée sur la figure 4.15). Pour σ_{\parallel} , on s'aperçoit que le pic p₁ est dû à des transitions de type E2, alors que p₂ résulte essentiellement de transitions de type E1. Pour σ_{\perp} , les transitions E2 sont

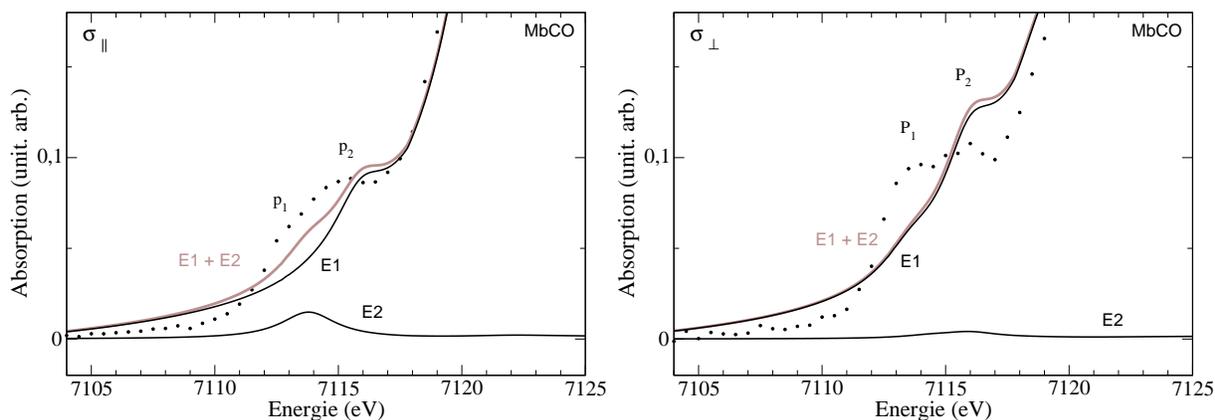


FIG. 4.19.: Contribution des transitions E1 et E2 sur les spectres calculés σ_{\parallel} (gauche) et σ_{\perp} (droite) à partir du modèle MXAN.

moins intenses que pour σ_{\parallel} . Le rapport d'intensité entre les pics E2 des deux orientations σ_{\perp} et σ_{\parallel} est de l'ordre de 2.5. Les transitions E2 de σ_{\perp} contribuent essentiellement (mais faiblement) au pic P₂. La section efficace d'absorption E1 exhibe deux pics, correspondant à P₁ et à P₂.

Origine des pics du préseuil

Pour aller plus loin dans l'analyse du préseuil, nous voulons maintenant caractériser les hybridations orbitales sondées dans cette région du spectre. Les transitions E2 sont des transitions entre l'orbitale de cœur 1s du fer et ses orbitales 3d vides. Dans le cas

4. Modélisation des spectres XANES

de σ_{\parallel} , étant donné l'orientation des vecteurs d'onde et de polarisation dans la molécule, les transitions E2 calculées sont des transitions $1s \rightarrow 3d_{x^2-y^2}$. Dans la cas de σ_{\perp} , nous calculons des transitions $1s \rightarrow 3d_{yz}$.

Les transitions E1 sont des transitions $1s$ vers les orbitales $4p$ vides du fer hybridées avec ses orbitales $3d$. En effet, comme le fer n'est pas dans un site centrosymétrique, l'hybridation $p-d$ locale est possible. Afin de savoir quelles orbitales d sont impliquées dans cette hybridation, nous avons calculé plusieurs sections efficaces d'absorption E2 correspondant à diverses orientations des vecteurs d'onde et polarisation (voir tableau 4.2). Les résultats sont présentés sur la figure 4.20.

TAB. 4.2.: Correspondance entre les orientations de ϵ et de \mathbf{k} dans le repère de la cellule de calcul et la symétrie des orbitales $3d$ sondées (dans ce même repère).

ϵ	\mathbf{k}		orbitale $3d$ sondée
[001]	[100]	\Rightarrow	d_{xz}
[001]	[010]	\Rightarrow	d_{yz}
[100]	[010]	\Rightarrow	d_{xy}
[110]	$[\bar{1}10]$	\Rightarrow	$d_{x^2-y^2}$
[101]	$[10\bar{1}]$	\Rightarrow	$d_{z^2-x^2}$

Dans le cas de σ_{\parallel} , nous avons vu que le pic p_1 était un pic purement E2 (avec fond dipolaire électrique) provenant de transitions du type $1s \rightarrow 3d_{x^2-y^2}$. Sur la figure de gauche, nous voyons que les spectres E2 calculés correspondant aux transitions $1s \rightarrow 3d_{xy}$ et $1s \rightarrow 3d_{x^2-y^2}$ sont très similaires. Deux types de transitions quadripolaires électriques peuvent donc contribuer au pic p_1 (étant donnée l'incertitude d'orientation du vecteur polarisation dans le plan de l'hème). Ce résultat peut sembler surprenant au premier abord si l'on considère que le fer dans MbCO est divalent bas spin et que ses orbitales $3d$ de type t_{2g} sont toutes occupées. En effet, dans ce cas, la section efficace d'absorption sondant la symétrie $3d_{xy}$ devrait être négligeable. Or selon nos calculs, il n'en est rien. Le pic que l'on voit sur le spectre E2 de symétrie d_{xy} refléterait en fait des transitions vers des états moléculaires antiliants résultant du recouvrement entre les orbitales $3d_{xy}$ du fer et les orbitales moléculaires antiliantes de type π^* impliquant les ligands N_p de la porphyrine (phénomène de rétro-liaison ou *back-bonding*). Des calculs d'orbitales moléculaires tels que nous en présenterons dans la deuxième partie de cette thèse (portant sur les cobaloximes) pourraient permettre de valider cette interprétation.

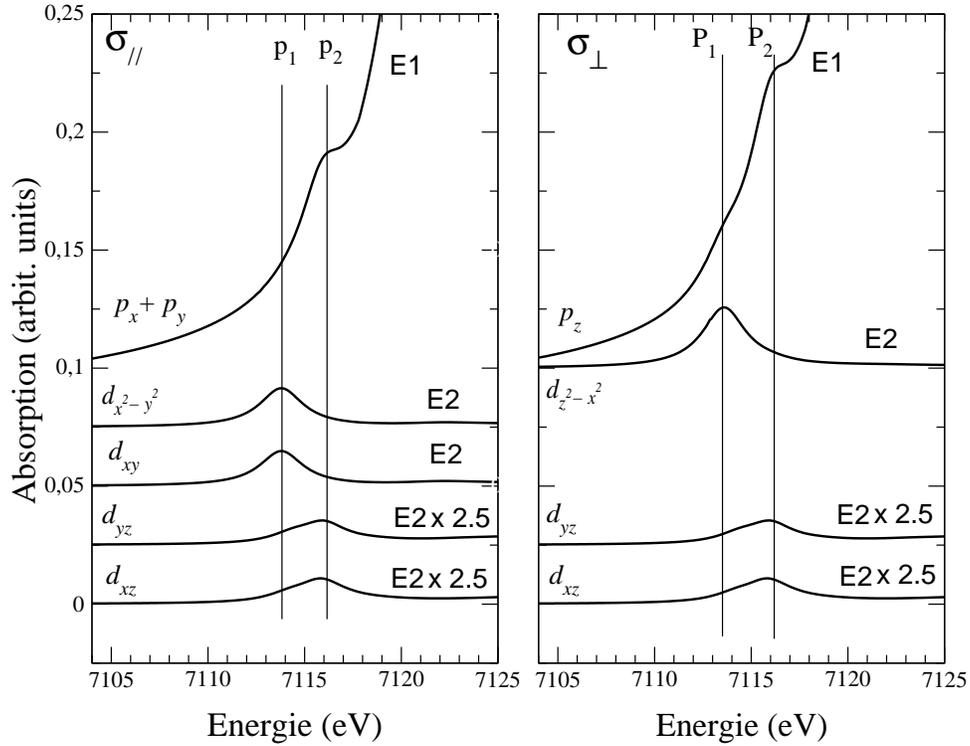


FIG. 4.20.: Comparaison entre les sections efficaces d'absorption calculées pour les transitions dipolaires électriques (E1) et pour les transitions quadripolaires électriques (E2) avec les orientations précisées dans le tableau 4.2.

Toujours dans le cas de σ_{\parallel} , nous avons vu que le pic p_2 était purement dipolaire électrique, donc résultant de transitions $1s \rightarrow 4p_x, 4p_y$ du fer. La figure 4.20 de gauche montre que le pic p_2 calculé apparaît à la même énergie que les transitions E2 du type $1s \rightarrow 3d_{xz}, 3d_{yz}$. Compte-tenu de la distorsion du site du fer, les orbitales p_x et p_y peuvent s'hybrider avec les orbitales $3d_{xz}$ et $3d_{yz}$ qui elles-mêmes sont hybridées via un phénomène de rétro-liaison avec l'orbitale moléculaire π^* de CO (ce mécanisme de *back-bonding* est illustré sur la figure 4.21).

Dans le cas de σ_{\perp} , nous avons vu que les pics P_1 et P_2 étaient essentiellement dûs à des transitions E1, la section efficace d'absorption E2 contribuant pour une part minime au pic P_2 . Pour connaître le rôle joué par les orbitales $3d_{3z^2-r^2}$, nous avons orienté les vecteurs d'onde et de polarisation suivant les directions $[101]$ et $[10\bar{1}]$ de la cellule, ce qui ne nous donnent pas directement des transitions $1s \rightarrow 3d_{3z^2-r^2}$, mais des transitions $1s \rightarrow 3d_{z^2-x^2}$. C'est la courbe E2 situé juste en dessous de la section efficace dipolaire électrique de la figure 4.20 de droite. Cette courbe présente un pic situé à la même position en énergie

4. Modélisation des spectres XANES

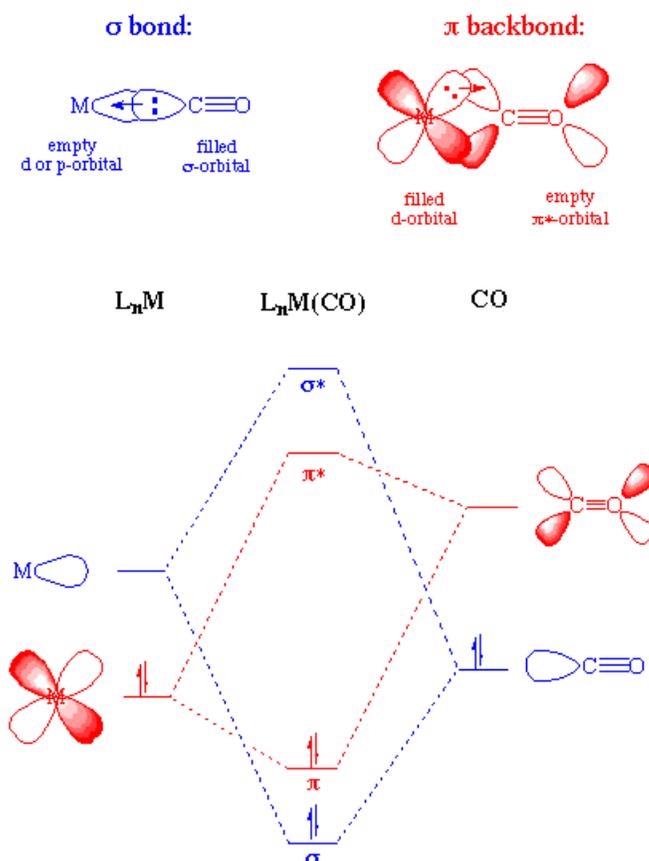


FIG. 4.21.: Rétro-liaison π (π back-bonding). On peut caractériser la liaison Fe–CO par un transfert de charges bidirectionnel entre les orbitales de Fe et celles de CO, décrit comme suit. CO donne deux électrons (paire non liante de l'orbitale σ , située sur l'atome de carbone) à une orbitale $3d$ vide de Fe. Ensuite, l'excès de charge sur Fe est transféré sur l'orbitale antiliante π^* de CO, c'est ce transfert que l'on nomme la rétro-liaison π^* . L'orbitale d du fer possède avec l'orbitale π^* un fort recouvrement lorsque la géométrie de la chaîne Fe–C–O est linéaire, cette hybridation stabilise la liaison Fe–CO (figure extraite de [87]).

que le pic P_1 . P_1 résulte donc de transitions $1s \rightarrow 4p_z$ où les $4p_z$ du fer sont hybridées avec les orbitales $3d_{3z^2-r^2}$, qui elles-mêmes peuvent s'hybrider avec l'orbitale moléculaire σ de CO (c'est l'orbitale moléculaire σ^* de la figure 4.21). Enfin, nous voyons sur la figure 4.20 de droite que le pic P_2 résulte de transitions E1 $1s \rightarrow 4p_z$ où les $4p_z$ sont hybridées avec les orbitales $3d_{xz}$ et $3d_{yz}$, du fait de la distorsion du site du fer. Par le mécanisme de rétro-liaison, ces dernières s'hybrident avec l'orbitale moléculaire antiliante π^* de CO, formant ainsi l'orbitale moléculaire antiliante notée π^* sur la figure 4.21.

Un résumé de l'origine des pics p_1 et p_2 de σ_{\parallel} et P_1 et P_2 de σ_{\perp} déterminée par ces calculs est donné dans le tableau 4.3. Ce tableau rappelle également l'interprétation qui avait été avancée par Della Longa *et al.* [62]. Nous voyons que nos calculs confirment cette interprétation, en précisant la contribution des transitions E1 et des transitions E2. Les différences entre nos interprétations sont doubles. Premièrement, nous avons mis en évidence la participation de l'orbitale vide $3d_{x^2-y^2}$ du fer dans le pic p_1 , qui n'avait pas été soulignée dans la réf. [62]. Deuxièmement, notre approche ne nous a pas permis d'identifier le rôle joué par l'orbitale moléculaire π^* de la porphyrine dans le pic p_2 , avancé par les auteurs de [62]. Par ailleurs, nous n'avons pas évoqué le rôle potentiel joué par les orbitales moléculaires antiliantes du groupe imidazole de l'histidine proximale, qui peuvent également s'hybrider avec les orbitales d du fer et donc aussi avec les orbitales p_z .

TAB. 4.3.: Résumé de l'origine des pics du préseuil déterminée d'après nos calculs et comparaison à la tentative d'attribution donnée par Della Longa *et al.* [62] (cf. tableau 2.1).

Pics	d'après nos calculs	d'après [62]
p_1	E2 : $1s \rightarrow 3d_{x^2-y^2}$ et $1s \rightarrow 3d_{xy}$ hybridée avec π_{porph}^*	d_{xy}
p_2	E1 : $1s \rightarrow 4p_x, 4p_y$ hybridées avec $[d_{yz}, d_{xz} + \pi^*(\text{CO})]^*$	π_{porph}^* et $[d_{yz}, d_{xz} + \pi^*(\text{CO})]^*$
P_1	E1 : $1s \rightarrow 4p_z$ hybridée avec $[d_{z^2} + \sigma(\text{CO})]^*$	$[d_{z^2} + \sigma(\text{CO})]^*$
P_2	E1 : $1s \rightarrow 4p_z$ hybridée avec $[d_{yz}, d_{xz} + \pi^*(\text{CO})]^*$	$[d_{yz}, d_{xz} + \pi^*(\text{CO})]^*$

Influence du trou de cœur sur le préseuil

Les préseuils calculés sont situés à trop haute énergie par rapport aux préseuils expérimentaux (comparativement à la position du premier pic du seuil). Cet écart est de l'ordre de l'eV, voire inférieur. Un écart plus important a déjà été observé dans d'autres composés, notamment au seuil K du chrome dans différents minéraux [37, 36, 48]. Une raison avancée pour expliquer ce désaccord entre théorie et expérience est la limitation de la DFT-LDA pour reproduire correctement les effets liés au trou de cœur quand des orbitales d sont impliquées. Dans ce paragraphe, nous voulons évaluer les effets du trou de cœur dans le cas du préseuil de MbCO.

Sur la figure 4.22, nous reprenons les spectres calculés de la figure 4.19 que nous comparons aux mêmes sections efficaces mais calculées sans prendre en compte le trou de cœur $1s$. Les deux figures illustrent l'effet de la présence du trou de cœur sur les spectres

4. Modélisation des spectres XANES

XANES. Cet effet s'avère peu significatif. Il diminue les intensités des structures dans la région 7130-7170 eV. Sur les figures du bas, nous voyons que la prise en compte du trou de

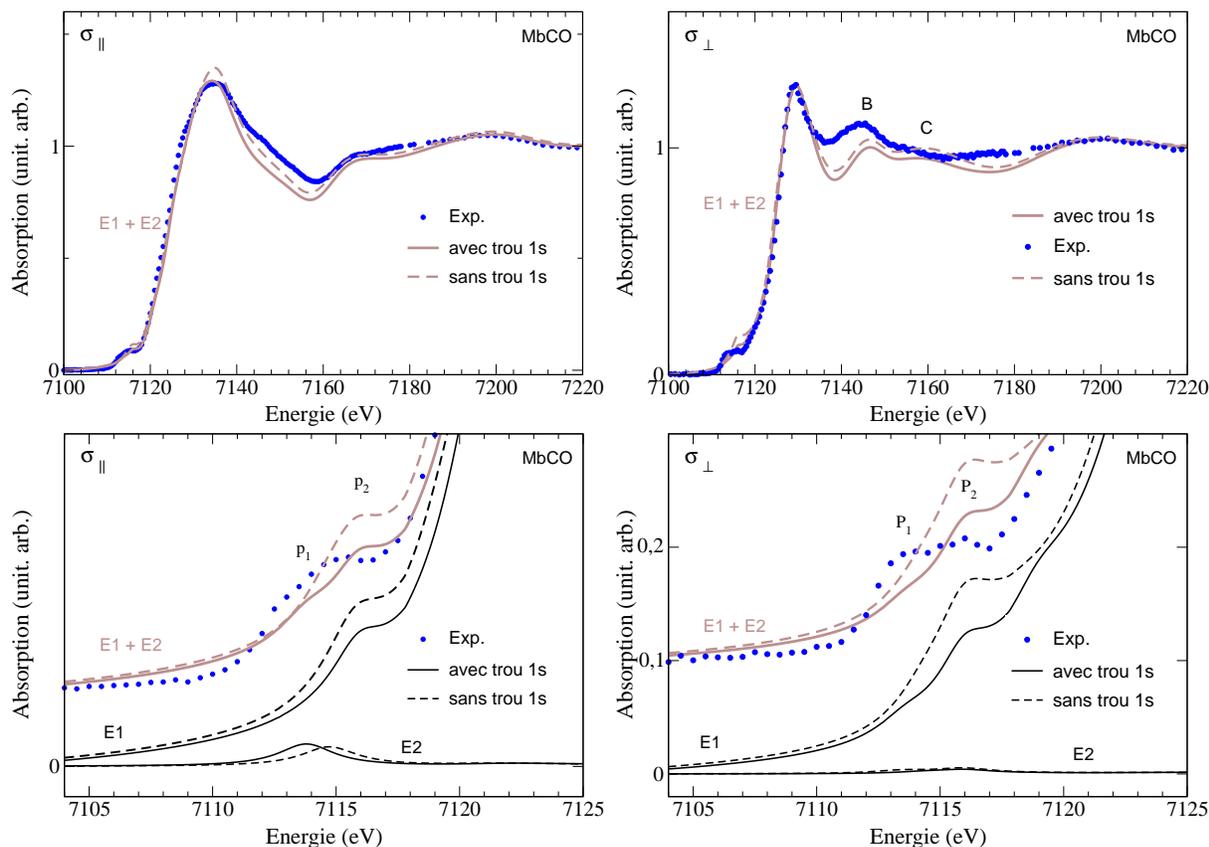


FIG. 4.22.: Comparaison entre les sections efficaces calculées avec (trait plein) et sans (trait tireté) trou de cœur. A gauche, σ_{\parallel} et à droite σ_{\perp} . Les calculs sont effectués à partir du modèle MXAN.

cœur diminue l'intensité du préseuil calculé E1+E2 quelle que soit la polarisation des rayons X (courbes claires en haut de chaque graphe), améliorant ainsi l'accord avec l'expérience. Cette diminution d'intensité ne concerne que les transitions E1, les transitions E2 gardant une intensité à peu près constante. Nous constatons également que les pics p_1 (σ_{\parallel}) et P_1 (σ_{\perp}) n'apparaissent pas sur les spectres calculés sans trou de cœur. Le pic p_1 provient de transitions E2, or nous voyons que celles-ci sont décalées vers les hautes énergies, se situant à la même position que le pic p_2 quand le trou 1s n'est pas présent. On comprend alors pourquoi p_1 n'est pas présent et p_2 est plus intense. En effet, cette augmentation d'intensité provient de l'hybridation entre les orbitales p_x et p_y vides du fer avec les orbitales $3d_{x^2-y^2}$. Le pic P_1 de σ_{\perp} résulte d'une transition $1s \rightarrow 4p_z$ hybridée avec l'orbitale moléculaire

antiliante $[d_{z^2} + \sigma(\text{CO})]^*$. Quand le trou n'est pas présent, cette hybridation ne se fait pas à l'énergie du pic P_1 mais à celle du pic P_2 . En effet les orbitales $3d_z^2$ sont attirées vers les basses énergies comme l'est l'autre orbitale vide de type e_g (i.e. la $3d_{x^2-y^2}$). Cet effet explique donc à la fois l'absence de pic P_1 et l'augmentation d'intensité du pic P_2 .

En conclusion, le trou de cœur $1s$ sépare en énergie les orbitales d vides de type e_g des orbitales p vides du fer, faisant ainsi apparaître les pics p_1 de σ_{\parallel} et P_1 de σ_{\perp} . Le désaccord au niveau de la position du préseuil calculé par rapport au seuil n'est pas complètement dû à un problème de limitation de la DFT pour reproduire les effets du trou de cœur, puisque les pics de transitions E1, résultant d'hybridation avec les orbitales d , ne sont pas déplacés sous l'effet du trou. Nous sommes ici confrontés à la limitation de notre approche pour reproduire correctement les énergies des orbitales moléculaires antiliantes caractérisant la liaison chimique entre le fer et ses ligands.

4.2.5. Influence de la distance Fe–C

Nous avons vu dans les résultats précédents que la distance Fe–C était reliée à l'intensité et à la position du pic C du spectre σ_{\perp} . Ici, nous voulons examiner plus en détail cet effet et évaluer l'influence de la distance Fe–C sur le préseuil. Les calculs ne sont effectués que dans l'approximation dipolaire électrique, puisque les transitions E2 ne contribuent que de façon minime au préseuil σ_{\perp} .

Sur la figure 4.23 nous testons l'effet de l'élongation de la liaison Fe–C sur le spectre σ_{\perp} . La structure utilisée est celle du modèle 1BZR relaxé (cf. deuxième ligne du tableau 3.2). Une élongation de la liaison Fe–C de 0.05 Å a pour effet : d'augmenter l'intensité des pics A, B et D et de diminuer de l'intensité du pic C, tout en déplaçant ce dernier vers les basses énergies. Pour la région du préseuil (figure 4.23 de droite) on voit que cette élongation provoque une diminution de l'intensités des deux pics (P_1 et P_2) avec une nette diminution de l'intensité du pic P_1 . Cette diminution d'intensité met en évidence le rôle joué par les orbitales moléculaires (OM) σ^* et π^* de CO dans les pics du préseuil. En effet, quand la liaison Fe–C s'allonge, l'hybridation avec les orbitales d du fer est moins forte. Cet affaiblissement de l'hybridation $3d\text{-OM}(\text{CO})$ est sondé par l'intermédiaire des transitions E1 $1s \rightarrow 4p_z$.

L'inversion des intensités des pics B et C et la diminution du pic du préseuil P_1 permettent de réaliser un meilleur accord avec l'expérience. Ici nous confirmons bien que la distance Fe–C influe fortement sur l'intensité et la position du pic C, mais aussi nous remarquons que la variation de ce paramètre change l'intensité de l'ensemble des autres structures du spectre. Nous précisons aussi que l'intensité du pic C est inversement pro-

4. Modélisation des spectres XANES

portionnelle à la longueur de la liaison Fe–C. La distance Fe–C de 1.82 Å reproduit mieux l’expérience, ce qui confirme le résultat du fit de Della Longa *et al.* [61].

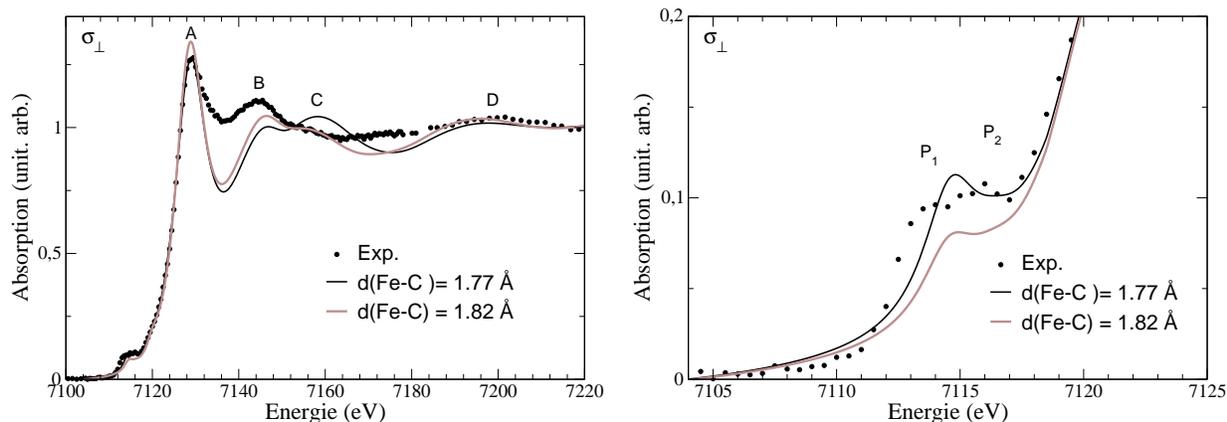


FIG. 4.23.: Influence de la distance Fe–C sur le spectre σ_{\perp} . Deux distances 1.77 Å et 1.82 Å sont testées pour la liaison Fe–C (la distance Fe–N_{his} est fixée à 2.15 Å). A droite, zoom sur le préseuil des spectres de gauche.

4.2.6. Influence de la distance Fe–N_{his}

Dans cette sous-section, nous nous intéressons à la liaison entre le fer et son autre ligand axial, l’azote de l’histidine proximale. Nous prenons de nouveau la structure 1BZR relaxée comme référence. Nous montrons sur la figure 4.24, l’effet de la contraction de 0.10 Å de la liaison Fe–N_{his}. Ici encore nous avons une inversion des intensités des pics B et C, avec un effet moins marqué que précédemment sur le pic C. Le pic C n’est pas déplacé par la diminution de la distance Fe–N_{his}. Alors que l’augmentation de la distance Fe–C diminue l’intensité du pic C tout en le déplaçant vers les basses énergies, l’augmentation de la distance Fe–N_{his} augmente son intensité et conserve sa position.

Les intensités des structures du seuil sont plus sensibles à la distance Fe–C qu’à la distance Fe–N_{his}. En effet, on peut noter qu’une variation de 0.05 Å de la distance Fe–C (fig. 4.23) conduit à des modifications d’intensité spectrale plus importantes qu’une variation de 0.10 Å de la distance Fe–N_{his} (fig. 4.24).

Dans la région du préseuil, nous observons une diminution de l’intensité du pic P1 du préseuil, améliorant la reproduction du spectre expérimental. Les orbitales *d* du fer peuvent également s’hybrider avec les orbitales moléculaires de l’histidine proximale, ce qui n’avait pas été suggéré dans l’analyse de Della Longa *et al.* [62], et que nous avons juste

mentionné dans la sous-section 4.2.4. Lorsque la distance Fe-N_{his} est diminuée, le cycle de l'histidine suit rigidement c'est toute la géométrie de l'imidazole qui est modifiée.

Par conséquent, lors de la contraction de la distance Fe-N_{his}, le diagramme d'énergie des OM de l'imidazole est perturbé de telle façon que les OM antiliantes de l'imidazole s'hybrident moins bien avec les orbitales vides du fer.

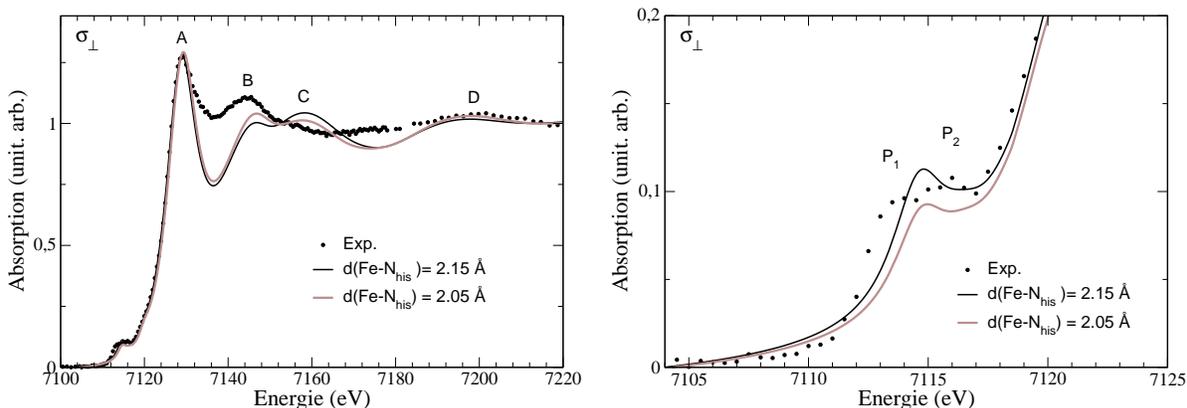


FIG. 4.24.: Influence de la distance Fe-N_{his} sur le spectre σ_{\perp} . Deux distances 2.15 Å et 2.05 Å sont testées pour la liaison Fe-N_{his} (la distance Fe-C est fixée à 1.77 Å). A droite, zoom sur le préseuil des spectres de gauche.

