



Étude théorique des mécanismes d'oxydation de thiols en milieu d'intérêt biologique

Bruno Cardey

► To cite this version:

Bruno Cardey. Étude théorique des mécanismes d'oxydation de thiols en milieu d'intérêt biologique. Biochimie [q-bio.BM]. Université de Franche-Comté, 2007. Français. NNT: . tel-00435559

HAL Id: tel-00435559

<https://theses.hal.science/tel-00435559>

Submitted on 24 Nov 2009

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.



Université de Franche-Comté

École Doctorale Louis Pasteur

Thèse de Doctorat

Spécialité Chimie

présentée par

Bruno Cardey

Étude théorique des mécanismes
d'oxydation de thiols
en milieu d'intérêt biologique

Thèse dirigée par Mironel Enescu

Laboratoire de Microanalyses Nucléaires - Alain Chambaudet - UMR CEA E4

Soutenue le 12 décembre 2007 devant la Commission d'Examen

Rapporteurs :	X. Assfeld	Professeur, Université Henri Poincaré (Nancy)
	S. Humbel	Professeur, Université Paul Cézanne (Marseille)
Examineurs :	Ch. Houée-Levin	Professeur, Université Paris Sud (Orsay)
	G. Jolicard	Professeur, Université de Franche-Comté (Besançon)
	G. Herlem	Maître de Conférences, Université de Franche-Comté (Besançon)
	M. Enescu	Professeur, Université de Franche-Comté (Besançon)

Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier très sincèrement Mironel Enescu, pour avoir dirigé cette thèse en restant toujours aussi exigeant, que patient et compréhensif. J'ai bénéficié d'un encadrement idéal et si ces trois années ont été une réussite (pour moi tout du moins), une grande partie du mérite lui revient.

Je souhaite remercier également Michel Fromm pour m'avoir accueilli au LMN-AC (devenu LCPR-AC entre temps), ainsi que tous les permanents du laboratoire : Manuel Grivet, Sarah Foley, Christelle Brun-Bergeon, Christophe Mavon, Franck Berger, JB Sanchez, Jean-Emmanuel Groetz, ainsi que Sylvie Petot-Visini au secrétariat. Merci aussi aux thésards du laboratoire : Nicolas, François, Mehdi, Zayd, Omar, Sylvain, Eric... pour leur bonne humeur. J'ai beaucoup apprécié cet environnement de travail, où la décontraction n'empêchait pas le sérieux et l'assiduité.

Merci également à :

- Ma famille (parents, grands-parents, frères, oncles, tantes et cousins...) et mes amis pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette thèse,
- Jean-Emmanuel, Nico et François, pour leur aide précieuse avec L^AT_EX,
- Manu, pour ses bons conseils et pour m'avoir accueilli dans son bureau en fin de thèse,
- Nelly, Béa et Françoise, pour leur relecture attentive du manuscrit de thèse,
- Joanne, pour m'avoir supporté patiemment en fin de thèse.

Enfin, j'ai une pensée particulière pour Charles Lausecker, mon grand-père, qui a toujours montré un grand intérêt pour mon travail, même gravement malade sur son lit d'hôpital. Il nous a quittés deux petits mois avant la soutenance de cette thèse, à laquelle il aurait certainement apprécié d'assister. Je lui dédie affectueusement ce travail.

Abstract

La compréhension du phénomène de stress oxydant est devenue un des enjeux majeurs de la biochimie, en particulier depuis le début des années 70. Ce déséquilibre de la balance d'oxydoréduction au sein des cellules est impliqué dans un si grand nombre de pathologies graves (dont la plupart des cancers, pour ne citer qu'eux) qu'il est devenu crucial de cerner ses origines et ses mécanismes, pour envisager une prévention et des traitements plus efficaces.

Nous nous sommes intéressés aux interactions existant entre les thiols (qui sont les acteurs principaux de la lutte antioxydante) et trois agents oxydants importants : le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyle et superoxyde. Malgré le nombre important d'études dédiées à ce sujet, les mécanismes de ces réactions n'étaient pas clairement identifiés, c'est pourquoi nous avons pensé qu'une étude théorique pourrait apporter des éclaircissements utiles. En effet, la connaissance des mécanismes de réaction permettrait d'une part de faciliter l'interprétation des données expérimentales, et d'autre part d'envisager plus efficacement d'éventuels traitements basés sur l'inhibition ou la catalyse de ces réactions.

Nous avons utilisé des méthodes *ab initio* de chimie quantique permettant d'atteindre une précision "chimique", par exemple la méthode par interaction de configuration quadratique (QCI). Ces techniques impliquent des temps de calcul relativement longs, ce qui nous a incités à modéliser les thiols par de petites molécules comme le méthanethiol et le résidu cystéine. Les mécanismes des trois réactions étudiées ont été identifiés, et nos travaux ont démontré l'importance que peuvent avoir les effets environnementaux (comme la présence de liaisons hydrogène ou la constante diélectrique du milieu) sur les cinétiques de réaction.

Abstract

Since the early 70's, understanding oxidative stress has become one of the main purposes of biochemistry. This imbalance of the intracellular redox equilibrium is implied in so many serious pathologies that it has become crucial to understand its origins and mechanisms, to envisage preventive measures and more effective therapies.

We have studied the interactions between thiols (the main actors of antioxidant response) and three important oxidant agents : hydrogen peroxide, and the superoxide and hydroxyl radicals. Despite the important number of studies dedicated to this topic, the mechanisms of reaction were not clearly identified. Thus, we have thought that a theoretical study could provide useful information about these reactions. This could help interpreting experimental data and conceiving new therapies based on the inhibition or catalysis of these reactions.

We have used high-level methods of the molecular orbital theory, allowing to reach a "chemical" precision (configuration interaction methods, for example). Since they imply a relatively long CPU time, we have modeled thiols by small molecules such as the methanethiol, and the cysteine residue.

The mechanisms of these three oxidations have been identified, and our work has emphasized the high influence of environmental effects (H-bonds and hydrophobicity, among others) on the reaction kinetics.

Table des matières

Remerciements	i
Résumé	iii
Abstract	vii
Table des matières	ix
Liste des abréviations	x
Introduction	1
1 Contexte et intérêt biologique	3
1.1 Le stress oxydant	4
1.2 L'oxydation des thiols	9
1.3 Objectifs de l'étude	15
2 Méthodologie	17
2.1 Les différents niveaux de théorie	18
2.2 Jeux de fonctions de base	34
2.3 Calcul de l'énergie libre de Gibbs	38
2.4 Calcul de la constante de vitesse de réaction	45
2.5 Protocole	50
2.6 Moyens de calcul utilisés	52
3 Oxydation de thiols par le radical hydroxyle	53
3.1 État des connaissances	54
3.2 Méthodologie	55
3.3 Résultats	56
3.4 Conclusions	70

4	Oxydation de thiols et de sélénols par le peroxyde d'hydrogène	73
4.1	État des connaissances	74
4.2	Méthodologie	75
4.3	Oxydation du méthaneithiolate et du méthanesélénolate par le peroxyde d'hydrogène	77
4.4	Oxydation de la cystéine et de la sélénocystéine par le peroxyde d'hydrogène	84
4.5	Conclusions	93
5	Oxydation de thiols par le radical superoxyde	95
5.1	État des connaissances	96
5.2	Méthodologie	97
5.3	Résultats	98
5.4	Conclusions	111
	Conclusions	113
	Bibliographie	115

Liste des abréviations

Pour des raisons de lisibilité la signification d'une abréviation ou d'un acronyme n'est souvent rappelée qu'à sa première apparition dans le texte d'un chapitre. Par ailleurs, puisque nous utilisons toujours l'abréviation la plus usuelle, il est fréquent que ce soit le terme anglais qui soit employé auquel cas nous présentons une traduction.

Å	angström	angström
AD ou A	adduit	adduct
ADN	acide désoxyribonucléique	desoxyribonucleic acid
amu	unité de masse atomique	atomic mass unit
ARN	acide ribonucléique	ribonucleic acid
BSSE	erreur de superposition des jeux de fonctions de base	basis set superposition error
CC	(méthode des) clusters couplés	coupled cluster (method)
CCSD	(méthode des) clusters couplés prenant en compte les excita- tions simples et doubles	coupled cluster (method) with single and double excitations
CCSD(T)	(méthode des) clusters couplés prenant en compte les excita- tions simples, doubles et triples	coupled cluster (method) with single, double and triple exci- tations
CI	(méthode par) interaction de configuration	configuration interaction (me- thod)
CISD	(méthode par) interaction de configuration prenant en compte les excitations simples et doubles	configuration interaction (me- thod) with single and double excitations

DFT	théorie de la fonctionnelle de la densité	density functional theory
ERO	espèce réactive de l'oxygène	reactive oxygen species
FCI	(méthode par) interaction de configuration complète	full configuration interaction (method)
FR	réactifs libres	free reactants
FP	produits libres	free products
HF	Hartree-Fock	Hartree-Fock
GGA	approximation du gradient généralisé	generalised gradient approximation
GPx	glutathion peroxydase	glutathione peroxidase
GSH	glutathion	glutathione
IMOMO	(méthode) par orbitales moléculaires + orbitales moléculaires intégrées	integrated molecular orbital + molecular orbital
IP	produit intermédiaire	intermediate product
IPCM	modèle du continuum polarisable à isodensité	isodensity polarizable continuum model
IRC	(calcul suivant la) coordonnée de réaction intrinsèque	intrinsic reaction coordinate (calculation)
kJ	kilojoule	kilojoule
kcal	kilocalorie	kilocalorie
LCAO	combinaison linéaire d'orbitales atomiques	linear combination of atomic orbitals
LDA	approximation de la densité locale	local density approximation
LMO	orbitale moléculaire locale	local molecular orbital
LSDA	approximation de la densité locale de spin	local spin density approximation
MK	Merz-Kollman	Merz-Kollman
MM	mécanique moléculaire	molecular mechanics
Mn-SOD	superoxyde dismutase à manganèse	manganese superoxide dismutase
MO	orbitale moléculaire	molecular orbital

MP	(méthode) Møller-Plesset	Møller-Plesset (method)
NADH	nicotinamide adénine dinucléotide	nicotinamide adenine dinucleotide
NADPH	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NPA	analyse des populations (électroniques) naturelles	natural (electronic) population analysis
PC	complexe de produits	products complex
PCM	modèle du continuum polarisable	polarizable continuum model
PMP	projection de spin de la méthode Møller-Plesset	spin-projected Møller-Plesset
QCI	(méthode par) interaction de configuration quadratique	quadratic configuration interaction (method)
QCISD	(méthode par) interaction de configuration quadratique prenant en compte les excitations simples et doubles	quadratic configuration interaction (method) with single and double excitations
QCISD(T)	(méthode par) interaction de configuration quadratique prenant en compte les excitations simples, doubles et triples	quadratic configuration interaction (method) with single, double and triple excitations
QM/MM	(méthode combinant) mécanique quantique et mécanique moléculaire	(method combining) quantum mechanics and molecular mechanics
RC	complexe de réactifs	reactants complex
RHF	(méthode) Hartree-Fock restreinte	restricted Hartree-Fock (method)
ROS	espèce réactive de l'oxygène	reactive oxygen species
s	seconde	second
SCF	champ autocohérent	self-consistent field
SDRA	syndrome de détresse respiratoire aigu	acute respiratory distress syndrome
SEP	surface d'énergie potentielle	potential energy surface
SOD	superoxyde-dismutase	superoxide dismutase

SPE	énergie à point fixe	single point energy
STO	orbitale de type Slater	Slater-type orbital
TS	état de transition	transition state
TST	théorie de l'état de transition	transition state theory
UHF	(méthode) Hartree-Fock non restreinte	unrestricted Hartree-Fock (method)
UMP	(méthode) Møller-Plesset non restreinte	unrestricted Møller-Plesset (method)
UV	ultraviolet	ultraviolet
VTST	théorie de l'état de transition variationnelle	variational transition state theory

Introduction

La compréhension du phénomène de *stress oxydant* est devenue un des enjeux majeurs de la biochimie, en particulier depuis le début des années 90. Ce déséquilibre de la balance d'oxydoréduction au sein des cellules est impliqué dans un tel nombre de pathologies graves différentes (dont la plupart des cancers, pour ne citer qu'eux) qu'il est devenu crucial de cerner ses origines et ses mécanismes, pour envisager une prévention et des traitements plus efficaces.

Lors de cette thèse, nous nous sommes intéressés aux interactions existant entre les thiols (qui sont les acteurs principaux de la lutte antioxydante) et trois agents oxydants importants : le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyle et superoxyde. Nous avons été surpris de constater que malgré le nombre important d'études dédiées à ce sujet, les mécanismes de ces réactions n'étaient pas clairement identifiés. Les données publiées sont parfois contradictoires, c'est pourquoi nous avons pensé qu'une étude théorique pourrait apporter des éclaircissements utiles. En effet, la connaissance des mécanismes de réaction permettrait d'une part de faciliter l'interprétation des données expérimentales, et d'autre part d'envisager plus efficacement d'éventuels traitements basés sur l'inhibition ou la catalyse de ces réactions.

Toutefois, une étude théorique ne contribuerait significativement à la connaissance des mécanismes de réaction que si le choix des méthodes utilisées est judicieux. Nous avons donc décidé de n'utiliser que des méthodes *ab initio* d'orbitales moléculaires permettant d'atteindre une précision "chimique", par exemple la méthode par interaction de configuration quadratique (QCI). Ces techniques impliquant des temps de calcul relativement longs, notre stratégie nous a obligés à modéliser les thiols par de petites molécules comme le méthane-thiol. L'extension à des systèmes plus larges tel le modèle de résidu cystéine a été possible grâce à la méthode IMOMO, qui conserve un degré de précision élevé pour le coeur réactif du système. Cette approche, qui consiste à étudier des systèmes modèles de taille réduite, est basée sur l'hypothèse que l'environnement moléculaire dans lequel

ils se trouvent peut être considéré comme une perturbation qui n'affecte pas l'essence des mécanismes réactionnels étudiés. Évidemment, cette hypothèse n'est pas valable dans tous les cas.

Dans ce mémoire, nous avons commencé par décrire le contexte biologique dans lequel s'inscrivent les trois réactions chimiques étudiées (Chapitre 1). Le phénomène de stress oxydant y est présenté, en particulier les premiers rôles joués par les thiols et les agents oxydants concernés par ce travail. Nous avons ensuite décrit les méthodes de calcul *ab initio* utilisées, ainsi que les outils thermodynamiques dont nous nous sommes servis pour analyser les données brutes (Chapitre 2).

Dans les trois chapitres suivants, nous avons exposé et discuté les résultats obtenus. L'interaction entre les thiols et le radical hydroxyle est la première étudiée (Chapitre 3). Nous avons utilisé le méthane-thiol comme modèle dans un premier temps, avant d'étendre l'analyse au cas du résidu cystéine. Ensuite, nous nous sommes intéressés à la réduction du peroxyde d'hydrogène par les thiols, mais également par les sélénols (Chapitre 4). L'étude de ces derniers nous a permis de faire un premier pas vers la compréhension du fonctionnement de l'enzyme glutathion-péroxydase, un autre acteur important de la régulation antioxydante. Nous avons ensuite étudié la réaction d'oxydation des thiols par le radical superoxyde, dont le mécanisme est assez controversé (Chapitre 5).

Nous portons enfin, dans la section des conclusions, un regard global sur la signification des résultats présentés dans ce mémoire ainsi que sur les perspectives ouvertes par ce travail.

Chapitre 1

Contexte et intérêt biologique

Sommaire

1.1	Le stress oxydant	4
1.1.1	Généralités	4
1.1.2	Conséquences chimiques	5
1.1.2.1	La peroxydation lipidique	5
1.1.2.2	Dommages causés à l'ADN	6
1.1.2.3	Dommages causés aux protéines	7
1.1.3	Mécanismes de défense contre le stress oxydant	8
1.2	L'oxydation des thiols	9
1.2.1	Les thiols	9
1.2.2	Agents oxydants	11
1.2.2.1	Le radical hydroxyle	11
1.2.2.2	Le peroxyde d'hydrogène	13
1.2.2.3	Le radical superoxyde	14
1.3	Objectifs de l'étude	15

1.1 Le stress oxydant

1.1.1 Généralités

Depuis le début des années 1970, le stress oxydant^{[1],[2],[3],[4],[5]} est considéré comme un phénomène clé que les médecins et biologistes impliquent dans de nombreuses maladies humaines. Malgré les milliers d'études dont il fait l'objet, le stress oxydant garde de nombreuses zones d'ombre. Ce qui apparaît comme une simple perte de contrôle de l'équilibre entre oxydants et antioxydants au sein d'une cellule cache une réalité complexe, moins "manichéenne" que ce que l'on pouvait imaginer il y a encore quinze ans.

Agents du stress oxydant

Les agents responsables du stress oxydant font partie de la famille des espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote (EROA), reactive oxygen/nitrogen species (RONS) en anglais. La catégorie des espèces réactives de l'oxygène (ERO) regroupe des radicaux libres (radical anion superoxyde, radical hydroxyle...) et des espèces oxygénées comme le peroxyde d'hydrogène, le dioxygène singulet, le peroxydinitrite et les oxydes d'azote. Les ERO sont générés en permanence par l'organisme, en quantités limitées, soit en tant que coproduits de la respiration mitochondriale ("déchets"), soit pour remplir une fonction bien précise. Un exemple connu depuis assez longtemps est la fabrication massive de radicaux libres lors de la phagocytose,^[6] afin de détruire les tissus des bactéries nuisibles. Des ERO moins réactifs (superoxyde et monoxyde d'azote) servent de médiateurs régulant notamment la vasodilatation capillaire, et sont impliqués dans les communications inter et intracellulaires. Citons enfin l'apoptose (mort programmée des cellules, tumorales en particulier), la fécondation de l'ovule, le fonctionnement de certains neurones... comme autant de processus naturels capitaux qui nécessitent la présence de radicaux libres.^[7]

Causes possibles du stress oxydant

En temps normal, la balance entre oxydants et antioxydants est équilibrée par des systèmes de défense extrêmement fins. En d'autres termes, "stress oxydant" ne signifie pas *présence* mais *excès* de ces agents oxydants. Il apparaîtra soit si la production d'ERO est trop importante pour être régulée,^[8] soit si le système antioxydant est défaillant. Le premier cas est observé par exemple au sein de cellules qui ont subi une irradiation ou une intoxication aux métaux lourds, et dans tous les processus inflammatoires. Les

défaillances du système de régulation peuvent avoir une origine génétique (mauvais codage d'une enzyme antioxydante, par exemple), ou résulter d'une carence nutritionnelle en antioxydants comme les vitamines et oligo-éléments (mais l'absorption de quantités très élevées d'antioxydants comme le β -carotène a le même effet carcinogène que les carences en antioxydant^[9], tout étant une question d'équilibre).

Maladies liées au stress oxydant

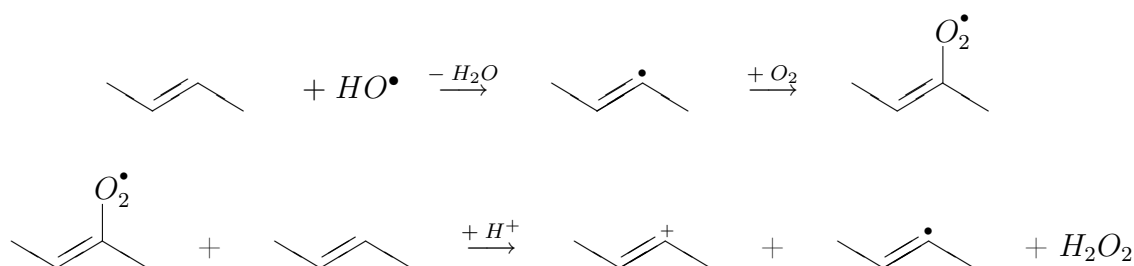
En général le stress oxydant est la conséquence de plusieurs de ces processus, et il touche un tissu ou un type de cellule en particulier. Les conséquences pathologiques du stress oxydant sont donc aussi nombreuses que variées. Le seul facteur commun favorisant le stress oxydant est l'âge, dans la mesure où le vieillissement affaiblit les réponses antioxydantes et perturbe la respiration mitochondriale.^[10]

Il faut distinguer les maladies dont le stress oxydant est la cause principale, et celles dont l'expression implique celui-ci (toute maladie implique une inflammation, donc un stress oxydant). La première catégorie inclut les rhumatismes, l'arthrite, l'arthrose, la cataracte, le syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA), l'œdème pulmonaire... et de façon générale, le vieillissement accéléré de tissus comme la peau. La deuxième catégorie inclut le diabète, la maladie d'Alzheimer, les cancers et les maladies cardiovasculaires.^[11] Le problème principal est que l'organisme a des difficultés à réguler les phénomènes inflammatoires initiés par exemple par la défense contre une attaque virale ou bactérienne.