4.2.7. Influence de la distance hors-plan du fer

Ici, nous testons différentes valeurs pour ΔZ_{Fe} en faisant varier la position de l'atome fer perpendiculairement au plan de l'hème, tout en conservant la longueur des liaisons Fe-N_{his} et Fe-C (voir figure 4.25). Le modèle de départ est toujours celui de 1BZR relaxé. Le mouvement du fer n'est pas indépendant, mais est accompagné par une légère augmentation des liaisons Fe-N_p, comme cela a lieu lors de la photolyse de MbCO.

Le déplacement de l'atome de Fe selon la direction perpendiculaire au plan de l'hème vers le groupement imidazole a pour effet de diminuer très légèrement l'intensité du pic C. Cet effet n'est pas très significatif. En revanche, le pic P₁ du préseuil est sensible à cette variation, son intensité augmente lorsque l'atome de Fe se rapproche du plan de l'hème et passe en dessous (alors que P₂ est peu modifié). L'augmentation de l'intensité de P₁ détériore l'accord avec l'expérience. Par conséquent, un décalage du fer au dessus du plan de l'hème (de l'ordre de 0.05 Å) semble être plus représentatif de la réalité.

Dans le pic P₁ est engagée l'orbitale $3d_{3z^2-r^2}$ du fer par hybridation avec les états

4. Modélisation des spectres XANES

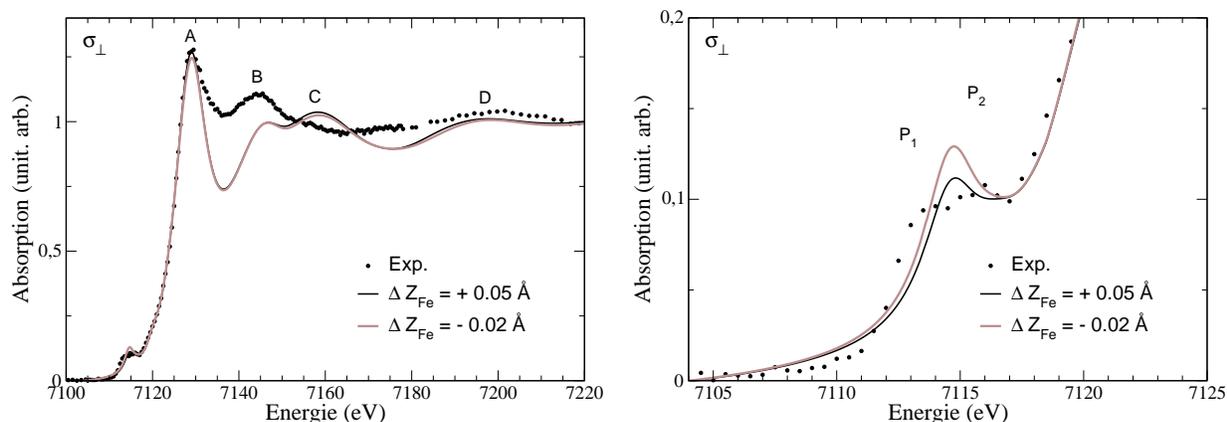


FIG. 4.25.: Influence de la distance hors plan du fer (ΔZ_{Fe}) sur le spectre calculé σ_{\perp} . A droite, agrandissement de la région du préseuil.

p_z (du fer). Cette orbitale $3d_{3z^2-r^2}$ est elle-même hybridée avec les OM antiliantes des ligands axiaux. Les modifications de P_1 en fonction de ΔZ_{Fe} suggèrent que cette hybridation dépend de la position du fer vis-à-vis du plan de l'hème. Dans les simulations de spectres des modèles 1A6G et MXAN, où le fer est dans le plan de l'hème, le pic P_1 est sous-estimé. Cependant, la comparaison est difficile car d'autres paramètres structuraux diffèrent entre ces simulations. Par conséquent des simulations complémentaires où seul ΔZ_{Fe} varie seraient nécessaires pour pouvoir analyser plus clairement les variations observées et évaluer le rôle des OM des ligands.

Nous ne montrons pas ici l'influence de ΔZ_{Fe} sur σ_{\parallel} . Cela étant, il nous semble important de rappeler ici que le pic p_1 de σ_{\parallel} est présent pour les modèles 1A6G et le modèle MXAN, qu'il est à peine visible pour le modèle 1BZR et qu'il est totalement absent pour les modèles 1A6G relaxé et 1BZR relaxé. Nous pensons que la présence de p_1 pour les modèles 1A6G et le modèle MXAN est liée au fait que le fer se situe dans le plan de l'hème dans ces structures, qui n'est pas le cas pour les autres modèles. En effet, nous avons vu que p_1 est une transition $E2\ 1s \rightarrow 3d_{x^2-y^2}$, où les directions x et y sont celles de la cellule et pas celles des liaisons Fe- N_p si le fer n'est pas dans le plan de l'hème. Cette orbitale n'est proprement sondée que si le fer est dans le même plan que les quatre atomes N_p .

4.2.8. Influence de la distance C–O

La figure 4.26 montre des spectres calculés pour différentes valeurs de longueurs de liaison C–O. La structure de départ est toujours le modèle 1BZR relaxé. Les valeurs de

la distance C–O choisies sont 1.16 ± 0.04 Å. On voit que l'élongation de cette distance a pour effet de déplacer en blocs les pics du seuil vers les basses énergie, sans modifier le préseuil. On a aussi une augmentation du pic B et une diminution du pic C, comme nous l'avons déjà vu dans l'effet de la distance Fe–C (figure 4.23). La distance C–O tout comme les distances Fe–C et Fe–N_{his} n'influencent pas l'écart en énergie des pics B et C.

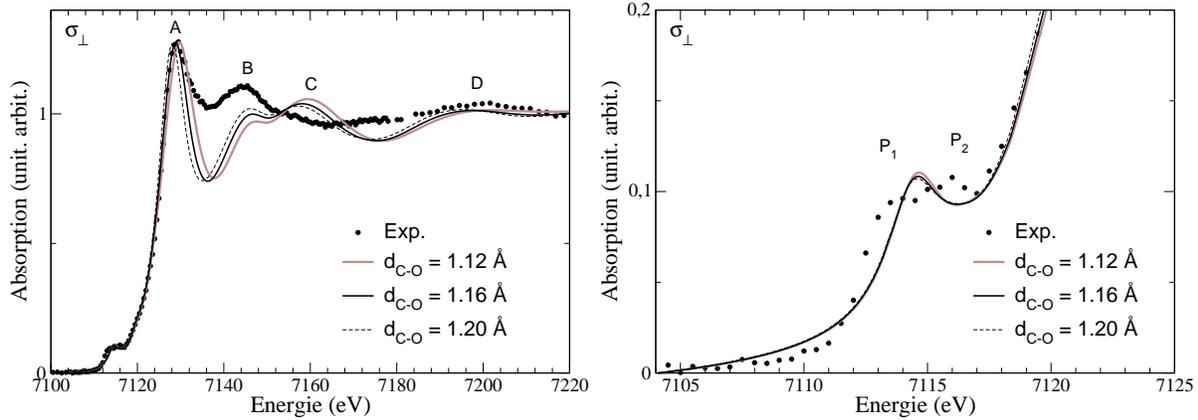


FIG. 4.26.: Influence de la distance C–O pour les valeurs 1.12, 1.16 et 1.20 Å. A droite, agrandissement de la région du préseuil.

Sur la figure 4.26 de droite, on constate que des variations de 0.08 Å de la distance C–O n'ont pas d'incidence notable sur la région du préseuil.

4.2.9. Influence de l'angle α

Ici, nous testons l'influence de la valeur de l'angle α (voir figure 4.27) sur le spectre σ_{\perp} . Le changement de la valeur de α "conserve" la géométrie de la liaison Fe–C–O (i.e. l'angle β et les distances Fe–C et C–O ne changent pas). Ce qui change c'est la position relative du vecteur polarisation par rapport aux liaisons Fe–C et C–O. Sur la figure 4.27 de gauche, on voit que la variation de l'angle α n'a strictement aucune incidence sur le spectre. Ceci illustre pourquoi cet angle n'est pas donné dans le résultat de la procédure de fit effectuée par Della Longa *et al.* [61]. Sur la fig. 4.27 de droite, la variation de l'angle α dans un intervalle compris entre 5.2 et 10° a une petite influence sur l'intensité du pic P2 du préseuil. Cette petite variation ne permet pas pour autant d'estimer la valeur de cet angle par confrontation avec le spectre expérimental. Entre 10 et 15° l'angle α n'a strictement pas d'effet sur le spectre.

4. Modélisation des spectres XANES

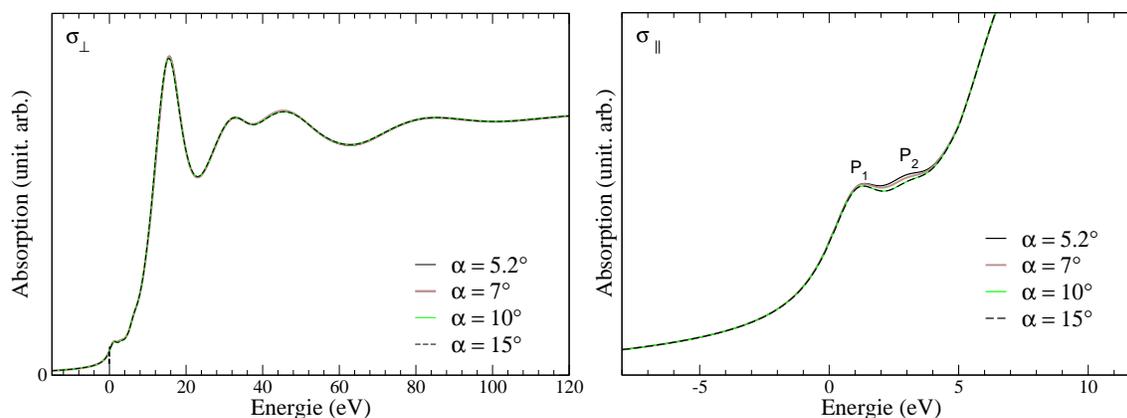


FIG. 4.27.: Effet de la variation de l'angle α , pour les valeurs 5.2°, 7°, 10° et 15°. A droite, agrandissement de la région du préseuil. Ici les spectres n'étant pas comparés à l'expérience, ils ne sont pas décalés en énergie. Le zéro correspond à la valeur du niveau de Fermi du système (qui contient le trou de cœur).

4.2.10. Influence de l'angle β

Nous testons ici l'effet de la valeur de l'angle β sur les spectres polarisés perpendiculairement au plan de l'hème. La structure de départ correspond au modèle 1BZR relaxé pour laquelle l'angle β vaut 6.9°. Nous modifions la position de l'atome d'oxygène (en gardant bien sûr la distance C–O fixe) de façon à faire varier la valeur de β . Les autres caractéristiques structurales sont celles de 1BZR relaxé. Plusieurs angles β ont été sélectionnés (entre 0 et 30°), les spectres correspondants sont présentés sur la figure 4.28. On remarque que les pics du seuil et du préseuil sont très sensibles aux variations de l'angle β (ce qui n'était pas le cas de α). Nous avons déjà vu que les intensités relatives de B et C dépendait de la valeur des distance Fe–C, Fe–N_{his} et C–O. Ici, nous constatons que l'effet de l'angle β est plus global. D'une part, l'angle β a une influence sur les intensités relatives de toutes les structures du seuil. D'autre part, c'est le seul paramètre structural (parmi ceux que nous étudions) qui a une incidence sur les positions relatives des structures. Dans le tableau 4.4, nous avons reporté les positions des différents pics ainsi que l'écart entre les pics A et B. Nous rappelons que parmi tous les modèles structuraux considérés jusqu'ici, aucun n'a donné d'accord correct dans cette région du spectre, avec un pic B calculé à trop haute énergie. Nous voyons que plus β augmente, plus l'écart entre A et B diminue. En ne considérant que ce résultat, le meilleur accord avec l'expérience est obtenu pour un angle β compris entre 20 et 25°. Mais pour ces valeurs élevées de β , on observe un déplacement des

TAB. 4.4.: Variation de la position des pics A, B, C et D en fonction de l'angle β . La dernière colonne donne l'écart entre les pics A et B.

β	A	B	C	D	B-A
30°	7130.9 eV	7143.9 eV	7165.7 eV	≈ 7199.8 eV	13.0 eV
25°	7129.8 eV	7145.1 eV	7162.3 eV	≈ 7198.6 eV	15.3 eV
20°	7129.4 eV	7145.7 eV	7160.3 eV	≈ 7199.3 eV	16.3 eV
15°	7129.2 eV	7146.1 eV	7159.3 eV	≈ 7199.1 eV	16.9 eV
10°	7129.2 eV	7146.4 eV	7158.9 eV	≈ 7199.0 eV	17.2 eV
5°	7129.1 eV	7146.6 eV	7158.8 eV	≈ 7198.4 eV	17.5 eV
0°	7129.1 eV	7146.7 eV	7158.7 eV	≈ 7198.2 eV	17.6 eV
Exp.	7129.1 eV	7144.6 eV	≈ 7157.5 eV	≈ 7200.0 eV	15.5 eV

pics C et D vers les hautes énergies qui détériorent l'accord avec le spectre expérimental. Par ailleurs, un angle β de l'ordre de 20-25° semble irréaliste comparé aux données xrd.

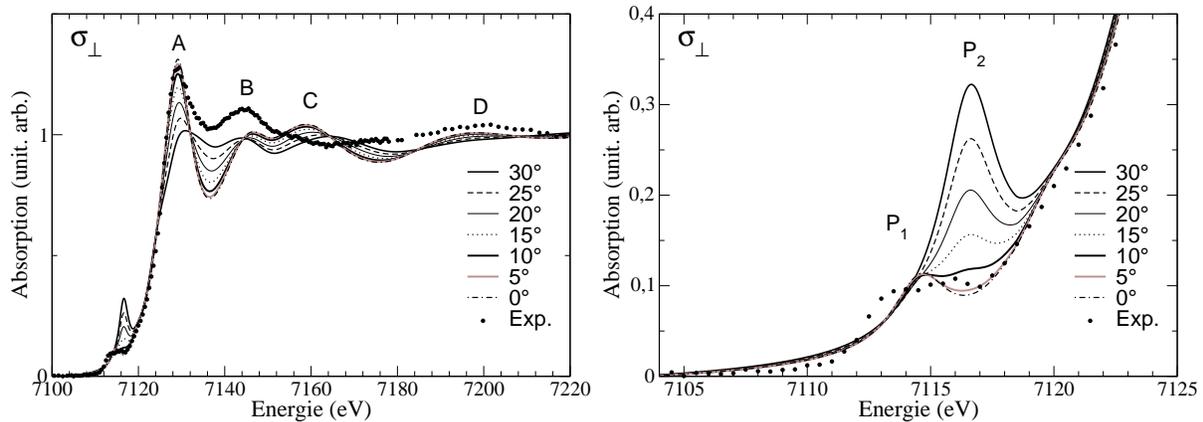


FIG. 4.28.: Influence de la valeur de β sur le spectre polarisé perpendiculairement au plan de l'hème. A droite, agrandissement de la région du préseuil.

La figure 4.28 de droite illustre l'influence de l'angle β sur le préseuil. Ici de nouveau, on s'aperçoit qu'un angle β trop élevé conduit à un désaccord avec le préseuil expérimental. Quand β augmente, alors que P_1 ne varie pas, l'intensité de P_2 augmente continûment. Alors qu'en modifiant les distances entre le fer et les ligands axiaux, on faisait varier l'intensité du préseuil dans sa totalité (avec un effet plus marqué) sur le pic P_1 , ici on constate que la valeur de l'angle β contrôle l'intensité du pic P_2 . L'origine de P_2 donnée

dans la section 4.2.4 permet de comprendre ce phénomène. P_2 est attribué à une transition $1s \rightarrow 4p_z$ où les états $4p_z$ du fer sont hybridés avec l'orbitale antiliante $[d_{z^2} + \sigma(\text{CO})]^*$ (issue du mécanisme de back-bonding). Quand β augmente, la liaison CO s'incline, favorisant le recouvrement entre les orbitales de symétrie d_{xz} et d_{yz} du fer et l'OM π^* de CO. On pourrait penser que cette inclinaison de la liaison C–O devrait aussi affecter le recouvrement de type σ impliqué via son niveau antiliant dans P_1 . Or le pic P_1 n'est pour ainsi dire pas modifié quand β varie. Cela semble de nouveau suggérer que le rôle de l'OM σ^* de CO dans l'origine de P_1 n'est pas majoritaire et que les OM antiliantes de l'imidazole contribuent pour une part au moins aussi importante à ce pic.

4.2.11. Influence de la distance $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$

Après avoir déterminé l'influence de la géométrie autour du fer sur le spectre σ_{\perp} , il nous reste à regarder l'influence de la distance $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ sur le spectre σ_{\parallel} . Sur la figure 4.29, nous mettons en évidence les effets d'une variation moyenne de la distance Fe– N_p . Nous considérons trois distances moyennes : 1.98 Å, 2.02 Å, 2.06 Å. Pour la construction des trois modèles, les atomes N_p de 1BZR relaxé sont déplacés rigidement avec leur noyaux pyrroliques parallèlement au plan de l'hème et de manière proportionnelle de façon à ne pas introduire de distorsion (dans 1BZR relaxé les quatre N_p forment un plan carré). Ces modifications aboutissent à différentes tailles pour l'hème.

Un premier effet visible (figure 4.29) est le décalage d'ensemble des structures du seuil vers les basses énergies lorsque $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ augmente. Contrairement aux ligands axiaux, nous constatons ici pour une polarisation σ_{\parallel} que la position en énergie des pics de la région du seuil dépend des distances entre le fer ses ligands équatoriaux. L'ensemble des pics sont décalés vers les basses énergies lorsque $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ augmente. Natoli a proposé une relation [20] entre la longueur R de la liaison métal-ligand et la position en énergie des transitions vers le continuum E_x : $E_x R^2 = \text{cte}$.

E_x est définie par rapport à un zéro en énergie d'une transition vers un état lié comme le préseuil. Pour illustrer cela, nous considérons la position du minimum d'absorption compris entre les pics b et c à 7157.7 eV et 7154.6 eV pour les longueurs 1.98 Å et 2.06 Å de $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ respectivement, avec comme origine des énergies la transition à 7116.3 eV du préseuil. Le rapport des énergies et celui des distances $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ vaut ≈ 0.92 . La "règle" de Natoli est donc bien vérifiée. Lors de la comparaison de spectres de composés similaires comme les dérivés de Mb ou des cofacteurs de B₁2 étudiés dans la deuxième partie de cette thèse, cette loi peut apporter des informations précieuses sur l'effet des ligands axiaux sur la variation des distances des ligands du macrocycle.

En outre, nous observons une modification du pic a et de l'intensité du pic c. Le spectre correspondant à la valeur 2.02 Å pour $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ réalise globalement le meilleur accord avec l'expérience.

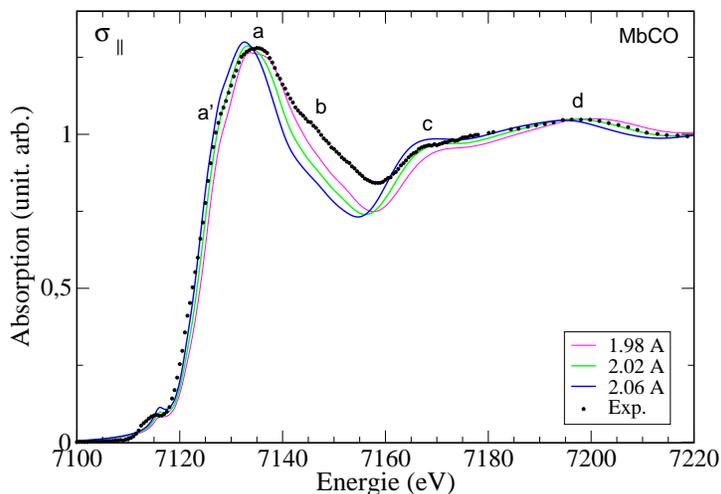


FIG. 4.29.: Influence de la distance $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ sur le spectre σ_{\parallel} .

Dans l'exemple précédent, nous avons utilisé trois modèles construits à partir du modèle 1BZR relaxé, où les quatre distances Fe-N_p sont identiques à 0.01 Å près. Nous avons construit un modèle supplémentaire avec une distance Fe-N_p “courte” (1.98 Å) et une autre “longue” (2.06 Å) pour une moyenne $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ de 2.02 Å pour tester l'effet de la distorsion du plan carré formé par les azotes pyrroliques. Nous observons sur la figure 4.30 que la distorsion diminue l'intensité du pic a, modifie sa forme, faisant apparaître un épaulement à droite et décale le pic c vers les hautes énergies. L'introduction de la distorsion conduit à une détérioration de l'accord avec l'expérience, ce qui semble indiquer que l'hème n'est pas ou est peu distordu dans MbCO.

4.2.12. Bilan sur l'analyse structurale des spectres polarisés de MbCO

Nous avons tout d'abord confronté à l'expérience les spectres σ_{\parallel} et σ_{\perp} calculés pour 5 modèles structuraux : le modèle 1A6G expérimental, le modèle 1BZR expérimental, le modèle 1A6G relaxé, le modèle 1BZR relaxé et le modèle MXAN, dont nous rappelons dans le tableau 4.5 les principales caractéristiques.

4. Modélisation des spectres XANES

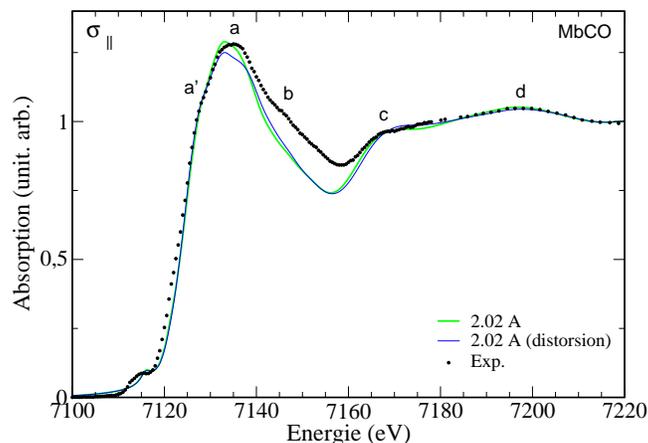


FIG. 4.30.: Comparaison entre le spectre σ_{\parallel} expérimental et les spectres obtenus par calcul sur 1BZR relaxé avec une configuration Fe- N_p quasi-symétrique et avec une configuration Fe- N_p distordue.

TAB. 4.5.: Caractéristiques de l'environnement du fer dans MbCO dans les cinq modèles considérés. Les distances sont en Å et les angles sont en degrés.

Modèles	$\langle \text{Fe}-N_p \rangle$	Fe- N_{his}	Fe-C	C-O	α	β	ΔZ_{Fe}
1A6G	1.98	2.06	1.82	1.09	9.0	9.0	-0.001
1BZR	2.00	2.12	1.73	1.12	4.8	7.4	-0.015
1A6G relaxé	2.04	2.13	1.77	1.16	8.6	8.6	+0.05
1BZR relaxé	2.04	2.15	1.77	1.16	8.6	6.9	+0.05
modèle MXAN	2.00	2.06	1.83	1.07	9.0	14.	-0.001

Nous avons ensuite fait varier une à une les caractéristiques structurales de l'environnement structural du fer dans MbCO, en prenant comme structure de départ de départ le modèle 1BZR relaxé⁴.

Cas d'une polarisation dans le plan de l'hème

De cette étude, il ressort que les différences structurales entre les cinq modèles considérés n'affectent pas de façon significative le spectre calculé σ_{\parallel} pour lequel l'accord avec l'expérience est très bon (si l'on fait abstraction du préseuil). Cela signifie que la

⁴A posteriori, ce modèle de départ n'apparaît pas comme le plus judicieux. Ce n'est que pour des raisons d'ordre chronologique que les calculs ont été faits à partir de ce modèle.

confrontation avec l'expérience ne permet pas de déterminer avec grande précision la distance moyenne Fe–N_p. Les valeurs comprises entre 1.98 et 2.04 Å semblent acceptables. Toutefois, l'étude menée dans la sous-section 4.2.11 montre qu'une augmentation de la distance Fe–N_p détériore l'accord avec l'expérience et qu'une distance Fe–N_p de 2.04 Å constitue une limite supérieure. Dans cette sous-section, nous avons aussi montré qu'une distorsion au niveau du plan carré formé par les quatre N_p n'est pas concevable.

La région du préseuil est quant à elle beaucoup plus sensible aux différences structurales entre les modèles. Seuls les modèles 1A6G et MXAN, somme toute assez proches, conduisent à un accord satisfaisant avec l'expérience (avec un pic p₁ bien apparent). L'origine de la présence de ce pic a été attribuée au fait que le fer se situe dans le plan de l'hème. Des calculs complémentaires seraient toutefois nécessaires pour différencier le rôle (éventuel) joué par la distance Fe–N_p de celui joué par ΔZ_{Fe} .

Cas d'une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème

Pour σ_{\perp} , le bilan est plus difficile à établir dans la mesure où aucun des modèles considérés n'a conduit à un accord pleinement satisfaisant avec l'expérience. Il est clair que cet accord pourrait sembler meilleur si nous avions utilisé un paramètre d'élargissement qui ne varie pas linéairement avec l'énergie sur tout le domaine 7120-7220 eV⁵. Un paramètre d'élargissement qui varierait avec l'énergie de façon plus rapide dans la région des 25 premiers eV du spectre puis qui serait plus atténué ensuite rendrait mieux compte des pertes inélastiques que subit le photoélectron. Les modèles 1A6G et MXAN conduisent cependant à un accord correct avec l'expérience même si le pic B apparaît à trop haute énergie. Pour ces modèles, le désaccord qui subsiste concerne la position des pics B et C et les intensités relatives des pics P₁ et P₂ du préseuil.

Le seul paramètre qui semble jouer un rôle significatif sur les positions relatives des pics est l'angle β . Plus β est élevé, meilleur est l'écart entre les pics A et B. Cependant, des valeurs trop élevées de β augmentent de façon trop dramatique l'intensité de P₂. En effet, il ressort de notre étude que l'intensité de P₂ est sensible à β de façon quasi-exclusive. Au vu du préseuil, des valeurs de β supérieures à 15° semblent toutefois exclues.

Des variations des distances Fe–C, Fe–N_{his} et C–O induisent des modifications au niveau des intensités relatives des pics B et C. En particulier, les distances Fe–C = 1.77 Å et Fe–N_{his} = 2.13 ± 0.02 Å conduisent à un pic C beaucoup trop prononcé. L'optimisation structurale des modèles 1A6G et 1BZR ne permet pas de rendre compte correctement de ces distances. Des distances Fe–C de 1.82 Å et 2.06 Å (respectivement), comme dans le

⁵Cette remarque est aussi valide pour σ_{\parallel} .

4. Modélisation des spectres XANES

cas des modèles 1A6G et MXAN, semblent plus appropriées. Dans ces modèles la distance C–O est relativement courte (1.07-1.09 Å). Notre étude montre qu’une distance C–O plus élevée pourrait améliorer l’accord avec l’expérience.

L’intensité du pic P_1 du préseuil est conditionnée par les distances Fe-ligands axiaux mais aussi par la valeur de ΔZ_{Fe} . Pour autant les modèles 1A6G et MXAN (pour lesquels les valeurs de ces distances et de ΔZ_{Fe} semblent appropriées) ne donnent pas un préseuil calculé en bon accord avec l’expérience. P_1 s’y trouve sous-estimé par rapport à P_2 .

Enfin, la variation de la valeur de l’angle α (5-15°) n’a pas d’incidence notable sur le spectre XANES (σ_{\perp}).

En conclusion, contrairement à σ_{\parallel} , le spectre σ_{\perp} s’avère difficile à modéliser. Même si les modèles MXAN et 1A6G rendent compte relativement correctement des structures du seuil, des améliorations demeurent souhaitables. Il semble pertinent de refaire des simulations à partir de ces modèles en explorant l’effet d’une variation de la distance C–O. Notre approche théorique ne nous permet pas de proposer un modèle structural définitif. Ce n’est d’ailleurs pas son rôle vu qu’il ne s’agit pas de fit. En revanche, elle permet de déterminer la sensibilité des structures aux caractéristiques structurales de l’environnement du fer et de déterminer l’origine des structures du préseuil.

4.3. Résultats et discussion sur Mb*CO

4.3.1. Simulations à partir des modèles 1AJH et 1ABS issus de la PDB

La figure 4.31 montre une comparaison avec l’expérience, des spectres calculés pour les modèles 1ABS et 1AJH pour les deux polarisations.

Comme pour le cas de MbCO, les spectres σ_{\parallel} sont semblables, montrant que les deux modèles de Mb*CO ont une géométrie de l’hème très similaire. L’accord avec l’expérience est plutôt satisfaisant bien que le pic c_2 ne soit pas reproduit par les calculs.

Les spectres σ_{\perp} calculés (fig. 4.31 de droite) sont très différents et présentent un accord médiocre avec l’expérience. Les spectres calculés reproduisent relativement bien les pics A', A₁, C et D, mais ne rendent pas compte des structures situées dans la région 7125-7145 eV. C’est également cette région qui n’était pas bien reproduite par les calculs dans le cas de MbCO. Nos calculs ne rendent pas compte du dédoublement du pic du seuil observé lors de la photolyse de MbCO : le pic A₁ est assez bien reproduit, mais le pic A₂ ne l’est pas du tout.

Les spectres σ_{\perp} calculés ne sont pas très différents de ceux obtenus pour MbCO.

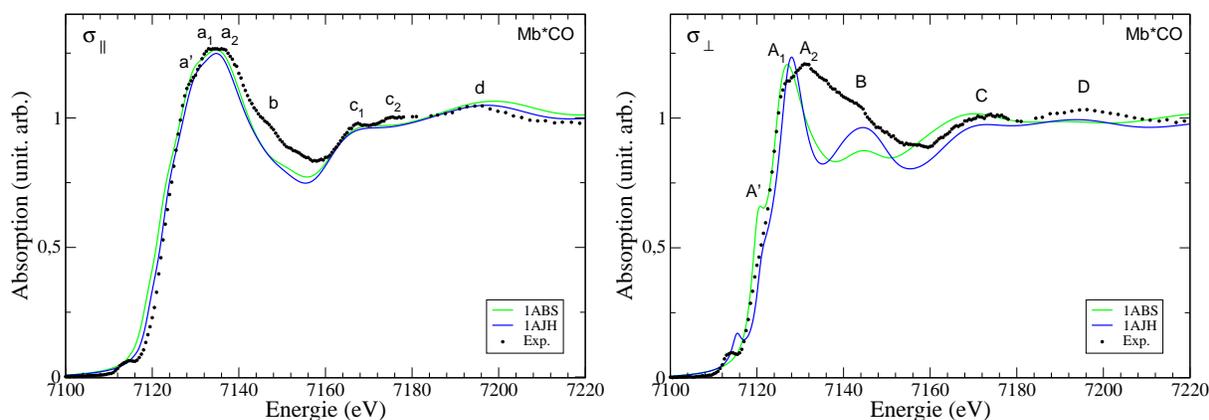


FIG. 4.31.: Comparaison entre les spectres polarisés expérimentaux et les spectres calculés à partir des structures PDB 1ABS et 1AJH. A gauche, pour une polarisation dans le plan de l'hème, à droite, pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

Les deux modèles conduisent toutefois à des variations d'intensités des pics A', B et C. Le modèle 1AJH avec un pic B plus prononcé, l'épaule A' moins marqué et des intensités équivalentes pour les pics C et D donne un accord relativement meilleur avec le spectre expérimental. On peut aussi remarquer pour le spectre σ_{\perp} une inversion de l'intensité des pics B et C entre les deux modèles 1ABS et 1AJH. Comme déjà constaté dans le cas de MbCO, ceci est dû à la différence de distance $\text{Fe}\cdots\text{C}$ et $\text{Fe}-N_{\text{his}}$. En effet, on a respectivement pour 1ABS et 1AJH les distances de 3.60 et 2.84 Å pour $\text{Fe}\cdots\text{C}$ et 2.25 et 2.11 Å pour $\text{Fe}-N_{\text{his}}$.

Les calculs menés ici sont polarisés en spin. Les spectres XANES (hormis le préseuil) ne sont pas sensibles à cette polarisation, les contributions spin down et spin up conduisant à des sections efficaces d'absorption superposables. Le préseuil, en revanche, est extrêmement sensible à cette polarisation. L'analyse de cette région demande donc plus de précautions que dans le cas de MbCO. Des calculs complémentaires restent à faire. Aussi, dans le cas de Mb*CO, MbNO et MbCN, nous ne présenterons pas la région du préseuil, comme nous l'avons fait pour MbCO.

4.3.2. Simulations à partir des modèles 1AJH et 1ABS relaxés et du modèle MXAN

Modèle 1AJH relaxé

La figure 4.32 montre les spectres XANES calculés à partir du modèle 1AJH avant et après relaxation, comparés avec celui de l'expérience.

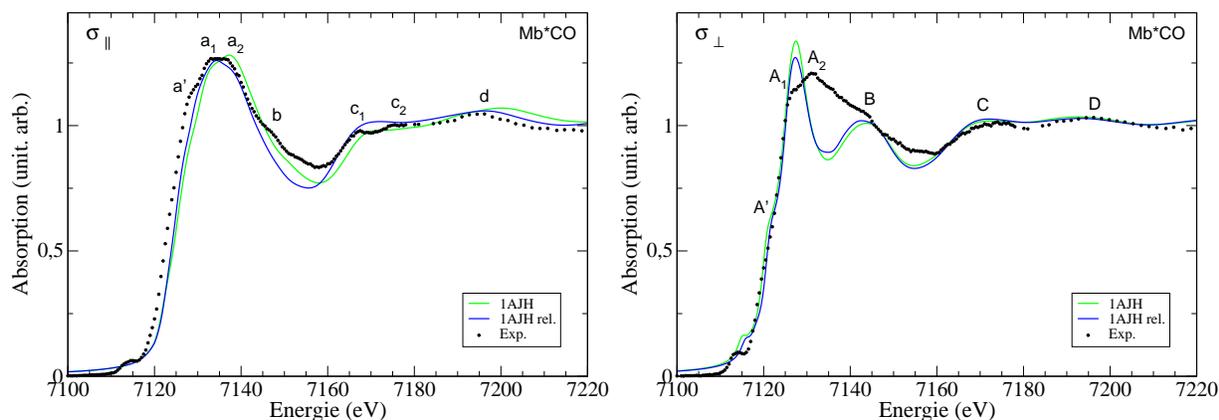


FIG. 4.32.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir du modèle 1AJH avant et après relaxation. A gauche pour une polarisation dans le plan de l'hème, à droite pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

Pour σ_{\parallel} , on constate que l'effet de la relaxation est identique à celui qu'on a observé pour MbCO : la relaxation produit une diminution de l'intensité des structures b et d alors qu'elle augmente celle de c, tout en contractant la position des structures c et d. Ces modifications, somme toute faibles, peuvent être associées à l'augmentation de la distance moyenne Fe- N_p (qui passe de 2.00 Å à 2.08 Å)⁶. La forme du double pic a_1 - a_2 est aussi affectée par la relaxation, ce qui n'était pas le cas pour le pic a de MbCO. Plus précisément, a_2 voit son intensité diminuer avec le modèle relaxé. En première analyse, on pourrait associer cet effet au fait que le fer est davantage décalé en dessous du plan de l'hème par la procédure d'optimisation structurale (au contraire, pour MbCO, le fer passait au-dessus du plan de l'hème). Cette hypothèse demanderait bien sûr à être vérifiée par des calculs de spectres XANES effectués à partir de clusters dans lesquels on ne ferait varier que le paramètre ΔZ_{Fe} . Par ailleurs, sachant pertinemment qu'un spectre XANES est sensible, certes, à l'organisation structurale locale, mais aussi à l'arrangement atomique

⁶Pour le modèle 1BZR de MbCO, cette augmentation n'était que de 0.04 Å et l'effet sur le spectre σ_{\parallel} était légèrement moins prononcé.

à plus grande distance que les premiers voisins, il serait donc intéressant de caractériser l'effet de la relaxation du cluster au-delà des premiers voisins. On notera également que la relaxation ne permet pas de reproduire le dédoublement de la structure c en deux autres c_1 et c_2 .

Pour le spectre σ_{\perp} , l'effet de la relaxation est également faible. Le rapport d'intensité entre A_1 et B est diminuée et se trouve en meilleur accord avec l'expérience. Cependant, A_2 n'est toujours pas reproduit, ce qui constitue le problème majeur de cette simulation. D'un point de vue structural, la relaxation a pour effet principal d'augmenter de 0.09 Å la distance Fe...C, ce qui se traduit par les variations spectrales précédemment citées.

Modèle 1ABS relaxé et modèle MXAN

Dans ce paragraphe, nous voulons examiner l'effet de la relaxation *ab initio* du modèle 1ABS sur les spectres. Nous nous intéressons également à un autre modèle de Mb*CO, qui correspond aux données structurales obtenues par la procédure de fit du spectre expérimental par le programme MXAN [61]. Nous appellerons indifféremment ce modèle `modèle MXAN` ou `1ABS_fit`. Pour construire ce dernier modèle, nous avons utilisé le modèle 1ABS relaxé en substituant l'environnement du fer par les paramètres de fit données notamment dans la dernière ligne du tableau 3.3.

La figure 4.33 montre les spectres de la structure 1ABS avant et après relaxation en comparaison avec le spectre du modèle MXAN et celui issu de l'expérience. À gauche, nous constatons qu'il y a peu de changement entre les spectres σ_{\parallel} du modèle 1ABS relaxée et non relaxée et donc que la relaxation induit peu d'effet sur la géométrie de l'hème. En effet, d'après le tableau 3.3, la distance Fe-N_p, initialement de 1.98 Å, est augmentée de 0.03 Å. On n'a donc pas d'augmentation de l'ordre de 0.08 Å comme pour le modèle 1AJH. Ceci corrobore donc la relation entre cette variation de distance et les modifications spectrales établie dans le paragraphe précédent. Le modèle MXAN donne un spectre identique à celui de la structure 1ABS relaxée, ce qui semble logique dans la mesure où la distance Fe-N_p est identique dans les deux modèles.

Pour le spectre σ_{\perp} , la relaxation permet de reproduire, avec un bon accord à l'expérience, l'intensité des pics A' et A₁, la position en énergie et l'intensité du pic C. En outre, le spectre du modèle 1ABS relaxé montre un pic B mieux reproduit que celui du modèle 1ABS, mais est encore faible. Le pic D est trop bas en énergie et surtout, le pic A₂ demeure absent. Le modèle de Mb*CO issu du fit MXAN s'avère être le modèle le plus satisfaisant pour reproduire le spectre expérimental. Son spectre calculé présente les mêmes améliorations que celles citées pour 1ABS relaxé, tout en positionnant mieux le pic

4. Modélisation des spectres XANES

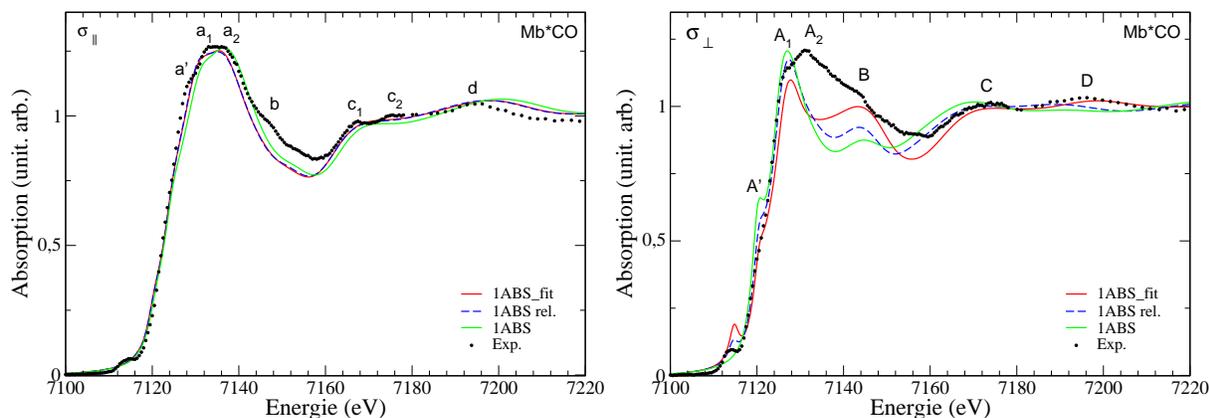


FIG. 4.33.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir du modèle 1ABS avant et après relaxation et à partir du modèle MXAN (1ABS_fit). A gauche pour une polarisation dans le plan de l'hème, à droite pour une polarisation perpendiculaire au plan de l'hème.

D et en augmentant le pic B. Toutefois, un désaccord persiste au niveau du pic A_2 qui n'est toujours pas reproduit. Les modèles 1ABS relaxé et 1ABS diffèrent essentiellement par la longueur Fe-N_{his} qui est de 2.16 Å et 2.25 Å respectivement et permet comme nous l'avons vu dans l'étude de l'effet de la distance Fe-N_{his} sur le spectre de MbCO, d'augmenter l'intensité du pic B. Cet effet est plus important avec le modèle du fit où la distance Fe-N_{his} est plus contractée (2.05 Å). En outre le modèle du fit avec un angle β environ deux fois plus petit que celui de 1ABS et 1ABS relaxé permet de d'augmenter le minimum local d'absorption entre les pics A_1 et B.

4.4. Résultats et discussion sur MbCN

4.4.1. Simulations à partir des modèles 1EBC et 2JHO issus de la PDB

Sur la figure 4.34, nous comparons les spectres calculés à partir des modèles 1EBC et 2JHO issus de la PDB aux spectres expérimentaux. Le spectre σ_{\parallel} des deux modèles de la PDB sont quasiment superposables, cela montre que les deux structures sont très similaires au niveau du macrocycle. Un épaulement additionnel apparaît dans la montée du seuil alors que celui n'existe pas sur le spectre expérimental. Cependant, l'accord avec le spectre expérimental est globalement satisfaisant.

Le spectres σ_{\perp} calculés (fig. 4.34 de droite) sont tout deux relativement en bon

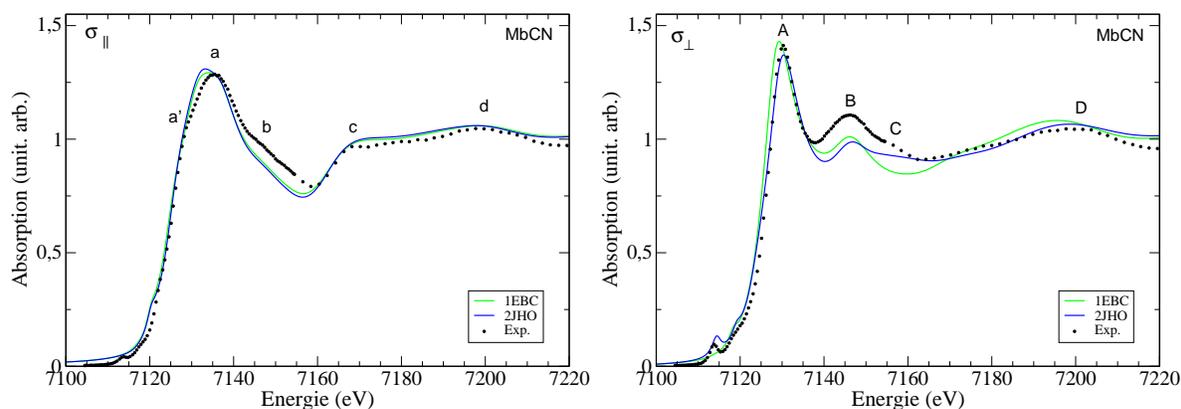


FIG. 4.34.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des structures 1EBC et 2JHO la PDB et celui de l'expérience.

accord avec l'expérience. Celui de 2JHO reproduit toutefois mieux le spectre expérimental, même si l'intensité du pic B est trop faible par rapport à celle du pic C. Contrairement aux modèles de MbCO et Mb*CO, les modèles de MbCN conduisent à un accord satisfaisant dans la région 7125-7170 eV. Les spectres calculés se différencient essentiellement par la présence de C et par la position relative en énergie entre le pic A et le pic B, permettant au modèle 2JHO de mieux rendre compte de la géométrie des ligands axiaux de l'hème. Les modèles 1EBC et 2JHO diffèrent essentiellement par la distance des ligands axiaux avec respectivement 2.02 Å et 2.08 Å pour Fe-N_{his}, 2.02 Å et 1.92 Å pour Fe-C. Le pic C de MbCN se trouve sensiblement à la même position en énergie que le pic C de MbCO. Dans le cas de MbCO, on avait vu que l'intensité du pic C augmentait avec la distance de la liaison Fe-N_{his} et, au contraire, diminuait quand la distance de la liaison Fe-C augmentait. On peut donc expliquer l'absence de pic C pour le spectre de 1EBC par une mauvaise estimation des distances des ligands axiaux.

4.4.2. Simulations à partir des modèles 1EBC et 2JHO relaxés.

Modèle 1EBC relaxé

La figure 4.35 montre les spectres de la structure 1EBC relaxée en comparaison avec le spectre de la structure PDB et celui issu de l'expérience. Les spectres $\sigma_{||}$ des structures 1EBC avant et après relaxation montrent peu de différences. Ces différences sont faibles et peu significatives. Elles montrent simplement que la relaxation n'a pas d'incidence notable sur la géométrie du macrocycle (l'effet était beaucoup plus marqué pour Mb*CO, et même

4. Modélisation des spectres XANES

MbCO). En effet, dans le tableau 3.4, on constate que la distance Fe-N_p n'augmente que de 0.01 Å lors de la procédure de minimisation d'énergie. Il serait toutefois intéressant de regarder plus en détail l'effet des variations de ΔZ_{Fe} , qui augmente de 0.05 Å lors de la relaxation, notamment dans la montée du seuil et dans le préseuil.

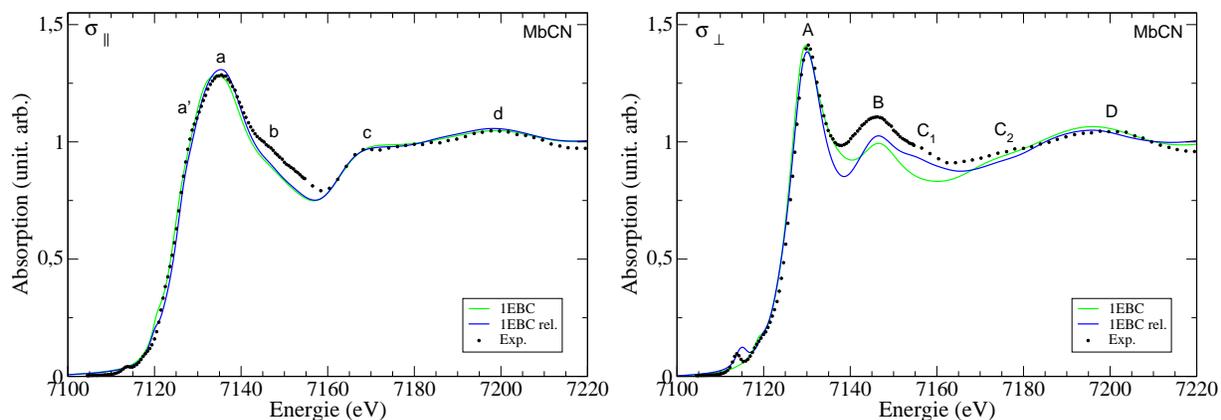


FIG. 4.35.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des modèles 1EBC relaxé et non relaxé.

Pour le spectre σ_{\perp} , la relaxation de la structure 1EBC améliore nettement l'accord avec le spectre expérimental en faisant apparaître le pic C, ici baptisé C₁. De plus, la structure appelée C₂, non mentionnée dans le paragraphe précédent, est aussi mieux reproduite avec le modèle relaxé. Comme nous l'avons déjà indiqué, cet effet est lié à la contraction de la liaison Fe-C et à l'élongation de la distance Fe-N_{his} dans une moindre mesure. En effet, la liaison Fe-C diminue (-0.11 Å) et la liaison Fe-N_{his} augmente (+0.07 Å) pendant l'optimisation de la structure de 1EBC pour finalement converger vers des valeurs identiques à ceux de 2JHO à 0.01 Å près. Il faudrait analyser l'influence de l'angle β , qui est diminué de 6.7° lors de la relaxation. Pour cela des calculs complémentaires sont nécessaires.

Modèle 2JHO relaxé

La figure 4.36 montre les spectres de la structure 2JHO relaxée en comparaison avec le spectre de la structure PDB et celui issu de l'expérience. Comme précédemment, les spectres calculés σ_{\parallel} sont peu différents illustrant de nouveau le fait que la structure de l'hème n'est pas modifiée par la procédure de minimisation d'énergie. Le fer se déplace cependant légèrement au dessus du plan de l'hème après relaxation, ce qui semble avoir pour effet d'améliorer l'accord au niveau de la forme des pics a et c. De nouveau, des calculs complémentaires en faisant uniquement varier ΔZ_{Fe} permettraient de clarifier ces effets.

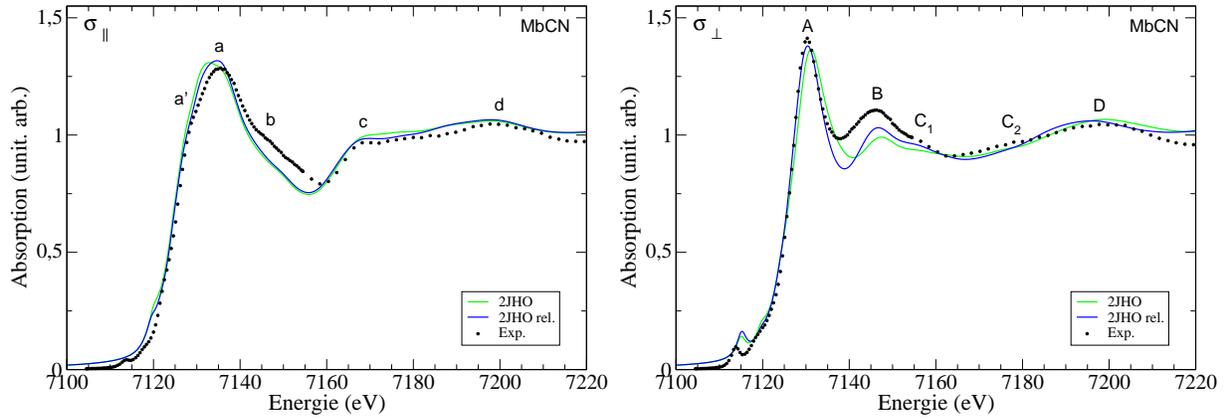


FIG. 4.36.: Comparaison entre les spectres expérimentaux et les spectres calculés à partir des modèles 2JHO relaxé et non relaxé.

Pour le spectre σ_{\perp} , on remarque pour le modèle 2JHO relaxé une augmentation de l'intensité des pics B et C_1 et un déplacement vers les basses énergies de toutes les structures. Ces modifications conduisent à un accord avec l'expérience très satisfaisant (si l'on garde en mémoire que le paramètre d'élargissement utilisé n'est pas optimal, notamment dans la région où l'écart entre spectre théorique et spectre expérimental est le plus fort). On observe sur les deux dernières lignes du tableau 3.4 que l'élongation du ligand CN^- (+0.06 Å) correspond à la variation de distance la plus importante lors de la relaxation de 2JHO. De plus nous avons vu dans le cas de MbCO (section 4.2.8) que l'influence de l'élongation du ligand CO se traduit par un décalage vers les basses énergies des structures de la région du seuil et d'une inversion de l'intensité des pics B et C. On en déduit donc que l'élongation du ligand CN^- est à l'origine du décalage décrit et de l'augmentation de l'intensité du pic B (le pic C de MbCO et le pic C_1 de MbCN ne sont pas à la même position en énergie).

4.5. Résultats et discussion sur MbNO

La figure 4.37 montre les spectres des structures 1HJT et 1HJT relaxé avec le spectre expérimental de MbNO. Pour le spectre σ_{\parallel} , on observe plus de différences que précédemment entre les spectres des structures relaxée et non relaxée. Les différences majeures sont l'intensité du pic a et la forme du spectre entre les pic c et d. On peut remarquer sur le tableau 3.5 une variation relativement importante de la distance moyenne $\text{Fe}-\text{N}_p$. En effet, avec une distance $\langle \text{Fe}-\text{N}_p \rangle$ initiale de 2.08 Å la relaxation de 1HJT donne 2.05 Å on

4. Modélisation des spectres XANES

peut aussi invoquer la variation de 68.3° à 42.1° de l'angle β pour expliquer le déplacement du pic a, ainsi que l'enfoncement du fer sous le plan de l'hème. Des calculs supplémentaires sur des structures tests doivent être entrepris pour évaluer les effets de β et de ΔZ_{Fe} sur le spectre σ_{\parallel} . Par contre, les spectres des modèles 1HJT relaxé et non relaxé sont similaires en cela qu'ils reproduisent assez bien l'épaulement a' ainsi que le pic d. Au vu des intensités relatives, on peut dire que le spectre du modèle 1HJT relaxé réalise un meilleur avec le spectre expérimental que le modèle avant relaxation, ce qui signifie que la distance de 2.05 \AA pour $\langle \text{Fe-N}_p \rangle$ est plus réaliste que celle de 2.08 \AA .

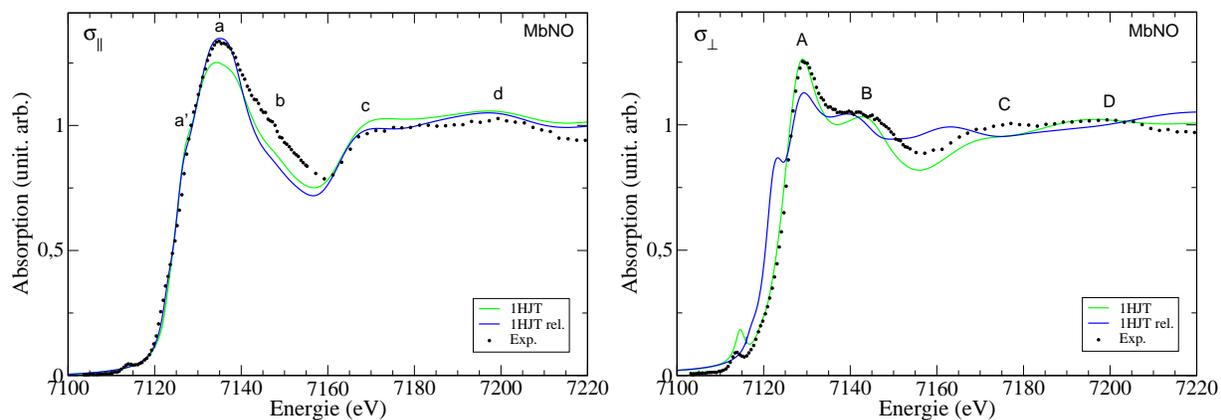


FIG. 4.37.: Comparaison entre les spectres expérimentaux de MbNO et les spectres calculés à partir du modèle 1HJT avant et après relaxation.

Pour σ_{\perp} , on remarque que la relaxation du modèle 1HJT donne lieu à un changement radical du spectre. Le spectre de 1HJT est très différent de celui de 1HJT relaxé, par l'intensité du pic A, la position du pic B et par la forme du spectre au-delà de 7148 eV . De plus un pic supplémentaires apparaît dans la montée du seuil, en total désaccord avec l'expérience. On peut se rendre compte (tab. 3.5) que l'angle β diminue brutalement de 68.3° à 42.1° avec la relaxation et que ce spectre est similaire – si on fait abstraction du pic *parasite* dans la montée du seuil – au spectre calculé pour MbCO avec une valeur de 30° pour β , avec notamment, la présence d'un pic relativement large à 7163 eV et d'une absorption faiblement croissante après 7175 eV . Nous pouvons affirmer, par rapport aux remarques précédentes et aux comparaisons entre les spectres que la relaxation de 1HJT n'aboutit pas à un angle correct pour MbNO. Une possibilité pour contourner ce problème dans la modélisation consisterait à contraindre durant la relaxation la chaîne Fe–N–O à la valeur initiale du modèle 1HJT. Contrairement à σ_{\parallel} , le modèle issu de la PDB réalise un accord tout à fait acceptable avec l'expérience, validant dans une certaine mesure les

distances Fe– N_{his} , Fe–N et N–O, ainsi que l’angle β donnés à la première ligne du tableau 3.5.

4.5.1. Conclusion

Dans cette première partie du manuscrit, nous nous sommes intéressés à l’étude de la géométrie du fer dans MbCO, Mb*CO, MbNO et MbCN par calculs de spectres XANES au seuil K du fer. Pour MbCO nous avons regardé l’influence de la position des ligands sur le spectre pour comprendre l’origine des structures du spectre. Nous avons également fait une analyse fine du préseuil, ce qui constitue un des apports majeurs de notre méthode par rapport aux autres techniques de calcul. Pour le calcul des spectres polarisés dans le plan de l’hème, σ_{\parallel} , l’accord avec l’expérience est toujours bon, sauf pour les structures MbCN où un épaulement apparaît dans la montée du seuil. Nous observons pour différents modèles d’un même dérivé MbXY que la structure géométrique de l’hème varie très peu. De par sa nature énergétiquement très stable, l’hème possède une structure très bien définie.

Pour les calculs polarisés perpendiculairement au plan de l’hème, σ_{\perp} , étant donné que les ligands axiaux possèdent des degrés de libertés plus grands que ceux de l’hème, la modélisation des spectres est plus difficile et nécessite une compréhension très détaillée de l’interaction entre le ligand diatomique XY et l’hème. Pour les cinq modèles de MbCO étudiés, tantôt l’accord du spectre σ_{\perp} calculé, reproduit bien la région du préseuil du spectre expérimental, tantôt cet accord est bon pour la région du seuil. Aucun des modèles que nous avons étudié, n’a pu fournir un bon accord sur toute la gamme d’énergie du spectre.

4. *Modélisation des spectres XANES*

Deuxième partie .

**Analyse du spectre XANES de la
méthylcobaloxime, un modèle pour la
vitamine B₁₂**

Introduction

La deuxième partie de cette thèse concerne le complexe méthylcobaloxime, un modèle pour la vitamine B₁₂. Cette partie s’inspire d’une étude de spectres XANES menée au seuil *K* du cobalt dans des cobaloximes et dans d’autres complexes modèles de la vitamine B₁₂ (Briois *et al.* 1989 [17]). Il ressort en particulier de ces travaux la possibilité d’établir une analyse parallèle des structures des spectres XANES de la vitamine B₁₂ et de ceux de modèles de structures plus simples, les cobaloximes.

La vitamine B₁₂ est indispensable au maintien de l’intégrité du système nerveux. Plusieurs formes existent appartenant toutes à la famille des cobalamines : cyanocobalamine, hydroxocobalamine, méthylcobalamine et adénosyl-cobalamine.