1.1.2 Conséquences chimiques

1.1.2.1 La peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés sont très vulnérables à l'attaque des radicaux libres, et en particulier du radical hydroxyle. Celui-ci est suffisamment réactif pour arracher un atome d'hydrogène à un carbone et créer un radical diène conjugué. Au contact d'une molécule de dioxygène, le radical diène s'oxyde en radical peroxy qui va capter un nouvel atome d'hydrogène sur un autre acide gras, donnant finalement du peroxyde d'hydrogène et un nouveau radical diène conjugué. Ceci constitue la propagation d'une réaction en chaîne que seule la vitamine E (présente dans la membrane des cellules) peut interrompre.^[12] Dans les deux équations suivantes, pour plus de clarté seule une petite partie de la chaîne polyinsaturée est représentée :



Nous verrons à la fin du paragraphe 1.2.2.2 comment l'organisme se débarrasse du peroxyde d'hydrogène.

La peroxydation lipidique a deux conséquences différentes en fonction des lipides touchés. S'il s'agit des phospholipides des membranes cellulaires, la fluidité de la membrane et sa perméabilité vont être affectées. Ceci implique une mauvaise conduction des signaux intercellulaires, et des dysfonctionnements au niveau de nombreux récepteurs membranaires. Si le radical hydroxyle s'attaque à des lipoprotéines "circulantes", les conséquences se situeront surtout au niveau cardiovasculaire. Les lipoprotéines oxydées sont en effet le principal constituant de la plaque d'athérome (dépôt lipidique sur la surface interne des artères), responsable notamment de thromboses, d'accidents vasculaires cérébraux, d'embolies et d'infarctus du myocarde.

1.1.2.2 Dommages causés à l'ADN

Les radicaux libres comme le radical hydroxyle peuvent également s'attaquer à une des molécules les plus importantes de l'organisme, l'ADN, et ceci de plusieurs manières différentes :

- L'oxydation peut toucher directement les bases de l'ADN, et en particulier la guanine. Les multiples attaques possibles (principalement sur les doubles liaisons) peuvent engendrer une dizaine de bases modifiées différentes,^[7] qui entraîneront des erreurs de réplication de l'ADN.
- Le radical hydroxyle peut également viser la liaison entre une base et le ruban de désoxyribose, créant ainsi des sites "abasiques".
- Le sucre peut être attaqué directement, ce qui provoque des coupures de chaîne "simple brin", ou "double brin" si les deux désoxyriboses sont oxydés au même niveau.
- Enfin, la modification d'une base par un agent oxydant peut modifier sa réactivité,

et provoquer le pontage de protéines (ou des adduits d'aldéhydes) sur les nucléotides.

Ces dommages causés à l'ADN ont lieu des milliers de fois par jour dans chaque cellule. Ils auraient des effets catastrophiques si des systèmes complexes de réparation n'existaient pas. C'est le cas d'enzymes qui vérifient en permanence le bon état du double brin. Cependant, leur fonctionnement est perturbé par la présence de pontages et d'adduits sur l'ADN. De plus, elles ne peuvent pas faire face en cas de lésions anormalement nombreuses et concentrées localement.

Les conséquences sur les cellules qui subissent le stress oxydant peuvent être de deux types : soit l'impossibilité de répliquer l'ADN entraîne la mort programmée de la cellule par apoptose, soit elles mutent génétiquement, ce qui peut être le premier pas vers la carcinogenèse. Ceci explique pourquoi les rayonnements UV, la fumée, l'amiante, les hydrocarbures polycycliques, qui sont tous des gros producteurs de radicaux libres, sont également de dangereux agents carcinogènes.

1.1.2.3 Dommages causés aux protéines

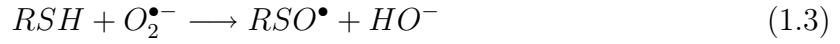
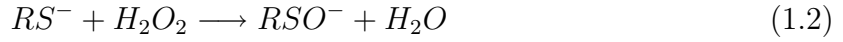
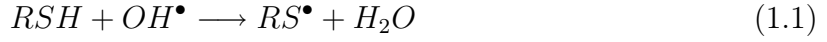
Dans nombre d'enzymes, d'hormones, de récepteurs et de protéines en général, la cible préférée des agents oxydants est le groupement thiol ($-\text{CH}_2\text{-SH}$). Les groupements sulfhydryle $-\text{SH}$, protonés ou non, jouent deux rôles primordiaux différents :

- Un rôle structurel. En effet, la structure ou la souplesse des protéines sont maintenues grâce à l'existence (ou l'absence) de ponts disulfure RSSR. C'est par exemple le cas de l'insuline, des anticorps... mais aussi des toxines présentes dans le venin des scorpions et reptiles. Celles-ci ne peuvent atteindre leur conformation "efficace" à l'intérieur du corps de ces animaux car ils y maintiennent un pouvoir oxydant très élevé. Ceci stabilise les ponts disulfure de la toxine, jusqu'à ce que celle-ci se trouve dans un environnement moins oxydant comme une cellule de mammifère. Si l'oxydation de deux thiols en un pont disulfure se produit lors de l'action catalytique des thiorédoxines, elle est parfois intempestive et peut perturber le fonctionnement d'une protéine. Ceci aboutit dans la plupart des cas à sa dénaturation, voire à sa destruction.

- Un rôle fonctionnel. Certaines enzymes (comme la Coenzyme A), ont un groupement thiol participant à leur centre réactif. L'oxydation du thiol provoque la désactivation immédiate de la protéine concernée.

Chimiquement, détaillons l'attaque d'oxydants comme le radical hydroxyle (1.1), le

peroxyde d'hydrogène (1.2), ou le radical superoxyde (1.3) sur les groupements -SH :



Les produits de ces trois réactions (respectivement le radical thiyl $RS^\bullet$, l'acide sulfénique $RSOH$ et le radical sulfinyl $RSO^\bullet$), en présence d'un autre thiol, sont tous des précurseurs de la formation de ponts disulfure $RSSR$:



Enfin, la perte d'hydrophilie des protéines provoquée par leur oxydation les incite à former des micelles, puis des amas de lipofuscines. Ceux-ci sont notamment à l'origine de problèmes rétinien graves.

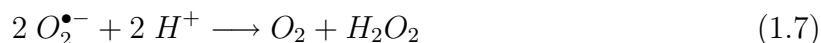
1.1.3 Mécanismes de défense contre le stress oxydant

Action des molécules antioxydantes de petite taille

La neutralisation des radicaux libres suit souvent le même principe : une molécule "vulnérable", par exemple un thiol, réduit le radical libre en une molécule ou un ion stable (eau, anion hydroxyde...). La molécule antioxydante devient alors un radical souvent plus stable, moins dangereux, qui peut être réduit par les enzymes ou protéines adaptées. Par exemple, les tocophérols (vitamine E) neutralisent des radicaux libres avant de se faire régénérer par des molécules d'ascorbate (vitamine C). Ces dernières sont ensuite réactivées grâce aux enzymes ascorbate réductases. Les polyphénols, alcaloïdes, phytates (présents dans l'alimentation), les glutarédoxines, thiorédoxines, polyamines, et surtout le tripeptide glutathion (endogène) font tous partie de la famille des "éboueurs" antioxydants. Le glutathion (GSH) en particulier a un rôle très important dans la mesure où il peut réduire tous les radicaux oxygénés, mais également le peroxyde d'hydrogène. Le cytosol de la plupart des cellules en contient une concentration élevée.^[14]

Réponse enzymatique

Une enzyme, la superoxyde dismutase (SOD), est chargée de réduire l'anion superoxyde. Son centre actif est un atome de manganèse, ou une association de cuivre et de zinc, en fonction du lieu où oeuvrent ces enzymes (mitochondrie, plasma...). La réaction "nette" peut s'écrire :



Le peroxyde d'hydrogène peut ensuite être dégradé en eau grâce à certaines catalases à cofacteur fer, ou à des glutathion peroxydases (GPx) à sélénium. Nous y reviendrons plus en détail dans le paragraphe 1.2.2.2.

D'autres enzymes comme la thiorédoxine réductase et la glutathion transférase, entre autres, viennent compléter la gamme des enzymes dont le but est de neutraliser les oxydants. La plupart sont spécifiques et ne traitent qu'un seul type de molécule.

1.2 L'oxydation des thiols

Parmi les réactions chimiques participant au stress oxydant, nous nous sommes focalisés sur les réactions d'oxydation des thiols par trois oxydants : le radical hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène et le radical superoxyde.

1.2.1 Les thiols

Caractéristiques chimiques

Les thiols sont des molécules proches des alcools, mais où l'atome d'oxygène est remplacé par un atome de soufre. Ils sont donc caractérisés par un ou plusieurs groupes sulfhydryle -SH. La liaison S-H est moins polarisée, mais moins stable que la liaison O-H des alcools. Par conséquent, le pKa des thiols (compris entre 8 et 11) est moins élevé que celui des alcools (supérieur à 12). Celui de l'acide aminé cystéine, dont nous reparlerons, est voisin de 8,3.^[15] Cela signifie qu'à pH physiologique (environ 7), une part non négligeable des groupements sulfhydryle sera déprotonée. Il est important de noter qu'au sein de certaines protéines, l'environnement peut favoriser encore plus la déprotonation

des thiols, qui apparaîtront donc plutôt sous la forme de groupements thiolates S^- .

La liaison S-H étant moins polaire que la liaison O-H, les thiols seront moins enclins à former des liaisons hydrogène, que ce soit entre eux ou avec d'autres molécules. Par conséquent, leur point d'ébullition sera globalement plus bas que celui des alcools.

Enfin, les thiols peuvent facilement être oxydés, soit en acides sulféniques déprotonés SO^- , soit par deux pour former des ponts disulfure RSSR' .

Sous quelles formes trouve-t-on les thiols dans les cellules ?

Parmi les vingt acides aminés "naturels", seules la méthionine et la cystéine contiennent du soufre. Mais la méthionine n'étant pas un thiol, toutes les fonctions sulfhydryle trouvées sur les protéines et enzymes sont portées par des cystéines. Ces fonctions ont un rôle primordial dans la structure (ponts disulfure) et la réactivité de beaucoup de ces enzymes. Il s'agit donc d'un acide aminé clé, qui fera l'objet d'une grande attention lors de cette étude. Une grande proportion des thiols du cytosol sont présents sous forme de

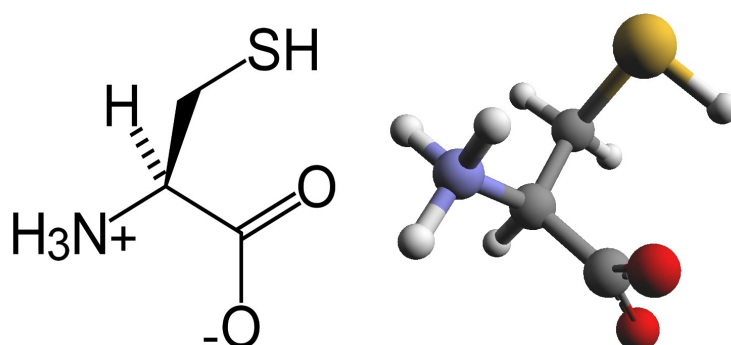


FIG. 1.1 – Cystéine zwitterion (état stable en milieu aqueux).

glutathion (GSH), et ceci à d'assez fortes concentrations (de l'ordre de 1 mM dans les cellules animales). En plus d'être un agent principal de la lutte antioxydante (en particulier en réduisant les radicaux centrés sur des atomes de carbone),^[16] ce tripeptide joue un rôle important dans des processus aussi diversifiés que le transport d'acides aminés, la sécrétion de prostaglandine, la synthèse et la réparation de l'ADN, et le fonctionnement du système immunitaire en général.

Le cas des sélénoles

Le sélénium est un oligo-élément situé immédiatement en-dessous du soufre dans la même colonne de la classification périodique. Les propriétés chimiques des fonctions -SeH

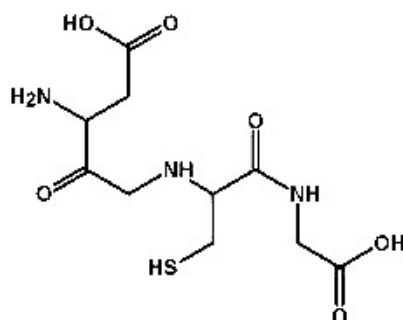


FIG. 1.2 – Structure semi développée du glutathion (tripeptide glutamate-cystéine-glycine).

sont donc assez voisines de celles des thiols. Cependant, la liaison Se-H étant plus faible que dans le cas du soufre, le pKa des sélénols sera encore plus bas (de l'ordre de 5-6 [15]). Ils apparaîtront donc la plupart du temps sous forme déprotonée à pH physiologique, ce qui a des conséquences importantes sur leur réactivité. Nous traiterons le cas des sélénols lorsque nous étudierons l'enzyme glutathion peroxydase (GPx), dont le centre actif est une sélénocystéine (cystéine où le sélénium a remplacé le soufre).

1.2.2 Agents oxydants

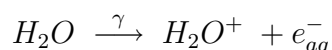
1.2.2.1 Le radical hydroxyle

Le radical hydroxyle $\text{HO}^\bullet$ est sans doute l'agent oxydant le plus dangereux pour l'organisme, à cause de sa très haute réactivité.

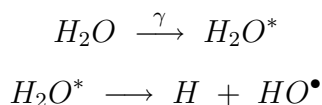
Origine

Les sources de radicaux hydroxyle sont de natures diverses. Cependant, trois expliquent la quasi-totalité de la production de radicaux chez les êtres vivants :

La première est la radiolyse de l'eau, lorsque celle-ci subit des rayonnements ionisants. En quelques picosecondes, [17] une molécule d'eau peut engendrer un radical hydroxyle de deux façons différentes :



ou



où e_{aq}^- est l'électron aqueux, H_2O^+ une molécule d'eau ionisée et H_2O^* une molécule d'eau dans un état excité. C'est d'ailleurs ce procédé qui est utilisé en radiothérapie pour détruire des cellules tumorales.

La deuxième source de radicaux hydroxyles est la décomposition du peroxyde d'hydrogène sous rayonnement UV (λ compris entre 280 et 320 nm).

Enfin, la réaction de Fenton consiste également à décomposer H_2O_2 , mais c'est cette fois-ci un atome métallique (du fer par exemple) qui joue le rôle de catalyseur à la place du photon UV. Le bilan peut s'écrire :



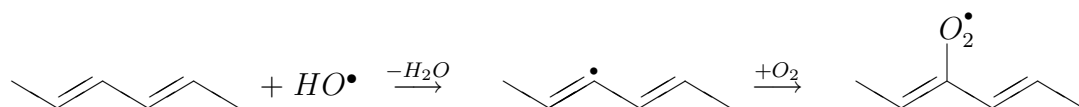
Réactivité

Le radical hydroxyle, étant très réactif, a un temps de demi-vie inférieur à la nanoseconde dans les milieux concentrés comme le cytosol.^[17] Il réagit donc à l'endroit même où il est produit, et ce de trois façons possibles :

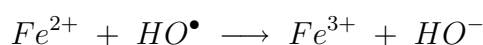
- Par abstraction directe d'un atome d'hydrogène (d'un thiol, d'un alcool, d'une chaîne carbonée...). Exemple avec un thiol :



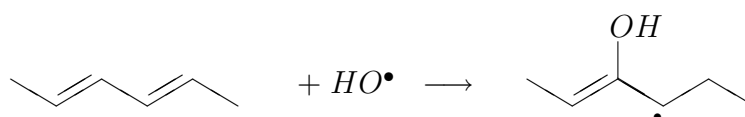
Lorsque l'abstraction a lieu sur une chaîne carbonée, le radical diène formé peut rapidement se combiner à O_2 pour former un radical peroxy (très réactif) :



- Par arrachage d'électron :



- Par addition sur des cycles ou chaînes insaturés :



De façon plus anecdotique, deux radicaux hydroxyles créés au même endroit peuvent se recombiner pour donner une molécule de peroxyde d'hydrogène.

Caractéristiques biologiques

Le radical hydroxyle réagit presque sans distinction avec les acides gras, les protéines, les sucres (notamment les riboses qui structurent l'ADN et l'ARN), souvent avec des constantes de vitesse de l'ordre de $10^9 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$. Son caractère assez destructeur est toutefois mis à profit au sein des macrophages lorsqu'il s'agit de lyser des cellules tumorales ou des bactéries indésirables. Les êtres vivants synthétiseraient les radicaux nécessaires à partir du dioxygène, à l'aide de NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, une coenzyme essentielle du transport d'électrons).^[18]

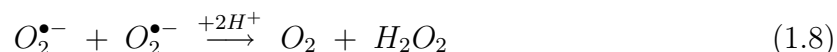
1.2.2.2 Le peroxyde d'hydrogène

Il s'agit d'un autre agent oxydant intervenant dans l'oxydation des thiols. Ce n'est pas un radical, dans la mesure où cette molécule (qui est la forme protonée de l'ion peroxyde O_2^{2-}) n'a pas d'électron non apparié. Nous verrons toutefois que son rôle biologique est très important.

D'un point de vue structural, le peroxyde d'hydrogène présente deux angles $\widehat{HOO}$ proches de 100° et un angle dièdre $\widehat{HOOH}$ de 105° environ. La liaison (simple) qui lie les deux atomes d'oxygène mesure $1,45 \text{ \AA}$.

Origine

Les mitochondries et le réticulum endoplasmique sont d'importants sites producteurs de peroxyde d'hydrogène. Plusieurs enzymes comme la superoxyde dismutase (dont nous reparlerons), certaines oxydases et peroxydases sont responsables de cette production. H_2O_2 peut aussi apparaître spontanément, lors de la recombinaison de deux anions superoxyde :



Caractéristiques chimiques

Le peroxyde d'hydrogène présente deux pKa, à 11,7 et 16. En milieu biologique, il apparaîtra donc très majoritairement sous sa forme neutre, H_2O_2 .

Son pouvoir oxydant lui permet de réagir avec les nitrites, les cyanides, etc, mais

surtout les thiols. Les conséquences sur le bon fonctionnement de certaines protéines et enzymes (dont le centre actif est un groupement sulfhydryle) peuvent être très importantes, allant de la désactivation à la destruction.

Caractéristiques biologiques

Le peroxyde d'hydrogène a une réactivité moins importante que le radical hydroxyle, mais cela n'en fait pas une molécule inoffensive pour autant. Sa durée de vie relativement longue et sa neutralité électrique lui permettent de migrer dans toutes les parties des cellules. A tout moment, une radiation ou un ion métallique peut induire sa décomposition en radicaux hydroxyles suivant la réaction de Fenton (cf. § 1.2.2.1). La toxicité du peroxyde d'hydrogène vient donc surtout de sa faculté à produire ces radicaux très réactifs.

H₂O₂ peut être réduit par voie enzymatique, grâce à la catalase (en eau et dioxygène) ou la glutathion peroxydase GPx (en eau). Pour réduire une molécule de peroxyde d'hydrogène, cette dernière oxyde deux molécules de glutathion (GSH). Celles-ci pourront être régénérées par la glutathion réductase, contre la consommation de NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, un pourvoyeur d'électrons du même type que la NADH).

1.2.2.3 Le radical superoxyde

Le dernier agent oxydant étudié est l'anion radical superoxyde O₂^{•-}. Il correspond à une molécule de dioxygène possédant un électron supplémentaire. La longueur de la liaison O-O est d'environ 1,35 Å.

Origine

Le radical superoxyde est un coproduit naturel de toutes les réactions aérobiques (en particulier au sein des mitochondries),^[19] qui résulte d'une mauvaise transformation d'une fraction du dioxygène utilisé. Il peut également provenir de la combinaison entre le dioxygène et un électron aqueux, ou un atome d'hydrogène (donnant alors la forme protonée du superoxyde HO₂[•]).