Dans cette terminologie, le préfixe correspond au nom du ligand qui se trouve en sixième position de coordinence du métal, ici Co³⁺. Les cobalamines ont une structure chimique proche de l’hème, où l’atome central de fer est remplacé par un atome de cobalt, d’où le nom de cobalamines. Un déficit en vitamine B₁₂ peut entraîner une forme d’anémie, appelée anémie de Biermer (ou anémie pernicieuse), qui se manifeste entre autres par l’augmentation de la taille des globules rouges (macrocytose). En effet, la vitamine B₁₂ transforme une forme de l’acide folique en une autre, qui est nécessaire à la production d’ADN et d’ARN. S’il y a une carence en vitamine B₁₂, l’acide folique ne pourra pas être transformé et on observera un déficit d’ADN synthétisé, dont le rôle est crucial dans la production des globules rouges. Ces derniers deviendront alors anormalement gros.

Dans le chapitre 5, nous présentons la structure des cobalamines, puis nous expliquons en quoi le complexe méthylcobaloxime est un “bon” modèle biochimique pour l’étude de la méthylcobalamine et donnons une illustration de sa structure. Dans le chapitre 6, nous procédons au calcul d’optimisation par minimisation de l’énergie totale de la structure de la méthylcobaloxime résolue par spectroscopie XRD. Enfin le chapitre 7, qui constitue le cœur de cette partie, est consacré à l’interprétation du spectre XANES (préseuil inclus) enregistré au seuil *K* du cobalt dans la méthylcobaloxime. Tout d’abord, nous faisons un “état des lieux” sur l’interprétation des spectres des cobalamines et des cobaloximes au seuil *K* du cobalt. Ensuite nous donnons quelques détails sur les calculs que nous avons menés, à savoir des calculs de sections efficaces d’absorption, effectués dans les approximations

dipolaire et quadripolaire électriques, complétés par des calculs de densités d'états locales et partielles. Enfin, nous montrons et discutons les résultats que nous avons obtenus.

5. Structure des cobalamines et structure des cobaloximes

5.1. Structure des cobalamines

Les cobalamines représentent une classe de molécules biologiques, qui diffèrent par la nature du ligand X en sixième position du site de fixation, le cobalt trivalent. Sur la figure 5.1 nous donnons une illustration de la structure de la méthylcobalamine (MeCbl) où, le ligand X est un méthyle (CH_3 ou Me). Le cation cobalt(III) est au centre d'un macrocycle

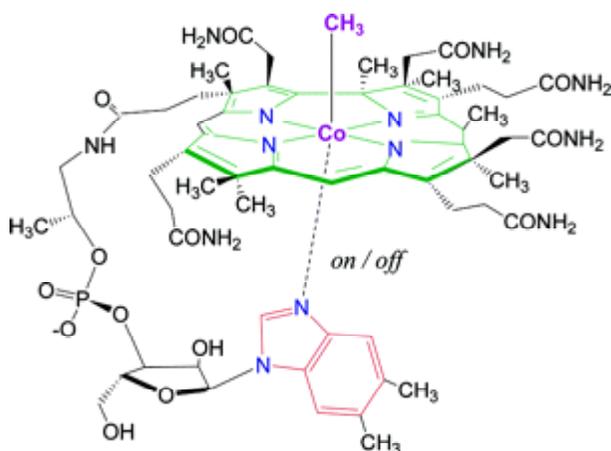


FIG. 5.1.: Structure de la méthylcobalamine (MeCbl). Quatre atomes d'azotes du macrocycle corrine (avec substituants latéraux) occupent les 1^{ères} positions de coordinence de Co, de part et d'autre du macrocycle, un groupement benzimidazole en 5^{ème} position et un méthyle (CH_3) en 6^{ème} position. Figure extraite de [75].

corrine. Ce macrocycle est formée de quatre cycles pyrroles liés aux quatre premières positions de coordinence de Co^{3+} par l'intermédiaire d'un atome d'azote. La corrine diffère de la porphyrine par l'assemblage du noyau tétrapyrrolique : un des quatre ponts inter-pyrrole,

5. Structure des cobalamines et structure des cobaloximes

le méthényle (-CH=) est absent et par conséquent la jonction d'une paire de pyrrole est directe. Cette asymétrie permet une plus grande flexibilité au macrocycle et engendre la diminution de son aromaticité (i.e. délocalisation d'électrons) comparé à la porphyrine. Le macrocycle possède des substituants latéraux dont une boucle nucléotidique faisant un lien biologiquement contrôlé (*on/off*, i.e. état de liaison *lié/brisé*) avec le ligand axial en cinquième position du cation, le benzimidazole. La sixième position, occupée dans le cas présent par CH₃, peut tout aussi bien être occupée par d'autres ligands. A cet égard, les cobalamines peuvent être considérées comme des "transporteurs réversibles de radicaux libres" analogue au rôle de "transporteurs réversibles de dioxygène" de la myoglobine et de l'hémoglobine [42]. La présence des cobalamines dans notre organisme est vitale. Cependant, le corps humain ne sait pas fabriquer cette molécule, la dose salvatrice se fait donc par un apport extérieur.

5.2. La cobaloxime, le modèle biochimique et sa structure

Les cobaloximes sont des molécules de synthèse, conçues de manière à "imiter" le caractère à la fois covalent et labile de la liaison organométallique Co-C dans leurs analogues les cobalamines. L'intérêt des cobaloximes en tant que modèle, réside dans la simplicité de leurs structures ce qui implique une facilité pour l'étape de la synthèse mais surtout une précision accrue pour l'étape de la caractérisation de la géométrie. Nous montrons sur la figure 5.2 la structure de la méthylcobaloxime lié à un système d'axe adapté à sa symétrie approximative C_{2v} . Les ligands de l'ion Co³⁺ dans la cobaloxime sont identiques à ceux de la cobalamine, mais les sous-structures auxquelles appartiennent ces ligands diffèrent. Les quatre premières positions de coordinence du cobalt sont occupées par des atomes d'azote (notés N_{dmg}), ils appartiennent au macrocycle bis-diméthylglyoximate, noté (DH)₂ (voir figure 5.3). Ce macrocycle est constitué de deux entités, images l'une de l'autre par inversion sur le site du cobalt, l'ion diméthylglyoxime (noté DH⁻). Les traits en pointillé représentent les liaisons hydrogènes, elles assurent la cohésion du macrocycle, préalablement formé pour accueillir l'ion cobalt. De part et d'autre de ce plan, se trouvent respectivement en cinquième et sixième position du cobalt un atome d'azote du cycle pyridine (NC₅H₅) noté py et un radical méthyle (CH₃). Les sous-structures que nous venons d'énoncer expliquent la formule pyCo(DH)₂CH₃ utilisée pour désigner la molécule.

Deux structures cristallographiques du complexe pyCo(DH)₂CH₃ ont été résolues par des mesures XRD, dont l'une d'elles, celle de Bigotto *et al.* [12], nous servira de struc-

5.2. La cobaloxime, le modèle biochimique et sa structure

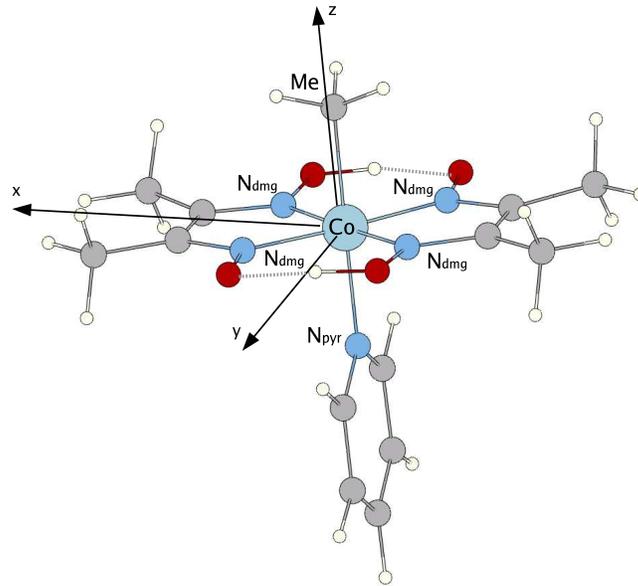


FIG. 5.2.: Structure de la méthylcobaloxime ($\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$). Les quatre atomes d'azotes notés N_{dmg} du macrocycle occupent les 1^{ères} positions de coordination de l'ion Co^{3+} . De part et d'autre du macrocycle, se trouvent un groupement pyridine et un méthyle respectivement en 5^{ème} et 6^{ème} position de coordination de Co^{3+} .

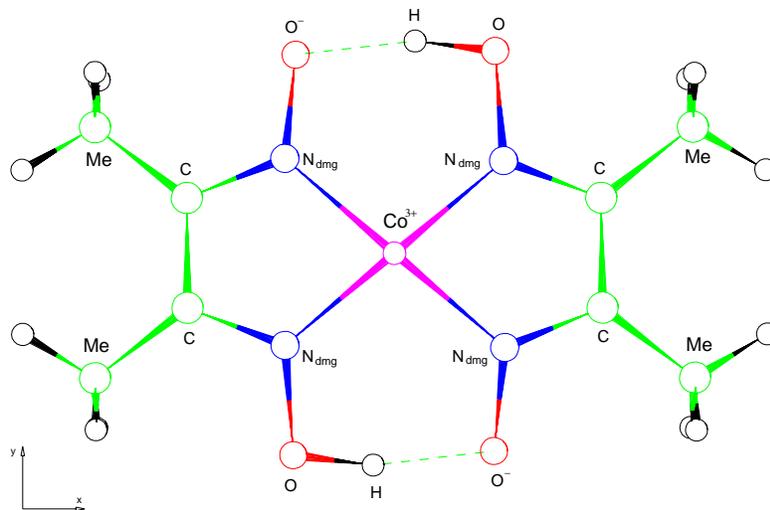


FIG. 5.3.: Macrocycle $(\text{DH})_2$ (bis-diméthylglyoximato) avec le cation trivalent Co au centre. Les traits en pointillé correspondent à des liaisons hydrogènes fortes assurant la cohésion du macrocycle en l'absence du cation central.

5. Structure des cobalamines et structure des cobaloximes

ture initiale pour l'optimisation de la géométrie (voir chapitre suivant).¹ Le complexe $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ cristallise dans une maille triclinique (groupe d'espace $P\bar{1}$). On notera que sans son ligand méthyle, le complexe $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ possède (approximativement) la symétrie $2mm$ (ou C_{2v}). La maille unitaire contient deux cobaloximes ($Z=2$), les paramètres de maille sont reportés dans le tableau 5.1.

TAB. 5.1.: Paramètres de maille de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{Me}$ [12].

Réseau	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
triclinique	14.38	10.02	9.41	56.3	127.3	106.6

Comme pour l'étude de l'environnement du fer dans MbXY (partie I), nous définirons l'environnement du cobalt par ses distances avec ses premiers voisins, sa position par rapport au plan du macrocycle et un angle caractéristique de l'orientation de Co-CH_3 par rapport au plan du macrocycle également. Ces données obtenues à partir de la structure déterminée par Bigotto *et al.* [12] sont reportées dans le tableau 5.2. Les distances interatomiques du cobalt avec ses premiers voisins sont Co-N_{dmg} , Co-N_{pyr} et Co-CH_3 , ΔZ_{Co} désigne la distance hors plan de l'atome de cobalt par rapport au plan moyen formé par les quatre atomes d'azote du macrocycle et α correspond à l'angle de tilt de la liaison Co-CH_3 par rapport à la normale (axe z) du plan moyen du macrocycle.

TAB. 5.2.: Environnement du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{Me}$, d'après [12]. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Co-N_{dmg} (OH/O ⁻)	Co-N_{pyr}	Co-CH_3	ΔZ_{Co}	α
1.882 / 1.911	2.068	1.998	-0.05	1.0

Les cobaloximes possèdent deux types de liaisons Co-N_{dmg} : selon que N_{dmg} est lié à un atome d'oxygène protoné (OH) ou pas (O⁻), l'atome N_{dmg} fourni un ou deux électrons pour former une liaison avec le cobalt. Cela se traduit par une élongation de 0.03 Å environ des liaisons $\text{Co-N}(\text{O}^-)$ par rapport aux liaisons $\text{Co-N}(\text{OH})$. C'est ce qu'on remarque dans le tableau 5.2 où est indiqué la moyenne de deux liaisons Co-N_{dmg} d'un même type.

¹Les mesures XRD sur des molécules relativement petites comme c'est le cas ici permettent de déduire une géométrie d'un ordre de grandeur plus précis que celui de molécules de grandes tailles, comme les protéines.

6. Optimisation de la structure XRD de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ par la méthode Car-Parrinello

6.1. Mise en œuvre du calcul

Nous partons de la structure de Bigotto *et al.* [12] décrite au chapitre précédent. Nous ne considérons pas la maille triclinique qui contient deux molécules de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$, mais nous isolons une seule molécule dans une cellule cubique de dimension 13.8 Å de côté. Nous procédons à une optimisation géométrique à 0 K en phase gazeuse. Nous n'avons pas de problème de charge, comme ce fut le cas pour MbXY (tautomérisation), le complexe est électriquement neutre, la charge du cobalt (Co^{3+}) étant équilibrée par celle du ligand méthyle (CH_3^-) et celle du macrocycle bis-diméthylglyoximato ($\text{DH}^- \times 2$). Nous utilisons à nouveau la méthode de recuit simulé pour optimiser les positions atomiques du complexe à l'aide du code en ondes planes CPMD [2].

Nous avons utilisé des pseudopotentiels de type Troullier-Martins et la fonctionnelle d'échange et corrélation BLYP. Les paramètres de génération sont pour N, C, O et H les mêmes que ceux utilisés pour MbXY. Le pseudopotentiel du cobalt a été construit avec les paramètres donnés dans le tableau 6.1. Le cut-off de la base d'ondes planes est 120 Ry.

6.2. Résultats

Dans le tableau 6.2, nous comparons l'environnement du cobalt de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ avant et après relaxation.

Nous constatons que la procédure d'optimisation structurale conserve l'écart de distance entre les deux types de liaisons Co-N_{dmg} . Les liaisons Co-N_{dmg} se contractent de 0.04 Å environ pour atteindre des distances moyennes de 1.845 / 1.871 Å, ce qui est relativement court. La liaison Co-N_{pyr} est initialement de 2.068 Å et est beaucoup plus

6. Optimisation de la structure XRD de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ par la méthode Car-Parrinello

TAB. 6.1.: Paramètres de génération des pseudopotentiels. Entre parenthèses figurent les rayons de coupure exprimés en Å.

Atome	Co ³⁺	O	N	C
Conf. élec.	4s ² 3d ⁷	2s ² 2p ⁴	2s ² 2p ³	2s ² 2p ²
Etats de valence	4s (1.21) 3d (0.95)	2s (0.58) 2p (0.58)	2s (0.59) 2p (0.59)	2s (0.61) 2p (0.79)
Potentiel local	d	p	p	p

TAB. 6.2.: Environnement du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{Me}$ avant et après relaxation. Les distances sont exprimées en Å et les angles sont en degrés.

Méthode	Co-N _{dmg} (OH/O ⁻)	Co-N _{pyr}	Co-CH ₃	ΔZ_{Co}	α
mesures XRD [12]	1.882 / 1.911	2.068	1.998	-0.05	1.0
recuit simulé	1.845 / 1.871	1.993	2.043	-0.035	1.7

courte après la relaxation avec une valeur de 1.993 Å. La liaison Co-CH₃ est quant à elle allongée de 0.045 Å et sa valeur finale est de 2.043 Å. Avec la relaxation, l'ion cobalt se rapproche du plan moyen des atomes N_{dmg} et l'angle α augmente très légèrement.

Parmi les variations que nous n'évoquons pas dans le tableau 6.2, il y a la position des atomes situés au-delà de la sphère de coordination du cobalt. Nous mettons en évidence sur la figure 6.1 les variations géométriques de la relaxation par superposition de la structure XRD initiale (en noir) avec la structure relaxée (en couleur). D'une manière générale, la relaxation a tendance à symétriser la molécule. Nous remarquons aussi que les atomes les plus sensibles à la relaxation sont les atomes d'hydrogène. En particulier, après relaxation, la position des atomes d'hydrogènes impliqués dans les deux liaisons intramoléculaires semble mieux déterminée : les atomes d'hydrogène n'ont plus de composante hors plan du macrocycle.

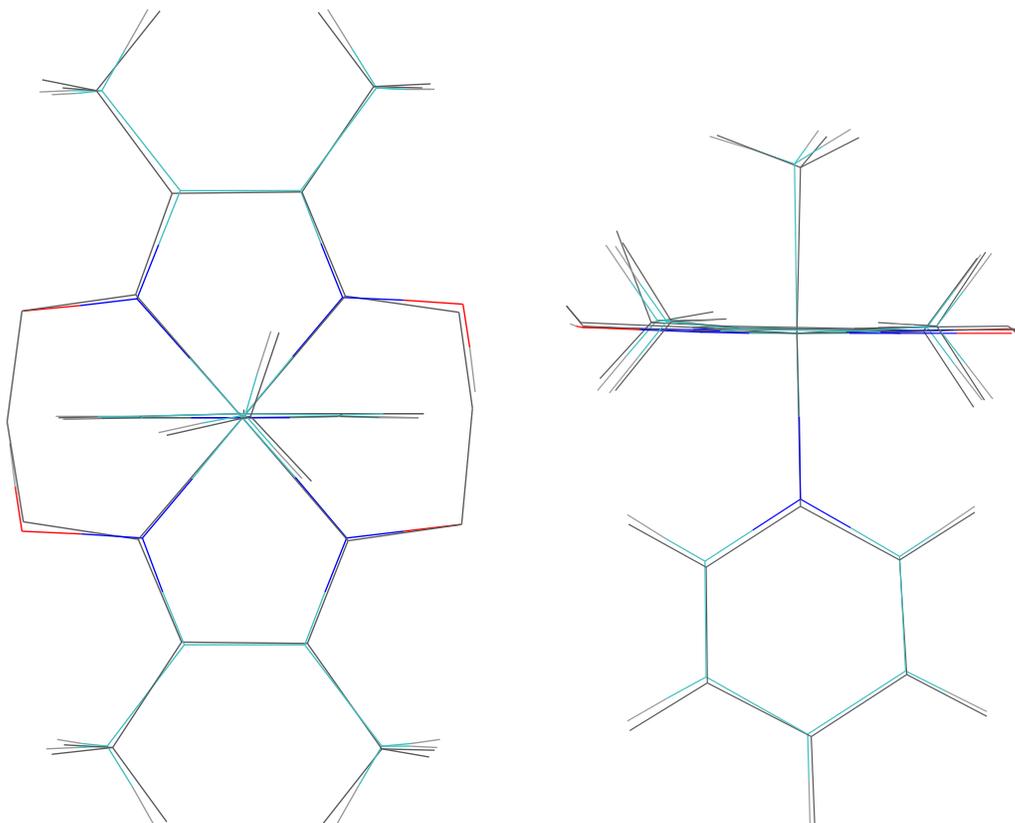


FIG. 6.1.: Superposition de la structure initiale de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ (en noir) avec la structure finale (en couleur). A gauche, superposition vue dans le plan du macrocycle. A droite, superposition vue dans le plan de la pyridine.

6. *Optimisation de la structure XRD de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ par la méthode Car-Parrinello*

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

Dans ce chapitre nous présentons une analyse du spectre XANES expérimental de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ par des simulations *ab-initio*. En complément des simulations, nous calculons les densités d'états électroniques locales et partielles, ce qui va nous permettre de mettre en évidence l'hybridation des états électronique de Co avec ceux de ses ligands. Nous testons différentes géométries du complexe pour évaluer la sensibilité de la spectroscopie XANES. Plusieurs hypothèses sont possibles pour expliquer le changement de géométrie menant à la rupture de la liaison Co–C. Parmi celles-ci, les calculs que nous menons sont en mesure d'apporter une clarification.

Avant d'aborder les simulations, nous effectuons une présentation phénoménologique du spectre expérimental, en nous basant sur la littérature. Ceci nous amène à évoquer les spectres XANES d'autres complexes moléculaires du cobalt(III) bas spin en site octaédrique faiblement distordu, qui possèdent des structures similaires. Il s'agit des spectres de l'acétylacétonate [53], du complexe tri-cystéinato [16] ou celui de l'hexaamine [65], un complexe que nous pouvons qualifier de prototype pour cette classe.

7.1. Description phénoménologique du spectre expérimental

Le spectre d'absorption des rayons X que nous étudions a été enregistré par Valérie Briois et collaborateurs au LURE (Laboratoire pour l'Utilisation du Rayonnement Electromagnétique) à Orsay sur un échantillon polycristallin (poudre). La figure 7.1 montre le spectre enregistré au seuil K du cobalt sur une poudre du cristal moléculaire $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$. Nous reprenons la notation de la réf. [17] pour désigner les structures du seuil. Nous reportons dans le tableau 7.1 l'intensité, la position et l'écart relatif (par rapport au pic du préseuil) en énergie des différentes structures de ce spectre.

Le spectre de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ que nous présentons est compris dans une région en

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

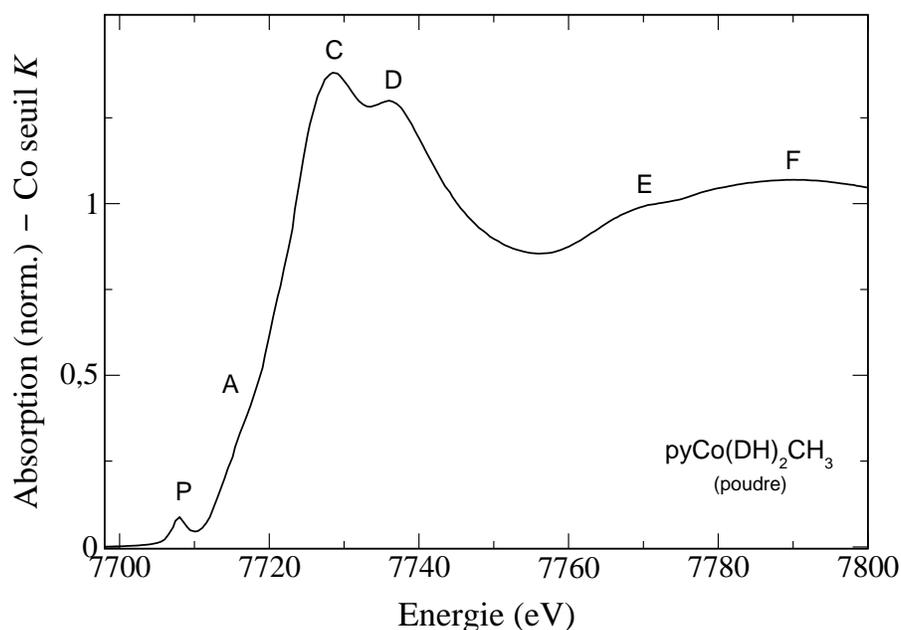


FIG. 7.1.: Spectre XANES expérimental de poudre (isotrope) du complexe $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$, au seuil K du Cobalt.

TAB. 7.1.: Position en énergie, position relative et intensité normalisée des structures du spectre expérimental de la figure 7.1.

Structure	P	A	C	D	E	F
Position (eV)	7708.0	$\simeq 7716.0$	7728.5	7736.0	7770.5	$\simeq 7790.1$
Position relative (eV)	0.0	8.0	20.5	28.0	62.5	82.1
Intensité normalisée	0.09	0.33	1.38	1.30	1.00	1.07

énergie entre 7769 eV et 7800 eV. Le préseuil comporte un seul pic bien résolu notée P à 7708 eV. Ce pic est relativement intense (6.5% du maximum d'absorption) pour un complexe où l'élément absorbeur se trouve en site octaédrique faiblement distordu. Dans la montée du seuil nous observons une large structure notée A située approximativement à 8 eV (à 1 eV près) après le pic du préseuil. Elle est délimitée plus clairement par un point d'inflexion à 7719 eV dans la montée du seuil. Le seuil se compose de deux structures, le pic C (7728.5 eV) et le pic D (7736.0 eV) séparées de 7.5 eV. Viennent ensuite sur le spectre, les structures de la région EXAFS. Il s'agit des structures notées E et F très faiblement modulées à 7770.5 eV et 7790.1 eV respectivement. L'absorption est normalisée par rapport au point

d'inflexion qui suit la première oscillation EXAFS, ce qui correspond dans le cas présent à l'intensité du pic E. On remarquera qu'il n'y a pas de structure appelée B dans le spectre de pyCo(DH)₂CH₃. Dans le complexe pyCo(DH)₂C₁₀H₁₅, un pic noté B est présent et se situe à une énergie comprise entre celle du pic A et celle du pic C.

Nous présentons dans la suite une revue de ce qui a été fait pour interpréter les spectres XANES des cobaloximes ainsi que des cobalamines.

La région du préseuil est spécifique à ces composés et à la nature du ligand X, tandis que la région du seuil ressemble à celle d'autres complexes moléculaires du cobalt(III) bas spin en site octaédrique faiblement distordu, comme l'acétyl-acétonate [53], l'hexamine [65] ou le complexe tri-cystéinato [16].

Le seuil de pyCo(DH)₂CH₃ présente deux pics notés C et D, séparés par 7.5 eV. Briois *et al.* [17] mettent en évidence une diminution de l'intensité du pic C entre le spectre XANES de la coenzyme B₁₂, où le ligand X est un adénosyle ($I_C = 1.02$), et celui de la vitamine B₁₂ où $X = CN^-$ ($I_C = 1.37$). Cette diminution d'intensité se trouve ainsi corrélée à des changements de structure essentiellement axiaux (axe z) : le changement de ligand s'accompagne d'une élévation de la distance Co-N_{bzm} (bzm, i.e. benzimidazole) pour la vitamine B₁₂ par rapport à la coenzyme (+0.16 Å). Cela permet aux auteurs d'attribuer le pic C à une transition polarisée suivant l'axe perpendiculaire au macrocycle corrine, $1s \rightarrow 4p_z$. Le pic D, dont l'intensité ne varie pas avec le changement de ligand axial, est attribué à une transition $1s \rightarrow 4p_{x,y}$, polarisée dans le plan du macrocycle (qui est peu différent dans les deux complexes). Cette hypothèse est confortée par une analogie avec la levée de dégénérescence des niveaux de symétrie t_{1u} correspondant aux niveaux $4p$ d'un ion métallique en site octaédrique. Lors de l'élévation d'une liaison orientée suivant l'axe z par exemple, le niveau d'énergie $4p_z$ de l'ion est stabilisé par rapport aux niveaux $4p_x$ et $4p_y$. D'autres travaux [16, 65] montrent que l'interprétation des pics C et D est plus problématique qu'il n'y paraît. En effet, le spectre XANES au seuil K de Co³⁺ dans l'hexamine, [Co(III)(NH₃)₆]Cl₃ en phase liquide ou solide, exhibe lui aussi ces deux pics alors que des mesures EXAFS [31] montrent que la distorsion tétragonale du site octaédrique de Co est négligeable. Dans une étude récente, Bresson *et al.* [16] proposent une interprétation de l'origine des pics C et D en termes d'excitations multicanaux. Dans cette interprétation le pic D correspond à une transition $1s \rightarrow 4p$, le pic C correspond à une transition biélectronique, avec une première transition $1s \rightarrow 4p$ suivie d'une transition dite "shake-down" où la configuration de l'état final totalement relaxé est $1s^1 3d^{6+1} \underline{L} 4p^1$ (\underline{L} symbolise une lacune électronique sur le ligand donneur et correspond à un transfert de charge depuis l'orbitale np du ligand vers l'orbitale nd du métal).

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $pyCo(DH)_2CH_3$

Enfin, les pics **E** et **F** sont interprétés comme les premières oscillations **EXAFS** [16]. Ce sont des résonances de forme relatives à la distance moyenne de la sphère de coordination de Co, modulées par les fonctions de phases et d'amplitudes des atomes rétrodiffuseurs.

Le pic du préseuil **P** est présent sur les spectres des cobaloximes et des cobalamines alkylées. Il est attribué à une transition quadripolaire électrique $1s \rightarrow 3d$ [17, 27, 39, 65]. D'autres complexes hexacoordinés du cobalt trivalent (ceux déjà pré-cités) possèdent également ce préseuil. L'intensité de ce pic est remarquablement intense pour des composés formellement proches d'une symétrie octaédrique lorsque le ligand X est un alkyle (C_nH_{2n+1}). En effet, un calcul de type Hückel généralisé [81, 74] montre que la dissymétrie électronique introduite par une liaison axiale covalente Co–C, en position *trans* d'une liaison Co–O ou Co–N, se traduit par une participation non négligeable de l'orbitale atomique (OA) $4p$ de Co dans l'orbitale moléculaire (OM) $3d$, d'où l'augmentation remarquable de l'intensité du pic **P** du préseuil par la contribution supplémentaire d'une transition dipolaire électrique.

Dans la montée du seuil, nous avons le pic noté **A**, l'assignation d'une transition pour ce pic, reste sujet à controverse [65]. En effet, les interprétations concernant ce pic divergent. Il pourrait s'agir d'une transition : $1s \rightarrow 4s$ [9], $1s \rightarrow 3d-\pi^*(X)$ [17], lorsque le ligand X possède des OM π et π^* (comme dans les complexes cyano et azido), ou encore comme une transition biélectronique $1s \rightarrow 4p_z + \text{shake-down}$ [55, 41, 83], où la transition vers le niveau $4p$ amorce une seconde transition à plus basse énergie dite "shake-down". Dans les complexes moléculaires, celle-ci peut correspondre au transfert d'un électron d'une orbitale np du ligand vers l'orbitale nd du métal (transfert de charge ligand-métal) possible par diminution de l'interaction coulombienne des niveaux d'énergie correspondants lors de la création du trou profond.

L'ensemble des interprétations des structures du spectre **XANES** avancées par les différents auteurs sont dans une très large mesure phénoménologiques et mènent à des contradictions. Pour résoudre certaines questions restées en suspens sur l'origine de ces structures nous présentons dans la suite des calculs de spectres **XANES** que nous rappelons être basés sur une approche monoélectronique.

7.2. Analyse du spectre XANES de pyCo(DH)₂CH₃ par simulations *ab initio*

7.2.1. Mise en œuvre du calcul

Paramètres de convergence du calcul de section efficace d'absorption

Comme nous l'avons vu dans l'étude des dérivés de Mb, une étape préliminaire, consiste à s'assurer que les calculs de spectres XANES ont bien convergés par rapport à la taille de la supercellule, au *cut-off* de la base d'ondes planes, à l'échantillonnage de la zone de Brillouin et au nombre de vecteurs dans la base de Lanczos.

Le complexe pyCo(DH)₂CH₃ est constitué de 46 atomes et est de taille adapté pour le type de calcul que nous voulons mener, en particulier il ne sera pas nécessaire de tronquer la molécule comme pour MbXY puis d'évaluer la convergence du spectre par rapport à la troncature. La structure de pyCo(DH)₂CH₃ est insérée dans une supercellule orthorhombique. Nous utilisons une première taille de boîte, où le complexe est séparé de chacune des faces d'au moins 2 Å. La convergence du spectre XANES est finalement obtenue pour une supercellule de dimension de 20.6×16.9×19.6 Å³. Pour cette taille de boîte, chacune des polarisations (σ_x , σ_y et σ_z) est convergée, cela permettra en particulier de pouvoir estimer le plus précisément possible l'énergie de transition $1s \rightarrow 4p_z$, très sensible à la longueur des ligands axiaux. Les calculs DFT de spectres XANES que nous présentons, possèdent les mêmes spécifications que ceux de la partie I : nous utilisons l'approximation GGA et la fonctionnelle d'échange-corrélation PBE [70], les pseudopotentiels conservant la norme sont de type Troullier-Martins [88]. Nous reprenons les pseudopotentiels des éléments organiques H, C, N et O (voir tableau 4.1). Il reste à définir les paramètres de génération de l'élément absorbeur, Co ; nous donnons ces paramètres dans le tableau 7.2. La prise en compte du

TAB. 7.2.: Paramètres de génération du pseudopotentiel de Co. Entre parenthèses figurent les rayons de coupure exprimés en Å.

Atome	conf. élec.	Etats de valence	Partie locale
Co	$3s^2 3p^6 3d^6$	3s (0.89) 3p (1.34) 3d (1.34)	<i>d</i>

trou de cœur sur l'atome absorbeur est nécessaire pour bien reproduire l'état final du pro-

cessus d'absorption du photon. Les calculs sont donc menés avec le pseudopotentiel du cobalt généré avec un trou sur le niveau de cœur $1s$. Pour ce pseudopotentiel, nous avons atteint la convergence des spectres XANES pour une valeur de *cut-off* de 135 Ry (1836.8 eV). Environ 3000 vecteurs de la base de Lanczos sont requis pour converger la fraction continue, pour chacune des polarisations. Le volume de la supercellule est suffisamment grand (6823.54 \AA^3) pour permettre d'échantillonner uniquement au point Γ , le calcul de la densité de charge et le calcul des spectres XANES. En outre, nous avons vérifié la convergence (en Γ) du spectre XANES à l'aide d'un calcul effectué en 8 points \mathbf{k} ($2 \times 2 \times 2$) de la zone de Brillouin.

Compte tenu que dans la table des éléments périodiques le cobalt est consécutif au fer, nous avons repris le même paramètre d'élargissement pour l'étude du seuil K du fer dans MbXY.

Dépendance angulaire de la section efficace d'absorption

Pour un échantillon ne présentant pas d'ordre magnétique macroscopique et pour une polarisation linéaire $\hat{\varepsilon}$ des rayons X [18], la section efficace d'absorption $\sigma(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ peut se décomposer en une somme de termes dipolaires (noté $\sigma^D(\hat{\varepsilon})$) et quadripolaires (noté $\sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$) électriques :

$$\begin{aligned} \sigma(\hat{\varepsilon}, \hat{k}) &= \sigma^D(\hat{\varepsilon}) + \sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k}) \\ &= 4\pi^2\alpha\hbar\omega \sum_f |\langle \psi_f | \hat{\varepsilon} \cdot \mathbf{r} | \psi_i \rangle|^2 \delta(E_f - E_i - \hbar\omega) \\ &\quad + \pi^2\alpha\hbar\omega \sum_f |\langle \psi_f | (\hat{\varepsilon} \cdot \mathbf{r})(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}) | \psi_i \rangle|^2 \delta(E_f - E_i - \hbar\omega). \end{aligned}$$

Le terme dipolaire électrique ne dépend pas explicitement du vecteur d'onde \hat{k} mais seulement du vecteur polarisation $\hat{\varepsilon}$ par rapport au cristal. La section efficace dipolaire électrique s'exprime donc comme un tenseur cartésien de rang 2, dont la trace donne le terme isotrope : $3\sigma_{\text{iso}}^D = \sigma_{xx} + \sigma_{yy} + \sigma_{zz}$.¹ C'est ce terme qui est directement comparable au spectre expérimental présenté sur la figure 7.1. Bien que le spectre XANES dont nous disposons n'ait pas été acquis sur un monocristal, nous avons orienté la molécule dans la supercellule comme pour l'étude des dérivés de la myoglobine. Le complexe $\text{pyCo}(\text{DH})_2$ possède une symétrie C_{2v} et le ligand X ne brise cette symétrie que très faiblement. Nous verrons dans la suite qu'il s'avère instructif d'orienter, le macrocycle $(\text{DH})_2$ dans le plan xy

¹ $\sigma_{xx} = \sigma^D(\hat{\varepsilon}_x)$, $\sigma_{yy} = \sigma^D(\hat{\varepsilon}_y)$, $\sigma_{zz} = \sigma^D(\hat{\varepsilon}_z)$.

et le plan de la pyridine dans le plan xz . Nous analyserons le spectre XANES expérimental à l'aide des composantes individuelles σ_{xx} , σ_{yy} et σ_{zz} issues du calcul – le système d'axe $(\hat{x}, \hat{y}, \hat{z})$ constitue un repère orthonormé.

La section efficace d'absorption quadripolaire électrique est définie par un tenseur cartésien de rang quatre par quinze paramètres indépendants (cas général pour un échantillon non magnétique). Afin de reproduire correctement la région du préseuil d'un spectre expérimental isotrope, il faudrait *a priori* rigoureusement calculer ces quinze termes correspondant à des orientations particulières et indépendantes du vecteur propagation \hat{k} et du vecteur polarisation $\hat{\varepsilon}$ des rayons X. Cela revient à résoudre “brute de force” un système de quinze équations linéairement indépendantes. Cependant, à l'aide de considérations de symétrie sur le cristal ou dans notre cas, du motif moléculaire, ce nombre de termes peut être considérablement réduit. Plus spécifiquement, les complexes que nous étudions, possèdent approximativement une symétrie C_{2v} ce qui réduit l'expression de $\sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ à huit termes, mais le calcul explicite reste une tâche laborieuse. Les transitions quadripolaires électriques sont confinées sur l'atome sondé puisque ces transitions ont lieu entre ses niveaux atomiques (*i.e.* $1s \rightarrow nd$) et ces niveaux d'énergie sont, dans une première approximation perturbative, modulés par les potentiels atomiques des premiers atomes voisins (champ cristallin). Nous avons donc procédé au calcul de σ^Q en considérant uniquement la symétrie des ligands du cation central.

La sphère de coordination forme un octaèdre légèrement distordu avec quatre atomes d'azote formant un plan $(0, \hat{x}, \hat{y})$ équatorial pratiquement carré (les axes \hat{x} et \hat{y} bissecteurs aux liaisons Co–N) et un atome d'azote et le ligand X suivant l'axe z de part et d'autre du plan équatorial. Cet axe constitue alors dans une assez bonne approximation un axe d'ordre 4 et les plans formés par cet axe avec les deux autres forment deux plans miroirs. Nous considérons alors la symétrie C_{4v} pour la géométrie autour de l'atome absorbeur.

Nous décrivons maintenant brièvement comment la symétrie C_{4v} est prise compte dans l'expression de la section efficace d'absorption et comment nous obtenons le terme isotrope quadripolaire électrique dans cette symétrie. Dans un repère orthonormé lié à la molécule, nous pouvons exprimer le vecteur polarisation et le vecteur propagation en coordonnées sphériques :

$$\hat{\varepsilon} = \begin{pmatrix} \sin \theta \cos \varphi \\ \sin \theta \sin \varphi \\ \cos \theta \end{pmatrix} \quad \hat{k} = \begin{pmatrix} \cos \theta \cos \varphi \cos \psi - \sin \varphi \sin \psi \\ \cos \theta \sin \varphi \cos \psi + \cos \varphi \sin \psi \\ -\sin \theta \cos \psi \end{pmatrix}$$

Les angles θ et φ définissent l'orientation du vecteur polarisation $\hat{\varepsilon}$ et correspondent respec-

tivement à l'angle azimutal, angle formé par le vecteur $\hat{\varepsilon}$ et l'axe d'ordre 4 (pris colinéaire à l'axe z), et l'angle spécifiant la direction de $\hat{\varepsilon}$ dans le plan (x, y) . L'angle ψ spécifie la direction du vecteur d'onde \hat{k} dans le plan perpendiculaire à $\hat{\varepsilon}$.² Dans notre cas, comme nous considérons le groupe de symétrie C_{4v} , l'expression de $\sigma^Q(\hat{\varepsilon})$ reste identique après la transformation (appartenant à C_{4v}) $\varphi \rightarrow \varphi + \pi/2$, si et seulement si $\sigma^Q(l, m) = 0$ pour $m \neq 0, 4$ ou -4 . D'après Brouder (éq. 5.7 p. 714, [18]) pour un cristal ayant la symétrie C_{4v} , nous pouvons réécrire l'expression de $\sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ sous la forme :

$$\begin{aligned} \sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k}) &= \sigma^Q(0, 0) + \sqrt{5/14}(3 \sin^2 \theta \sin^2 \psi - 1) \sigma^Q(2, 0) \\ &+ \sqrt{1/14}(35 \sin^2 \theta \cos^2 \theta \cos^2 \psi + 5 \sin^2 \theta \sin^2 \psi - 4) \sigma^Q(4, 0) \\ &+ \sqrt{5} \sin^2 \theta [(\cos^2 \theta \cos^2 \psi - \sin^2 \psi) \cos 4\varphi \\ &- 2 \cos \theta \sin \psi \cos \psi \sin 4\varphi] \sigma^Q(4, 4). \end{aligned}$$

Nous cherchons une combinaison linéaire de termes $\sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ pour différentes orientations des vecteurs $\hat{\varepsilon}$ et \hat{k} permettant d'isoler la section efficace d'absorption isotrope $\sigma^Q(0, 0)(= \sigma_{iso}^Q)$. Le système d'équation fournit la solution :

$$\sigma_{iso}^Q = \frac{1}{15} \sigma_1 + \frac{4}{15} \sigma_2 + \frac{2}{3} \sigma_3 \quad (7.1)$$

où les orientations particulières $(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ de σ_i sont définies par :

$$\left\{ \begin{array}{l} ([0, 0, 1], [1, 0, 0]) \text{ pour } \sigma_1, \\ ([\sqrt{1/2} \cos \pi/8, \sqrt{1/2} \sin \pi/8, \sqrt{1/2}], [\sqrt{1/2} \cos \pi/8, \sqrt{1/2} \sin \pi/8, -\sqrt{1/2}]) \text{ pour } \sigma_2, \\ ([\cos \pi/8, \sin \pi/8, 0], [-\sqrt{1/2} \sin \pi/8, \sqrt{1/2} \cos \pi/8, -\sqrt{1/2}]) \text{ pour } \sigma_3. \end{array} \right.$$

La règle de sélection pour les transitions quadripolaires électriques assure que les états finals $|\psi_f\rangle$ sont les états d du métal absorbeur, nous pouvons alors vérifier la validité de notre précédente hypothèse en décomposant σ_{iso}^Q sur ces transitions. A cet effet, nous pouvons réécrire l'opérateur quadripolaire $\mathcal{O}^Q = (\hat{\varepsilon} \cdot \mathbf{r})(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r})$ sous la forme :

$$\mathcal{O}^Q = (\varepsilon_x k_y + \varepsilon_y k_x)xy + (\varepsilon_x k_z + \varepsilon_z k_x)xz + (\varepsilon_y k_z + \varepsilon_z k_y)yz + \varepsilon_x k_x x^2 + \varepsilon_y k_y y^2 + \varepsilon_z k_z z^2$$

²L'avantage de raisonner en coordonnées sphériques tient au fait que l'expression de $\sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ est invariante sous l'opération de symétrie appartenant au groupe d'espace du système considéré et que ses composantes $\sigma^Q(l, m)$ se transforment comme les harmoniques sphériques $Y_l^m(\hat{r})$, de sorte que les considérations de symétrie du cristal fournissent une expression de $\sigma^Q(\hat{\varepsilon}, \hat{k})$ la plus simplifiée possible.

7.2. Analyse du spectre XANES de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ par simulations *ab initio*

Nous pouvons regarder l'opérateur quadripolaire électrique comme un pôleynome du second degré où chaque terme est une fonction possédant la symétrie d'une des orbitales atomiques. Nous pouvons réécrire les termes quadratiques de l'opérateur quadripolaire électrique de manière à expliciter la sélectivité orbitalaire pour les niveaux $d_{x^2-y^2}$ et $d_{3z^2-r^2}$. Pour cela, on utilise la relation d'orthogonalité entre les vecteurs $\hat{\varepsilon}$ et \hat{k} : $\varepsilon_x k_x + \varepsilon_y k_y + \varepsilon_z k_z = 0$, ainsi que l'équation : $x^2 + y^2 + z^2 = r^2$.

$$\begin{aligned} \varepsilon_x k_x x^2 + \varepsilon_y k_y y^2 + \varepsilon_z k_z z^2 &= \frac{1}{2}(\varepsilon_x k_x - \varepsilon_y k_y)(x^2 - y^2) + \frac{1}{2}(\varepsilon_x k_x + \varepsilon_y k_y)(x^2 + y^2) + \varepsilon_z k_z z^2 \\ &= \frac{1}{2}(\varepsilon_x k_x - \varepsilon_y k_y)(x^2 - y^2) + \varepsilon_z k_z (z^2 - \frac{1}{2}x^2 - \frac{1}{2}y^2) \\ &= \frac{1}{2}(\varepsilon_x k_x - \varepsilon_y k_y)(x^2 - y^2) + \frac{1}{2}\varepsilon_z k_z (3z^2 - r^2) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \mathcal{O}^Q &= (\varepsilon_x k_y + \varepsilon_y k_x)xy + (\varepsilon_x k_z + \varepsilon_z k_x)xz + (\varepsilon_y k_z + \varepsilon_z k_y)yz + \\ &\quad \frac{1}{2}(\varepsilon_x k_y - \varepsilon_y k_x)(x^2 - y^2) + \frac{1}{2}\varepsilon_z k_z (3z^2 - r^2) \end{aligned}$$

A l'aide de cette expression nous pouvons connaître simplement quel doit être l'orientation des vecteurs $\hat{\varepsilon}$ et \hat{k} permettant "d'atteindre" une orbitale $3d$ donnée du métal, partiellement ou totalement vide. Pour sonder expérimentalement l'orbitale $3d_{3z^2-r^2}$, il faut disposer d'un monocristal, puis orienter les vecteurs $\hat{\varepsilon}$ et \hat{k} dans au plus, trois configurations différentes (selon l'état d'occupation des niveaux $3d$ du métal et la symétrie du site).

Nous avons d'autre part calculé les cinq composantes de la section efficace d'absorption quadripolaire électrique correspondants aux différentes orbitales $3d$ du métal ($3d_{xy}$, $3d_{xz}$, $3d_{yz}$, $3d_{x^2-y^2}$, $3d_{3z^2-r^2}$), en utilisant les orientations données dans le tableau 7.3.³ Nous les avons sommées pour les comparer au spectre calculé avec l'expression analytique de (σ_{iso}^Q) donnée dans l'expression (7.1). Les résultats sont montrés sur la figure 7.2 et indiquent *a posteriori* que l'approximation faite sur la symétrie du potentiel atomique resenti par le cation dans le cas de transitions quadripolaires électriques est assez correcte. Nous pouvons maintenant analyser les transitions quadripolaires électriques du préseuil du

³La contribution notée $\sigma_{3z^2-r^2}$ n'est pas exactement celle de l'orbitale $3d_{z^2-r^2}$. Son calcul exact aurait demandé d'intervenir directement dans le code de calcul PARATEC afin d'effectuer la combinaison linéaire avant d'élever les éléments de matrice au carré.

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $pyCo(DH)_2CH_3$

TAB. 7.3.: Orientation de $\hat{\varepsilon}$ et \hat{k} permettant de sonder les différentes orbitales $3d$. Un facteur de normalisation $\frac{1}{\sqrt{2}}$ es à appliquer aux différentes directions pour obtenir les vecteurs unitaires.

$\sigma_{orbit. 3d}^Q$	facteur de proportionnalité	$\hat{\varepsilon}$	\hat{k}	représentation irréductible C_{4v}
σ_{xy}	$1 \times$	$[\bar{1}10]$	$[110]$	b_2
σ_{xz}	$1 \times$	$[\bar{1}01]$	$[101]$	e
σ_{yz}	$1 \times$	$[0\bar{1}1]$	$[011]$	e
$\sigma_{x^2-y^2}$	$1 \times$	$[100]$	$[010]$	b_1
$\sigma_{3z^2-r^2}$	$-1 \times$	$[110]$	$[\bar{1}\bar{1}0]$	a_1
	$+2 \times$	$[101]$	$[\bar{1}01]$	
	$+2 \times$	$[011]$	$[0\bar{1}1]$	

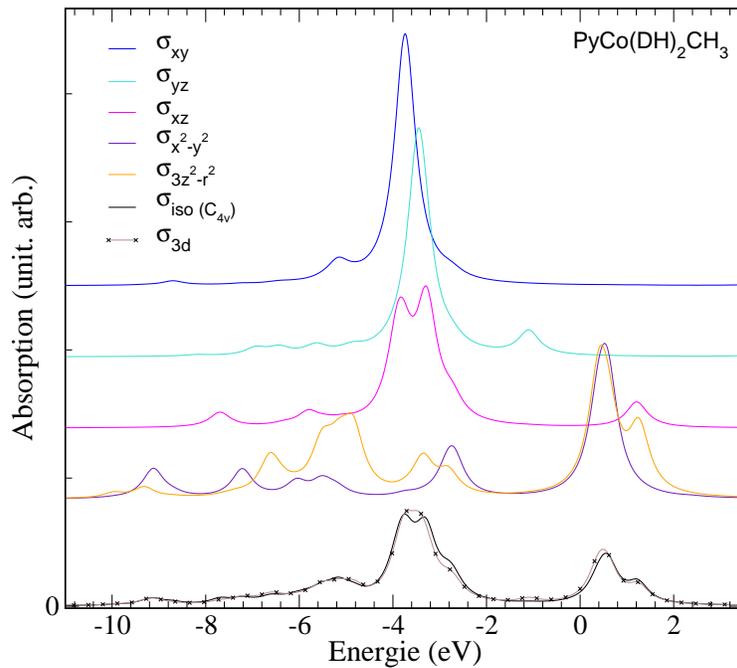


FIG. 7.2.: Spectre quadripolaire isotrope σ_{iso} . calculé pour $pyCo(DH)_2Me$ selon l'expression (7.1) obtenue en symétrie C_{4v} comparé au spectre σ_{3d} , obtenu en sommant les sections efficaces d'absorption correspondant aux niveaux $3d$ de Co^{3+} (spectres convolués avec $\gamma = 0.27$ eV). Nous montrons les transitions vers les états vides, comme les transitions virtuelles vers les états vides. Le zéro du calcul correspond au dernier niveau occupé.

spectre isotrope simplement en termes de contributions des OA $3d$ de Co^{3+} . La figure 7.2 montre également que seules les orbitales $3d_{xz}$, $3d_{3z^2-r^2}$ et $3d_{x^2-y^2}$ peuvent contribuer au préseuil, les autres menant à des transitions dans les niveaux occupés.

Calcul des densités d'états locales et partielles et représentation graphique des OM

Nous avons calculé des densités d'états locales et partielles (LPDOS) à l'aide du programme `PWscf` [38], dont les ingrédients de base sont les mêmes que pour `PARATEC`. Le programme `PWscf` nous permet de calculer des DOS en prenant en compte le trou de cœur (ce que ne peut pas faire `PARATEC`). Ces calculs de DOS ont été réalisés à partir de la molécule relaxée insérée dans une cellule orthorhombique de dimension $20.6 \times 17.5 \times 19.6 \text{ \AA}^3$. La base d'ondes planes est développée jusqu'à un `cut-off` de 70 Ry. Les pseudopotentiels, de type Troullier-Martins, ont les mêmes caractéristiques que ceux utilisés dans `PARATEC` pour le calcul des sections efficaces d'absorption. La fonctionnelle d'échange et de corrélation est celle formulée par Perdew, Burke et Erzenhof (PBE), comme pour les calculs de spectres XANES. La zone de Brillouin a été échantillonnée au point Γ .

Parallèlement à ces calculs, nous avons utilisé (de nouveau) le programme `CPMD` car il offre la possibilité de représenter graphiquement les orbitales moléculaires (OM). Nous pouvons ainsi avoir une image des LUMOs (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) impliquées dans la région du préseuil. Ces calculs ont été réalisés avec les mêmes paramètres que précédemment (mêmes pseudopotentiels, fonctionnelle PBE, même `cut-off`, en Γ) mais sur une maille plus petite de taille $13.6 \times 13.6 \times 13.6 \text{ \AA}^3$.

Sur la figure 7.3, nous comparons les DOS totales issues des deux programmes, sur un domaine en énergie assez restreint qui correspond au préseuil. Nous voyons tout de suite qu'elles ne se superposent pas, mais qu'elles présentent toutes deux trois pics. Nous expliquons les différences entre les DOS totales par la différence des tailles de la cellule. Les pics de la DOS de `PWscf` sont plus larges et plus resserrés en énergie. Le premier est principalement dû aux contributions $3d_{3z^2-r^2}$ et $3d_{x^2-y^2}$ de Co, comme on peut le constater sur la figure. Les points (verts) représentent les énergies des LUMOs, calculées avec `CPMD`. Ces points en énergies coïncident, bien évidemment, avec la DOS totale. Les numéros associés nous permettront de repérer les LUMOs lorsque nous les représenterons dans la section *Résultats et discussion*, section 7.3.2. Nous verrons notamment que les états de type $3d_{3z^2-r^2}$ et $3d_{x^2-y^2}$ n'apparaissent pas dans le même ordre avec `CPMD`. Pour conclure, on peut dire que l'accord entre les DOS totales calculées à l'aide deux codes est suffisant pour nous permettre d'établir par la suite une correspondance entre la représentation des LUMOs issues de `CPMD` et les transitions XANES impliquées dans le préseuil.

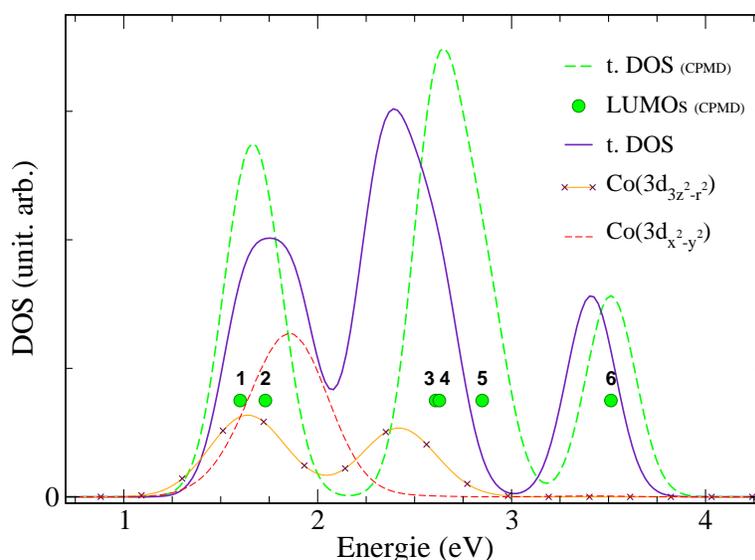


FIG. 7.3.: Densités d'états totales, convoluées identiquement à partir des niveaux d'énergies de Kohn-Sham de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$, issues des codes PWscf et CPMD. Les positions en énergie des niveaux discrétisés (numérotés) sont comparés aux DOS partielles de Co pour établir ultérieurement une correspondance entre la représentation des LUMOs et les transitions électroniques responsables du préseuil.

7.3. Résultats et discussion

7.3.1. Calculs XANES pour la structure XRD et sa structure relaxée

Nous présentons sur la figure 7.4 les résultats de spectres XANES isotropes (σ_{iso}) calculés à l'aide de deux structures différentes. Il s'agit de la structure cristallographique de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ obtenue par XRD (cf. "calc. XRD") [12] et de la structure XRD après relaxation (cf. "calc. rel."). Les deux spectres calculés σ_{iso} , obtenus en prenant en compte les transitions dipolaires et quadripolaires électriques, sont comparés au spectre expérimental de poudre.

Sur le graphe de gauche, on remarque que la relaxation modifie faiblement le spectre calculé pour la structure initiale et que l'ensemble des structures du spectre expérimental sont correctement reproduites par le calcul, à l'exception de la région en énergie comprise entre 7735 eV et 7765 eV. Tout d'abord, l'effet de la relaxation se traduit sur le seuil par une légère augmentation de l'intensité du pic C (7728.5 eV) ce qui permet de mieux reproduire l'intensité le pic du spectre expérimental tandis que l'intensité du pic D (7736.0 eV) est

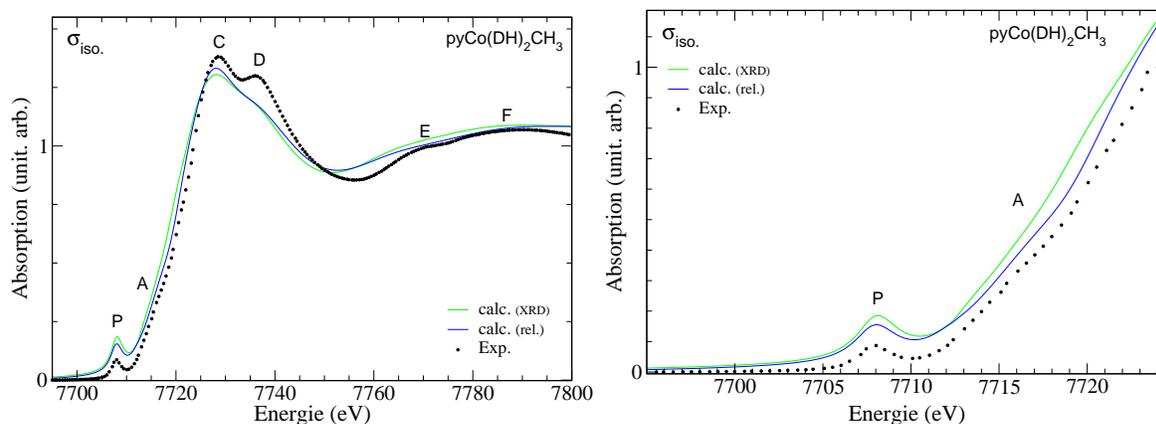


FIG. 7.4.: Comparaison du spectre expérimental de la méthylcobaloxime avec les spectres isotropes (σ_{iso}) issus des calculs menés sur la structure XRD et sa structure relaxée.

inchangée et reste donc beaucoup plus faible que celle du pic expérimental. Le rapport en intensité des pics C et D est alors moins bien reproduit avec la structure relaxée. Le minimum d'absorption situé entre les pics D et E se situe à trop basse énergie et est moins profond par rapport à l'expérience pour les spectres calculés issus des deux structures. Les pics E et F sont reproduits par le calcul, mais ne sont pas suffisamment résolus. Nous obtenons une très large et unique structure, la relaxation a pour effet "d'aplatir" ces structures. Nous noterons que cette région du spectre correspond déjà au mode EXAFS⁴.

Le graphe de droite représente un agrandissement de la région du préseuil du graphe de gauche, étendu à la montée du seuil. Sur ce graphe, le pic du préseuil noté P est séparé d'environ 8 eV d'une structure relativement large noté A qui apparaît comme un épaulement au début de la montée du seuil. La relaxation de la structure XRD a pour effet de diminuer l'intensité du pic P et "d'accentuer" la forme du point d'inflexion (~ 7720 eV) qui en quelque sorte délimite la structure A. Ainsi la structure relaxée offre pour cette région du spectre un meilleur accord, mais l'intensité du pic P reste surestimée par rapport à l'expérience.

Nous ne disposons pas de spectres expérimentaux polarisés, cependant pour comprendre l'origine des pics, nous calculons ces composantes dans un système d'axes adaptés à la symétrie de la molécule. L'étude systématique des spectres expérimentaux isotropes par des calculs polarisés est profitable à deux titres. Le premier est que nous pouvons faire apparaître des structures qui sont "lissées" par un effet de moyenne dans le spectre isotrope, ce cas de figure est particulièrement critique pour la montée du seuil comme nous allons le

⁴Il est possible de définir un paramètre d'élargissement linéaire pour cette région différent de celui utilisé pour la région du seuil.

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

voir. Le deuxième est la possibilité de faire une analyse plus fine des effets (géométriques) de la relaxation sur le spectre XANES, lorsque le vecteur polarisation ε est orienté suivant la liaison d'un des ligands de l'atome absorbeur, comme nous avons pu le voir pour les spectres polarisés σ_{\perp} des dérivés de la myoglobine. Il faut cependant faire attention au fait que les effets géométriques sur les spectres polarisés peuvent se compenser dans le spectre isotrope, ceux qui rend l'évaluation de la relaxation moins directe et moins sûre.