Caractéristiques chimiques

Avec un pKa proche de 4,8 le radical superoxyde apparaîtra très majoritairement sous forme non protonée (O₂^{•-}) au sein des cellules. A l'instar du peroxyde d'hydrogène, il

ne présente pas une grande réactivité vis-à-vis de la plupart des substrats (constantes de vitesse de l'ordre de $10^2 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$). Ceci lui confère une durée de vie plus longue qui lui permet de migrer beaucoup plus loin que le radical hydroxyle, par exemple. Trois exceptions notables existent toutefois : la superoxyde dismutase (SOD), l'ion ascorbate (vitamine C) et l'oxyde nitrique réduisent $\text{O}_2^{\bullet-}$ avec des constantes de vitesse de $2 \cdot 10^9$, 10^9 et $2,7 \cdot 10^8 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$, respectivement.^[14]

Caractéristiques biologiques

La durée de vie relativement longue du radical superoxyde a été mise à profit par les être vivants : il est par exemple utilisé comme messenger lors de l'apoptose, et joue un rôle important dans l'agrégation plaquettaire.^[20]

Comme celle du peroxyde d'hydrogène, la toxicité du radical superoxyde provient surtout de sa capacité à initier la cascade des oxydes d'azote et à engendrer des radicaux beaucoup plus réactifs comme $\text{HO}^\bullet$, notamment lors de sa recombinaison avec le peroxyde d'hydrogène (réaction d'Haber-Weiss) :



Le radical superoxyde est éliminé principalement par dismutation, soit spontanée avec le perhydroxyle (forme protonée du superoxyde), soit catalysée par une des enzymes superoxyde dismutase (Eq. 1.8).

1.3 Objectifs de l'étude

Nous avons vu que les thiols jouaient un rôle important dans la prévention du stress oxydant. Les radicaux hydroxyle et superoxyde ainsi que le peroxyde d'hydrogène, même s'ils ne sont pas rigoureusement les seuls responsables du stress oxydant, jouent un rôle absolument capital dans ce dérèglement redox. L'oxydation des thiols par ces trois oxydants s'impose dès lors comme une famille de réactions importantes, dont l'étude permettra une meilleure compréhension (et peut-être un meilleur traitement) du stress oxydant.

De nombreux travaux expérimentaux ont d'ailleurs déjà été dédiés aux réactions d'oxydation de thiols par les ERO. Cependant, ces études possèdent plusieurs limitations, dues principalement à la complexité des processus étudiés :

- les mécanismes de réaction ne sont pas clarifiés,

- souvent, même la première étape de la réaction n'est pas précisément établie,
- dans certains cas, les constantes de vitesse de réaction rapportées sont contradictoires au point de couvrir quatre ordres de grandeur.

Les études théoriques peuvent en principe contribuer à clarifier tous ces éléments. La connaissance des mécanismes de réaction est d'une importance capitale puisqu'elle peut aider à prédire des effets environnementaux, voire à trouver des processus de catalyse induits par d'autres composés.

Malgré leur intérêt potentiel, très peu d'études théoriques ont été dédiées à l'oxydation des thiols. L'objectif de cette thèse a donc été de pallier ce manque en déterminant les chemins des réactions d'oxydation des thiols par les ERO. Leur étude énergétique a permis de prédire des constantes de vitesse, qui ont été confrontées aux résultats expérimentaux publiés.

La volonté de fournir une analyse quantitative précise nous a poussés à travailler sur des modèles de taille relativement réduite (10 à 25 atomes), afin de pouvoir leur appliquer des méthodes de calcul dont la fiabilité vise la précision chimique (donc des incertitudes sur les barrières d'énergie calculées inférieures à 2 kcal mol⁻¹).

Chapitre 2

Méthodologie

Sommaire

2.1	Les différents niveaux de théorie	18
2.1.1	Base des calculs <i>ab initio</i>	18
2.1.2	Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)	22
2.1.3	Théorie de Møller et Plesset (MP)	25
2.1.4	Méthodes par interaction de configuration (CI)	29
2.1.5	Méthode des clusters couplés (CC)	31
2.1.6	La méthode IMOMO	32
2.2	Jeux de fonctions de base	34
2.3	Calcul de l'énergie libre de Gibbs	38
2.3.1	Contributions à l'énergie libre de Gibbs	38
2.3.2	Calcul des fréquences	40
2.3.3	Énergie libre de Gibbs en milieu aqueux	42
2.3.4	Rotations internes cachées	43
2.4	Calcul de la constante de vitesse de réaction	45
2.4.1	La théorie de l'état de transition (TST)	45
2.4.2	La théorie de l'état de transition variationnelle (VTST)	46
2.4.3	L'effet tunnel	47
2.4.4	Réactions impliquant la formation d'un complexe intermédiaire	47
2.5	Protocole	50
2.6	Moyens de calcul utilisés	52

2.1 Les différents niveaux de théorie

2.1.1 Base des calculs *ab initio*

La chimie quantique^{[21],[22]} permet le traitement des interactions moléculaires d'un système, en se basant sur l'équation de Schrödinger correspondante :

$$H \Psi(\vec{r}) = E \Psi(\vec{r}) \quad (2.1)$$

où $\Psi(\vec{r})$ est la fonction d'onde décrivant l'état du système d'énergie E . L'hamiltonien H qui y apparaît s'écrit de façon explicite :

$$H = T_{el} + V_{el-el} + T_{noy} + V_{noy-noy} + V_{el-noy} \quad (2.2)$$

où T_{el} est la somme des énergies cinétiques des électrons, V_{el-el} l'énergie potentielle de répulsion entre électrons, T_{noy} la somme des énergies cinétiques des noyaux, $V_{noy-noy}$ l'énergie potentielle de répulsion entre noyaux, et V_{el-noy} l'énergie potentielle d'attraction entre noyaux et électrons.

En pratique, il est impossible d'obtenir la solution exacte de l'équation de Schrödinger pour des systèmes contenant plus de deux ou trois particules, d'où la nécessité de recourir à des approximations devenues célèbres.

Approximation de Born-Oppenheimer

La première approximation a été proposée par Born et Oppenheimer en 1927.^[23] Elle consiste à supposer que le mouvement des électrons a lieu dans un champ de noyaux immobiles. Ceci se justifie physiquement par la différence de masse entre un électron et un nucléon. La vitesse des noyaux est très inférieure à celle des électrons : on suppose alors que l'équilibre du système électronique est atteint très vite, c'est-à-dire bien avant que les noyaux n'aient pu se déplacer de façon significative. Born et Oppenheimer ont donc simplifié l'hamiltonien exact en considérant l'énergie cinétique des noyaux T_{noy} comme négligeable devant les autres termes. De plus, les noyaux étant supposés immobiles, l'énergie potentielle de répulsion entre noyaux $V_{noy-noy}$ est constante. On obtient donc un hamiltonien électronique simplifié :

$$H_{simpl.} = T_{el} + V_{el-el} + V_{el-noy} + V_{noy-noy} \quad (2.3)$$

L'approximation de Born-Oppenheimer revient à dire que les mouvements des noyaux et des électrons peuvent être déterminés de façon indépendante, ce qui n'est évidemment

pas exact dans la réalité. Cependant, cette hypothèse est particulièrement acceptable lorsque l'on considère des états proches de l'état fondamental, ce qui sera notre cas dans ce travail (en revanche, elle est moins pertinente pour des états excités).

Théorie d'Hartree-Fock

L'approximation de Born-Oppenheimer a certes simplifié le problème, mais l'équation de Schrödinger n'en reste pas moins insoluble de façon exacte pour les problèmes à plus de deux ou trois particules. L'objectif de la théorie d'Hartree-Fock est de déterminer la fonction d'onde moléculaire Ψ qui minimise l'énergie E_{HF} du système (c'est le *principe variationnel*).

En faisant l'approximation que chaque électron se déplace dans un champ moyen créé par tous les autres électrons (*approximation du champ autocohérent*), il est possible d'écrire Ψ sous la forme d'un produit de fonctions d'ondes monoélectroniques (normalisées et orthogonales) que l'on appelle *orbitales moléculaires* :

$$\Psi(\vec{r}) = \phi_1(\vec{r}_1) \phi_2(\vec{r}_2) \dots \phi_n(\vec{r}_n) \quad (2.4)$$

Mais ce produit, appelé *produit de Hartree*, présente l'inconvénient de ne pas être antisymétrique (l'inversion de deux particules ne provoque pas de changement de signe de la fonction d'onde globale Ψ). Cette condition est en effet requise pour les fonctions d'onde électroniques, car les électrons sont des fermions.

La façon la plus simple de construire une combinaison antisymétrique d'orbitales moléculaires est de créer un déterminant où chaque colonne correspond à une spinorbitale, et chaque ligne à un électron. Pour tenir compte du spin des électrons et du principe d'exclusion de Pauli, on aura pris soin d'adosser une fonction de spin α ou β à chaque orbitale moléculaire ($\alpha(\uparrow) = 1$, $\alpha(\downarrow) = 0$, $\beta(\downarrow) = 1$, $\beta(\uparrow) = 0$). Ces fonctions empêchent deux électrons de même spin de se trouver dans la même orbitale. L'association d'une orbitale atomique et d'une fonction de spin est appelée *spinorbitale*.

L'approximation LCAO

Une fois ce déterminant construit, le problème est de savoir comment exprimer les orbitales moléculaires ϕ_i . Celles-ci ayant une forme mathématique *a priori* inconnue, Roothaan a proposé en 1951^[24] de les écrire comme des combinaisons linéaires d'orbitales atomiques (approximation "LCAO") :

$$\phi_i = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \chi_{\mu} \quad (2.5)$$

où les χ_{μ} sont les fonctions de base atomiques, et les $c_{\mu i}$ les *coefficients d'expansion*. Les fonctions de base étant connues, l'optimisation de ces coefficients devient la clé importante de la méthode d'Hartree et Fock, dont le but reste de trouver les combinaisons d'orbitales qui minimisent l'énergie E_{HF} :

$$E_{HF} = 2 \sum_{i=1}^{n/2} H_{ii}^{core} + \sum_{i=1}^{n/2} \sum_{j=1}^{n/2} (2 J_{ij} - K_{ij}) + V_{noy-noy} \quad (2.6)$$

où H^{core} représente l'énergie (potentielle *et* cinétique) d'un électron seul dans un champ de noyaux fixes. J_{ij} et K_{ij} sont respectivement appelées intégrales de Coulomb, et d'échange. Pour deux électrons "1" et "2" séparés d'une distance r_{12} , elles sont données par les expressions :

$$J_{ij} \equiv \left\langle \phi_i(1)\phi_j(2) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_i(1)\phi_j(2) \right\rangle \quad (2.7)$$

$$K_{ij} \equiv \left\langle \phi_i(1)\phi_j(2) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_j(1)\phi_i(2) \right\rangle \quad (2.8)$$

Le principe variationnel appliqué à E_{HF} mène à une condition que les orbitales moléculaires ϕ_i doivent satisfaire :

$$\hat{F}(1) \phi_i(1) = \epsilon_i \phi_i(1) \quad (2.9)$$

où ϵ_i est l'énergie orbitalaire, et $\hat{F}$ l'*opérateur de Fock*. Celui-ci s'écrit :

$$\hat{F}(1) = H^{core}(1) + \sum_{j=1}^{n/2} (2 \hat{J}_j(1) - \hat{K}_j(1)) \quad (2.10)$$

où $\hat{J}_j$ et $\hat{K}_j$ sont respectivement les opérateurs de Coulomb et d'échange, définis par :

$$\begin{aligned} \hat{J}_j(1)f(1) &= f(1) \int \frac{|\phi_j(2)|^2}{r_{12}} dv_2 \\ \hat{K}_j(1)f(1) &= \phi_j(1) \int \frac{\phi_j^*(2)f(2)}{r_{12}} dv_2 \end{aligned}$$

où f est une fonction arbitraire, et où les intégrales couvrent tout l'espace. L'opérateur de Coulomb traduit l'énergie potentielle d'interaction entre l'électron "1" et un électron "2" diffus, de densité $-|\phi_j(2)|^2$. L'opérateur d'échange provient directement de la condition d'antisymétrie de la fonction d'onde.

En remplaçant ϕ_i dans 2.9 par son expression 2.5, on obtient la relation :

$$\sum_{\mu} c_{\mu i} \hat{F} \chi_{\mu} = \epsilon_i \sum_{\mu} c_{\mu i} \chi_{\mu} \quad (2.11)$$

Il suffit de multiplier l'équation 2.11 par χ_{ν}^* pour obtenir les N équations célèbres de Roothaan-Hall :^[25]

$$\sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \left(\langle \chi_{\nu} | \hat{F} | \chi_{\mu} \rangle - \epsilon_i \langle \chi_{\nu} | \chi_{\mu} \rangle \right) = 0, \quad (2.12)$$

ν étant un entier prenant les valeurs comprises entre 1 et N . Si l'on veut que ce système admette des solutions non triviales, on doit avoir :

$$\det \left(\langle \chi_{\nu} | \hat{F} | \chi_{\mu} \rangle - \epsilon_i \langle \chi_{\nu} | \chi_{\mu} \rangle \right) = 0 \quad (2.13)$$

Les racines de cette équation permettent d'obtenir les énergies orbitales ϵ_i .

Méthode du champ autocohérent (SCF)

Les équations de Roothaan (Eq. 2.12) ne peuvent être résolues qu'itérativement. En effet, l'opérateur de Fock $\hat{F}$ dépend des orbitales ϕ_i , qui dépendent des coefficients d'expansion $c_{\mu i}$, qui doivent eux-mêmes être calculés grâce à $\hat{F}$.

Un premier jeu d'orbitales (approximatif) est construit avec des combinaisons linéaires de fonctions de base. Il permet de calculer une première valeur de l'opérateur de Fock $\hat{F}$. Les éléments de matrice $\langle \chi_{\nu} | \hat{F} | \chi_{\mu} \rangle$ et $\langle \chi_{\nu} | \chi_{\mu} \rangle$ pourront alors être évalués, puis un premier jeu d'énergies orbitales ϵ_i grâce à l'équation 2.13. Ces énergies sont utilisées pour résoudre les équations 2.12 et obtenir un premier jeu de coefficients d'expansion $c_{\mu i}$.

Ces coefficients permettent d'élaborer un jeu d'orbitales moléculaires amélioré, puis un opérateur amélioré, puis de nouveaux éléments de matrice, de nouvelles valeurs des énergies orbitales, de meilleurs coefficients d'expansion... et ainsi de suite, jusqu'à ce que l'on obtienne une convergence.

Ce processus itératif est appelé *self-consistent field* (SCF, ou champ autocohérent).

Méthode Hartree-Fock non restreinte

Jusqu'à maintenant, seul le cas où tous les électrons sont appariés a été pris en compte. Dans notre travail, la présence d'espèces radicalaires (donc d'électrons non-appariés) nous a contraints à utiliser des méthodes "non restreintes". Les électrons de spin "up" devront être traités séparément des électrons de spin "down", ce qui donnera deux jeux de coefficients d'expansion $c_{\mu i}^{\uparrow}$ et $c_{\mu i}^{\downarrow}$, donc deux jeux d'éléments de matrices, et finalement deux jeux d'orbitales moléculaires. Cela ne change pas fondamentalement les étapes du calcul SCF.

Limites de la méthode Hartree-Fock

Avec la méthode Hartree-Fock et l'antisymétrie de sa fonction d'onde, la corrélation entre électrons de même spin est incluse de fait. Mais les mouvements d'électrons de spins opposés ne sont pas corrélés avec cette méthode. Cette lacune, si elle n'a pas toujours de conséquence importante sur la qualité des optimisations de structures, provoque des erreurs non négligeables dans les calculs d'énergie. Plusieurs méthodes ont été élaborées afin d'évaluer cette corrélation, et nous allons en discuter les principes dans les quatre prochains paragraphes.

2.1.2 Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

Le modèle de Thomas-Fermi développé en 1927 a été le premier à utiliser la notion de densité électronique pour calculer l'énergie d'un atome. Cependant, ce n'est qu'avec les deux théorèmes d'Hohenberg et Kohn en 1964^[26] que la théorie de la fonctionnelle de la densité a vu le jour sous sa forme moderne.

L'idée de base de la DFT est que les moyennes des observables (notamment l'énergie) sont des fonctionnelles de la seule densité électronique (de l'état fondamental du système). L'intérêt de la DFT est que cette densité électronique n'est définie que selon trois coordonnées d'espace, alors que la fonction d'onde globale du système possède $3N$ dimensions (pour N particules), ce qui la rend beaucoup plus lourde à manipuler.

Afin de déterminer l'expression de la densité électronique ρ , on construit un système *fictif* où :

- les électrons n'interagissent pas entre eux,
- la densité électronique ρ est égale à celle du système réel.

Étant donné l'absence d'interaction entre électrons, la fonction d'onde du système fictif peut s'écrire sous la forme simple d'un seul déterminant de Slater dont la densité électronique est donnée par :

$$\rho(x, y, z) = \sum_i \phi_i^2 \quad (2.14)$$

où ϕ_i est l'expression de l'orbitale *fictive* de l'électron i . L'énergie totale du système électronique est écrite comme la somme de l'énergie cinétique des électrons T_{el} , de l'énergie d'attraction coulombienne entre noyaux et électrons V_{el-noy} , de l'énergie de répulsion coulombienne entre électrons V_{el-el} et d'un terme d'échange-corrélation E_{XC} qui inclut l'énergie d'échange (X) entre électrons, et leur corrélation (C) dynamique :

$$E = T_{el} + V_{el-noy} + V_{el-el} + E_{XC} \quad (2.15)$$

où $T_{el} + V_{el-noy} + V_{el-el}$ représente l'énergie classique de la distribution de charges ρ . V_{el-el} est calculée comme si les électrons "1" et "2" étaient représentés par leur distribution de charge, de densité ρ :

$$V_{el-el} = \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r}_1) \rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2$$

L'équation de Schrödinger du système fictif s'écrit :

$$-\frac{1}{2} \nabla^2 \phi_i + (V_{el-noy} + V_{el-el} + E_{XC}) \phi_i = \epsilon_i \phi_i \quad (2.16)$$

V_{el-el} et E_{XC} dépendent de ρ , et vice-versa. Cette équation devra donc être résolue de façon itérative comme dans le cas de la méthode Hartree-Fock.

La forme du terme d'échange-corrélation n'étant pas connue, le but a été d'élaborer une fonctionnelle E_{XC} qui traduise le mieux possible la situation réelle. E_{XC} peut être séparée en deux fonctionnelles E_X et E_C , qui correspondent respectivement à l'échange (interactions entre électrons de même spin) et à la corrélation (interactions entre électrons de spins différents). Nous allons voir quelles approximations ont été nécessaires pour proposer des fonctionnelles d'échange-corrélation.

Approximation de la densité locale (LDA)

Hohenberg et Kohn ont considéré le cas où la densité électronique variait très lentement en fonction de la position. La fonctionnelle d'échange-corrélation pourrait donc s'écrire :

$$E_{XC}^{LDA}(\rho) = \int \rho(\vec{r}) \epsilon_{XC}(\rho) d\vec{r} \quad (2.17)$$

où l'intégrale couvre tout l'espace. $\epsilon_{XC}(\rho)$ est l'énergie d'échange et de corrélation d'un électron qui se trouverait dans un gaz d'électrons homogène de densité électronique ρ . On peut montrer que la partie "échange" de cette énergie s'écrit :

$$\epsilon_X^{LDA}(\rho) = -\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \rho(\vec{r})^{1/3} \quad (2.18)$$

La fonctionnelle d'échange dans l'approximation de la densité locale peut donc être calculée grâce à (2.17) :

$$E_X^{LDA} = \int \rho(\vec{r}) \epsilon_X(\rho) d\vec{r} = -\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \int \rho(\vec{r})^{4/3} d\vec{r} \quad (2.19)$$

Volko, Wilk et Nusair (VWN) puis Parr et Yang ont calculé l'expression de la fonctionnelle de corrélation dans l'approximation LDA. Elles ne sont pas rapportées ici en raison de leur complexité.

Approximation de la densité locale de spin (LSDA)

Cette approximation est très similaire à la LDA, mais les électrons α et β sont traités séparément, de la même façon que dans la méthode Hartree-Fock non restreinte. Cette amélioration sera particulièrement pertinente lorsque l'on étudiera des radicaux évidemment, mais aussi des structures transitoires où des liaisons de valence seront proches de la dissociation.