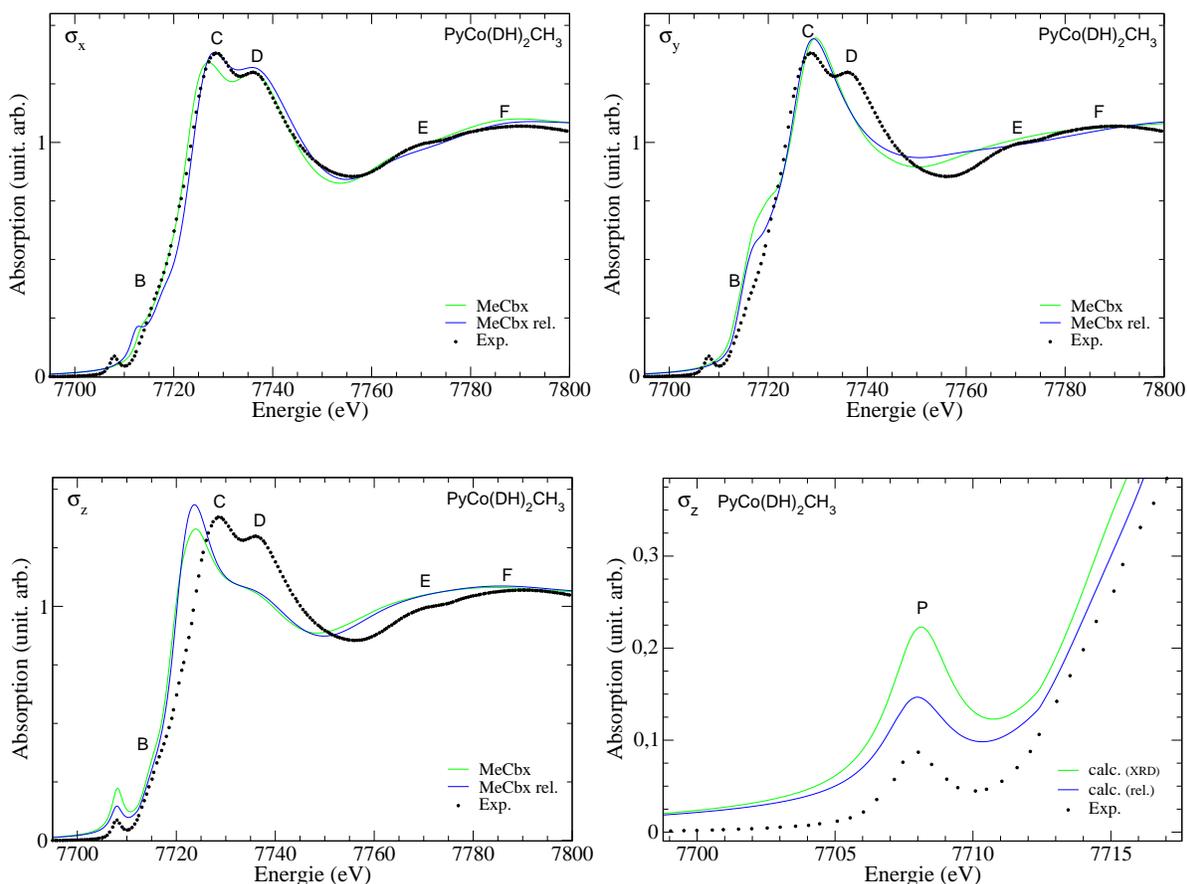


FIG. 7.5.: Comparaison du spectre expérimental de la méthylcobaloxime avec le spectre isotrope et ses contributions polarisées (suivant les axes de la molécule) issues du calcul mené sur la structure XRD et la structure relaxée.

Nous présentons sur la figure 7.5 les spectres polarisés selon les axes x , y et z de la figure 5.2 présentée au chapitre 5. Le trichroïsme de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$ associé à la symétrie C_{2v} du complexe est bien observé. On remarque pour ces spectres, que l'attribution d'un pic donné de la région du seuil à une polarisation donnée n'est pas univoque. Par exemple, le pic C du spectre expérimental ne trouve pas son origine exclusivement dans la polarisation σ_y ,

puisque les polarisations σ_x et un peu moins σ_z y contribue aussi. Ce que nous pouvons dire sur la polarisation du pic C, c'est que le pic est essentiellement polarisé dans le macrocycle (σ_x, σ_y) et que la polarisation suivant les ligands axiaux (σ_z) contribue à son élargissement du côté de la montée du seuil. En effet, on remarque sur le spectre σ_z un pic intense à 7723 eV (soit 5 eV avant le pic C expérimental). Cette transition polarisée $1s \rightarrow 4p_z$ est à plus basse énergie que le pic C de σ_y (par exemple), du fait que les ligands axiaux sont plus éloignés du cobalt que les ligands équatoriaux (règle de Natoli déjà mentionnée dans la partie I). Le fait que le pic C trouve principalement son origine dans σ_y et σ_x semble contredire (du moins en partie) l'interprétation donnée par Briois *et al.* [17]. On rappelle que d'après des observations expérimentales, les auteurs de [17] attribuaient le pic C à une transition $1s \rightarrow 4p_z$. Nos calculs montrent que les transitions $1s \rightarrow 4p_z$ ne contribuent qu'à un élargissement du pic C (créant un épaulement à gauche).

Pour le pic D, les trois polarisations contribuent toutes significativement (au moins par un fond). Parmi celles-là, la contribution σ_x , en bon accord avec le spectre expérimental, pourrait donner l'impression qu'il existerait une certaine orientation préférentielle dans l'échantillon polycristallin, et que le spectre expérimental ne serait pas réellement isotrope, mais il n'en n'est rien.

À plus haute énergie (région de l'EXAFS) pour les pics E et F, la polarisation n'est plus suffisamment effective pour analyser le pléochroïsme.

Il apparaît clairement que la contribution dipolaire électrique du pic P du préseuil est exclusivement polarisée suivant la direction des ligands axiaux. Le spectre polarisé σ_z est particulièrement sensible à la géométrie des ligands axiaux. La relaxation des ligands axiaux a pour effet, une contraction de 0.075 Å pour la liaison Co-N_{pyr} et une élongation de 0.045 Å pour la liaison Co-CH₃. Cela se traduit sur le spectre σ_z principalement par une diminution de l'intensité du préseuil et une augmentation de celle du pic du seuil. Briois *et al.* [17] ont remarqué cet effet en comparant le spectre isotrope de la vitamine B12 et celui de sa coenzyme. L'interprétation donnée est que la participation des orbitales atomiques 4p de Co dans l'orbitale moléculaire correspondant au préseuil entraîne une diminution de leur participation aux orbitales moléculaires impliquées dans la transition du seuil.

Sur la figure 7.6, nous reprenons les spectres polarisés et isotrope de la structure relaxée, mais cette fois-ci obtenus avec un paramètre d'élargissement plus faible, i.e. $\gamma = 0.27$ eV. Cette figure a pour but de révéler l'existence d'un pic, appelé P', à 7712.5 eV, uniquement sur le spectre polarisé suivant x , i.e., dans le plan du macrocycle le long de la droite médiane des groupes (DH)⁻. Par manque de temps, nous n'avons pas déterminé précisément l'origine de ce pic. Ce que nous pouvons dire, c'est que P' est dû à une transition vers un état lié de la molécule, une transition $1s \rightarrow 4p_x$, où les 4p_x du cobalt sont pro-

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

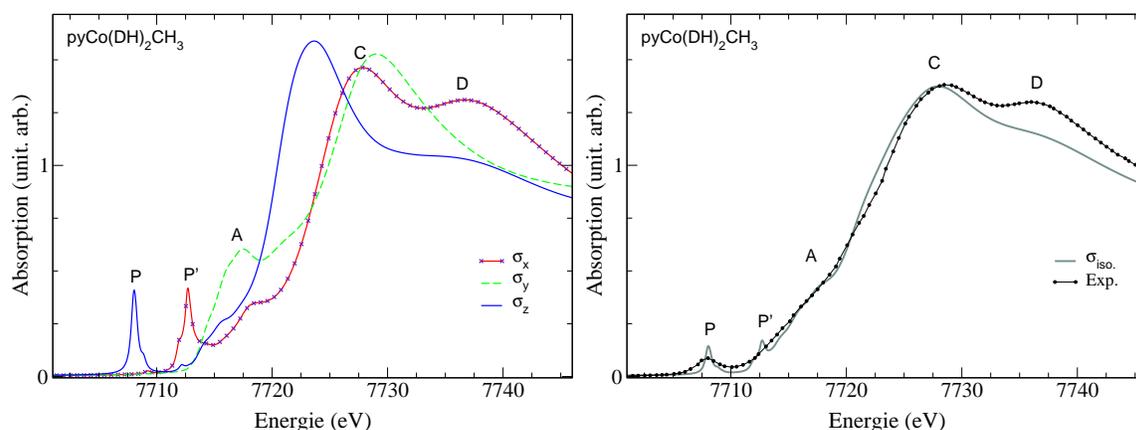


FIG. 7.6.: A gauche, superposition des spectres polarisés calculés avec un petit paramètre d'élargissement ($\gamma = 0.27$ eV), contribution dipolaire électrique uniquement. A droite, spectre isotrope obtenu à partir du graphe de gauche comparé au spectre expérimental.

blement hybridées avec les orbitales moléculaires de type σ^* des ions diméthylglyoxime (DH^-).

7.3.2. Interprétation du préseuil (pic P). Le rôle des orbitales d du cobalt.

Nous proposons une interprétation de l'origine des structures du préseuil basée sur des calculs de densités d'états électroniques. Ces calculs, vont nous permettre de décrire les pics et les modulations plus discrètes du spectre XANES en termes d'hybridation entre les orbitales de l'atome absorbeur avec celles de ses ligands. Les orbitales sont en principe délocalisées sur toute la molécule, mais pour la région du préseuil ces orbitales correspondent à des états liés de la molécule et sont alors essentiellement localisées dans la sphère de coordination de l'atome absorbeur comme nous allons le voir.

La figure 7.7 montre sur le graphe du haut, les calculs des contributions dipolaire et quadripolaire électrique du spectre isotrope, noté σ_{iso} ($E1+E2$), sur les douze premiers eV (l'origine des énergies correspond au dernier état occupé). Les spectres théoriques ont été calculés à partir de la structure relaxée. Dans cette région, le spectre expérimental est bien reproduit par le calcul et n'est donc pas reporté pour plus de clarté. On remarque que les transitions E1 et E2 contribuent pour une part à peu près égale à la section efficace d'absorption totale isotrope. Le préseuil est donc dû dans des proportions semblables à des transitions $1s \rightarrow 4p$ du cobalt et à des transitions $1s \rightarrow 3d$ du cobalt.

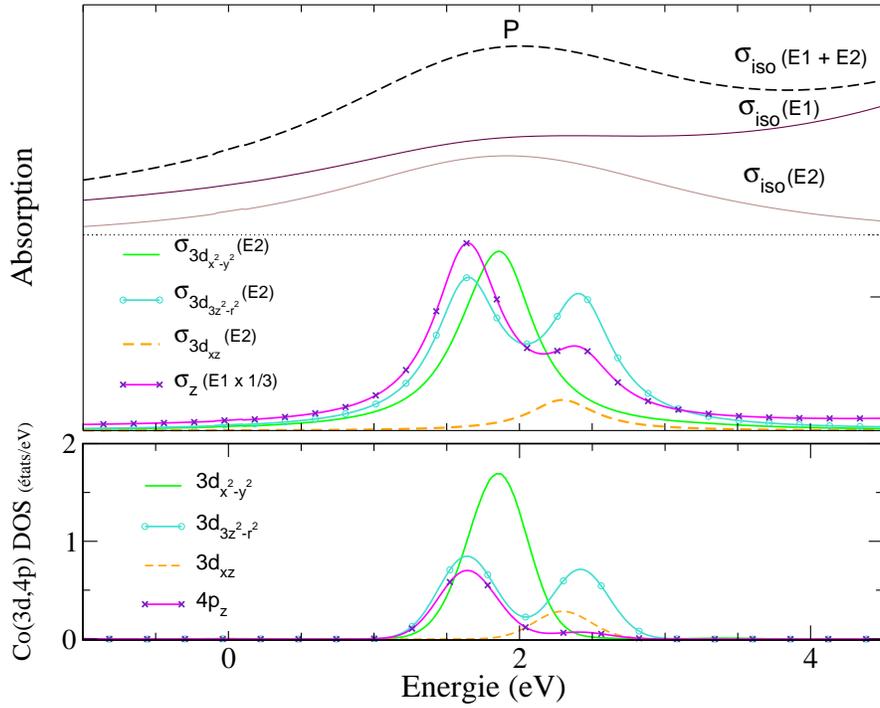


FIG. 7.7.: En haut : contributions dipolaire (E1) et quadripolaire (E2) électriques à la section efficace d'absorption isotrope $\sigma_{\text{iso}}(E_1 + E_2)$, dans la région du préseuil. Milieu : sections efficaces d'absorption E1 et E2 sondant différentes symétries orbitales, obtenues avec un paramètre d'élargissement plus petit ($\gamma = 0.27$ eV). En bas : densités d'états projetées (projections de Löwdin) sur les niveaux $3d$ et $4p$ de Co^{3+} calculées avec trou de cœur.

Sur la figure du milieu, nous avons représenté toutes les contributions individuelles qui présentent des structures dans la région du préseuil. Il y en a trois pour les transitions E2, comme nous l'avons vu sur la figure 7.2 (où les contributions σ_{xy} et σ_{yz} ne donnaient pas de contributions dans les états vides). Puis, pour les transitions E1, il n'y a que σ_z , que nous avons divisé par trois. En effet, nous avons constaté sur la figure 7.5 que le préseuil trouvait son origine dans la contribution σ_z pour une polarisation parallèle à l'axe z , i.e., la direction des ligands axiaux (les composantes σ_x et σ_y ne contribuant que pour un fond dans le préseuil). Sur ce graphe, les contributions E1 et E2 ont été obtenues avec une valeur plus faible de γ dans la fraction continue (0.27 eV). On remarque que le pic P, qui s'étend sur environ 2 eV, est en réalité constitué de trois pics principaux situés à 1.65 eV, 1.85 eV et 2.40 eV. Une plus faible composante apparaît à 2.3 eV. Ainsi à l'aide

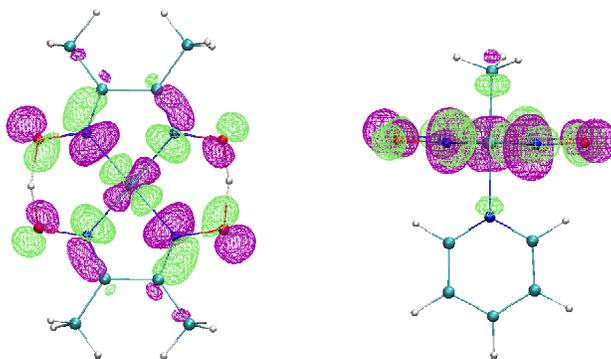
d'un paramètre d'élargissement plus petit, nous mettons en évidence un dédoublement du niveau moléculaire à fort caractère atomique $3d_{3z^2-r^2}$ avec deux pics bien distincts pour le spectre $\sigma_{3z^2-r^2}$. Nous verrons et discuterons plus loin comment la nature de la liaison chimique Co-CH₃ donne lieu à cet effet. On remarque aussi que les transitions E1 $1s \rightarrow 4p_z$ se divisent aussi en deux pics.

Le graphe inférieur montre les densités d'états (DOS) $3d$ et $4p$ de l'atome absorbeur, Co³⁺ (calculées avec PWscf). Les DOS sont convoluées par une gaussienne de largeur à mi-hauteur de 0.27 eV. Elles coïncident parfaitement avec les sections efficaces d'absorption calculées avec PARATEC.

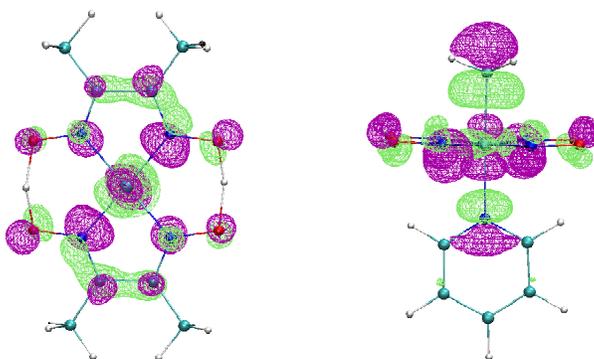
La figure 7.7 montre donc que trois niveaux distincts à caractères d participent au préseuil. Il y a le dédoublement précité de l'OA $3d_{3z^2-r^2}$ et, entre les deux, il y a une contribution de symétrie $3d_{x^2-y^2}$. Les calculs menés parallèlement à l'aide du code CPMD nous permettent de donner une représentation graphique des trois niveaux, mettant en évidence les hybridations moléculaires. C'est ce que nous montrons sur la figure 7.8, où sont représentées les trois premières LUMO. Comme nous l'avons signalé dans la section *mise en œuvre*, les calculs effectués à partir des deux codes ne mènent pas rigoureusement à des DOS totales identiques. En particulier, le premier pic de la DOS totale, auquel contribuent principalement les états $3d_{x^2-y^2}$ et $3d_{3z^2-r^2}$, était beaucoup plus fin avec le calcul CPMD qu'avec le calcul PWscf effectué sur une maille plus grosse (voir figure 7.3). La figure 7.8 montrent que les deux LUMOs qui contribuent à ce premier pic, précisées, par les points 1 et 2 de la figure 7.3, ne sont pas dans le même ordre avec les deux programmes. En effet, contrairement aux résultats de PARATEC et de PWscf, avec CPMD, c'est l'OM impliquant l'OA $3d_{x^2-y^2}$ de Co qui est stabilisée, i.e., la plus basse en énergie.

Gardant en mémoire cette inversion d'ordre des deux premiers états, la figure 7.8 permet de visualiser les hybridations de nature antiliante que l'on sonde à travers le pic P du préseuil. Tout d'abord, nous avons la LUMO n°2 montrant que l'OA $3d_{3z^2-r^2}$ s'hybride principalement avec la $4p_z$ de Co et avec les états $2p_z$ des ligands axiaux (CH₃ et la pyridine). Nous notons qu'elle s'hybride aussi avec les OM π^* des deux cycles DH⁻ du plan équatorial. On observe en effet une délocalisation électronique de type aromatique sur une partie des deux cycles. Ensuite, nous avons la LUMO n°1 qui montre que l'OA $3d_{x^2-y^2}$ s'hybride principalement aux orbitales $2p_{x,y}$ des ligands équatoriaux N_{dmg}, i.e., aux OM σ^* des ions DH⁻. Enfin, nous avons la LUMO n°3 qui montre que l'OA $3d_{3z^2-r^2}$ s'hybride avec d'une part les $2p_z$ de CH₃ et, d'autre part, avec les $2p_z$ des quatre N_{dmg} (appartenant aux OM π^* des cycles DH⁻). La pyridine ne participe pas du tout à cette troisième LUMO.

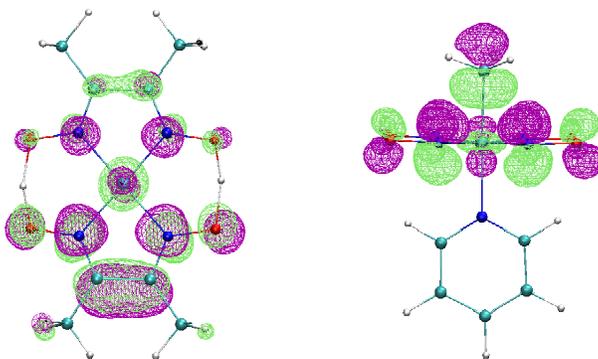
La nature de ces hybridations est en partie corroborée par les calculs de DOS partielles et locales de la figure 7.9, qui présente uniquement des LPDOS polarisées suivant l'axe



LUMO n°1 : $\text{Co}(3d_{x^2-y^2}) + \text{ligand}(2p_{x,y})$



LUMO n°2 : $\text{Co}(3d_{3z^2-r^2}) + \text{Co}(4p_z) + \text{ligands}(2p_z)$



LUMO n°3 : $\text{Co}(3d_{3z^2-r^2}) + \text{ligand CH}_3(2p_z) + \text{ligands équatoriaux}(2p_z)$

FIG. 7.8.: Représentation des trois premières orbitales moléculaires inoccupées (LUMO) associées aux transitions assignées au pic P du spectre XANES de $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$. Calcul effectué avec CPMD, isosurface, $|\psi| = 0.035$.

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

z. Il y a de nouveau la $3d_{3z^2-r^2}$ et la $4p_z$ du cobalt de la figure 7.7, mais il y a aussi la LPDOS de symétrie $2p_z$ des trois types de ligands.

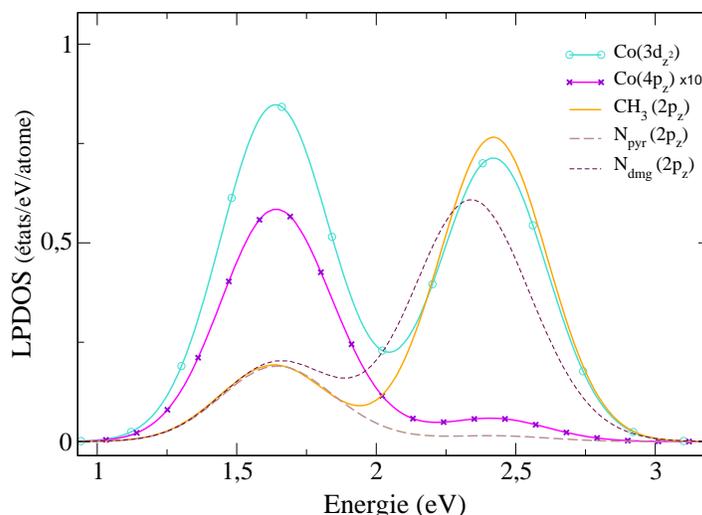


FIG. 7.9.: hybridation des états $3d_{3z^2-r^2}$ et $4p_z$ de Co avec ses ligands.

TAB. 7.4.: Résumé des transitions électroniques responsables du préseuil (pic P) et nature des hybridations associées. Sont indiquées ici les transitions correspondant aux trois pics principaux observés sur la figure 7.7, considérés comme des états discrets ayant une énergie propre bien définie.

N° de la transition	Position en énergie	Nature de la transition	Hybridation sondée	N° de la LUMO correspondante
1	1.65 eV	E1	$\text{Co-}4p_z + \text{Co-}3d_{3z^2-r^2} +$ $\text{CH}_3\text{-}2p_z + \text{N}_{\text{pyr}}\text{-}2p_z + \text{N}_{\text{dmg}}\text{-}2p_z$	2
		E2	$\text{Co-}3d_{3z^2-r^2} +$ $\text{CH}_3\text{-}2p_z + \text{N}_{\text{pyr}}\text{-}2p_z + \text{N}_{\text{dmg}}\text{-}2p_z$	
2	1.85 eV	E2	$\text{Co-}3d_{x^2-y^2} + \text{N}_{\text{pyr}}\text{-}2p_{xy}$	1
3	2.40 eV	E1	$\text{Co-}4p_z + \text{Co-}3d_{3z^2-r^2} +$ $\text{CH}_3\text{-}2p_z + \text{N}_{\text{dmg}}\text{-}2p_z$	3
		E2	$\text{Co-}3d_{3z^2-r^2} +$ $\text{CH}_3\text{-}2p_z + \text{N}_{\text{dmg}}\text{-}2p_z$	

Ces calculs montrent que l'assignation du préseuil à des transitions particulières n'est pas évidente. Nous avons montré que le pic P trouvait son origine dans trois types d'hybridation moléculaire qui se distinguent par leur positions en énergie. Ces trois types d'hybridations sont résumées dans le tableau 7.4.

7.3.3. Influence de la distance Co–N_{pyr}

Nous évaluons l'effet de la distance Co–N_{pyr} pour les valeurs suivantes : 1.90 Å, 2.00 Å et 2.10 Å. La valeur moyenne constatée en XRD pour la distance Co–N_{pyr} est de 2.00 Å, par conséquent, les deux valeurs extrêmes peuvent être considérées comme une contraction et une élongation. Nous partons de la structure de pyCo(DH)₂CH₃ optimisée avec une distance Co–CH₃ fixée à 2.00 Å. Le graphe de gauche de la figure 7.10 montre une comparaison entre le spectre expérimental et les spectres calculés pour ces trois distances. L'effet de la distance Co–N_{pyr} est globalement faible, pour des valeurs croissantes de Co–N_{pyr} : l'intensité des pics C et D est légèrement diminuée, le point d'inflexion dans la montée du seuil est atténué et le minimum local entre les pics D et E est déplacé vers les basses énergies de sorte que la distance 1.90 Å offre l'accord le plus satisfaisant avec l'expérience. Sur le graphe de gauche, nous montrons un agrandissement de la région du préseuil. L'intensité du pic P augmente sensiblement pour une élongation de la liaison Co–N_{pyr}. Ces calculs prennent en compte l'ensemble des transitions dipolaire et quadripolaire électriques. Pour analyser plus finement l'effet de la distance Co–N_{pyr} sur le spectre XANES, nous pouvons étudier spécifiquement les transitions polarisées suivant l'axe de cette liaison. Pour cela, le vecteur polarisation $\hat{\epsilon}$ est orienté parallèlement à l'axe de la liaison Co–N_{pyr}, de sorte que le spectre résultant soit très sensible à l'élongation ou à la contraction de cette liaison. Nous allons donc dans la suite analyser les variations des spectres σ_{iso} avec la distance Co–N_{pyr} à l'aide de ses composantes polarisées suivant l'axe de la liaison, c'est-à-dire, σ_z (dipolaire électrique) et $\sigma_{3z^2-r^2}$ (quadripolaire électrique).

Sur la figure 7.11 nous montrons à gauche, la contribution dipolaire électrique σ_z et à droite la contribution quadripolaire électrique $\sigma_{3z^2-r^2}$ au pic P du spectre isotrope. Ces spectres sont calculés avec un petit paramètre d'élargissement ($\gamma=0.27$ eV). Comme nous l'avons déjà vu dans la sous-section précédente, le spectre de la contribution dipolaire électrique σ_z possède deux pics dans le préseuil, p_z et p'_z , corrélés aux deux pics p_{z^2} et p'_{z^2} du préseuil $\sigma_{3z^2-r^2}$ de la contribution quadripolaire électrique. Le premier pic dipolaire p_z et le premier pic quadripolaire électrique p_{z^2} varient de façon similaire. Pour une élongation de la liaison Co–N_{pyr}, ils sont décalés linéairement vers les basses énergies (-0.33 eV/0.1 Å) et leurs intensités augmentent, mais dans des proportions différentes. Les deuxièmes pics,

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

dipolaire électrique p'_z et quadripolaire électrique p'_{z^2} , sont moins sensibles à la variation de la distance Co-N_{pyr} que les deux premiers pics. Lorsque la liaison Co-N_{pyr} est allongée, la position en énergie de ces deux pics est inchangée, le pic p'_{z^2} diminue en intensité alors que le pic p'_z reste insensible.

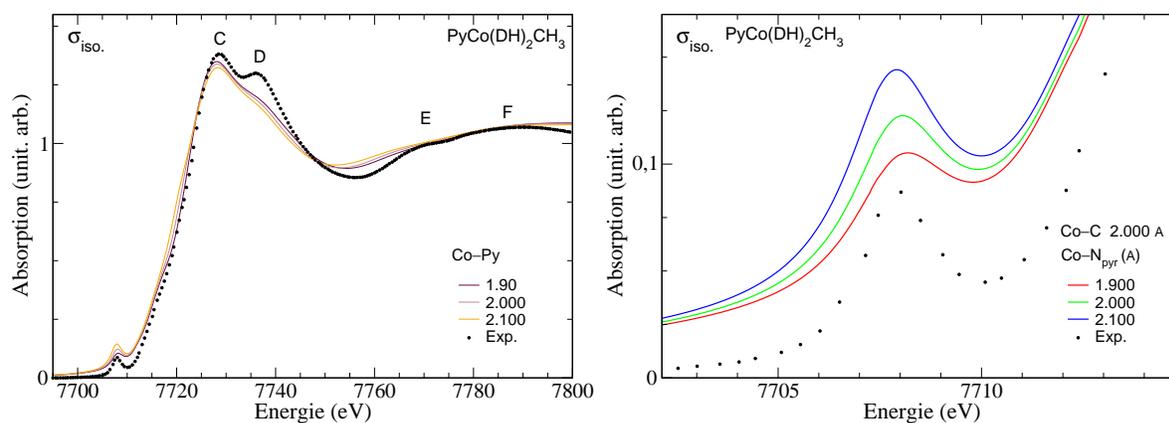


FIG. 7.10.: Influence de la distance Co-N_{pyr} sur le spectre isotrope. A droite, agrandissement de la région du préseuil.

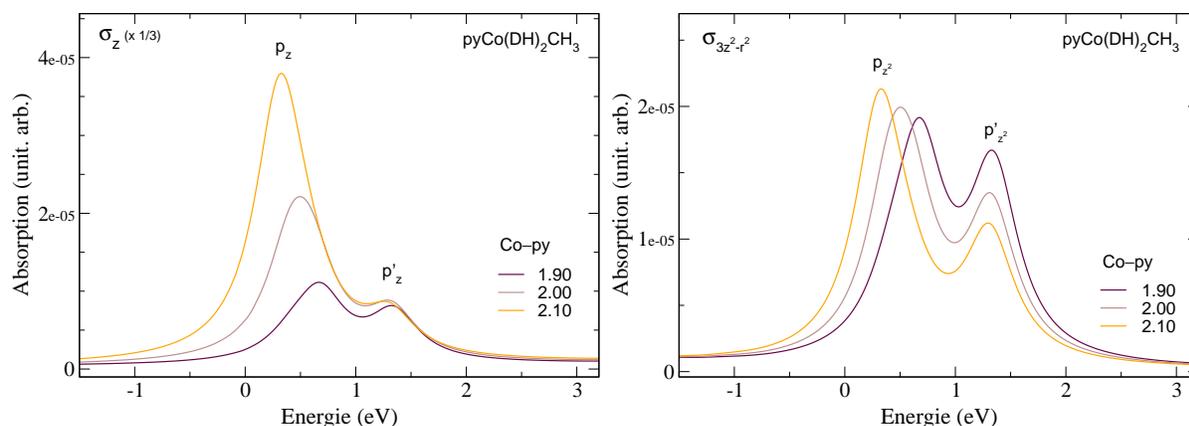


FIG. 7.11.: Influence de la distance Co-N_{pyr} sur les spectres polarisés suivant l'axe de cette liaison pour la région du préseuil. A gauche la contribution dipolaire électrique σ_z et à droite la contribution quadripolaire électrique $\sigma_{3z^2-r^2}$.