Approximation du gradient généralisé (GGA)

La méthode du gradient généralisé améliore les deux précédentes (LDA et LSDA) en prenant en compte l'influence du gradient de densité électronique sur la fonctionnelle d'échange-corrélation :

$$E_{XC}^{GGA}(\rho^\alpha, \rho^\beta) = \int f(\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r}), \nabla \rho^\alpha(\vec{r}), \nabla \rho^\beta(\vec{r})) d\rho(\vec{r}) \quad (2.20)$$

En général, E_{XC}^{GGA} est écrite comme la somme de E_X^{GGA} et E_C^{GGA} . Becke a soumis en 1988 une fonctionnelle d'échange corrigée en gradient qui est désormais largement utilisée :

$$E_X^{Becke88} = E_X^{LDA} - \gamma \int \frac{\rho^{4/3} x^2}{1 + 6 \gamma \sinh^{-1} x} d\rho(\vec{r}) \quad (2.21)$$

où $x \equiv \rho^{-4/3} |\nabla \rho|$. γ est un facteur empirique que Becke a fixé à 0,0042 Hartree.

Fonctionnelles hybrides : l'exemple de B3LYP

Les fonctionnelles hybrides, c'est-à-dire composées de plusieurs fonctionnelles d'échange et de corrélation, semblent donner les meilleurs résultats. Dans ce travail, nous n'avons utilisé que la fonctionnelle hybride B3LYP. "B" renvoie à Becke, "LYP" à la fonctionnelle de corrélation de Lee, Yang et Parr, et "3" aux trois paramètres a_0 , a_X et a_C utilisés pour pondérer les fonctionnelles :

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1-a_0-a_X) E_X^{LSDA} + a_0 E_X^{HF} + a_X E_X^{Becke88} + (1-a_C) E_C^{VWN} + a_C E_C^{LYP} \quad (2.22)$$

où E_X^{HF} est la fonctionnelle d'échange de Hartree-Fock donnée par :

$$E_X^{HF} \equiv -\frac{1}{4} \sum_n \sum_{j=1}^{i=1} \left\langle \phi_i(1) \phi_j(2) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_j(1) \phi_i(2) \right\rangle \quad (2.23)$$

Performances et limitations de la DFT

Avec la puissance des ordinateurs actuels, la DFT est surtout utilisée pour les systèmes relativement larges (quelques centaines d'atomes), c'est-à-dire quand aucune méthode plus précise ne peut être appliquée. Elle reste en effet la méthode *post Hartree-Fock* la moins gourmande en temps de calcul, ce qui n'est pas un atout négligeable.

La DFT présente tout de même deux inconvénients majeurs :

- Même combinée à des jeux de fonctions de base assez larges comme ceux que nous avons utilisés, l'erreur sur l'énergie d'atomisation peut atteindre plusieurs kcal/mol, ce qui est beaucoup trop lorsque l'on souhaite calculer des constantes de vitesse de réaction.
- Les erreurs sont tout à fait imprévisibles et il est très difficile de définir des types de systèmes sur lesquels la DFT donnera des résultats probants ou non.

2.1.3 Théorie de Møller et Plesset (MP)

Cette théorie^[27] proposée en 1934 a également pour but de combler les lacunes de la méthode Hartree-Fock, mais en traitant la corrélation des électrons comme une *perturbation* du système au deuxième (MP2), troisième (MP3), quatrième ordre (MP4)...

Dans l'équation de Schrödinger, l'hamiltonien de Hartree-Fock non perturbé $\hat{H}_0$ est donc complété par une perturbation $\hat{V}$ qui représente la différence entre l'hamiltonien

exact et $\hat{H}_0$, pondérée par un paramètre arbitraire λ :

$$\left(\hat{H}_0 + \lambda \hat{V}\right) \Psi = E \Psi \quad (2.24)$$

Si la corrélation (perturbation) est suffisamment faible, la fonction d'onde globale Ψ et l'énergie du système E pourront être écrites sous forme de séries de puissances de λ . Ceci permet de réécrire l'équation de Schrödinger sous la forme :

$$\left(\hat{H}_0 + \lambda \hat{V}\right) \left(\sum_{i=0}^n \lambda^i \Psi^{(i)}\right) = \left(\sum_{i=0}^n \lambda^i E^{(i)}\right) + \left(\sum_{i=0}^n \lambda^i \Psi^{(i)}\right) \quad (2.25)$$

que l'on peut aussi écrire :

$$\left(\hat{H}_0 + \lambda \hat{V}\right) \left(\Psi^{(0)} + \lambda \Psi^{(1)} + \lambda^2 \Psi^{(2)} \dots\right) = \left(E^{(0)} + \lambda E^{(1)} + E^2 \Psi^{(2)} \dots\right) \left(\Psi^{(0)} + \lambda \Psi^{(1)} \dots\right) \quad (2.26)$$

Après développement et réarrangement, on peut écrire les équations correspondant à chaque puissance de λ . Voici les trois premières (puissances égales à 0, 1 et 2) :

$$\left(\hat{H}_0 - E^{(0)}\right) \Psi^{(0)} = 0 \quad (2.27)$$

$$\left(\hat{H}_0 - E^{(0)}\right) \Psi^{(1)} = \left(E^{(1)} - \hat{V}\right) \Psi^{(0)} \quad (2.28)$$

$$\left(\hat{H}_0 - E^{(0)}\right) \Psi^{(2)} = \left(E^{(1)} - \hat{V}\right) \Psi^{(1)} + E^{(2)} \Psi^{(0)} \quad (2.29)$$

La particularité de la méthode de Møller et Plesset est de définir l'hamiltonien non perturbé $\hat{H}_0$ comme la somme des opérateurs de Fock à un électron (Eq. 2.10).

Le jeu de fonctions de base utilisé pour exprimer $\Psi^{(i)}$ inclut le déterminant HF et les déterminants des configurations excitées. Tous ces déterminants notés Ψ_s sont des fonctions propres de l'hamiltonien $\hat{H}_0$:

$$\hat{H}_0 \Psi_s = E_s \Psi_s \quad (2.30)$$

Mais commençons par exploiter l'équation 2.27. L'application de $\langle \Psi^{(0)} |$ à gauche mène à :

$$\langle \Psi^{(0)} | \hat{H}_0 - E^{(0)} | \Psi^{(0)} \rangle = 0 \quad (2.31)$$

$$\text{donc} \quad \langle \Psi^{(0)} | \hat{H}_0 | \Psi^{(0)} \rangle = E^{(0)} \langle \Psi^{(0)} | \Psi^{(0)} \rangle = E^{(0)} \quad (2.32)$$

$E^{(0)}$ est simplement la somme des énergies orbitales, $\hat{H}_0$ étant la somme des opérateurs de Fock à un électron. Une fois $E^{(0)}$ connue, la relation (2.28) nous permet d'accéder à l'expression de $E^{(1)}$. On construit de nouveau le produit en appliquant $\langle \Psi^{(0)} |$ à gauche :

$$\langle \Psi^{(0)} | \hat{H}_0 - E^{(0)} | \Psi^{(1)} \rangle = \langle \Psi^{(0)} | E^{(1)} - \hat{V} | \Psi^{(0)} \rangle \quad (2.33)$$

$$\left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{H}_0 \right| \Psi^{(1)} \right\rangle - E^{(0)} \langle \Psi^{(0)} | \Psi^{(1)} \rangle = E^{(1)} \langle \Psi^{(0)} | \Psi^{(0)} \rangle - \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{V} \right| \Psi^{(0)} \right\rangle \quad (2.34)$$

Les deux termes du membre de gauche de l'équation sont nuls, ce qui mène à :

$$E^{(1)} = \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{V} \right| \Psi^{(0)} \right\rangle \quad (2.35)$$

A ce stade du calcul, nous retrouvons l'énergie Hartree-Fock du système $\left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{H} \right| \Psi^{(0)} \right\rangle$. En effet, l'hamiltonien complet $\hat{H}$ étant égal à la somme de l'hamiltonien non perturbé $\hat{H}_0$ et de la perturbation $\hat{V}$, on obtient :

$$\left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{H} \right| \Psi^{(0)} \right\rangle = \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{H}_0 \right| \Psi^{(0)} \right\rangle + \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{V} \right| \Psi^{(0)} \right\rangle = E^{(0)} + E^{(1)} \quad (2.36)$$

Il est nécessaire d'étudier l'équation 2.29 pour accéder aux corrections apportées par la méthode de Møller et Plesset. En appliquant encore une fois $\langle \Psi^{(0)} |$ à gauche, après réarrangement, on accède à l'expression de $E^{(2)}$:

$$E^{(2)} = \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{V} - E^{(1)} \right| \Psi^{(1)} \right\rangle = \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{V} \right| \Psi^{(1)} \right\rangle \quad (2.37)$$

où $\Psi^{(1)}$ doit être déterminée. Pour ce faire, on peut l'écrire comme une combinaison linéaire de fonctions d'ondes Ψ_s :

$$\Psi^{(1)} = \sum_s a_s \Psi_s \quad (2.38)$$

où les coefficients a_s pourront être calculés grâce à l'équation 2.28. En y introduisant la nouvelle forme de $\Psi^{(1)}$ et en appliquant une fonction d'onde $\langle \Psi_t |$ quelconque, on peut montrer que les coefficients a_s s'écrivent :

$$a_s \equiv a_t = \frac{\left\langle \Psi_t \left| \hat{V} \right| \Psi^{(0)} \right\rangle}{E^{(0)} - E_t} \quad (2.39)$$

Il est alors facile de remonter à l'expression de $\Psi^{(1)}$, puis de déduire l'énergie $E^{(2)}$:

$$E^{(2)} = - \sum_t \frac{\left| \left\langle \Psi^{(0)} \left| \hat{V} \right| \Psi_t \right\rangle \right|^2}{E_t - E^{(0)}} \quad (2.40)$$

$E^{(2)}$ est la première correction de perturbation à l'énergie Hartree-Fock. Elle est toujours négative. La méthode "MP2" se limite à cette correction, mais en suivant une démarche similaire, il est possible de calculer les corrections de troisième et de quatrième ordre (au moins). C'est le principe des méthodes MP3 et MP4.

Performances et limitations des méthodes Møller-Plesset

Dès le deuxième ordre (MP2), les méthodes Møller-Plesset apportent une amélioration considérable au traitement des électrons, par rapport à la méthode Hartree-Fock. Le troisième ordre n'apporte pas d'amélioration très significative, contrairement à la méthode MP4. On peut regretter que cette dernière nécessite des temps de calculs assez importants.

Une lacune des méthodes Møller-Plesset est leur caractère non variationnel : elles peuvent aboutir à une énergie inférieure à l'énergie réelle du système, contrairement à la méthode Hartree-Fock qui fournit toujours une borne supérieure de cette énergie réelle.

De plus, on peut reprocher aux séries utilisées (Eq. 2.25) une trop lente convergence.^{[28],[29]} En ne prenant en compte que les 3 ou 4 premiers termes des séries, on risque de laisser de côté la contribution non négligeable des termes de degré supérieur.

Contamination de spin

Un dernier phénomène pouvant affecter la précision des calculs est la *contamination de spin*.

La contamination de spin correspond à l'erreur due au fait que la fonction d'onde, lorsqu'elle est représentée par un déterminant, n'est plus une fonction propre de l'opérateur de spin total $\langle S^2 \rangle$ lors des calculs effectués avec des méthodes non restreintes. Prenons l'exemple d'un système à deux électrons de spins opposés, appartenant à une même sous-couche. Ecrivons son déterminant avec deux orbitales différentes φ et φ' (Eq. 2.41) puis avec deux orbitales identiques (Eq. 2.42) :

$$|\varphi\alpha\varphi'\beta| = \varphi(1)\varphi'(2)\alpha(1)\beta(2) - \varphi(2)\varphi'(1)\alpha(2)\beta(1) \quad (2.41)$$

$$|\varphi\alpha\varphi\beta| = \varphi(1)\varphi(2) \{ \alpha(1)\beta(2) - \alpha(2)\beta(1) \} \quad (2.42)$$

Le deuxième terme de l'équation 2.41 ne peut pas être factorisé par le terme entre accolades de l'équation 2.42, qui est une fonction propre de l'opérateur $\langle S^2 \rangle$. La fonction d'onde est alors dite "contaminée" par un état de spin différent, ce qui provoque une erreur sur le calcul de l'énergie du système.

Il est intéressant de voir que même pour des systèmes a priori non radicalaires (par exemple méthane + peroxyde d'hydrogène), une contamination de spin peut être observée. Dans les cas où cette contamination est trop importante, nous avons choisi de prendre en considération l'énergie du système après projection du spin, qui semble être la plus appropriée.^[30]

2.1.4 Méthodes par interaction de configuration (CI)

La méthode Hartree-Fock stipule que la fonction d'onde d'un système peut être approchée par un déterminant unique. Cette description restrictive ne permet pas d'obtenir des résultats qualitatifs très précis.

Les méthodes par interaction de configuration sont également des méthodes variationnelles. Elles consistent à compléter le déterminant d'Hartree-Fock en construisant d'autres déterminants en remplaçant une (plusieurs) orbitale(s) occupée(s) (notées avec les indices $i, j, k...$ par la suite) par un nombre correspondant d'orbitales virtuelles (indices $a, b, c...$), à partir du déterminant d'Hartree-Fock. Une substitution simple consiste à remplacer une orbitale occupée par une orbitale virtuelle. Cela équivaut physiquement à exciter un électron vers une orbitale de plus haute énergie. Dans une double substitution, on remplace deux orbitales occupées par deux orbitales virtuelles, et ainsi de suite pour les triples, quadruples substitutions...

Interaction de configuration complète (FCI)

La méthode FCI décrit la fonction d'onde Ψ comme une combinaison linéaire du déterminant Hartree-Fock Ψ_0 , auquel on ajoute tous les autres déterminants "construits" possibles Ψ_s .

$$\Psi = b_0 \Psi_0 + \sum_s (b_s \Psi_s) \quad (2.43)$$

où l'indice s parcourt toutes les substitutions possibles. L'ensemble des coefficients b doit être calculé en appliquant le principe variationnel, c'est à dire en minimisant l'énergie de la fonction d'onde résultante. Si le jeu de fonctions utilisé dans le développement de Ψ est un jeu complet, alors conformément au principe variationnel, la solution obtenue sera la solution exacte de l'équation de Schrödinger.

L'interaction de configuration complète s'avère être l'outil non relativiste le plus complet pour traiter les systèmes moléculaires. Mais il est également extrêmement gourmand en temps de calcul, ce qui le rend quasiment inapplicable à des systèmes de plus de deux ou trois atomes, même avec des jeux de fonctions de base très grossiers. Par exemple, pour traiter la molécule de méthanol (CH_3OH) seule, il faudrait construire environ 10^{18} déterminants à partir du déterminant d'Hartree-Fock! Nous allons voir comment il est possible de remédier à ce problème.

Principe de l'algorithme^[31]

La méthode CI nécessite la "fabrication" de déterminants excités. La première étape sera donc consacrée à leur création. Pour ce faire, on introduit des opérateurs de *substitution* $\hat{T}$. $\hat{T}_1$ est chargé de construire les déterminants correspondants aux excitations simples, $\hat{T}_2$ aux excitations doubles, etc. Voici les expressions des trois premiers :

$$\hat{T}_1 = \sum_{ia} \alpha_i^a \hat{t}_i^a \quad (2.44)$$

$$\hat{T}_2 = \frac{1}{4} \sum_{ijab} \alpha_{ij}^{ab} \hat{t}_{ij}^{ab} \quad (2.45)$$

$$\hat{T}_3 = \frac{1}{36} \sum_{ijkabc} \alpha_{ijk}^{abc} \hat{t}_{ijk}^{abc} \quad (2.46)$$

où les $\hat{t}$ sont les opérateurs de substitution élémentaires, et les α des coefficients à déterminer. Par exemple, $\hat{T}_2\Psi_0$ est une combinaison linéaire de tous les déterminants obtenus en introduisant des doubles substitutions dans Ψ_0 . La fonction d'onde exacte du système peut alors s'écrire :

$$\Psi = f(\hat{T}_1, \hat{T}_2 \dots) \Psi_0 \quad (2.47)$$

Les coefficients α sont déterminés en projetant l'équation de Schrödinger judicieusement. Ces trois équations suffisent à calculer les α pour des excitations simples et doubles (méthode CISD) :

$$\langle \Psi_0 | \hat{H} - E | \Psi \rangle = 0 \quad (2.48)$$

$$\langle \Psi_i^a | \hat{H} - E | \Psi \rangle = 0 \quad (2.49)$$

$$\langle \Psi_{ij}^{ab} | \hat{H} - E | \Psi \rangle = 0 \quad (2.50)$$

Ces équations sont identiques à celles qui auraient été obtenues en minimisant l'énergie totale du système, ce qui garantit que la valeur trouvée de l'énergie est variationnelle, donc une borne supérieure de l'énergie réelle.

La forme la plus simple de la fonction de configuration f est linéaire. Pour la méthode d'interaction de configuration incluant les substitutions simples et doubles, la fonction d'onde aurait donc pour expression :

$$\Psi_{CISD} = (1 + \hat{T}_1 + \hat{T}_2) \Psi_0 \quad (2.51)$$

Dans ce cas, les équations 2.48 à 2.50 aboutissent à ce nouveau système :

$$\langle \Psi_0 | \hat{H} | \hat{T}_2 \Psi_0 \rangle = E_C \quad (2.52)$$

$$\left\langle \Psi_i^a \left| \hat{H} - E_{HF} \right| (\hat{T}_1 + \hat{T}_2) \Psi_0 \right\rangle = \alpha_i^a E_C \quad (2.53)$$

$$\left\langle \Psi_{ij}^{ab} \left| \hat{H} - E_{HF} \right| (1 + \hat{T}_1 + \hat{T}_2) \Psi_0 \right\rangle = \alpha_{ij}^{ab} E_C \quad (2.54)$$

où $E_{HF} = \left\langle \Psi_0 \left| \hat{H} \right| \Psi_0 \right\rangle$ et où l'énergie de corrélation E_C est définie par $E = E_{HF} + E_C$.

Mais cette méthode CISD a un défaut majeur : elle ne conserve pas la cohérence de taille. En d'autres termes, l'erreur ΔE faite sur le calcul de l'énergie augmente beaucoup plus vite que la taille du système (dans une méthode dite *size-consistent*, ΔE est une fonction linéaire de la taille du système).

Interaction de configuration quadratique (QCI)

La façon la plus simple d'obtenir de nouveau la cohérence de taille est d'ajouter aux membres de gauche des équations 2.53 et 2.54 un terme quadratique qui élimine la croissance non-linéaire de l'erreur en fonction de la taille du système. Ces deux relations deviennent respectivement :

$$\left\langle \Psi_i^a \left| \hat{H} - E_{HF} \right| (\hat{T}_1 + \hat{T}_2 + \hat{T}_1 \hat{T}_2) \Psi_0 \right\rangle = \alpha_i^a E_C \quad (2.55)$$

$$\left\langle \Psi_{ij}^{ab} \left| \hat{H} - E_{HF} \right| (1 + \hat{T}_1 + \hat{T}_2 + \frac{1}{2} \hat{T}_2^2) \Psi_0 \right\rangle = \alpha_{ij}^{ab} E_C \quad (2.56)$$

Les énergies obtenues grâce à ces dernières équations respectent la cohérence de taille. La même idée est applicable au niveau CISDT, mais cette méthode requiert des temps de calcul tels qu'elle est difficilement utilisable sur des systèmes moyens ou larges.

Traitement approché des excitations triples

Les excitations triples ne sont pas négligeables, et ceci a poussé Pople et al.^[31] à concevoir une manière beaucoup plus rapide d'évaluer la contribution de ces excitations à l'énergie du système. Le principe est simple : les substitutions triples seront traitées comme une perturbation appliquée à une solution calculée au niveau QCISD. On notera cette méthode QCISD(T).