Expliquons d'abord comment la position en énergie des pics du préseuil varie avec la distance séparant le cation Co de son ligand la pyridine (figure 7.11 droite). Nous

avons vu sur la figure 7.8 que l'orbitale atomique $N_{pyr}(2p_z)$ interagit (interaction "anti-liante") avec l'orbitale $Co(3d_{z^2})$ dans l'orbitale moléculaire LUMO n°2, mais pas dans l'orbitale moléculaire LUMO n°3, donc l'état final LUMO n°2 sondé au travers du pic p_{z^2} sera énergétiquement stabilisé lorsque la pyridine s'éloigne de Co (élongation de la liaison $Co-N_{pyr}$) alors que l'état final LUMO n°3 sondé au travers du pic p'_{z^2} ne dépend pas en énergie de la longueur de la liaison $Co-N_{pyr}$. Les mêmes interprétations sont valables pour expliquer le déplacement en énergie du pic p_z et l'invariance du pic p'_z du spectre dipolaire σ_z , puisque ces mêmes orbitales moléculaires sont sondées indirectement par le couplage $3d_{z^2} - 4p_z$.

Nous interprétons maintenant la variation en intensité des pics du préseuil avec la distance $Co-N_{pyr}$. On observe que pour une liaison $Co-N_{pyr}$ de 1.90 Å, les intensités des pics p_{z^2} et p'_{z^2} sont comparables alors que pour une distance de 2.10 Å, le pic p_{z^2} est pratiquement deux fois plus intense que le pic p'_{z^2} (figure 7.11 droite). Cet effet est plutôt marqué par la diminution en intensité du pic p'_{z^2} . La variation de l'intensité du pic p'_{z^2} semble être liée au degré d'hybridation des orbitales atomiques $CH_3(2p_z)$ et $Co(3d_{z^2})$ et serait due à la redistribution des charges dans ces orbitales ou plus généralement dans l'orbitale LUMO n°3 suite à l'élongation de la liaison $Co-N_{pyr}$. En effet, nous avons vu sur la figure 7.9 que l'orbitale $CH_3(2p_z)$ est fortement hybridée avec l'orbitale $Co(3d_{z^2})$ dans l'orbitale moléculaire LUMO n°3. Cela revient à dire que la densité d'états vides de l'orbitale $Co(3d_{z^2})$ reflétée par l'intensité du pic p'_{z^2} est diminuée par le caractère donneur (d'électron) croissant de CH_3 avec l'élongation de la liaison $Co-N_{pyr}$. Pour une élongation de la distance $Co-N_{pyr}$, l'intensité du pic p_z augmente brutalement (figure 7.11 gauche). La densité d'états vides augmente lorsque le recouvrement des orbitales $3d_{z^2}$ et $4p_z$ de Co est plus important. Ceci est réalisé dans le cas présent, la stabilisation en énergie de l'orbitale atomique $4p_z$ de Co avec l'éloignement de la pyridine permet un plus grand recouvrement de cette orbitale avec l'orbitale atomique $3d_{z^2}$.

7.3.4. Influence de la distance $Co-CH_3$

L'effet de la distance $Co-CH_3$ est testé, comme précédemment pour la distance $Co-N_{pyr}$, pour les valeurs : 1.90 Å, 2.00 Å et 2.10 Å. Le complexe $pyCo(DH)_2CH_3$ relaxé avec la distance $Co-N_{pyr}$ fixée à 2.00 Å sert de structure de référence pour ces calculs. Le graphe de gauche de la figure 7.12 montre une comparaison entre le spectre expérimental isotrope et les spectres calculés pour les trois distances de la liaison $Co-CH_3$ (prise en compte des contributions dipolaire et quadripolaire électriques). La variation de la distance $Co-CH_3$ n'a pas plus d'effet que la variation de la distance $Co-N_{pyr}$, elle est globalement faible. Pour des valeurs croissantes de la distance $Co-CH_3$, un épaulement dans la montée

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

du préseuil autour de 7722.0 eV apparaît, l'intensité des pics C et D diminue faiblement, le minimum d'absorption situé entre les pics D et E est déplacé vers les basses énergies. Ici encore, la liaison "courte" offre le meilleur accord avec l'expérience. Sur le graphe de gauche, nous montrons un agrandissement de la région du préseuil. L'intensité du pic P décroît sensiblement avec l'élongation de la liaison $\text{Co}-\text{CH}_3$ et est déplacé vers les basses énergies. Pour une analyse plus détaillée des effets de distance sur le pic P, nous étudions les composantes polarisées σ_z (dipolaire électrique) et $\sigma_{3z^2-r^2}$ (quadripolaire électrique).

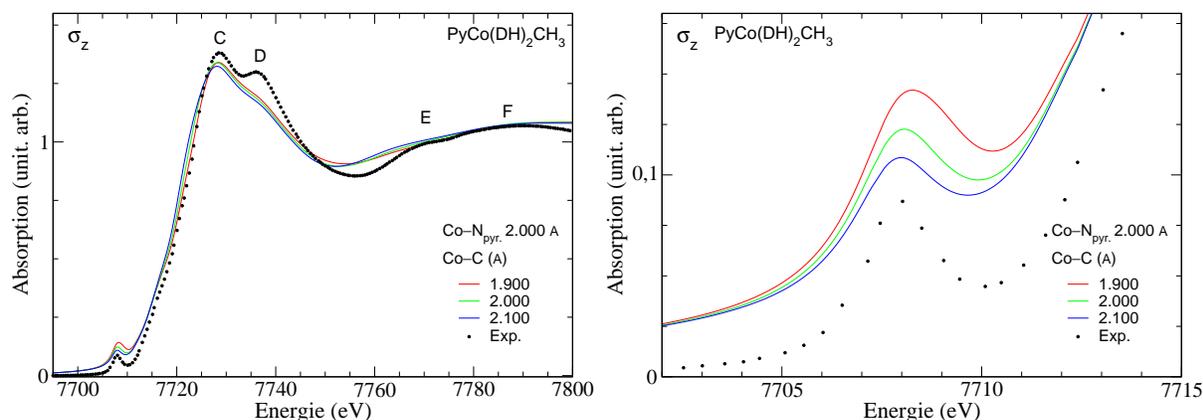


FIG. 7.12.: Influence de la distance $\text{Co}-\text{CH}_3$ sur le spectre isotrope. A droite, agrandissement de la région du préseuil.

Sur la figure 7.13, nous montrons les contributions dipolaire électrique σ_z (à gauche) et quadripolaire électrique $\sigma_{3z^2-r^2}$ (à droite) du pic P, pour une polarisation du vecteur polarisation $\hat{\varepsilon}$ suivant la liaison $\text{Co}-\text{CH}_3$. Nous retrouvons sur ces deux graphes, les structures \mathbf{p} et \mathbf{p}' pour σ_z et \mathbf{p}_{z^2} et \mathbf{p}'_{z^2} pour $\sigma_{3z^2-r^2}$ de la figure 7.11. Nous commentons la modifications des spectres pour une élongation de la liaison $\text{Co}-\text{CH}_3$. Les pics "analogues" $\mathbf{p}_z - \mathbf{p}'_z$ et $\mathbf{p}_{z^2} - \mathbf{p}'_{z^2}$ sont (identiquement) décalés vers les basses énergies d'environ $-0.10 \text{ eV}/0.1 \text{ \AA}$ et $-0.19 \text{ eV}/0.1 \text{ \AA}$ respectivement. Les intensités des pics polarisés σ_z diminuent. On note que le pic \mathbf{p}'_z est particulièrement sensible à la distance $\text{Co}-\text{CH}_3$, ce pic est presque aussi intense que le pic \mathbf{p}_z pour une distance de 1.90 \AA , alors qu'à 2.10 \AA , ce pic disparaît totalement du spectre. Les intensités pics polarisés $\sigma_{3z^2-r^2}$ varient dans des sens opposés, celle du pic \mathbf{p}'_{z^2} augmente et celle du pic \mathbf{p}_{z^2} diminue.

L'ensemble des pics du préseuil de la figure 7.13 est décalé vers les basses énergies, lorsque la liaison $\text{Co}-\text{CH}_3$ s'allonge. En effet, la figure 7.8 montre que les orbitales atomiques $\text{C}(2p_z)$ du méthyle et $\text{Co}(3d_{z^2})$ du cobalt sont en interaction répulsive dans les orbitales moléculaires LUMO n°2 et LUMO n°3. La conséquence d'une élongation de la liaison $\text{Co}-$

CH₃, sera de stabiliser ces orbitales moléculaires, autrement dit, de diminuer leurs énergies propres. C'est ce que l'on constate avec le déplacement des pics du préseuil vers les basses énergie.

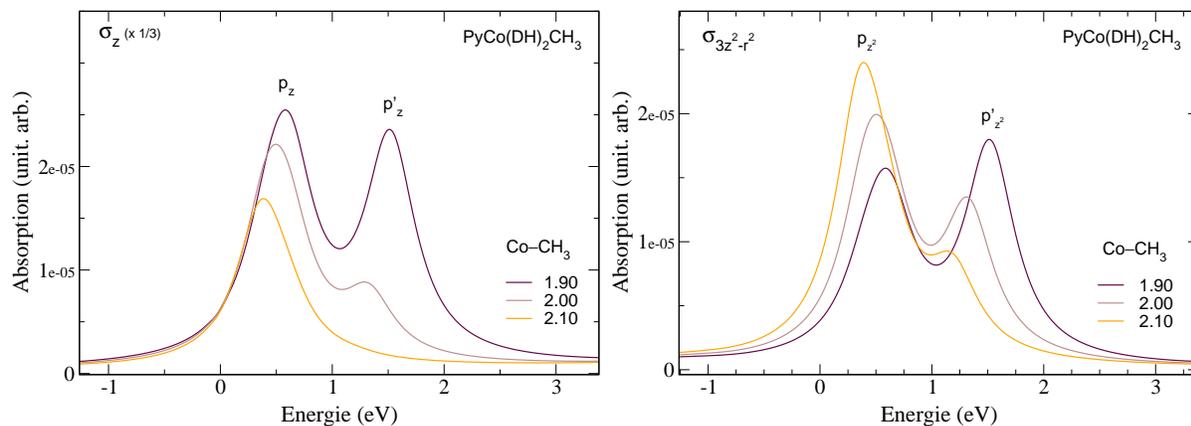


FIG. 7.13.: Influence de la distance Co-CH₃ sur les spectres polarisés suivant l'axe de cette liaison pour la région du préseuil. A gauche, la contribution dipolaire électrique σ_z et à droite, la contribution quadripolaire électrique $\sigma_{3z^2-r^2}$. Paramètre d'élargissement des calculs, $\gamma = 0.27$ eV.

7.3.5. Influence de la distance Co-N_{dmg}

La figure 7.14 montre l'effet d'une variation moyenne de 0.04 Å (soit 2.1 %) de la distance Co-N_{dmg} sur les spectres polarisés σ_x et σ_y . On remarque que lorsque la liaison Co-N_{dmg} se contracte, les structures de la région du seuil (entre 5 et 40 eV) sont déplacées à plus haute énergie. L'effet est similaire à celui déjà vu pour la distance interatomique moyenne du fer avec ses ligands équatoriaux (N_p) dans la myoglobine. La règle de Natoli ($E_x R^2 = \text{cte}$) est donc applicable pour le domaine en énergie compris entre 5 et 40 eV. Dans l'approche des orbitales moléculaires, le déplacement des structures du seuil vers les hautes énergies, pour une contraction des liaisons Co-N_{dmg}, peut être expliqué par une interaction répulsive entre les orbitales antiliantes Co(4p) et N_{dmg}(2p) dans une configuration orthogonale, l'une part rapport à l'autre (suivant les axes x et y), étant donné la symétrie C_{2v} de la molécule.

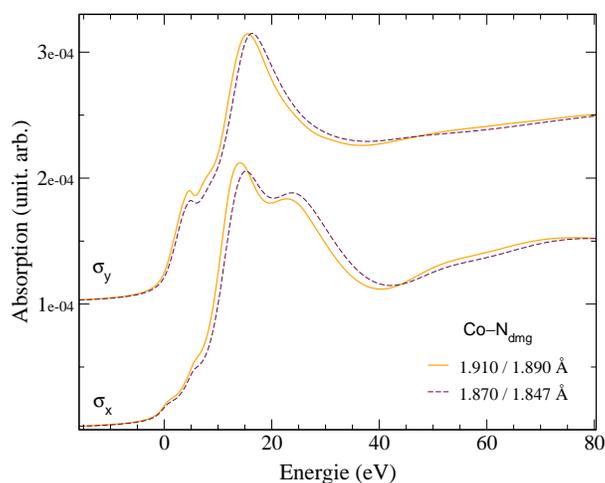


FIG. 7.14.: Influence de la distance Co-N_{dmg} pour les spectres polarisés σ_x et σ_y .

7.3.6. Conclusion

Nous avons calculé le spectre XANES isotrope au seuil K du cobalt dans la méthylcobaloxime $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$. Nous avons obtenu un accord correct avec l'expérience excepté dans la région de la deuxième structure principale du seuil, le pic D. L'intensité calculée de ce pic est en effet trop faible comparée à celle du pic précédent, le pic C. Même avec un paramètre d'élargissement plus adapté, l'intensité du pic C demeurera sous-estimée. Malgré ce désaccord, nos calculs montrent que le pic C trouve principalement son origine dans des processus de diffusion multiple au sein du macrocycle et que les effets de diffusion du photoélectron dans la direction des ligands axiaux n'interviennent que dans l'intensité d'un épaulement à gauche du pic C, contribuant ainsi à son élargissement. L'assignation du pic C à une transition $1s \rightarrow 4p_z$, comme l'avaient suggéré Briois *et al.* [17], n'est donc pas vraiment corroborée ici. Briois *et al.* avaient attribué le pic D à une transition $1s \rightarrow 4p_{x,y}$. Nos calculs précisent que c'est principalement la composante σ_{xx} du plan du macrocycle qui contribue à ce pic (l'axe x étant la droite médiane des cycles DH^-). Nous avons également montré que des transitions $1s \rightarrow 4p_z$ participent à la création du pic D. Des calculs menés sur des structures test où les distances Co-ligands axiaux varient confirment ces assignations. Il serait par ailleurs intéressant de pouvoir effectuer des mesures sur un échantillon monocristallin pour confirmer (ou infirmer) cette analyse.

Notre méthode offrant la possibilité de calculer les transitions dans la région du préseuil, nous nous sommes attachés à comprendre l'origine des transitions responsables de cette région, en mettant en évidence les hybridations moléculaires impliquées. Cela permet

d'affiner la connaissance de la liaison chimique dans ce type de complexe organo-métallique. Nous avons tout d'abord montré que les transitions dipolaires électriques ayant lieu dans le préseuil sont polarisées suivant l'axe des ligands axiaux. Les calculs effectués sur les structures test confirment ce résultat. Les transitions dipolaires électriques s'avèrent contribuer au préseuil dans une proportion identiques aux transitions quadripolaires électriques. Nous avons révélé l'existence de trois types de transition dans le pic du préseuil. Des calculs d'orbitales moléculaires ont permis de visualiser les hybridations caractérisant les trois premières LUMO de la molécule, qui sont sondées dans ces transitions.

Il serait maintenant intéressant de poursuivre cette étude en considérant d'autres structures de cobaloxime, dans le but d'analyser l'influence de la substitution du ligand méthyle par d'autres anions sur les structures du seuil et surtout du préseuil.

7. Spectroscopie XANES au seuil K du cobalt dans $\text{pyCo}(\text{DH})_2\text{CH}_3$

Bilan et Perspectives

Dans la première partie du manuscrit, nous nous sommes intéressés à la géométrie autour du site de fixation des dérivés de la myoglobine, MbCO, Mb*CO, MbNO et MbCN par des calculs de spectres XANES au seuil K du fer. La difficulté dans la modélisation pour MbCO réside dans le calcul de la section efficace pour une polarisation perpendiculairement au plan de l'hème. Nous pensons que le phénomène de back-bonding joue un rôle crucial pour nos modélisations (au moins pour les ligands CO et NO). En effet, nous avons vu que la variation de l'angle β permet de contrôler l'amplitude du phénomène de back-bonding, qu'elle a une importance sur la position du pic C, toujours mal reproduit par nos calculs pour les différents modèles de MbCO. Deux problématiques se posent par rapport au phénomène de back-bonding. Le premier est de savoir si ce phénomène peut être correctement pris en compte par notre approche monoélectronique, dans la mesure où l'état électronique initial décrivant notre système est un état résonant. La spectroscopie XANES au seuil L du fer couplée à des calculs de type multiplets, peut potentiellement répondre à cette question. La deuxième est de savoir si le phénomène de back-bonding peut même à basse température engendrer une population de longueur significative pour la liaison Fe–CO (aussi C–O et Fe–N_{his} en conséquence), auquel cas il serait plus juste d'échantillonner cette longueur pour le calcul des spectres, ou de prendre en compte les modes de vibrations des liaisons axiales de l'hème. La relaxation des modèles de Mb*CO n'a pas abouti à une modélisation correcte des spectres σ_{\perp} , donc clairement, le départ de CO du site de fixation conduit à différentes configurations stables de CO autour du fer. Pour prendre en compte cet effet de désordre, il est possible d'obtenir ces différentes configurations de CO par des simulations de dynamique moléculaire en considérant des géométries particulières extraites de la trajectoire. En effet, contrairement à la technique du recuit simulé, la trajectoire de la dynamique moléculaire permet d'explorer différents minimum locaux de l'énergie potentiel du système. De même, la relaxation de MbNO n'a pas permis la modélisation du spectre polarisé σ_{\perp} . Le modèle XRD avec un angle β beaucoup plus distordu que le modèle relaxé donne un spectre à peu près satisfaisant. La valeur de l'angle β dépend de la distribution de charge dans la chaîne Fe–N–O et là encore il s'agit de comprendre en détail le phénomène de back-bonding. Restreindre la valeur de l'angle β

pendant la relaxation peut être une première approche pour la modélisation. Pour MbCN, la relaxation a permis de fournir un modèle structural très convaincant. Le back-bonding pour $Fe(III)-CN^-$ est beaucoup plus faible que pour $Fe(II)-CO$ [58], ce qui confirme encore une fois le rôle important de ce phénomène pour la spectroscopie XANES au seuil K d'un élément métallique impliqué dans une liaison résonante.

Il serait bien de compléter ces calculs par des calculs de densité d'état électronique pour mieux quantifier l'hybridation du ligand XY avec le fer pour les dérivés de la myoglobine polarisés en spin et décrire le préseuil comme nous l'avons fait pour MbCO.

Dans la deuxième partie, nous avons étudié le spectre isotrope du complexe méthylcobaloxime. Nous avons mis en évidence la contribution de deux effets pour expliquer l'intensité remarquable du pic P du préseuil, il s'agit d'abord de la quasi dégénérescence des niveaux $3d_{3z^2-r^2}$ et $3d_{x^2-y^2}$ du cobalt puis de l'hybridation croissante de l'orbitale $Co(4p_z)$ avec l'orbitale $Co(3d_{3z^2-r^2})$ pour une élongation de la liaison $Co-N_{pyr}$. En effet, la stabilisation de l'orbitale $Co(4p_z)$ est pour une même élongation du ligand axial environ trois fois plus importante pour la liaison $Co-N_{pyr}$ que pour la liaison $Co-CH_3$. C'est un résultat que nous pouvons étendre à la méthylcobalamine. Le calcul des orbitales moléculaires LUMO, nous a permis de comprendre les variations du préseuil en fonction de l'élongation ou de la contraction des ligands axiaux. D'autres résultats sur les cobaloximes, où le ligand axial supérieur peut être un ion chlorure (Cl^-), azoture (N_3^-) sont en cours d'étude.

Le couplage de calculs de section efficaces d'absorption X, de LPDOS et d'orbitales moléculaires permet de donner une image claire de ces hybridations, apportant une information cruciale sur la nature de la liaison chimique dans ces composés. Les techniques permettant d'étudier la structure des protéines et surtout de la cinétique des réactions des centres actifs évoluent très rapidement. Les sources "laser X à électron libre" en construction aujourd'hui permettront d'améliorer la résolution temporelle à un niveau femtoseconde (10^{-15} s), ouvrant de nouvelles portes pour l'investigation des phénomènes dynamiques ultrarapides dans les protéines. Les approches théoriques devront s'adapter à ces avancées instrumentales. Pour conclure, notre approche initialement dédiée aux systèmes périodiques a apporté des informations intéressantes sur la géométrie de ces biomatériaux. Bien qu'il s'agisse d'une approche monoélectronique, peu à même de rendre compte de la répulsion électronique des niveaux d du métal, les calculs effectués permettent de comprendre l'origine du préseuil, révélant ainsi la nature des hybridations moléculaires.

A. Calcul du XANES par une méthode de pseudopotentiels

Dans une approche monoélectronique, la section efficace d'absorption des rayons X s'exprime par la règle d'or de Fermi comme :

$$\sigma(\omega) = 4\pi^2\alpha\hbar\omega \sum_f |\langle\psi_f|\mathcal{O}|\psi_i\rangle|^2\delta(E_f - E_i - \hbar\omega), \quad (\text{A.1})$$

où α est la constante de structure fine, $\hbar\omega$ est l'énergie des photons incidents, \mathcal{O} est un opérateur de transition couplant l'état initial $|\psi_i\rangle$ d'énergie E_i et les états finals $|\psi_f\rangle$ d'énergie E_f . Dans le cas des seuils K (ou L_1), toute la difficulté du calcul de $\sigma(\omega)$ (Eq. A.1) réside dans la détermination des états finals $|\psi_f\rangle$.

Le calcul de $\sigma(\omega)$ a été implémenté dans un code de structure électronique utilisant une base d'ondes planes et des pseudopotentiels [86]. Il s'agit du code de calcul PARATEC [1].

Dans un tel code, on ne calcule pas exactement $|\psi_f\rangle$, mais $|\widetilde{\psi}_f\rangle$, qui est une version *pseudisée* de la fonction d'onde $|\psi_f\rangle$.

Avant d'aller plus loin, il est important de comprendre ce qu'on entend par pseudopotentiel et par fonction d'onde *pseudisée*. Ensuite, nous verrons que l'on peut reconstruire la fonction d'onde $|\psi_f\rangle$ en utilisant la méthode PAW [13], ce qui conduira à une expression simple de la section efficace d'absorption dans le formalisme des pseudopotentiels. Enfin, nous montrerons qu'il est possible de traiter dans un temps de calcul raisonnable de larges supercellules (100-300 atomes), via l'utilisation d'une méthode récursive permettant d'exprimer la section efficace sous la forme d'une fraction continue.

A.1. Qu'est-ce qu'un pseudopotentiel ?

Les pseudopotentiels ont été créés en partant du constat que les fonctions d'onde ont des comportements très différents en fonction de la région dans laquelle on les considère : elles présentent des variations très rapides près du noyau alors qu'elles ont un comportement

A. Calcul du XANES par une méthode de pseudopotentiels

plus monotone plus loin de celui-ci. Par exemple, les fonctions d'onde atomiques $3s$, qui doivent être orthogonales aux fonctions d'onde $1s$ et $2s$, ont une partie radiale qui présente deux nœuds. Elles oscillent donc beaucoup près du cœur. Pour bien décrire ces fonctions d'onde, un grand nombre d'ondes plane est nécessaire. Les pseudopotentiels sont utilisés pour contourner ce problème.

On sépare les électrons de l'atome en électrons de cœur et en électrons de valence. Les électrons de valence sont les électrons des couches les plus externes qui interviennent dans la liaison chimique. Les électrons de cœur sont les électrons des couches internes, plus proche du noyau et donc peu sensibles à l'environnement chimique de l'atome ; ils peuvent donc être considérés comme gelés. On a alors un ion rigide formé du noyau et des électrons de cœur, en interaction avec les électrons de valence.

En plus de cette séparation entre électrons de cœur et de valence, l'idée des pseudopotentiels est de construire des potentiels pour les électrons de valence de telle sorte que les pseudo-fonctions d'onde associées varient le moins possible dans la région de cœur. On parle alors de pseudisation de la fonction d'onde. La fonction d'onde non pseudo est appelée fonction d'onde *all electron*, pour la dissocier de la pseudo-fonction d'onde.

Les pseudopotentiels ont les caractéristiques suivantes :

- (i) Les valeurs propres de l'hamiltonien construit à partir des pseudopotentiels doivent être les mêmes que les valeurs propres de l'hamiltonien *all electron* (pour les énergies des états de valence).
- (ii) À l'extérieur de la région de cœur, les pseudo-fonctions d'onde et les fonctions d'onde *all electron* coïncident.

Dans la suite, on désignera les grandeurs *pseudo* par un tilda (par exemple, $|\tilde{\psi}\rangle$ est une pseudo-fonction d'onde).

Revenons maintenant à la section efficace d'absorption dont la grandeur importante est l'élément de matrice $\langle\psi_f|\mathcal{O}|\psi_i\rangle$. L'état initial, $|\psi_i\rangle$, est une fonction d'onde de cœur qui s'annule très vite lorsqu'on s'éloigne du noyau. Elle est donc non nulle là où on l'on fait une approximation en utilisant des pseudopotentiels. On comprend donc maintenant que les pseudopotentiels peuvent *a priori* poser un problème dans le calcul de spectres XANES.

Le code PARATEC utilise des pseudopotentiels de type Troullier-Martins [88], avec une seule composante pour chaque canal (ℓ, m) . Les pseudopotentiels de Troullier-Martins sont des potentiels qui conservent la norme¹. Le pseudopotentiel de l'atome de fer absorbeur

¹Les pseudopotentiels “norm-conserving” sont construits de telle façon que la norme des fonctions d'onde atomiques dites “all-electron” (ou exactes) soit égale à la norme des fonctions d'onde atomiques pseudonisées.

est généré en ne mettant au départ qu'un seul électron sur l'orbitale de cœur $1s$.

A.2. La méthode PAW

La méthode PAW (*Projector Augmented Wave*), introduite par Peter Blöchl en 1994 [13], permet de reconstruire la fonction d'onde dite *all electron* en appliquant un opérateur linéaire \mathcal{T} à la pseudo-fonction d'onde :

$$|\psi_f\rangle = \mathcal{T}|\tilde{\psi}_f\rangle. \quad (\text{A.2})$$

Cet opérateur linéaire diffère de l'identité par une somme de contributions locales centrées sur les sites atomiques \mathbf{R} qui n'agissent qu'à l'intérieur de régions d'augmentation que l'on note $\Omega_{\mathbf{R}}$. Ces régions d'augmentation sont des sphères centrées sur les sites atomiques ; leurs rayons peuvent être choisis identiques aux rayons de coupure des pseudopotentiels. On écrit ainsi \mathcal{T} sous la forme :

$$\mathcal{T} = \mathbf{1} + \sum_{\mathbf{R},n} \left[|\phi_{\mathbf{R},n}\rangle - |\tilde{\phi}_{\mathbf{R},n}\rangle \right] \langle \tilde{p}_{\mathbf{R},n}|, \quad (\text{A.3})$$

où la fonction *all electron* $|\phi_{\mathbf{R},n}\rangle$ et la pseudo-fonction $|\tilde{\phi}_{\mathbf{R},n}\rangle$ sont des fonctions d'ondes partielles² qui coïncident en dehors des régions $\Omega_{\mathbf{R}}$. La fonction $\langle \tilde{p}_{\mathbf{R},n}|$ est appelée fonction de projection ; elle doit être choisie de façon à satisfaire les deux conditions suivantes : (i) elle doit être nulle en dehors des régions d'augmentation, (ii) elle doit vérifier

$$\langle \tilde{p}_{\mathbf{R},n} | \tilde{\phi}_{\mathbf{R}',n'} \rangle = \delta_{\mathbf{R}\mathbf{R}'} \delta_{nn'}. \quad (\text{A.4})$$

L'indice n correspond en fait à trois indices : les nombres quantiques (ℓ, m) et un nombre supplémentaire j utilisé s'il y a plus d'une fonction de projection $\langle \tilde{p}_{\mathbf{R},n}|$ par canal (ℓ, m) .

Les fonctions d'onde partielles $|\phi_{\mathbf{R},n}\rangle$ forment une base complète pour toute fonction d'onde *all electron* – autre que les fonctions d'onde de cœur – dans $\Omega_{\mathbf{R}}$. Par conséquent, les pseudo-fonctions d'onde partielles $|\tilde{\phi}_{\mathbf{R},n}\rangle$ forment aussi une base complète pour toute pseudo-fonction d'onde $|\tilde{\psi}\rangle$ dans $\Omega_{\mathbf{R}}$. Ainsi, quelle que soit la fonction $|\chi_{\mathbf{R}}\rangle$ centrée sur le site atomique \mathbf{R} et nulle en dehors de $\Omega_{\mathbf{R}}$, les fonctions de projection $|\tilde{p}_{\mathbf{R},n}\rangle$ et les pseudo-fonctions d'onde partielles $\langle \tilde{\phi}_{\mathbf{R},n}|$ vérifient :

$$\sum_n \langle \tilde{\psi} | \tilde{p}_{\mathbf{R},n} \rangle \langle \tilde{\phi}_{\mathbf{R},n} | \chi_{\mathbf{R}} \rangle = \langle \tilde{\psi} | \chi_{\mathbf{R}} \rangle. \quad (\text{A.5})$$

²Les solutions de l'équation de Schrödinger radiale pour l'atome isolé constitue un choix naturel pour les fonctions d'onde partielles *all electron* $|\phi_{\mathbf{R},n}\rangle$.