2.1.5 Méthode des clusters couplés (CC)

Cette méthode est très similaire à l'interaction de configuration, mais au lieu d'écrire la fonction de configuration $f(\hat{T}_1, \hat{T}_2 \dots)$ sous forme linéaire, elle aura ici une expression exponentielle :

$$f(\hat{T}_1, \hat{T}_2 \dots) = \exp \left(\hat{T}_1 - \hat{T}_2 + \frac{1}{2} \hat{T}_1^2 \right) \quad (2.57)$$

dans le cas d'excitations simples et doubles. En pratique, après développement de l'exponentielle, cela ajoute quelques termes de degré élevé dans les équations 2.55 et 2.56, qui deviennent :

$$\left\langle \Psi_i^a \left| \hat{H} - E_{HF} \right| \left(\hat{T}_1 + \hat{T}_2 + \hat{T}_1 \hat{T}_2 - \frac{1}{3} \hat{T}_1^3 \right) \Psi_0 \right\rangle = \alpha_i^a E_C \quad (2.58)$$

$$\left\langle \Psi_{ij}^{ab} \left| \hat{H} - E_{HF} \right| \left(1 + \hat{T}_1 + \hat{T}_2 + \frac{1}{2} \hat{T}_2^2 - \frac{1}{3} \hat{T}_1^3 - \frac{1}{12} \hat{T}_1^4 \right) \Psi_0 \right\rangle = \alpha_{ij}^{ab} E_C \quad (2.59)$$

On peut donc voir la méthode QCISD comme une approximation de la méthode CCSD. La cohérence de taille est garantie par la forme exponentielle de f .^[32] Cependant, la présence de termes à la puissance 3 ou 4 rend le calcul beaucoup plus compliqué que la méthode QCISD, qui fournit finalement des résultats extrêmement voisins.^[31]

2.1.6 La méthode IMOMO

Nous avons été amenés à plusieurs reprises dans ce travail à faire des calculs sur des systèmes moléculaires de taille moyenne comme les cystéines, qui ont un intérêt biologique direct. Mais passer d'un système d'une petite dizaine d'atomes (30 à 40 électrons, comme le méthane-thiol CH_3SH , le plus simple modèle de thiol) à un acide aminé complet (24 atomes et une centaine d'électrons) ne peut pas se faire en conservant des méthodes comme MP4 ou QCISD(T). Le temps de calcul deviendrait colossal, ou plus probablement, nos moyens de calcul ne disposeraient pas des ressources nécessaires.

Nous avons donc cherché le meilleur moyen de limiter le temps de calcul, sans trop nuire à la précision des résultats. Une réponse pertinente nous a été apportée par la méthode IMOMO (integrated molecular orbital + molecular orbital).^{[33][34]} Elle consiste à combiner des calculs à deux (ou trois) niveaux de théorie différents. Ceci permet d'appliquer une méthode très précise M à la partie chimiquement intéressante (A) du système (cette partie sera appelée "système modèle"), et se limiter à une méthode m moins gourmande en temps de calcul pour le reste (B) de la molécule. Le système modèle A correspond au système entier dans lequel on aurait remplacé la partie B par un atome d'hydrogène.

Le système total ($A + B$) est appelé "système réel". L'énergie du système calculée avec IMOMO s'écrit :

$$E_{IMOMO} = E_m^{A+B} + (E_M^A - E_m^A) \quad (2.60)$$

Le but de la quantité entre parenthèses est de fournir une estimation de $(E_M^{A+B} - E_m^{A+B})$, afin que E_{IMOMO} approche E_M^{A+B} , énergie que l'on ne pouvait en pratique pas calculer. Dans notre cas, il s'agit de traiter une cystéine complexée au radical hydroxyle,

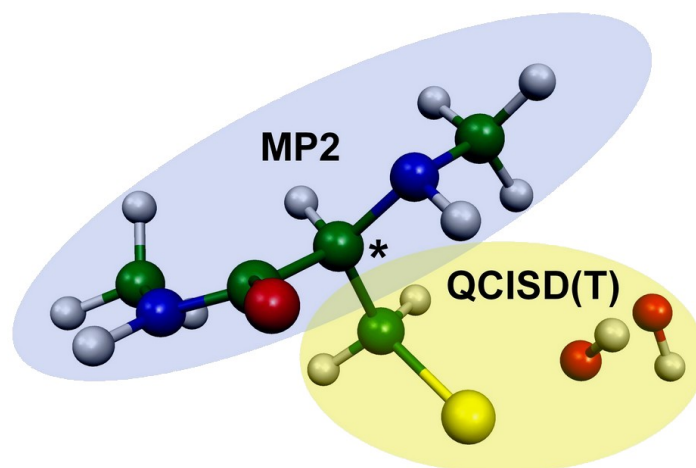


FIG. 2.1 – Exemple de traitement IMOMO sur un système *cystéine*+ H_2O_2 : le système modèle, traité au niveau QCISD(T), inclut le groupement thiol et le peroxyde d'hydrogène, tandis que les autres atomes ne seront traités qu'avec la méthode UMP2. Le carbone marqué d'un astérisque est ici l'atome-lien.

superoxyde, ou au peroxyde d'hydrogène. L'ensemble du système contient un peu plus de 20 atomes, ce qui rend un calcul impossible avec la seule méthode QCISD(T), *a fortiori* avec un jeu de fonctions de bases large comme 6-311+G(2df,2pd).

Le "système modèle" comprend l'agent oxydant, la fonction thiol (ou thiolate) de la cystéine, le groupe CH_2 adjacent, et le carbone situé en α qui joue le rôle d'*atome-lien*. Elle sera traitée avec la méthode QCISD(T), tandis que les autres atomes de la molécule le seront avec la méthode MP2.

2.2 Jeux de fonctions de base

Le choix du jeu de fonctions de base est aussi important que celui de la méthode utilisée.

Les fonctions de base peuvent être considérées dans une première approche comme des représentations mathématiques possibles des orbitales atomiques au sein d'un système moléculaire. Elles permettent de moduler la densité électronique afin de minimiser l'énergie du système. Plus les jeux sont larges (ou complets), moins les contraintes pour les électrons sont grossières, et plus les résultats obtenus peuvent se rapprocher de la réalité.

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe 2.1.1, les orbitales moléculaires peuvent être écrites comme des combinaisons linéaires d'orbitales atomiques, donc de fonctions de base χ :

$$\phi_i = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \chi_{\mu} \quad (2.61)$$

où les χ_{μ} sont les fonctions de base, et les $c_{\mu i}$ les *coefficients d'expansion*.

Orbitales de Slater (e^{-r})

Physiquement parlant, les orbitales de type "Slater" (STO) représentent le mieux les orbitales atomiques. Elles feraient d'excellentes fonctions de base. Une STO centrée sur un atome A a pour expression :

$$\chi^{STO} = N r_A^{n-1} \exp \frac{-\zeta r_A}{a_0} Y_l^m(\theta_A, \varphi_A) \quad (2.62)$$

où Y est la partie angulaire, n , m et l sont les trois nombres quantiques, a_0 le rayon de Bohr, N la constante de normalisation, et ζ l'exposant orbital, toujours positif. Mais l'inconvénient majeur des orbitales de Slater provient du terme $e^{-\zeta r}$, qui rend leurs expressions assez compliquées à manipuler numériquement.

Gaussiennes (e^{-r^2})

Boys a suggéré en 1950 d'utiliser des fonctions gaussiennes pour approcher les STO.^[35] Une gaussienne "cartésienne" centrée sur un atome B a pour expression :

$$g_{ijk} = N x_B^i y_B^j z_B^k e^{-\alpha r_B^2} \quad (2.63)$$

où i, j, k sont des entiers positifs ou nuls, α l'exposant orbital (positif), et x_B, y_B et z_B les coordonnées cartésiennes du noyau de l'atome B. Si la somme $i + j + k$ vaut 0, l'orbitale sera de type s. Si $i + j + k = 1$, elle sera de type p, etc. Par exemple, la gaussienne représentant l'orbitale p_y a pour expression :

$$g_{p_y}(\alpha, \vec{r}) = \left(\frac{128 \alpha^5}{\pi^3} \right) y e^{-\alpha r^2} \quad (2.64)$$

Ces gaussiennes sont appelées gaussiennes *primitives*. Elles peuvent être associées en combinaisons linéaires pour former des gaussiennes *contractées* qui ont la forme :

$$\chi_\mu = \sum_p d_{\mu p} g_p \quad (2.65)$$

où les coefficients de contraction $d_{\mu p}$ sont des constantes fixées pour un jeu de fonctions de base donné.

Jeu minimal

Un jeu de fonctions de base minimal attribue pour chaque atome :

- un jeu de fonctions de base par sous-couche électronique complète
- une fonction de base pour chaque orbitale atomique de la couche de valence

Par exemple, pour une molécule d'acide fluorhydrique HF, le jeu minimal comprendrait une fonction pour l'orbitale 1s de l'hydrogène, une fonction pour la sous-couche 1s complète du fluor, et quatre fonctions correspondant aux orbitales 2s, 2p_x, 2p_y, 2p_z de la couche de valence du fluor.

Bien que ce jeu minimal donne des résultats qualitativement satisfaisants en général, de nombreuses améliorations ont été apportées afin d'assouplir la description des orbitales moléculaires.

Jeux de fonctions de base de type double-zeta et triple-zeta

La première amélioration consiste à doubler (*double-zeta*) voire à tripler (*triple-zeta*) le nombre de fonctions de base. Chacune des fonctions du jeu minimal se voit alors remplacée par un jeu de deux (ou trois, respectivement) fonctions aux coefficients d'expansion différents.

Jeux de fonctions de base de type split-valence

L'idée est toujours de dédoubler les fonctions de base, mais elle ne s'applique ici qu'aux orbitales de valence. Chacune d'entre elles sera alors représentée par une combinaison de gaussiennes primitives et/ou contractées.

Fonctions de polarisation

Au sein d'une molécule, une orbitale atomique peut subir des distorsions ou voir son barycentre des charges déplacé de la position du noyau. La prise en compte de ces phénomènes de polarisation passe par l'ajout de fonctions de base dont le nombre quantique l est supérieur à celui de la couche de valence (à l'état fondamental). Par exemple, il est courant d'attribuer des fonctions p aux atomes d'hydrogène, ou des fonctions de type d aux atomes de la première ligne de la classification périodique.

Fonctions diffuses

Une autre amélioration consiste à ajouter une (ou des) fonction(s) diffuse(s), qui permettent aux orbitales de s'étendre encore un peu plus dans l'espace. Ceci s'avère particulièrement utile lorsque l'on travaille avec des anions, des molécules excitées, ou des atomes de grande taille. Par contre, leur utilisation sur les atomes d'hydrogène est rarement pertinente. Les fonctions diffuses sont en général représentées par un "+" dans le nom du jeu de fonctions de base.

Perfectionnements relativistes

Enfin, des ajustements prenant en compte les effets relativistes peuvent être apportés pour les atomes spécialement lourds. Ce ne sera pas utile dans le cadre de cette étude, dans la mesure où nous n'avons travaillé qu'avec des atomes de numéro atomique inférieur à 34 (sélénium).

Jeux de fonctions de base les plus utilisés dans ce travail

Nous nous sommes essentiellement servis de deux jeux de fonctions de base, 6-311+G(d,p) et 6-311+G(2df,2pd).

"6-311G" signifie qu'ils sont tous deux construits autour de jeux de type *valence triple zeta*. Chaque sous-couche électronique complète y est représentée par six gaussiennes primitives. Chaque orbitale atomique de valence se voit attribuer trois gaussiennes contrac-

tées plus deux gaussiennes primitives.

"+" précise qu'une fonction diffuse a été appliquée à tous les atomes (sauf aux atomes d'hydrogène)

Enfin, "(d,p)" et "(2df,2pd)" représentent les fonctions de polarisation. Dans le premier cas, un jeu de fonctions radiales de type p est ajouté aux atomes d'hydrogène, et de type d aux atomes d'oxygène, de carbone, etc. Dans le cas de (2df,2pd), deux jeux de fonctions p et un de fonctions d sont attribués aux atomes d'hydrogène, 2 de fonctions d et un de fonctions f sur les autres atomes.

Lors de cette thèse, nous avons testé des jeux de fonctions de base encore plus larges et remarqué que le gain de précision n'était pas significatif, surtout comparé à l'augmentation du temps de calcul due à la plus grande taille du jeu. Nous avons donc utilisé 6-311+G(d,p) pour les optimisations, calculs de fréquences... et 6-311+G(2df,2pd) pour les calculs d'énergie à point fixe, qui requièrent une précision élevée.

Notons enfin que le logiciel Gaussian^[36] permet d'attribuer un jeu de fonctions de base donné à *chaque atome* si on le souhaite. En pratique, nous pourrions attribuer un jeu plus complet aux atomes jugés importants, qu'aux autres atomes.

Erreur de superposition des bases (BSSE)

Lors d'un calcul d'énergie de complexation E_C de deux monomères A et B en un complexe AB , E_C s'exprime :

$$E_C = E_{AB} - E_A - E_B$$

Le résultat de E_C est affecté par deux erreurs contradictoires dues au caractère fini des jeux de fonctions de base :

- La corrélation électronique liée à la formation du complexe AB n'est prise en compte que partiellement. L'énergie de complexation calculée sera donc un peu moins élevée que sa valeur réelle.

- Les énergies de A et B dans le complexe seront plus basses que celles calculées pour A et B libres (E_A et E_B), ce qui tend à surévaluer l'énergie de complexation. En effet, au sein du complexe, on dispose d'un jeu de fonctions de base plus large : le calcul de l'énergie de A peut se servir des fonctions de base centrées sur B pour la minimiser, et vice-versa. Par contre lorsque A et B sont libres, leur énergie n'est calculée qu'avec leurs propres fonctions de base. Le traitement n'est donc pas équivalent dans les deux cas, et l'erreur qui en résulte est appelée BSSE.

Schwenke et Truhlar^[37] avaient déjà relevé en 1985 cet effet contradictoire correspondant à un traitement trop approximatif des perturbations réciproques entre A et B . Ces erreurs ont tendance à se compenser^[38] lorsque la complexation provoque un réarrangement électronique important, par exemple pour la plupart des états de transition où les liaisons de valence ne sont pas toujours définies clairement.

Plusieurs méthodes existent pour évaluer les BSSE. Nous avons choisi d'utiliser la méthode du contreponds proposée par Boys et Bernardi.^[39] Le principe consiste à calculer les énergies de liaison d'un système fictif S constitué :

- d'un côté, de la partie A et d'une partie B "fantôme",
- de l'autre, d'une partie A "fantôme" et de la partie B

Les parties "fantômes" A et B sont presque identiques à A et B respectivement (mêmes coordonnées des noyaux, mêmes jeux de fonctions de base) mais ils n'ont ni charge nucléaire, ni électrons qui contribuent à S .

Cette méthode permet d'évaluer assez simplement la contribution des BSSE à l'énergie de complexation.

L'utilisation de la correction BSSE n'est pas toujours pertinente. A notre avis, il n'est pas conseillé d'utiliser cette correction dans les cas où la complexation entraîne un réarrangement électronique important. C'est le cas des états de transition. Par contre, pour les complexes faiblement liés, la prise en compte de la correction BSSE peut, en général, améliorer la précision des résultats.

2.3 Calcul de l'énergie libre de Gibbs

2.3.1 Contributions à l'énergie libre de Gibbs

L'énergie libre de Gibbs^[40], parfois appelée *enthalpie libre*, est définie par :

$$G = H - TS \quad (2.66)$$

où S est l'entropie du système, T la température, et H l'enthalpie définie par :

$$H = U + PV \quad (2.67)$$

où U est l'énergie interne, P la pression et V le volume du système.

G est la fonction d'état la plus adaptée aux réactions chimiques qui ont lieu à tempé-

rature et pression constantes, conditions considérées comme réunies en milieu biologique.

L'énergie libre de Gibbs peut aussi être écrite en fonction de l'énergie libre F :

$$G = U - TS + PV = F + PV \quad (2.68)$$

F est calculable à partir de la fonction de partition molaire du système q_m . Si, dans le calcul de q_m , on prend l'énergie potentielle du système $E_{p,m}$ comme origine de l'énergie, alors F s'écrit :

$$F = -k_B T \ln(q_m) + E_{p,m} \quad (2.69)$$

Pour une mole de particules indiscernables, q_m va s'écrire comme le produit des fonctions de partition q de chacune des N_A particules, divisé par $N_A!$ en raison de cette indiscernabilité.

$$q_m = \frac{1}{N_A!} q^{N_A} \quad (2.70)$$

L'approximation de Stirling permet de réécrire cette expression sous la forme plus condensée :

$$F = -k_B T N_A \left(1 + \ln \frac{q}{N_A} \right) + E_{p,m} = -RT \left(1 + \ln \frac{q}{N_A} \right) + E_{p,m} \quad (2.71)$$

Il suffit alors d'ajouter PV , qui vaut RT dans le cas d'une mole de gaz parfait, pour obtenir l'expression finale de l'énergie libre de Gibbs :

$$G = F + PV = -RT \left(1 + \ln \frac{q}{N_A} \right) + E_{p,m} + RT = -RT \ln \frac{q}{N_A} + E_{p,m} \quad (2.72)$$

Intéressons-nous maintenant à l'expression de la fonction de partition moléculaire q . Les mouvements de rotation, vibration, translation et électronique pouvant être considérés comme indépendants, q peut s'écrire comme le produit de ces quatre contributions :

$$q = q^R q^V q^T q^E \quad (2.73)$$

Le terme q^R correspondant aux rotations a pour expression :

$$q^R = q_A^R q_B^R q_C^R \quad (2.74)$$

$$\text{avec } q_A^R = \sum_J (2J+1) e^{-\beta h c A J(J+1)} \quad (2.75)$$

où J est le nombre quantique du moment cinétique, $\beta = (k_B T)^{-1}$, h est la constante de Planck, c la vitesse de la lumière dans le vide, A , B , et C les constantes rotationnelles de la molécule (en cm^{-1}).

La fonction de partition de vibration q^V s'écrit :

$$q^V = \prod_i \left(\sum_n e^{-\beta(n+\frac{1}{2})h\nu_i} \right) \quad (2.76)$$

où n couvre tous les niveaux de vibration, et où les ν_i sont les fréquences des modes de vibration considérés.

Une fois cette somme calculée, q^V s'écrit :

$$q^V = \prod_i \frac{e^{\frac{-\beta h \nu_i}{2}}}{1 - e^{-\beta h \nu_i}} \quad (2.77)$$

Nous verrons au paragraphe 2.3.2 comment les fréquences de vibration des modes normaux ν_i sont calculées.

La fonction de partition de translation est donnée par :

$$q^T = V \left(\frac{2\pi m}{\beta h^2} \right)^{3/2} \quad (2.78)$$

où m est la masse de la particule, et V le volume du récipient contenant la particule.

Enfin, la contribution électronique q^E est égale à la dégénérescence de l'état fondamental (1 dans la plupart des cas).

Le calcul de G revient donc à déterminer chaque contribution à la fonction de partition moléculaire q , c'est pourquoi un calcul de fréquences est nécessaire à chaque fois que l'on voudra calculer l'énergie libre de Gibbs d'une structure.

2.3.2 Calcul des fréquences

Les calculs de fréquences permettent d'accéder à l'énergie totale du système à 0 K (somme de l'énergie potentielle et de l'énergie de vibration de point zéro), ainsi qu'aux propriétés thermodynamiques du système, en particulier l'énergie libre de Gibbs.

L'équation de Schrödinger pour le mouvement des noyaux a pour expression :

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \frac{\partial^2}{\partial X_{\alpha}^2} + U(X_{\alpha}) \right] \Psi_{\text{noy}} = E \Psi_{\text{noy}} \quad (2.79)$$

En opérant le changement de variables $X'_{\alpha} = \sqrt{m_{\alpha}} X_{\alpha}$, la partie "potentielle" s'écrit, dans l'approximation harmonique :

$$U(q) = U(0) + \frac{1}{2} \sum_{i,j} \underbrace{\frac{\partial^2 U}{\partial q_i \partial q_j}}_{F_{i,j}} q_i q_j \quad (2.80)$$

où $q_i = X'_i - X_i^0$, les X_i^0 étant les coordonnées à l'équilibre. Les $F_{i,j}$ représentent les constantes de forces de la molécule, pondérées par les masses. Ce sont des matrices qui peuvent être diagonalisées grâce au changement de variables :

$$Q_k = \sum l_{kj} q'_j, \quad (2.81)$$

Les éléments l_{kj} sont les solutions du système

$$\sum_{j=1}^N (F_{i,j} - \delta_{ij} \lambda_k) l_{kj} = 0. \quad (2.82)$$

On peut toujours trouver une transformation l_{kj} qui préserve également la forme diagonale de la matrice énergie cinétique du système :

$$E_{cin} = \frac{1}{2} \sum_i \dot{q}_i^2 = \frac{1}{2} \sum_i \dot{Q}_i^2. \quad (2.83)$$

En vertu de la diagonalisation de $F_{i,j}$, l'expression de l'énergie potentielle en fonction des coordonnées Q_i s'écrit :

$$U = U(0) + \frac{1}{2} \sum \lambda_k Q_k^2. \quad (2.84)$$

La possibilité d'écrire les énergies cinétique et potentielle du système sous forme de matrices diagonales signifie que le mouvement interne de la molécule peut être décrit par $3N-6$ vibrations indépendantes qu'on appelle *modes normaux*. Chaque mode normal est équivalent à un oscillateur harmonique quantique.

L'énergie totale de vibration s'écrit alors :

$$E_{vib} = \sum_{k=1}^{3N-6} \left(v_k + \frac{1}{2} \right) h \nu_k \quad (2.85)$$

où les fréquences de vibration ν_k sont données par $\nu_k = \frac{\lambda_k}{2\pi}$, et où les v_k sont les différents niveaux de vibration.

2.3.3 Énergie libre de Gibbs en milieu aqueux

Les réactions que nous avons étudiées ici ont toutes lieu en milieu physiologique, donc aqueux. Les barrières d'énergie libre de Gibbs dont nous nous servirons pour calculer des constantes de réactions doivent donc impérativement prendre en compte la présence du solvant.

L'énergie libre de Gibbs molaire en phase gazeuse G_g est en pratique calculée comme la somme de l'énergie potentielle du système en phase gazeuse $E_{p,g}$ et de la correction molaire à l'énergie de Gibbs ΔG_g :

$$G_g = E_{p,g} + \Delta G_g \quad (2.86)$$

Conformément à l'équation 2.72,

$$\Delta G_g = -RT \ln \frac{q}{N_A} . \quad (2.87)$$

$E_{p,g}$ est calculée à l'aide d'un calcul d'énergie à point fixe avec la méthode la plus précise possible - dans notre cas, QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd).

Pour obtenir l'énergie libre de Gibbs en milieu aqueux G_{aq} (Eq. 2.88), nous ajoutons à G_g l'énergie libre de Gibbs de solvation du système ΔG_{solv} :

$$G_{aq} = G_g + \Delta G_{solv} \quad (2.88)$$

Pour le calcul de ΔG_{solv} , nous avons utilisé le modèle du continuum polarisable (*polarizable continuum model, PCM*).^[41]

Le principe de cette méthode est de définir des cavités sphériques centrées sur les noyaux (suivant des paramètres empiriques, ou les rayons de Van der Waals), dans lesquelles le solvant n'est pas autorisé à pénétrer. Le modèle IPCM^[42] (pour *Isodensity PCM*) utilise les surfaces d'isodensité électronique pour définir cette cavité.

L'électronique classique montre que le potentiel électrique créé par le continuum diélectrique polarisé est équivalent à celui qui serait engendré par une *charge de surface apparente* distribuée de manière continue sur la surface de la cavité moléculaire. En pratique, cette surface est divisée en un grand nombre de petites surfaces au centre desquelles on place une charge apparente Q_k calculée ainsi :

$$Q_k = \frac{\epsilon_r - 1}{4\pi\epsilon_r} A_k \vec{\nabla} \phi_{in}(\vec{r}_k) \bullet \vec{n}_k \quad (2.89)$$

où A_k est l'aire de la surface k considérée, $\vec{r}_k$ le vecteur position du centre de k , $\vec{\nabla}\phi_{in}(\vec{r}_k)$ le gradient de potentiel électrique à l'intérieur de la cavité, au voisinage de $\vec{r}_k$. $\vec{n}_k$ est un vecteur unité normal à la surface k en $\vec{r}_k$, pointant hors de la cavité, et ϵ_r la permittivité relative du solvant considéré.

Dans la mesure où au départ ni Q_k ni ϕ_{in} ne sont connus, le calcul des Q_k devra être effectué itérativement (la première estimation de ϕ_{in} utilisée sera le potentiel créé par le soluté placé dans le vide).

Le premier jeu de charges apparentes $Q_k^{(0)}$ trouvé crée un potentiel électrique $\phi^{(0)}(\vec{r})$, qui sert d'estimation initiale pour calculer une première valeur de $\hat{V}_{int}$:

$$\hat{V}_{int}^{(0)} = - \sum_i \phi^{(0)}(\vec{r}_i) + \sum_{\alpha} Z_{\alpha} \phi^{(0)}(\vec{r}_{\alpha}) \quad (2.90)$$

où les sommes couvrent respectivement les électrons (i) et les noyaux (α). $\hat{V}_{int}^{(0)}$ est ajouté à l'hamiltonien moléculaire afin de calculer une nouvelle densité électronique, qui donne une valeur améliorée $\phi^{(1)}$ du potentiel électrique. A partir de là, un nouveau cycle de potentiel/charges apparentes peut démarrer pour calculer un meilleur jeu de charges $Q_k^{(1)}$. Ce nouveau jeu de charges sert à calculer une valeur améliorée $\hat{V}_{int}^{(1)}$ du potentiel, et ainsi de suite jusqu'à ce que les deux cycles aient convergé.

En résolvant l'équation de Schrödinger pour la molécule en interaction avec le solvant, on obtient une énergie potentielle qui inclut l'énergie d'interaction électrostatique solvant-soluté. L'énergie libre de solvation est la différence entre cette énergie, et l'énergie potentielle de la molécule dans le vide à laquelle on ajoute l'énergie de dispersion et l'énergie libre de formation de la cavité.

Cette méthode présente l'avantage de ne pas être très exigeante en temps de calcul, tout en fournissant des résultats en bon accord avec les données expérimentales.

Les principales limitations du PCM sont :

- le choix empirique de la taille de la cavité de solvation
- son caractère statique qui ne permet pas de traiter correctement les réactions dans lesquelles la dynamique du solvant joue un rôle essentiel.

2.3.4 Rotations internes cachées

Les corrections thermodynamiques (à l'énergie libre de Gibbs notamment), sont d'habitude calculées dans l'approximation de l'oscillateur harmonique pour tous les modes

normaux de vibration. Cela suppose que pour chaque coordonnée interne, la molécule reste dans un puits de potentiel spécifique. Dans certains cas, ce puits n'est pas suffisamment profond et la molécule peut passer d'un minimum d'énergie à un autre sous l'effet du mouvement thermique.^[43] La courbe de la Figure 2.2 illustre un tel exemple. Dans ce cas, on n'a plus affaire à un mouvement de vibration, mais plutôt à une rotation cachée. La fonction de partition n'est alors plus celle d'un oscillateur harmonique.

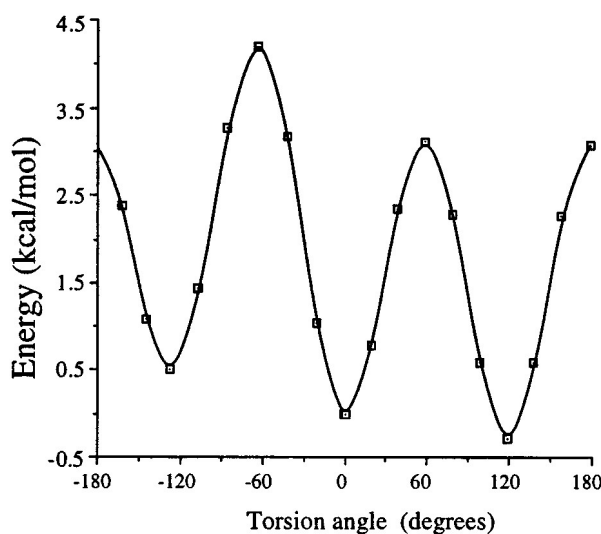


FIG. 2.2 – Potentiel de torsion de la liaison C3-C4 du 1,5-hexadiène en conformation *gauche-gauche* (calculé au niveau de théorie HF/STO-3G)

L'étude d'Ayala et Schlegel^[44] montre que la fonction de partition d'un rotateur caché i peut être décrite par l'expression :

$$Q_i^{hin} = Q_i^{h.o.q.} \sqrt{\frac{\pi V_0}{k_B T}} e^{-V_0/2k_B T} J_0 \left(\frac{iV_0}{2k_B T} \right) \quad (2.91)$$

où V_0 est la hauteur des barrières d'énergie d'un potentiel périodique, et J_0 la fonction de Bessel de degré zéro. $Q_i^{h.o.q.}$ est la fonction de partition d'un oscillateur harmonique quantique :

$$Q_i^{h.o.q.} = \frac{e^{-u/2}}{1 - e^{-u}} \quad \text{avec} \quad u = \frac{h\nu}{k_B T} \quad (2.92)$$

La prise en compte de ces corrections entraîne des modifications d'énergie libre de Gibbs de l'ordre de 1 à 2 kcal/mol. Ces corrections peuvent être significatives surtout dans le cas des états de transition.

2.4 Calcul de la constante de vitesse de réaction

2.4.1 La théorie de l'état de transition (TST)

Dans l'espace des configurations d'un système chimique, les réactifs et les produits sont représentés par des sous-espaces spécifiques. La transformation des réactifs en produits est représentée dans cet espace par une trajectoire de réaction.

Dans la théorie de l'état de transition, il est supposé qu'il existe une surface séparant le domaine des réactifs de celui des produits, telle qu'une trajectoire de réaction ne franchit qu'une fois cette surface.^[45] Autrement dit, une fois cette surface franchie, le système ne peut plus revenir en arrière, vers les réactifs.

Dans la théorie conventionnelle de l'état de transition, la surface de transition est définie par rapport à l'énergie potentielle du système : l'intersection de chaque trajectoire de réaction avec cette surface est le point d'énergie potentielle maximale au long de cette courbe. Parmi les trajectoires de réaction possibles, la plus intéressante est la trajectoire d'énergie potentielle minimale (*minimum energy path, MEP*). Son intersection avec la surface de transition définit l'état de transition. Ce point de la surface d'énergie potentielle est particulier, parce qu'il est un point de maximum pour la coordonnée de réaction, et de minimum par rapport à toutes les autres coordonnées internes du système (Fig. 2.3).

La constante d'activation k_a d'une réaction est la probabilité par unité de temps qu'un

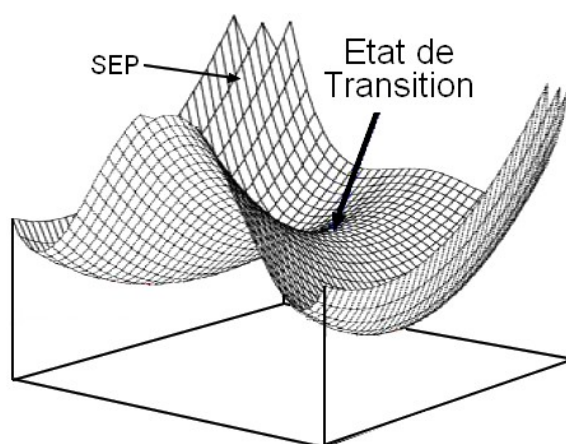


FIG. 2.3 – Représentation d'une surface d'énergie potentielle (SEP) présentant un état de transition.

couple de réactifs franchisse la surface de transition. Dans la TST conventionnelle, son

expression est :

$$k_a^{TST} = \frac{k_B T}{h} \left(\frac{Q^{TS}}{Q^{RC}} \right) \exp \left(\frac{-(E_p^{TS} - E_p^{RC})}{k_B T} \right) \quad (2.93)$$

où T est la température, k_B la constante de Boltzmann, h la constante de Planck, Q^{TS} la fonction de partition de l'état TS (calculée sans prendre en compte le mode de la coordonnée de réaction), et Q^{RC} la fonction de partition des réactifs. En utilisant l'équation 2.72, on peut réécrire 2.93 sous la forme :

$$k_a^{TST} = \frac{k_B T}{h} \exp \left(\frac{-(G^{TS} - G^{RC})}{RT} \right). \quad (2.94)$$

2.4.2 La théorie de l'état de transition variationnelle (VTST)

D'une manière plus générale, on peut définir l'état de transition comme l'état au long du MEP le plus difficile à atteindre. Dans la TST conventionnelle, il est supposé que cet état est l'état d'énergie potentielle maximale. Cela pourrait ne pas être exact, surtout dans le cas des surfaces d'énergie potentielle très "plates".

La TST variationnelle se propose de déterminer directement le point au long du MEP qui limite le flux des réactifs vers les produits.

Soit s la valeur de la coordonnée de réaction sur un point arbitraire du MEP. La probabilité par unité de temps qu'un couple de réactifs passe par ce point s'obtient en généralisant l'équation 2.93 :

$$k_a(T, s) = \frac{k_B T}{h} \left(\frac{Q(T, s)}{Q^R(T)} \right) \exp \left(\frac{-(E_p(s) - E_p^R)}{k_B T} \right) \quad (2.95)$$

L'état de transition correspond alors au minimum de $k_a(T, s)$, donc la constante d'activation de la réaction est :

$$k_a^{VTST}(T) = \min_s k_a(T, s) \quad (2.96)$$

En utilisant l'équation 2.72, l'équation 2.95 devient :

$$k_a(T, s) = \frac{k_B T}{h} \exp \left(\frac{-G(T, s) - G^R(T)}{RT} \right) \quad (2.97)$$

Cela nous permet de dire que dans la VTST, l'état de transition est l'état au long du MEP ayant l'énergie libre de Gibbs la plus élevée. Cela suggère aussi une méthode pratique pour déterminer $k_a^{VTST}(T)$: on calcule l'énergie libre de Gibbs sur plusieurs points du MEP et par interpolation, on obtient la courbe de $G(T, s)$. Finalement, on détermine le maximum de cette courbe (pour $s = s_0$) et on calcule $k_a^{VTST}(T)$ en ce point.

2.4.3 L'effet tunnel

Les expressions 2.94 et 2.97 des constantes respectives k_a^{TST} et k_a^{VTST} ont été établies en considérant que le mouvement par rapport à la coordonnée de réaction est un mouvement classique. Dans l'approche quantique, il faut tenir compte du fait que le système peut pénétrer dans le domaine des produits sans passer obligatoirement par l'état de transition, mais également par effet tunnel.

Alors, la constante d'activation doit être corrigée par un facteur de transmission κ :

$$k_a(T) = \kappa k_a^{TST} \quad (2.98)$$

Une correction similaire s'effectue dans le cas de la VTST. Le facteur de transmission peut être calculé de différentes manières. Ainsi, pour une barrière d'énergie parabolique, Fermann et Auerbach ont proposé l'expression suivante :^{[46][47]}

$$\kappa(T) = \frac{1}{2} \left[\exp \left(\frac{V_0}{KT} - \theta_0 \right) \operatorname{sech}(\theta_0) + \int_{-\infty}^{\theta_0} \exp \left(\frac{V_0}{KT} \frac{\theta}{\theta_0} \right) \operatorname{sech}^2(\theta) d\theta \right] \quad (2.99)$$

où V_0 est la barrière d'énergie de point-zéro. L'expression de θ_0 fait apparaître la fréquence imaginaire au point selle $\nu^\ddagger$:

$$\theta_0 = \frac{\pi V_0}{h \nu^\ddagger} \quad (2.100)$$

Autrement dit, moins la barrière d'énergie est épaisse, plus le coefficient de transmission sera élevé.

2.4.4 Réactions impliquant la formation d'un complexe intermédiaire

Ce type de réaction entre deux molécules A et B peut être schématisé ainsi :



où AB représente les réactifs complexés, $AB^\ddagger$ le complexe activé, P les produits (atteints de manière irréversible). Ces structures jalonnent le chemin de réaction représenté sur la Figure 2.4. L'état de transition TS est la structure précise du complexe activé pour laquelle l'énergie est maximale. Par la suite, nous ne ferons pas la distinction entre $AB^\ddagger$ et TS . De plus, nous utiliserons les notations FR (*Free Reactants*) et RC (*Reactants Complex*) à la place de $A + B$ et AB , respectivement.

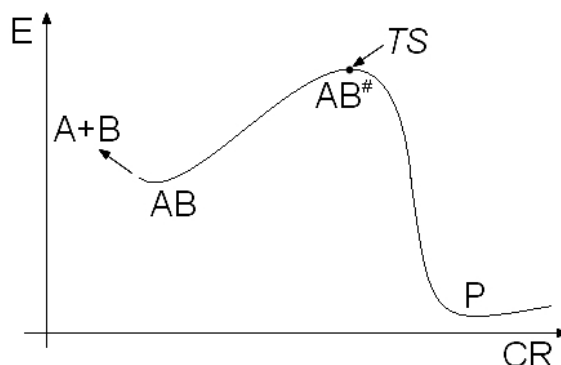


FIG. 2.4 – Profil énergétique d'une réaction avec formation de complexe activé.

Soient k_d et k'_d les constantes de vitesse respectives de complexation ($FR \rightarrow RC$) et de décomplexation ($RC \rightarrow FR$) des réactifs, et k_a la constante d'activation régissant le passage $RC \rightarrow TS \rightarrow P$. Par définition, la constante de vitesse de réaction k satisfait l'équation :

$$\frac{dc_P}{dt} = k c_A c_B \quad (2.102)$$

où c_P , c_A , c_B sont respectivement les concentrations des produits, et des réactifs A et B . En supposant que la concentration du complexe RC est stationnaire, on peut démontrer que :

$$k = \frac{k_a k_d}{k_a + k'_d} \quad (2.103)$$

Le calcul des trois constantes intervenant dans cette formule fait l'objet des paragraphes suivants.

Dans les cas où la constante d'activation est très inférieure à la constante de dissociation, l'équation 2.103 s'écrit :

$$k \cong \frac{k_a k_d}{k'_d} \quad (2.104)$$

Dans ce cas, on dit que la réaction est limitée par activation.

Calcul des constantes de complexation et de dissociation

Nous nous intéressons maintenant au processus de complexation des réactifs libres A et B en réactifs complexés AB ($FR \rightarrow RC$) et au phénomène inverse (dissociation $RC \rightarrow FR$). Respectivement, nous leur attribuerons les constantes k_d et k'_d . Elles sont reliées par la balance détaillée :

$$k'_d c_{AB} = k_d c_A c_B \quad (2.105)$$

où c_{AB} , c_A et c_B sont les concentrations molaires à l'équilibre du complexe et des réactants, respectivement.

a. Réactions en phase gazeuse

Pour les réactions en phase gazeuse, il est possible de trouver une expression de la constante de complexation k_d . En supposant que chaque collision entre réactifs est suivie d'une complexation, on peut écrire :

$$k_d = \sigma \langle v \rangle N_A \quad (2.106)$$

où σ est la section efficace de collision, N_A le nombre d'Avogadro, et $\langle v \rangle$ la vitesse moyenne relative en phase gazeuse de deux molécules A et B . Les concentrations molaires à l'équilibre étant liées par l'expression

$$\frac{c_A}{c_0} \frac{c_B}{c_0} = \frac{c_{AB}}{c_0} \exp\left(\frac{G_{FR} - G_{RC}}{RT}\right), \quad (2.107)$$

l'expression finale de la constante de dissociation est donnée par :

$$k'_d = \sigma N_A c_0 \left(\frac{8 k_B T}{\pi \mu}\right)^{1/2} \exp\left(\frac{G_{FR} - G_{RC}}{RT}\right) \quad (2.108)$$

Ici, $(G_{FR} - G_{RC})$ est l'énergie libre de Gibbs de dissociation, c_0 la concentration molaire standard en phase gazeuse et μ la masse molaire réduite de la paire A/B .

Dans une approche géométrique, la section efficace de réaction s'écrit $\sigma = \pi R^2$ où le rayon de réaction R peut être calculé grâce à la formule de Debye :

$$\frac{1}{R} = \int_{R_{eq}}^{\infty} \frac{\exp(-E(r)/k_B T)}{r^2} dr \quad (2.109)$$

où $E(r)$ est l'énergie potentielle du système en fonction de la distance intermoléculaire r , et R_{eq} est la distance d'équilibre entre les deux molécules.

b. Réactions en solution

Pour les réactions en solution, l'équation 2.105 est toujours valable, ainsi que l'équation 2.107. En combinant les deux, on obtient :

$$k'_d = c_0 k_d \exp\left(\frac{G_{FR} - G_{RC}}{RT}\right) \quad (2.110)$$

où c_0 et k_d sont désormais respectivement la concentration molaire standard en phase liquide ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) et la constante de diffusion. Dans le cas des réactions limitées par activation, les équations 2.94, 2.104 et 2.110 donnent :

$$k^{TST} = \frac{k_B T}{h} \frac{1}{c_0} \exp \left(- \frac{(G_{aq}^{TS} - G_{aq}^{FR})}{RT} \right). \quad (2.111)$$

La valeur de k^{TST} ne dépend finalement que des énergies libres de Gibbs en solution des réactifs libres (G_{aq}^{FR}) et de l'état de transition (G_{aq}^{TS}).

2.5 Protocole

La recherche du chemin de réaction et de la constante de vitesse de réaction à partir des seuls réactifs passe par certaines étapes obligatoires. Nous allons détailler ici la démarche utilisée pour les trois réactions étudiées.