A. Calcul du XANES par une méthode de pseudopotentiels

Nous allons maintenant introduire ce formalisme dans l'expression de $\sigma(\omega)$ (Eq. A.1), plus précisément dans l'élément de matrice $\langle \psi_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle$:

$$\langle \psi_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle = \langle \tilde{\psi}_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle + \sum_{\mathbf{R},n} \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{p}_{\mathbf{R},n} \rangle \langle \phi_{\mathbf{R},n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle - \sum_{\mathbf{R},n} \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{p}_{\mathbf{R},n} \rangle \langle \tilde{\phi}_{\mathbf{R},n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle. \quad (\text{A.6})$$

Dans l'équation (A.6), la fonction d'onde de l'état initial $|\psi_i\rangle$ est localisée sur le site de l'atome absorbeur, que l'on note \mathbf{R}_0 . Donc les sommes sur les sites atomiques \mathbf{R} se résument à un seul terme :

$$\langle \psi_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle = \langle \tilde{\psi}_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle + \sum_n \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{p}_{\mathbf{R}_0,n} \rangle \langle \phi_{\mathbf{R}_0,n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle - \sum_n \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{p}_{\mathbf{R}_0,n} \rangle \langle \tilde{\phi}_{\mathbf{R}_0,n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle. \quad (\text{A.7})$$

En outre, il faut remarquer la fonction d'onde l'état initial est très localisée sur le site de l'atome absorbeur³. On peut choisir $\Omega_{\mathbf{R}_0}$ de telle façon que $|\psi_i\rangle$ soit nulle en dehors de $\Omega_{\mathbf{R}_0}$. On peut alors utiliser l'équation (A.5), en remplaçant $|\chi_{\mathbf{R}}\rangle$ par $\mathcal{O}|\psi_i\rangle$ pour le troisième terme du membre de droite de l'équation (A.7). Il ne reste alors qu'un seul terme :

$$\begin{aligned} \langle \psi_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle &= \langle \tilde{\psi}_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle + \sum_n \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{p}_{\mathbf{R}_0,n} \rangle \langle \phi_{\mathbf{R}_0,n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle - \langle \tilde{\psi}_f | \mathcal{O} | \psi_i \rangle \\ &= \sum_n \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{p}_{\mathbf{R}_0,n} \rangle \langle \phi_{\mathbf{R}_0,n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

Pour finir, on définit la fonction $|\tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0}\rangle$ par

$$|\tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0}\rangle = \sum_n |\tilde{p}_{\mathbf{R}_0,n}\rangle \langle \phi_{\mathbf{R}_0,n} | \mathcal{O} | \psi_i \rangle, \quad (\text{A.9})$$

et on obtient l'expression suivante pour la section efficace d'absorption décrite dans le formalisme des pseudopotentiels et de la méthode PAW :

$$\sigma(\omega) = 4\pi^2 \alpha_0 \hbar \omega \sum_f |\langle \tilde{\psi}_f | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle|^2 \delta(E_f - E_i - \hbar\omega). \quad (\text{A.10})$$

Bien que cette formulation de $\sigma(\omega)$ soit simple, il est difficile, en termes de coût de calcul, de l'utiliser telle quelle. Le calcul de spectres XANES par l'équation (A.10) demande de déterminer beaucoup d'états vides, $|\tilde{\psi}_f\rangle$, et ce pour une supercellule pouvant contenir plusieurs centaines d'atomes.

Pour éviter ce problème, le code PARATEC utilise une méthode récursive initialement proposée par Haydock, Heine et Kelly (1972, 1975) [43, 44], permettant de récrire $\sigma(\omega)$ sous la forme d'une fraction continue.

³Il s'agit d'une fonction d'onde 1s pour un seuil K .

A.3. La méthode récursive de Haydock, Heine et Kelly

Pour utiliser la méthode récursive dans le calcul de $\sigma(\omega)$, il est nécessaire de récrire l'équation (A.10) dans le formalisme des fonctions de Green.

On peut récrire l'équation(A.10) sous la forme

$$\sigma(\omega) = 4\pi^2 \alpha_0 \hbar \omega \sum_f \langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | \tilde{\psi}_f \rangle \delta(E_f - E_i - \hbar\omega) \langle \tilde{\psi}_f | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle,$$

faisant ainsi apparaître la partie imaginaire de la pseudo-fonction de Green $\tilde{G}(E)$ associée au pseudo-hamiltonien $\tilde{H} = \mathcal{T}^\dagger H \mathcal{T}$, qui est hermitique :

$$\tilde{G}(E) = (E - \tilde{H} + i\gamma)^{-1}, \quad (\text{A.11})$$

où l'énergie E est donnée par $E = E_i + \hbar\omega$ et γ est un nombre infinitésimal positif.

On a en effet :

$$\sum_f |\tilde{\psi}_f \rangle \delta(E_f - E_i - \hbar\omega) \langle \tilde{\psi}_f | = -\frac{1}{\pi} \text{Im}[\tilde{G}(E)]. \quad (\text{A.12})$$

Donc, la section efficace d'absorption devient :

$$\sigma(\omega) = -4\pi\alpha_0 \hbar \omega \text{Im} \left[\langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | (E - \tilde{H} + i\gamma)^{-1} | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle \right]. \quad (\text{A.13})$$

La méthode récursive va être utilisée pour récrire l'élément de matrice $\langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | (E - \tilde{H} + i\gamma)^{-1} | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle$ comme une fraction continue⁴. Elle comprend un algorithme performant qui s'applique à toute matrice hermitique dans le but de la tridiagonaliser. Cet algorithme de tridiagonalisation est connu sous le nom d'algorithme de Lanczos [59]. La base dans laquelle l'hamiltonien \tilde{H} a une forme tridiagonale symétrique est obtenue par l'action répétée de \tilde{H} sur le vecteur normalisé initial

$$|u_0\rangle = |\tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0}\rangle / \sqrt{\langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle}$$

La première itération définit le réel a_0 par $a_0 = \langle u_0 | \tilde{H} | u_0 \rangle$. Le deuxième vecteur de base, $|u_1\rangle$, et le réel b_1 sont ensuite obtenus par :

$$b_1 |u_1\rangle = \tilde{H} |u_0\rangle - a_0 |u_0\rangle,$$

⁴On peut remarquer qu'en introduisant la fonction de Green, on fait disparaître la somme sur les états vides. Mais on n'a pas pour autant résolu le problème du temps de calcul. En effet, le calcul de $\langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | (E - \tilde{H} + i\gamma)^{-1} | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle$ nécessite l'inversion d'une matrice pour chaque énergie E . C'est cette étape que nous voulons éviter par la méthode récursive.

A. Calcul du XANES par une méthode de pseudopotentiels

b_1 étant la norme du vecteur $\tilde{H}|u_0\rangle - a_0|u_0\rangle$. Les coefficients a_i et b_i suivants sont construits par la relation de récurrence :

$$\tilde{H}|u_i\rangle = a_i|u_i\rangle + b_{i+1}|u_{i+1}\rangle + b_i|u_{i-1}\rangle, \quad (\text{A.14})$$

avec

$$a_i = \langle u_i | \tilde{H} | u_i \rangle \quad (\text{A.15})$$

$$b_i = \langle u_{i-1} | \tilde{H} | u_i \rangle = \langle u_i | \tilde{H} | u_{i-1} \rangle \quad (\text{A.16})$$

Autrement dit, connaissant les coefficients a_i et b_i , ainsi que le vecteur $|u_i\rangle$, on obtient tout d'abord $b_{i+1}|u_{i+1}\rangle$ par la relation (A.14). On calcule ensuite la norme de ce terme, ce qui donne la valeur du coefficient b_{i+1} . On en déduit le vecteur $|u_{i+1}\rangle$. Enfin, on calcule a_{i+1} par la relation (A.15). La matrice \tilde{H} a alors la forme tridiagonale suivante⁵ :

$$\begin{pmatrix} a_0 & b_1 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ b_1 & a_1 & b_2 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & b_2 & a_2 & b_3 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & b_3 & a_3 & b_4 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & b_{n-1} & a_{n-1} & b_n \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & b_n & a_n \end{pmatrix}$$

La forme tridiagonale de la matrice \tilde{H} permet de récrire l'élément de matrice $\langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | (E - \tilde{H} + i\gamma)^{-1} | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle$ sous la forme d'une fraction continue, si bien que la section efficace s'écrit :

$$\sigma(\omega) = 4\pi\alpha\hbar\omega \times \text{Im} \frac{\langle \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} | \tilde{\varphi}_{\mathbf{R}_0} \rangle}{a_0 - E - i\gamma - \frac{b_1^2}{a_1 - E - i\gamma - \frac{b_2^2}{a_2 - E - i\gamma - \frac{b_3^2}{\ddots}}}} \quad (\text{A.17})$$

⁵Il peut être utile de noter que les coefficients a_i et b_i sont des réels.

Bibliographie

- [1] Calculations were performed with PARATEC (PARAllel Total Energy Code) by B. Pfrommer, D. Raczkowski, A. Canning, S. G. Louie, Lawrence Berkeley National Laboratory (avec les contributions de F. Mauri, M. Cote, Y. Yoon, Ch. Pickard and P. Haynes).
- [2] "CPMD V3.9.2 Copyright IBM Corp 1990-2003, Copyright MPI für Festkoerperforschung Stuttgart 1997-2001".
- [3] F. De Angelis, A. A. Jarzęcki, R. Car, and T. G. Spiro. Quantum chemical evaluation of protein control over heme ligation : CO/O₂ discrimination in myoglobin. *J. Phys. Chem. B*, 109 :3065–3070, 2005.
- [4] A. Arcovito, M. Benfatto, M. Cianci, S. S. Hasnain, K. Nienhaus, G. U. Nienhaus, Carmelinda C. Savino, R. W. Strange, B. Vallone, and S. Della Longa. X-ray structure analysis of a metalloprotein with enhanced active-site resolution using in situ x-ray absorption near edge structure spectroscopy. *PNAS*, 104(15) :6211–6216, 2007.
- [5] I. Ascone, W. Meyer-Klaucke, and L. Murphy. Experimental aspects of biological X-ray absorption spectroscopy. *Journal of Synchrotron Radiation*, 10(1) :16–22, 2003.
- [6] P. Ballone and R. O. Jones. Structure and spin in small iron clusters. *Chemical Physics Letters*, 233(5-6) :632–638, 1995.
- [7] A. D. Becke. A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories. *J. Chem. Phys.*, 98 :1372–1377, 1993.
- [8] A.D. Becke. Density functional calculations of molecular bond energies. *J. Chem. Phys.*, 84 :4524–4529, 1986.
- [9] F. Béland, A. R. Badiei, M. Ronning, D. Nicholson, and L. Bonneviot. UV-visible, XANES and EXAFS investigations of a cobalt complex grafted in micelle templated silica. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 1(4) :605–613, 1999.
- [10] M. Benfatto, S. Della Longa, and C. R. Natoli. The MXAN procedure : a new method for analysing the XANES spectra of metalloproteins to obtain structural quantitative information. *J. Synchrotron Rad.*, 10 :51–57, 2003.

- [11] A. Bianconi, A. Congiu-Castellano, P. J. Durham, S. S. Hasnain, and S. Phillips. The CO bond angle of carboxymyoglobin determined by angular-resolved xanes spectroscopy. *Nature*, 318(6047) :685–687, 1985.
- [12] A. Bigotto, E. Zangrando, and L. Randaccio. Structural chemistry of alkylcobaloximes. structural evidence for a hydroxocobaloxime and molecular structure of trans-bis(dimethylglyoximate)methylpyridinecobalt(III). *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 104 :96, 1976.
- [13] P. E. Blöchl. Projector Augmented-wave method. *Phys. Rev. B*, 50(24) :17953–17979, 1994.
- [14] M. Bolognesi, C. Rosano, R. Losso, A. Borassi, M. Rizzi, J.-B. Wittenberg, A. Boffi, and P. Ascenzi. Cyanide binding to lucina pectinata hemoglobin and to sperm whale myoglobin : an x-ray crystallographic study. *Biophys. J.*, 77(2) :1093–1099, 1999.
- [15] C. H. Booth and F. Bridges. Improved self-absorption correction for fluorescence measurements of extended x-ray absorption fine-structure. *Physica Scripta*, 2005(T115) :3, 2005.
- [16] C. Bresson, S. Esnouf, C. Lamouroux, P. L. Solari, and C. Den Auwer. XAS investigation of biorelevant cobalt complexes in aqueous media. *New Journal of Chemistry*, 30 :416–424, 2006.
- [17] V. Briois, C. Cartier, M. Momenteau, P. Maillard, J. Zarembowitch, E. Dartyge, A. Fontaine, G. Tourillon, P. Thuery, and M. Verdagner. X-ray absorption spectroscopy at *K*-edge - molecular-complexes of cobalt. *Journal de Chimie Physique*, 86 :1623, 1989.
- [18] Ch. Brouder. Angular dependence of x-ray absorption spectra. *Journal of Physics : Condensed Matter*, 2(3) :701–738, 1990.
- [19] E. A. Brucker, J. S. Olson, M. Ikeda-Saito, and G. N. Phillips Jr. Nitric oxide myoglobin : Crystal structure and analysis of ligand geometry. *Proteins : Structure, Function, and Genetics*, 32(4) :352–356, 1998.
- [20] Natoli C. R. *EXAFS and Near Edge Structure III*. Springer Proc. Phys., 1984.
- [21] D. Cabaret, E. Gaudry, M. Taillefumier, Ph. Sainctavit, and F. Mauri. XANES calculation with an efficient “non muffin-tin” method : application to the angular dependence of the Al *K*-edge in corundum. *Physica Scripta, Proc. XAFS-12 conference*, T115 :131–133, 2005.
- [22] D. Cabaret, Y. Joly, H. Renevier, and C.R. Calogero. Pre-edge structure of Ti *K*-edge

- polarized X-ray absorption spectra in TiO_2 by full-potential XANES calculations. *J. Synchrotron Rad.*, 6 :258–260, 1999.
- [23] Delphine Cabaret. *Théorie de la diffusion multiple comme modèle de l'absorption des rayons X : applications aux seuils K de l'aluminium et du magnésium dans des géomatériaux*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie, 1997.
- [24] R. Car and M. Parrinello. Unified approach for molecular dynamics and density-functional theory. *Phys. Rev. Lett.*, 55 :2471, 1985.
- [25] C. Cartier, M. Momenteau, E. Dartyge, A. Fontaine, G. Tourillon G, A. Michalowicz, and M. Verdagner. X-ray absorption-spectroscopy of iron-(II) and iron-(III) basket-handle porphyrins. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions*, (4) :609–618, 1992.
- [26] P. M. Champion, F. Rosca, D. Ionascu, W. Cao, and X. Ye. Rapid timescale processes and the role of electronic surface coupling in the photolysis of diatomic ligands from heme proteins. *Faraday Discussions*, 127 :123–135, 2004.
- [27] F. Champloy, K. Grüber, G. Jogl, and C. Kratky. XAS spectroscopy reveals x-ray-induced photoreduction of free and protein-bound B_{-12} cofactors. *Journal of Synchrotron Radiation*, 7(4) :267–273, 2000.
- [28] X. Cheng and B. P. Schoenborn. Neutron Diffraction Study of Carbonmonoxymyoglobin. *J. Mol. Biol.*, 220 :381–399, 1991.
- [29] S. P. Cramer. *X-ray absorption principles, applications, techniques of EXAFS, SEXAFS and XANES*, chapter Biochemical Application of X-ray Absorption Spectroscopy., pages 257–320. John Wiley, 1988.
- [30] J. Danielsson and M. Meuwly. Molecular dynamics simulations of CN^- dynamics and spectroscopy in myoglobin. *ChemPhysChem*, 8(7) :1077–1084, 2007.
- [31] P. D'Angelo, M. Benfatto, S. Della Longa, and N. V. Pavel. Combined xanes and exafs analysis of Co^{2+} , Ni^{2+} , and Zn^{2+} aqueous solutions. *Phys. Rev. B*, 66(6) :064209, 2002.
- [32] P. J. Durham, J. B. Pendry, and C. H. Hodges. Calculation of x-ray absorption near-edge structure, XANES. *Computer Physics Communications*, 25, 1982.
- [33] J. H. Enemark and R. D. Feltham. Transition metal complexes of nitric oxide. *Abstracts of papers of the american chemical society*, 211(1) :349, 1996.
- [34] G. Galli and M. Parrinello. *Computer Simulation in Materials Science*, volume 205 of *E*, chapter *Ab initio* molecular dynamics : principles and practical implementation, pages 284–304. Dordrecht Boston : Kluwer, nato asi edition, 1991.

- [35] E. Gaudry. *Structure Locale Autour Des Impuretés Dans Les Gemmes, Étudiée Par Spectroscopie Et Calculs Ab Initio*. PhD thesis, Université de Pierre et Marie Curie (Paris 6), 2004.
- [36] E. Gaudry, D. Cabaret, Ch. Brouder, I. Letard, A. Rogalev, F. Wilhlem, N. Jaouen, and Ph. Saintavit. Relaxations around the substitutional chromium site in emerald : X-ray absorption experiments and density functional calculations. *Phys. Rev. B*, 76 :094110, 2007.
- [37] E. Gaudry, D. Cabaret, Ph. Saintavit, Ch. Brouder, F. Mauri, J. Goulon, and A. Rogalev. Structural relaxations around Ti, Cr and Fe impurities in α -Al₂O₃ probed by x-ray absorption near edge structure combined with first-principles calculations. *J. Phys. : Condens. Matter*, 17 :5467–5480, 2005.
- [38] M. Giorgetti, I. Ascone, M. Berrettoni, P. Conti, S. Zamponi, and R. Marassi. In situ x-ray absorption spectroelectrochemical study of hydroxocobalamin. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 5 :156–166, 2000.
- [39] J. Goulon, C. Goulon-Ginet, R. Cortes, and J. M. Dubois. On experimental attenuation factors of the amplitude of the EXAFS oscillations in absorption, reflectivity and luminescence measurements. *Journal de physique*, 43(3) :539–548, 1982.
- [40] O. Haas, RPJW Struis, and J. M. McBreen. Synchrotron X-ray absorption of LaCoO₃ perovskite. *Journal of Solid State Chemistry*, 177 :1000–1010, 2004.
- [41] J Halpern. Mechanisms of coenzyme b₁₂-dependent rearrangements. *Science*, 227(4689) :869–875, 1985.
- [42] R. Haydock, V. Heine, and M. J. Kelly. Electronic structure based on the local atomic environment for tight-binding bands. *J. Phys. C : Solid State Phys.*, 5 :2845–2858, 1972.
- [43] R. Haydock, V. Heine, and M. J. Kelly. Electronic structure based on the local atomic environment for tight-binding bands : II. *J. Phys. C : Solid State Phys.*, 8 :2591–2605, 1975.
- [44] J. Jaklevic, J. A. Kirby, M. P. Klein, and A. S. Robertson. *Solid State Commun.*, 23 :679–682, 1977.
- [45] P. Jewsbury and T. Kitgawa. The distal residue-CO interaction in carbonmonoxy myoglobins : A molecular dynamics study of two distal histidine tautomers. *Biophys. J.*, 67 :2236–2250, 1994.
- [46] Y. Joly. X-ray absorption near-edge structure calculations beyond the muffin-tin approximation. *Phys. Rev. B*, 63 :125120, 2000.

- [47] A. Juhin, C. Brouder, M.-A. Arrio, D. Cabaret, P. Saintavit, E. Balan, A. Bordage, G. Calas, S. G. Eeckhout, and P. Glatzel. X-ray linear dichroism in cubic compounds : the case of Cr^{3+} in MgAl_2O_4 . *submitted to Phys. Rev. B*, 2008.
- [48] G. S. Kachalova, A. N. Popov, and H. D. Bartunik. A steric mechanism for inhibition of CO binding to heme protéins. *Science*, 284 :473–476, 1999.
- [49] J. C. Kendrew. The three-dimensional structure of a protein molecule. *Sci. Amer.*, 205(6) :9611, 1961.
- [50] J. C. Kendrew. Myoglobin and the structure of proteins. *Science*, 139 :1259–1266, 1963.
- [51] J. C. Kendrew and R. G. Parrish. The crystal structure of myoglobin. III. sperm-whale myoglobin. *Proc. R. Soc. London Ser. A (1934-1990)*, 238 :305–324, 1957.
- [52] O. Kleifeld, L. Rulisek, O. Bogin, A. Frenkel, Z. Havlas, Y. Burstein, and I Sagi. Higher metal-ligand coordination in the catalytic site of cobalt-substituted thermoanaerobacter brockii alcohol dehydrogenase lowers the barrier for enzyme. *Biochemistry*, 43(22) :7151–7161, 2004.
- [53] H. Kon and N. Kataoka. EPR of NO-protoheme complexes with some nitrogenous base. model systems of no hemoproteins. *Biochemistry*, 8 :4757–4762, 1969.
- [54] N. Kosugi, T. Yokoyama, K. Asakura, and H. Kuroda. Polarized Cu K-edge XANES of square planar CuCl_2^- ion. experimental and theoretical evidence for *shake-down* phenomena. *Chemical Physics*, 91 :249–256, 1984.
- [55] M. O. Krause and J. H. Oliver. Natural widths of atomic K and L levels, $K \alpha$ x-ray lines and several kll auger lines. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 8 :329–338, April 1979.
- [56] J. Kuriyan, G. A. Petsko, S. Wilz, and M. Karplus. X-ray structure and refinement of carbon-monoxo myoglobin at 1.15 angstrom resolution. *J. Mol. Biol.*, 192 :133–154, 1986.
- [57] B. Kushkuley and S. S. Stavrov. *Biochim. Biophys. Acta–Prot. Str. Mol. Enzym.*, 1341 :238–?250, 1997.
- [58] C. Lanczos. An iterative method for the solution of eigenvalue problem of linear differential and integral operators. *J. Res. National Bureau. Stand.*, 45 :255–282, 1950.
- [59] C. Lee, W. Yang, and R. G. Parr. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, 37 :785, 1988.

- [60] S. Della Longa, A. Arcovito, M. Girasole, J. L. Hazemann, and M. Benfatto. Quantitative analysis of x-ray absorption near edge structure data by a full multiple scattering procedure : The Fe-CO geometry in photolyzed carbonmonoxy-myoglobin single crystal. *Phys. Rev. Letters*, 87 :155501, 2001.
- [61] S. Della Longa, A. Arcovito, B. Vallone, A. Congiu Castellano, R. Khan, J. Vicat, Y. Soldo, and J.L. Hazemann. Polarized x-ray absorption spectroscopy of the low temperature photoproduct of carbonmonoxy-myoglobin. *J. Synchrotron Rad.*, 6 :1138–1147, 1999.
- [62] S. Della Longa and M. Benfatto. Probing the coordination and geometry of heme-iron ligands in hemoproteins by XANES. Transworld Research Network, India 2002.
- [63] N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, and E. Teller. Equation of state calculations by fast computing machines. *Journal of Chemical Physics*, 21 :1087–1092, 1953.
- [64] A. Mimouni, J. Moscovici, and A. Michalowicz. XAS study of vitamin B₁₂ derivatives and related compounds. *Journal de physique*, C2(7) :623–624, 1997.
- [65] H. J. Monkhorst and J. D. Pack. Special points for Brillouin-zone integrations. *Phys. Rev. B*, 13 :5188–5192, 1976.
- [66] C. R. Natoli, M. Benfatto, S. Della Longa, and K. Hatada. X-ray absorption spectroscopy : state-of-the-art analysis. *Journal of Synchrotron Radiation*, 10(1) :26–42, Jan 2003.
- [67] J. E. Penner-Hahn. Characterization of 'spectroscopically quiet' metals in biology. *Coord. Chem. Rev.*, 249 :161–177, 2005.
- [68] J. P. Perdew. Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev. B*, 33 :8822–8824, 1986.
- [69] J. P. Perdew, S. Burke, and M. Ernzerhof. Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.*, 77 :3865, 1996.
- [70] M. F. Perutz. Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin : Haem-haem interaction and the problem of allostery. *Nature*, 228 :726, 1970.
- [71] Nicola Marzari P.H.-L. Sit, M. Cococcioni. Car-Parrinello molecular dynamics in the DFT + U formalism : Structure and energetics of solvated ferrous and ferric ions. *Journal of Electroanalytical Chemistry, Theoretical and Computational Electrochemistry*, 607(1-2) :107–112, 2007.
- [72] B. Rabenstein and E.-W. Knapp. Calculated pH-dependent population and protonation of carbon-monoxy-myoglobin conformers. *Biophys. J.*, 80 :1141–1150, 2001.

- [73] A. L. Roe, D. J. Schneider, R. J. Mayer, J. W. Pyrz, J. Widom, and Jr. L. Que. X-ray absorption spectroscopy of iron-tyrosinate proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, 106 :1676–1681, 1984.
- [74] C. Rovira, X. Biarnès, and K. Kunc. Structure-energy relations in methylcobalamin with and without bound axial base. *Inorganic Chemistry*, 43(21) :6628–6632, 2004.
- [75] C. Rovira, B. Shulze, M. Eichinger, J. Evanseck, and M. Parrinello. Influence of the heme pocket conformation on the structure and vibrations of the Fe-CO bond in myoglobin : A QM/MM density functional study. *Biophys. J.*, 81 :435–445, 2001.
- [76] Ulf Ryde. Accurate metal-site structures in proteins obtained by combining experimental data and quantum chemistry. *Dalton Transactions*, (6) :607–625, 2007.
- [77] J. T. Sage and W. Jee. Marriage of XAFS and crystallography for structure-function studies of metalloproteins. *Journal of Synchrotron Radiation*, 10 :9–15, 2003.
- [78] W.R. Scheidt and M.K. Ellison. The synthetic and structural chemistry of heme derivatives with nitric oxide ligands. *Accounts of Chemical Research*, 32(4) :350–359, 1999.
- [79] I. Schlichting, J. Berendzen, G.N. Phillips Jr, and R.M. Sweet. Crystal structure of photolysed carbonmonoxymyoglobin. *Nature*, 371 :808–812, 1994.
- [80] G. N. Schrauzer, L.-P. Lee, and J. W. Sibert. Alkylcobalamins and alkylcobaloximes. electronic structure, spectra, and mechanism of photodealkylation. *J. Am. Chem. Soc.*, 92 :2997–3005, 1970.
- [81] Brita G. Schulze-Fiehn. *Theoretical Assessment of Global and Local Motions in Carbonmonoxy Myoglobin and their Functional Significance*. PhD thesis, University of Miami, Florida, May 1999.
- [82] S. E. Shadle, J. E. Penner-Hahn, H. J. Schugar, B. Hedman, K. O. Hodgson, and E. I. Solomon. X-ray absorption spectroscopic studies of the blue copper site : metal and ligand K-edge studies to probe the origin of the EPR hyperfine splitting in plastocyanin. *J. Am. Chem. Soc.*, 115 :767–776, 1993.
- [83] L. Stryer. *La biochimie de L. Stryer*. Medecine Sciences. Flammarion, Paris, 1985.
- [84] T.-Y. Teng and V. Šrajcar and K. Moffat. Photolysis-induced structural changes in single crystals of carbonmonoxy myoglobin at 40 K. *Structural Biology*, 1(10) :701, 1994.
- [85] M. Taillefumier, D. Cabaret, A.-M. Flank, and F. Mauri. X-ray absorption near-edge structure calculations with pseudopotentials. application to K-edge in diamond and α -quartz. *Phys. Rev. B*, 66 :195107, 2002.

- [86] P. Giannozzi *et al.* Quantum-ESPRESSO.
- [87] T. Toreki. Organometallic HyperTextBook, <http://www.ilpi.com/organomet/carbonyl.html>.
- [88] N. Troullier and J. L. Martins. Efficient pseudopotentials for plane-wave calculations. *Phys. Rev. B*, 43 :1993–2006, 1991.
- [89] D. Vanderbilt. Soft self-consistent pseudopotentials in a generalized eigenvalue formalism. *Phys. Rev. B*, 41 :7892, 1990.
- [90] D. Vitkup, G. A. Petsko, and M. Karplus. A comparison between molecular dynamics and x-ray results for dissociated co in myoglobin. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 4 :202–208, 1997/03.
- [91] J. Vojtěchovský, K. Chu, J. Berendzen, R.M. Sweet, and I. Schlichting. Crystal structures of myoglobin-ligand complexes at near-atomic resolution. *Biophys. J.*, 77 :2153, 1999.
- [92] B. B. Wayland, J. V. Minkiewicz, and M. E. Abd-Elmageed. Spectroscopic studies for tetraphenylporphyrin-cobalt(II) complexes of CO, NO, O₂, RCN, and (RO)₃P, and a bonding model for complexes of CO, NO, and O₂ with Co(II) and Fe(II) porphyrins. *J. Am. Chem. Soc.*, 96 :2795–2801, 1974.
- [93] P.J.W. Weijs, M.T. Czyzyk, J.F. van Acker, W. Speier, J.B. Goedkoop, H. van Leuken, H.J.M. Hendrix, R.A. de Groot, G. van der Laan, K.H.J. Buschow, G. Wiech, and J.C. Fuggle. Core-hole effects in the x-ray-absorption spectra of transition-metal silicides. *Physical Review B*, 41 :11899–11910, 1990.
- [94] F. Yang and G. N. Phillips Jr. Crystal structures of CO-, Deoxy-, and met-myoglobins at various pH values. *J. Mol. Biol.*, 256 :762–774, 1996.