Exploration de la surface d'énergie potentielle (SEP)

La première étape consiste à parcourir la surface d'énergie potentielle en faisant varier les coordonnées internes d'intérêt (on connaît en général les produits de réaction possibles). On peut par exemple forcer progressivement une liaison à se former, ou séparer deux atomes. Lors de ces "scans", il est important d'utiliser un pas suffisamment petit pour garantir la continuité du processus. La structure globale ne doit pas changer brutalement. Il est possible de faire varier la longueur d'une distance interatomique, un angle ou un angle dièdre, tout en laissant les autres paramètres "libres" ou en fixant certains d'entre eux. L'étude du profil énergétique de ces scans permet de prédire les structures qui sont proches d'états stationnaires : complexes ou adduits pour les minima, états de transition pour les maxima.

L'exploration de la SEP doit être quasiment exhaustive, car les étapes suivantes ne font qu'affiner les conjectures grossières issues des scans.

Optimisation des structures stationnaires

A partir des structures qui correspondent à des minima sur les courbes d'énergie des scans, nous avons lancé des optimisations sans contrainte. Le système évolue alors vers l'état stable le plus proche. Ce type d'état sera soit appelé "réactifs complexés" (RC), soit "produits complexés" (PC), soit "adduit" (A ou AD), en fonction de sa position le long

du chemin de réaction.

D'autre part, les réactifs et produits séparés ("libres") doivent être optimisés séparément et nous calculerons l'énergie des réactifs libres (FR) et produits libres (FP) comme la somme des énergies des deux molécules concernées.

Cas spécifique des états de transition

Les courbes d'énergie des scans comportent également des maxima ou des discontinuités. C'est à partir des structures correspondantes que nous lançons les optimisations pour trouver les états de transition (sur la SEP, ils correspondent à des points "selle", autrement dit des cols). Avant de débiter l'optimisation du système, il est nécessaire de calculer les dérivées secondes de l'énergie (constantes de force) de la structure de départ. Ensuite, l'optimisation recherche le point selle le plus proche : la courbure de la SEP doit être positive suivant toutes les dimensions, sauf une ("fréquence négative"). Une fois l'optimisation terminée, deux vérifications s'imposent :

- Un deuxième calcul de fréquences sur la structure optimisée doit confirmer qu'elle possède une (et une seule) fréquence imaginaire. Parfois, une autre optimisation est nécessaire.

- Il est également important de vérifier que l'état de transition trouvé relie bien des structures stationnaires trouvées précédemment. Un calcul de type IRC (*internal reaction coordinate*)^[48] permet de suivre le chemin de plus grande pente de chaque côté du col jusqu'à la première configuration stable rencontrée. L'IRC parcourt donc le véritable chemin de réaction qui relie deux états de type RC, AD ou PC, via un état de transition (TS).

Énergie libre de Gibbs dans le vide G_g

Les résultats obtenus jusqu'ici nous permettent déjà de tracer le profil énergétique de la réaction, mais pour plus de précision, nous avons mené des calculs d'énergie potentielle à point fixe (SPE pour *Single Point Energy*) avec une méthode pointue (QCISD(T)) et un jeu de fonctions de base très large (6-311+G(2df,2pd) dans la plupart des cas). La précision des résultats s'en trouve significativement améliorée. Toutefois, ces calculs ne peuvent être menés que dans le vide, le modèle de solvant n'étant pas compatible avec les méthodes par interaction de configuration.

Pour passer de l'énergie potentielle à l'énergie libre de Gibbs, nous devons ajouter la correction thermodynamique ΔG_{corr} à l'énergie libre de Gibbs, fournie lors des calculs de

fréquences :

$$G_g = E^{SPE} + \Delta G_{corr} \quad (2.112)$$

Les corrections dues aux rotateurs cachés sont également prises en compte à cette étape.

Énergie libre de Gibbs en milieu aqueux G_{aq}

Pour calculer l'énergie libre de solvation ΔG_{solv} , nous devons optimiser toutes les structures stationnaires dans le solvant. Dans la plupart des cas, la structure de départ est la configuration optimisée dans le vide, les variations de structure entre vide et solvant étant relativement faibles. ΔG_{solv} est calculée comme la différence d'énergie entre les structures optimisées dans le vide et dans le solvant, au même niveau de théorie (MP2) ; on ajoute aussi l'énergie de dispersion et de formation de la cavité fournies par le modèle PCM. On peut alors déduire G_{aq} de l'équation 2.88.

Calcul de la constante de réaction

Dans le cas des réactions limitées par activation, seuls les réactifs libres FR et l'état de transition TS (s'il y en a plusieurs, on considère le plus haut en énergie) sont nécessaires pour calculer la constante de vitesse. Les autres structures (complexes, adduits, produits libres...) ne jouent pas de rôle cinétique déterminant.

La constante de réaction globale peut enfin être calculée en utilisant la relation 2.111.

2.6 Moyens de calcul utilisés

Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel Gaussian 03,^[36] sur plusieurs PCs indépendants exploités par Windows XP, équipés de 2 GB de RAM, et de processeurs Intel Pentium IV 2,4 GHz ou ASUS Dual Xeon 2,4 GHz.

Chapitre 3

Oxydation de thiols par le radical hydroxyle

Sommaire

3.1	État des connaissances	54
3.2	Méthodologie	55
3.3	Résultats	56
3.3.1	Méthanethiol et radical hydroxyle en phase gazeuse	56
3.3.2	Méthanethiol et radical hydroxyle en milieu aqueux	64
3.3.3	Cystéine et radical hydroxyle en phase gazeuse	67
3.3.4	Cystéine et radical hydroxyle en milieu aqueux	69
3.4	Conclusions	70

Les résultats que nous avons obtenus lors de l'étude de cette réaction ont été publiés en 2006 dans la revue *ChemPhysChem*.^[49]

3.1 État des connaissances

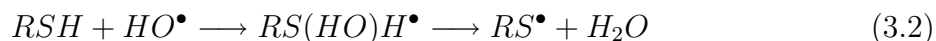
La réaction d'oxydation des thiols RSH par le radical hydroxyle HO• a été étudiée expérimentalement par radiolyse pulsée (*pulse radiolysis*)^{[50][51]} et photolyse éclair (*flash photolysis*).^[52] Ces études montrent que le radical hydroxyle oxyde très efficacement les différents thiols, quelle que soit la nature du substituant R. Les oxydations de cystéine, cystéamine, glutathion, captopril, N-acétylcystéine présentent des constantes de vitesse comprises entre 10^9 et $3 \cdot 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$, donc très proches des constantes de diffusion.

Les produits de réaction sont le radical thiyl et l'eau :



Si les études expérimentales sont assez cohérentes au niveau des constantes de vitesse et des produits obtenus, le mécanisme de réaction pose toujours problème. La voie de réaction la plus directe serait le transfert direct de l'atome d'hydrogène, mais la participation éventuelle d'états intermédiaires divise les analyses expérimentales et théoriques.

L'étude de Wine et al.^[53] (qui met en évidence un léger effet isotopique) et celle de Butkovskaya et al.^[54] sur la distribution vibrationnelle des produits, suggèrent toutes les deux que le chemin de réaction principal en phase gazeuse implique la formation d'un adduit. Celui-ci serait suivi de l'élimination de la molécule d'eau pour aboutir aux produits mentionnés plus haut :



Les conclusions des analyses théoriques sont assez divergentes des déductions expérimentales.

Wilson et Hirst^[55] ont identifié une structure de type "adduit", reliée aux réactifs par un état de transition. Ils ont cependant conclu que la formation de l'adduit était moins probable que l'abstraction directe de l'atome d'hydrogène, qui présente une barrière d'énergie plus basse.

Dans une étude ultérieure, Benassi confirmait cette analyse.^[56] De plus, le chemin de réaction menant de l'adduit aux produits n'a pas été clairement identifié, bien que

Muino^[57] ait proposé des structures intermédiaires supplémentaires, concluant que le mécanisme d'addition-élimination pouvait être compétitif avec l'abstraction directe d'hydrogène.

La localisation d'adduits de type RS-OH est connue pour être assez délicate,^[58] dans la mesure où elle implique des complexes de type 9-S-3 (trois substituants autour du soufre, et neuf électrons de valence). Ces configurations nécessitent au minimum l'emploi de la méthode MP2, avec un jeu de fonctions de base large.

Notre travail a pour but de clarifier le mécanisme de réaction, qui est sujet à controverse, en utilisant des méthodes de calcul poussées. L'influence de liaisons hydrogène et de la polarisabilité électrique du milieu a également été étudiée. Nous validerons nos résultats en proposant une constante de réaction qui sera comparée aux données expérimentales.

3.2 Méthodologie

Afin d'identifier les états intermédiaires qui participent éventuellement à la réaction 3.1, nous avons scanné la surface d'énergie potentielle en faisant varier séparément des distances interatomiques d_{S-O} , d_{H_S-O} et d_{H_S-S} (où H_S désigne l'atome d'hydrogène qui appartient initialement à la fonction thiol). Chaque point de la courbe de scan a été obtenu en fixant la valeur de la distance interatomique concernée, et en optimisant la structure moléculaire en fonction de toutes les autres coordonnées. Le pas séparant deux points consécutifs est au maximum de cinq centièmes d'angström, ce qui permet d'obtenir des courbes lisses tout au long de la trajectoire de scan.

Les scans portant sur l'abstraction directe de l'atome d'hydrogène ont été effectués au niveau de théorie UMP2/6-311+G(d,p). Le cas du chemin de réaction passant par l'adduit étant plus délicat, nous avons utilisé la méthode mixte IMOMO (cf. § 2.1.6) : le "système modèle" (les groupes SH et OH) est traité au niveau QCISD/6-311+G(2df,p), et le "système réel" avec UMP2/6-311+G(d,p).

Les trajectoires de scan nous ont permis de localiser grossièrement les états intermédiaires de la réaction. Ceux-ci ont alors été réoptimisés sans contrainte, au niveau UMP2/6-311+G(d,p) sauf dans le cas de l'adduit, traité avec la méthode IMOMO décrite ci-dessus.

Dans notre cas, l'utilisation de deux méthodes différentes (UMP2 et QCISD :UMP2) pour optimiser les structures ne pose pas de problème de cohérence, car elles donnent des

résultats pratiquement identiques, sauf dans le cas particulier de l'adduit.

Nous obtenons G_g avec la formule 2.86, où $E_{p,g}$ est calculée à l'aide d'un calcul d'énergie à point fixe avec la méthode QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd).

L'énergie libre de Gibbs en milieu aqueux G_{aq} est calculée grâce à l'équation 2.88 : nous ajoutons à G_g l'énergie libre de Gibbs de solvation du système ΔG_{solv} fournie par le modèle du continuum polarisable.

Pour le système cystéine/ $\text{HO}^\bullet$, les états stationnaires ont été obtenus à partir des structures $\text{CH}_3\text{SH}/\text{HO}^\bullet$, réoptimisées avec la méthode UMP2/6-311+G(d,p) sauf dans le cas de l'adduit, qui a été optimisé avec la méthode IMOMO. Les énergies potentielles ont aussi été obtenues avec la méthode IMOMO : le système modèle (correspondant au méthane-thiol + radical) a été traité au niveau QCISD(T)/6-311+G(d,p), et le système réel (cystéine entière + radical) au niveau UMP2/6-311+G(2df,2pd).

3.3 Résultats

3.3.1 Méthane-thiol et radical hydroxyle en phase gazeuse

Abstraction directe de l'atome d'hydrogène

La coordonnée de réaction de l'abstraction directe de l'atome d'hydrogène doit être étroitement liée à la distance interatomique $d_{\text{HS-O}}$. Le scan de l'énergie en fonction de cette distance est représentée sur la Figure 3.1.

On observe deux extrema : un minimum assez plat pour la distance $d_{\text{HS-O}} = 4,2 \text{ \AA}$ et un maximum pour $d_{\text{HS-O}} = 1,4 \text{ \AA}$. Les deux structures correspondantes ont été optimisées sans contrainte, aboutissant à deux points stationnaires. Le minimum plat correspond à un complexe de réactifs RC stabilisé par une liaison hydrogène entre l'atome de soufre et l'atome d'hydrogène du radical hydroxyle.

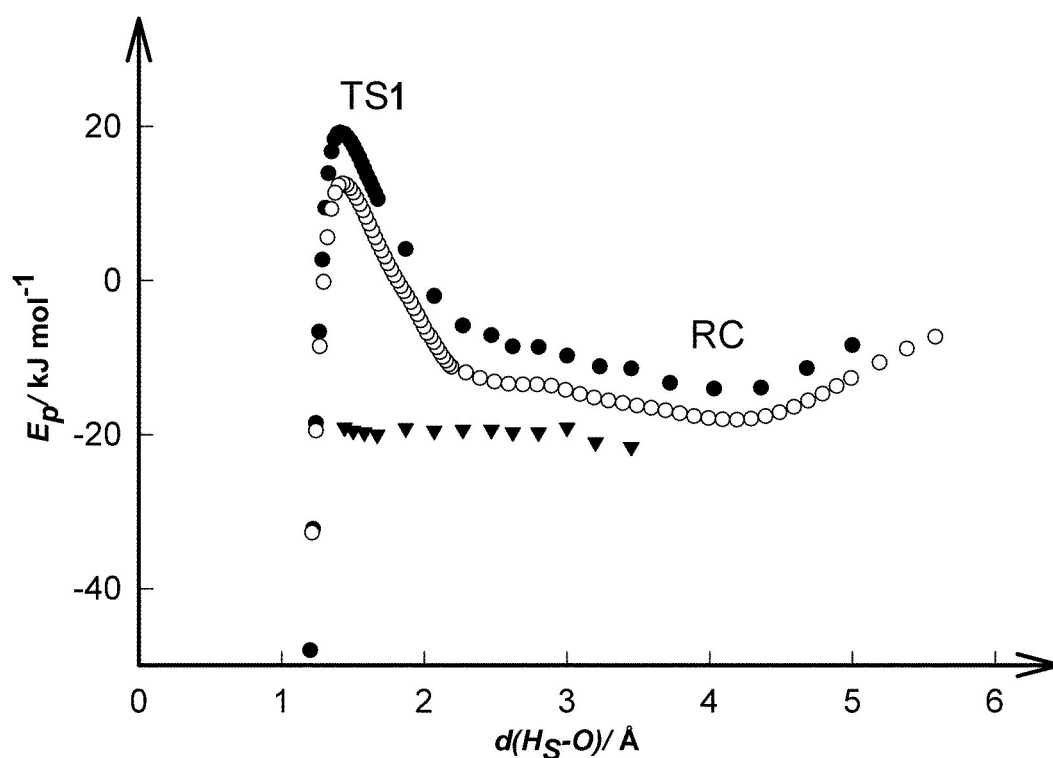


FIG. 3.1 – Interaction entre le méthanethiol et le radical hydroxyle : scan d'énergie potentielle en fonction de la distance d_{HS-O} , en phase gazeuse (cercles clairs) et en phase aqueuse (cercles noirs). L'origine des énergies est celle des réactifs libres *FR*. Les triangles représentent la part électrostatique de l'énergie de solvation.

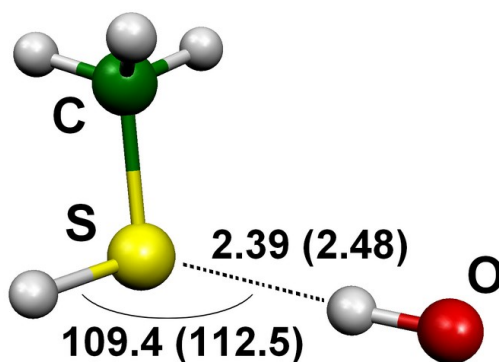


FIG. 3.2 – Interaction entre le méthanethiol et le radical hydroxyle : image de l'état *RC*. Les paramètres indiqués entre parenthèses correspondent aux structures optimisées en phase gazeuse (les autres en milieu aqueux). Les angles sont donnés en degrés et les distances en Å.

La deuxième structure, correspondant au maximum, possède une fréquence imaginaire. Il s'agit donc d'un état de transition, que l'on notera $TS1$.

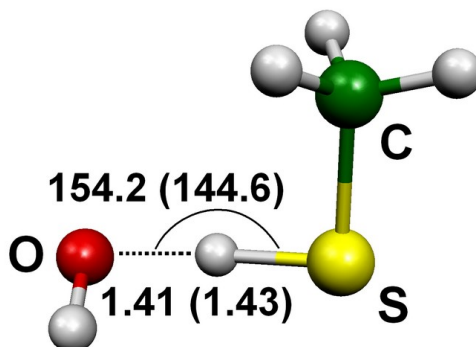


FIG. 3.3 – Interaction entre le méthanethiol et le radical hydroxyle : image de l'état $TS1$.

Un calcul de type IRC (*intrinsic reaction coordinate*) montre que $TS1$ est directement relié à RC et à un complexe de produits PC , correspondant à une molécule d'eau et au radical thiyl $\text{CH}_3\text{S}^\bullet$ complexés par une liaison hydrogène.

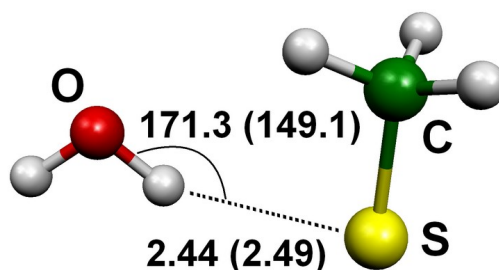


FIG. 3.4 – Interaction entre le méthanethiol et le radical hydroxyle : image de l'état PC .

Nous pouvons alors conclure que l'état $TS1$ est l'unique état de transition de l'abstraction directe de l'atome d'hydrogène, ce qui corrobore les résultats de Wilson et Hirst.^[55]

Chemin de réaction passant par la formation d'un adduit

Pour ce deuxième mécanisme possible, c'est la distance $d_{\text{S-O}}$ qui doit jouer un rôle prédominant dans la coordonnée de réaction. Un scan a été effectué sur ce paramètre, avec la méthode IMOMO combinant QCISD et UMP2 (voir le début du paragraphe 3.2)

permettant de traiter ce type de complexe de façon pertinente. Les résultats sont présentés sur la Figure 3.5 :

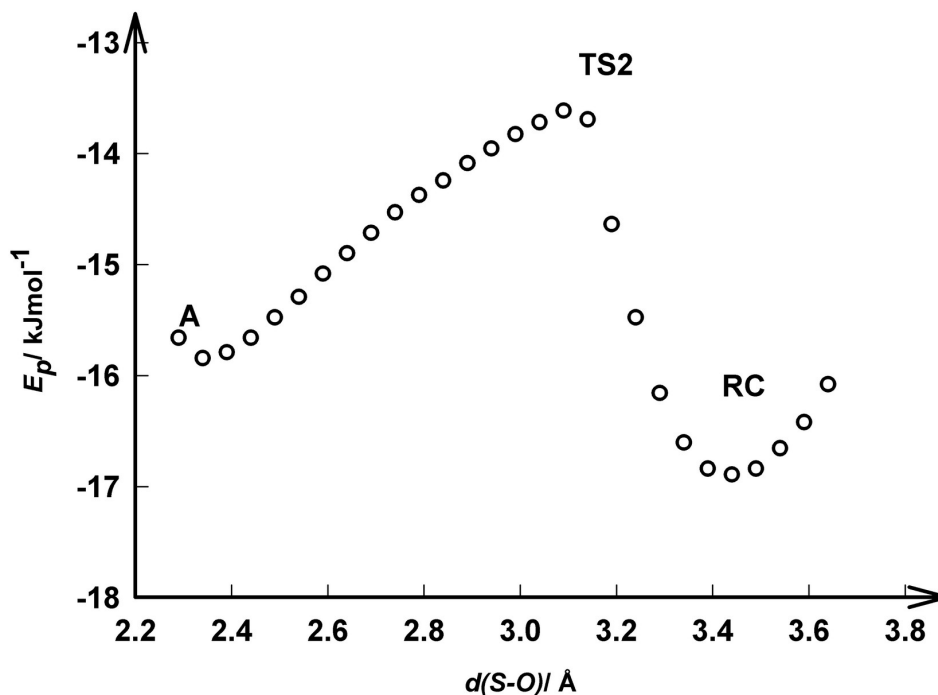


FIG. 3.5 – Interaction entre le méthanthiol et le radical hydroxyle : scan d'énergie potentielle en fonction de la distance d_{S-O} en phase gazeuse.

D'après la courbe, trois points stationnaires peuvent être identifiés. Le premier minimum (autour de $d_{S-O} = 3.45$ Å) correspond presque exactement à l'état *RC* identifié précédemment. Le second minimum est l'adduit (noté *A*). Le maximum possède une fréquence imaginaire : il s'agit d'un autre état de transition (*TS2*), cette fois stabilisé par deux liaisons hydrogène entre les groupes SH et HO.

Le cas de l'état *TS2* est intéressant. Sa structure (Fig. 3.6) est assez différente de celles publiées par Muino^[57] ou par Wilson et Hirst.^[55] En revanche, lorsqu'on la réoptimise à un niveau de théorie légèrement inférieur (UMP2), on retombe presque exactement sur les structures proposées par ces auteurs. Ce résultat confirme à quel point la structure de ce type d'adduits est dépendante du niveau de théorie utilisé.

La transition de l'état *A* aux produits *PC* a ensuite été étudiée en effectuant des scans sur les distances d_{S-H_S} , d_{O-H_S} et sur l'angle $\widehat{SOH_S}$, à partir de la structure *A*. Le niveau de théorie utilisé est évidemment le même que celui qui a permis d'optimiser *A*.

Les scans sur la distance d_{S-H_S} et sur l'angle $\widehat{SOH_S}$ aboutissent à des structures

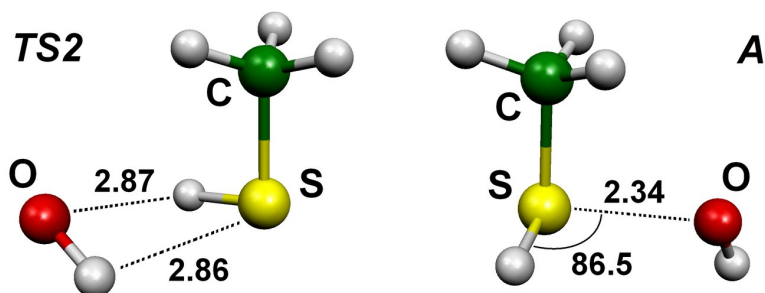


FIG. 3.6 – Interaction entre le méthanethiol et le radical hydroxyle : image des états *TS2* et *A*. Les paramètres indiqués entre parenthèses correspondent aux structures optimisées en phase gazeuse (les autres en milieu aqueux). Les angles sont donnés en degrés et les distances en Å.

intermédiaires dont l'énergie est beaucoup trop haute pour faire partie de chemins de réaction compétitifs. En revanche, le scan sur d_{O-H_S} permet d'identifier une transition continue entre *A* et... *TS1*.

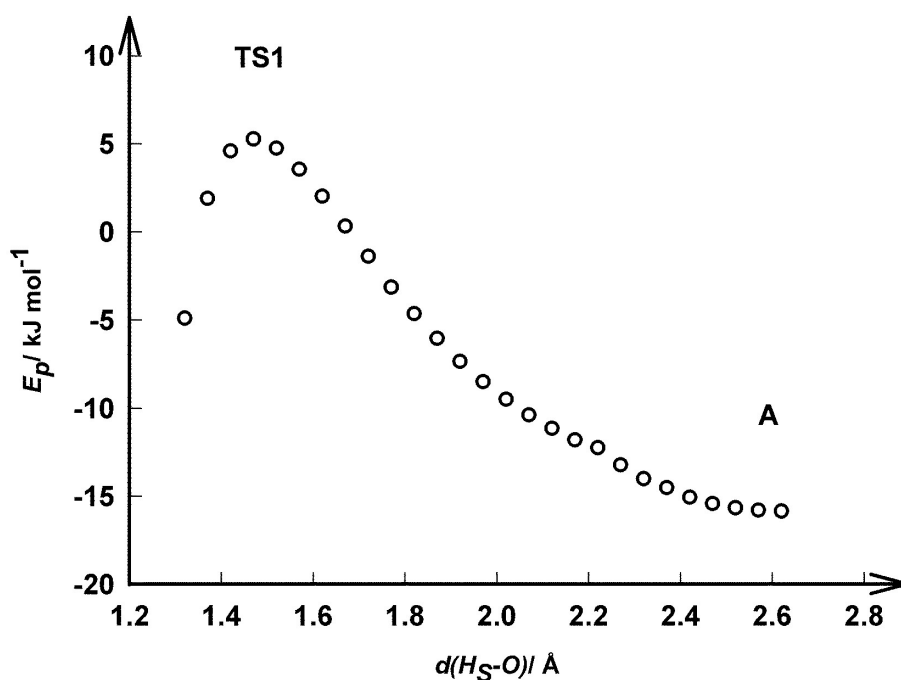


FIG. 3.7 – Interaction entre le méthanethiol et le radical hydroxyle : scan d'énergie potentielle en fonction de la distance d_{H_S-O} en phase gazeuse.

Ces résultats suggèrent qu'aucune autre trajectoire énergétiquement acceptable ne relie l'adduit aux produits : *TS1* semble être une étape inévitable.

Énergies potentielles, de Gibbs, et enthalpies

Les structures optimisées (*RC*, *A*, *TS1*, *TS2* et *PC*) ont ensuite fait l'objet de calculs d'énergie à point fixe au niveau de théorie QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd). Les corrections thermodynamiques, nécessaires au calcul de l'énergie de Gibbs et de l'enthalpie, ont été obtenues au même niveau de théorie que les optimisations. Les résultats sont reportés dans le tableau 3.1.

	$\Delta E_{p,g}$	ΔH_g	ΔG_g
<i>FR</i>	0,0	0,0	0,0
<i>RC</i>	-18,6	-12,4	+13,9
<i>TS1</i>	-8,1	-11,6	+22,6
<i>A</i>	-25,3	-19,9	+12,3
<i>TS2</i>	-15,5	-15,3	+14,1
<i>PC</i>	-157,9	-144,4	-122,0

TAB. 3.1 – Oxydation du méthanethiol par le radical hydroxyle : énergies potentielles relatives ($\Delta E_{p,g}$), enthalpies (ΔH_g) et énergies libres de Gibbs (ΔG_g) en phase gazeuse. Les énergies de référence sont celles des réactifs libres *FR*. Toutes les valeurs sont données en kJ.mol⁻¹.

Les différences d'énergie sont relativement faibles, et peuvent donc être affectées de manière significative par les BSSE (erreurs de superposition des bases, voir la fin du § 2.2). Celles-ci ont été évaluées en utilisant la méthode du contrepoids de Boys et Bernardi.^[39] L'erreur estimée pour l'état *RC* est d'environ -3,3 kJ.mol⁻¹. Dans le cas de l'état *TS1*, il ne nous a pas semblé pertinent de prendre les BSSE en compte (cf. fin du § 2.2).

D'autre part, les corrections thermodynamiques étant calculées en traitant tous les modes normaux dans l'approximation harmonique, les rotations cachées (cf. § 2.3.4) sont mal prises en compte, ce qui peut donner lieu à des erreurs supplémentaires. Ces erreurs ont été évaluées à +3,8 kJ.mol⁻¹ dans le cas de *TS1*, les principales contributions provenant des rotations autour des liaisons S-H et S-C.

L'ordre de grandeur des erreurs BSSE (ou dues aux rotations cachées) fournit une bonne estimation de l'incertitude touchant les valeurs présentées.

Étude cinétique

Dans la mesure où l'état RC a une énergie potentielle (en phase gazeuse) inférieure à celle des réactifs libres FR , sa formation ne sera limitée que par la fréquence des collisions entre réactifs. Dans ce cas, la constante de complexation peut être calculée grâce à l'expression 2.106. La valeur trouvée est égale à $k_d(RC) = 3,8 \cdot 10^{11} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$.

Cependant, la valeur positive de ΔG_g indique que RC se dissocie très rapidement. La constante de dissociation peut alors être déduite de la formule 2.108, et on obtient une valeur de $k'_d(RC) = 4,4 \cdot 10^{12} \text{ s}^{-1}$.

Deux autres chemins de réaction sont en compétition avec la dissociation des réactifs : le passage vers les produits PC en passant par $TS1$, et celui vers l'adduit A qui passe par $TS2$. Dans le cadre de la théorie de l'état de transition conventionnelle, la constante d'activation pour la transition $RC \rightarrow PC$, $k_a^{TST}(TS1)$, est donnée par l'équation 2.111. Dans notre cas, on trouve que cette constante vaut $k_a^{TST}(TS1) = 1,8 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}$.

D'autre part, la constante de réaction globale de la transition $RC \rightarrow TS1 \rightarrow PC$, donnée par l'expression 2.103, s'écrit dans notre cas :

$$k_1^{TST} = \frac{k_a^{TST}(TS1) k_d(RC)}{k_a^{TST}(TS1) + k'_d(RC)} \quad (3.3)$$

Nous sommes dans le cas où la constante d'activation $k_a^{TST}(TS1)$ est très inférieure à la constante de décomplexation $k'_d(RC)$. La relation 3.3 peut donc s'écrire de façon simplifiée :

$$k_1^{TST} \cong \frac{k_a^{TST}(TS1) k_d(RC)}{k'_d(RC)} \quad (3.4)$$

En y substituant les expressions 2.110 et 2.111, celle-ci s'écrit finalement :

$$k_1^{TST} \cong \frac{k_B T}{h} \frac{1}{c_0} \exp \left(\frac{-(G^{TS1} - G^{FR})}{RT} \right) \quad (3.5)$$

L'équation 3.5 ne dépendant pas des réactifs complexés, elle reste valide dans le cas de chemins de réactions qui ne passent pas forcément par RC . La constante de réaction est complètement définie par la différence d'énergie libre entre $TS1$ et FR . La valeur calculée pour k_1^{TST} est de $1,5 \cdot 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$. La prise en compte de l'effet tunnel ne modifie cette constante que modestement, puisque le coefficient de transmission est de 1,2. La constante de réaction corrigée est donc égale à $k_1^{TST} = 1,8 \cdot 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$, ce qui est en excellent accord avec la valeur expérimentale de $(2,2 \pm 0,7) \cdot 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ publiée par Wine et al.^[53]

De plus, l'énergie théorique d'activation

$$E_a = \Delta H_g(TS1) + 2RT \quad (3.6)$$

vaut $-6,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$, en assez bon accord avec l'énergie d'activation expérimentale $(-3,0 \pm 0,9) \text{ kJ.mol}^{-1}$.

En ce qui concerne le passage de l'état RC vers l'adduit A , la barrière d'énergie entre RC et $TS2$ est pratiquement nulle, donc la constante de formation de l'adduit est limitée par la fréquence des collisions entre réactifs. La barrière d'énergie de la transition $A \rightarrow TS2 \rightarrow RC$ est elle aussi très faible, ce qui suggère que l'adduit peut très vite repasser à l'état RC (constante de l'ordre de 10^{12} s^{-1}). Par conséquent, la cinétique de formation du produit PC n'est pas dépendante de l'énergie libre de Gibbs de l'adduit, et l'équation 3.5 reste valide.

À première vue, le mécanisme de réaction que nous avons identifié semble en désaccord avec l'étude expérimentale de Wine et al.^[53] Il y est rapporté que les constantes d'oxydation de CH_3SH et CH_3SD sont quasiment identiques. Ils en ont déduit que le mécanisme de réaction n'est pas l'abstraction directe de l'atome d'hydrogène, mais la formation d'un adduit suivie de l'élimination de H_2O . En effet, comme le suggèrent nos calculs, dans le cas de l'abstraction directe la constante de réaction devrait être 2,3 fois plus grande pour CH_3SH que pour CH_3SD . Cela correspond à une augmentation de la barrière d'énergie libre de Gibbs pour CH_3SD d'environ 2 kJ.mol^{-1} .

Dans le cadre de la TST conventionnelle, l'effet cinétique isotopique peut être analysé en étudiant les contributions des modes S-H_S (ou S-D_S) et $\text{H}_S\text{-O}$ (ou $\text{D}_S\text{-O}$) à l'énergie libre de Gibbs de l'état de transition. Ces contributions dépendent de la nature de la coordonnée de réaction, et donc de la position de l'état de transition sur la surface d'énergie potentielle. Deux hypothèses possibles peuvent être formulées pour expliquer la différence entre les effets isotopiques calculé et expérimental.

- La première est de supposer qu'un état de transition différent de $TS1$ existe entre l'adduit A et les produits PC , caractérisé par une autre coordonnée de réaction que d_{S-H_S} . Ce deuxième état de transition doit avoir une énergie proche de celle de $TS1$, sous peine d'être en désaccord avec les résultats expérimentaux. Malgré notre approche systématique, nous n'avons pu trouver cet état de transition sur la surface d'énergie potentielle.

- L'autre hypothèse consiste à penser que la position réelle de $TS1$ est légèrement déplacée par rapport à la position que nous avons calculée, ce qui implique aussi une modification de la coordonnée de réaction. Ceci ne serait pas très surprenant pour une réaction qui ne présente que de basses barrières d'énergie. Cette situation nécessiterait l'utilisation de la TST variationnelle pour localiser précisément $TS1$. Une explication naturelle du bon accord entre la barrière calculée et les résultats expérimentaux serait alors la planéité de la SEP : la position exacte de l'état de transition ne serait pas critique pour ce type de calculs.

3.3.2 Méthanethiol et radical hydroxyle en milieu aqueux

Les barrières d'énergie (et donc les constantes de réaction) calculées en solution sont en principe moins précises que celles obtenues en phase gazeuse. Cependant, elles fournissent des indications précieuses sur la validité d'un mécanisme, et sur le rôle que peuvent avoir la polarité du solvant et les interactions spécifiques solvant/soluté sur la cinétique de réaction.

Dans le cas de l'oxydation du méthanethiol par le radical hydroxyle, nous avons d'abord examiné les effets du solvant sur les scans de la SEP. Le scan par rapport à la distance d_{HS-O} a été obtenu directement en effectuant des optimisations contraintes de l'énergie PCM/UMP2. La courbe d'énergie correspondante est représentée sur la Figure 3.1 (points noirs). La courbe est qualitativement similaire à celle obtenue en phase gazeuse, mais légèrement déplacée (de 4,0 à 6,5 kJ.mol⁻¹). Les structures *RC*, *TS1* et *PC* sont très proches de celles obtenues dans le vide (voir les paramètres indiqués sur les Figures 3.2, 3.3 et 3.4). Ceci indique que la solvation n'a pas d'effet de conformation majeur sur le système réactif.

En ce qui concerne les états *A* et *TS2*, il n'était pas possible de les réoptimiser en solution car la méthode IMOMO n'inclut pas (encore) les calculs faisant appel au PCM. Pour la même raison, nous n'avons pas pu effectuer les scans par rapport aux distances d_{S-O} et d_{HS-O} . Nous nous sommes contentés de calculer les énergies libres de solvation PCM/UMP2 pour les configurations en phase gazeuse des états stationnaires, et quelques structures intermédiaires. Le déplacement en énergie varie entre 3,5 (pour l'état *A*) et 9,5 kJ.mol⁻¹ (pour *TS2*).

Les énergies libres de Gibbs de solvation G_{solv} , et énergies libres de Gibbs relatives en phase aqueuse ΔG_{aq} ont été ajoutées au tableau 3.1.

En comparant les colonnes ΔG_g et ΔG_{aq} , on remarque que toutes les valeurs en phase aqueuse sont légèrement supérieures à celles calculées dans le vide, en particulier pour les deux états de transition.

Une analyse similaire à celle effectuée pour la phase gazeuse montre que les états *RC* et *A* restent des états qui se dissocient très rapidement. La cinétique de réaction est donc du même type qu'*in vacuo* : la constante de réaction ne dépend que de la différence entre les énergies libres de Gibbs de *TS1* et de *FR*. L'équation 3.5 reste alors valable en solution aqueuse, mais c_0 vaut alors la concentration molaire standard en solution (1 mol.dm⁻³).

Par rapport à la phase gazeuse, la barrière d'énergie libre de Gibbs en solution est

	Phase Gazeuse			Phase Aqueuse	
	$\Delta E_{p,g}$	ΔH_g	ΔG_g	G_{solv}	ΔG_{aq}
<i>FR</i>	0,0	0,0	0,0	-6,4	0,0
<i>RC</i>	-18,6	-12,4	+13,9	+0,2	+20,5
<i>TS1</i>	-8,1	-11,6	+22,6	+0,2	+29,2
<i>A</i>	-25,3	-19,9	+12,3	-2,9	+15,8
<i>TS2</i>	-15,5	-15,3	+14,1	+3,1	+23,6
<i>PC</i>	-157,9	-144,4	-122,0	-5,7	-122,7

TAB. 3.2 – Oxydation du méthanethiol par le radical hydroxyle : énergies libres de Gibbs de solvation G_{solv} , et énergies libres de Gibbs relatives en phase aqueuse ΔG_{aq} . Toutes les valeurs sont données en kJ.mol^{-1} .

plus haute de $6,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$. La constante de réaction en solution ne vaut alors plus que $0,5.10^8 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$, c'est-à-dire cent fois moins que les constantes expérimentales mesurées pour des cystéines, et dérivés de cystéines.^{[50][51]} Etant donné le manque d'informations expérimentales sur l'oxydation du méthanethiol en phase aqueuse, il n'est pas évident d'expliquer cette différence. Provient-elle de spécificités moléculaires (différences entre le méthanethiol et la cystéine), ou de l'imprécision des calculs ? La déviation au niveau de la barrière d'énergie libre de Gibbs correspond à environ $11,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$, ce qui reste dans la fourchette d'incertitude des calculs d'énergies de solvation avec le modèle PCM.

Effet de la polarisation du solvant

Les énergies libres de Gibbs de solvation G_{solv} du tableau 3.2 indiquent une interaction solvant-soluté relativement faible. L'effet sur la barrière d'énergie est donc assez léger et difficile à analyser. Nous avons pourtant cherché à étudier le rôle de la polarisation du solvant au cours de la formation de la liaison O-H_S. Nous avons extrait quelques configurations moléculaires du scan correspondant, et calculé la part électrostatique de leur énergie de solvation. Les résultats sont représentés par des triangles, sur la Figure 3.1. Ils montrent que la redistribution électronique qui accompagne la formation de *TS1* n'a pratiquement pas d'effet sur l'énergie électrostatique de solvation. Ceci suggère que la polarisation du solvant ne change pas au cours du processus : elle joue donc un rôle mineur dans le franchissement de l'état de transition.

Effet des liaisons hydrogène

Une autre question intéressante qui concerne toutes les réactions chimiques en milieu protique est l'effet des liaisons hydrogène sur la barrière d'énergie. Celui-ci ne peut être simulé par le modèle PCM seul, qui ne prend pas en compte le transfert de charge inhérent à toute liaison hydrogène.^[59]

Nous avons basé notre analyse sur trois calculs différents en phase gazeuse, avec trois systèmes modèles qui incluent chacun une molécule d'eau explicite. Celle-ci sera liée soit à l'atome de soufre ($\text{CH}_3\text{HS}\cdots\text{w} + \text{HO}\bullet$), soit à l'atome d'oxygène ($\text{CH}_3\text{SH} + \text{HO}\bullet\cdots\text{w}$), soit à l'atome d'hydrogène du radical hydroxyle ($\text{CH}_3\text{SH} + \text{w}\cdots\text{HO}\bullet$). Les structures *TS1* et *FR* de ces systèmes ont été optimisées au niveau de théorie UMP2/6-311+G(d,p). Les barrières d'énergie potentielle $\Delta E_{p,w}(\text{TS1}) = E_{p,w}(\text{TS1}) - E_{p,w}(\text{FR})$ ont été calculées pour chacun des trois systèmes, et comparées à celle du système de référence ($\text{CH}_3\text{SH} + \text{HO}\bullet$). Les variations des barrières d'énergie potentielle par rapport aux liaisons hydrogène, $\Delta\Delta E_{p,w}(\text{TS1}) = \Delta E_{p,w}(\text{TS1}) - \Delta E_{p,g}(\text{TS1})$, sont données dans le tableau (3.3). Elles sont très modestes, sauf pour le système $\text{CH}_3\text{SH} + \text{w}\cdots\text{HO}\bullet$ pour lequel nous avons observé une variation de $-9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Elle correspond à un effet global de la molécule d'eau sur le système de référence. Pour comparer cet effet à la contribution électrostatique pure, nous avons mené les mêmes calculs, mais en remplaçant la molécule d'eau par la distribution de charges partielles de Merz-Kollman^[60] correspondante. Les nouvelles variations de la barrière d'énergie potentielle sont aussi données dans le tableau (3.3). Il est intéressant de voir que dans deux cas sur trois, la distribution de charges reproduit très bien l'effet de la molécule d'eau explicite. Dans le cas de $\text{CH}_3\text{SH} + \text{HO}\bullet\cdots\text{w}$, la déviation d'environ $8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ pourrait être expliquée dans ce cas par l'existence d'un vrai effet de transfert de charge caractéristique des liaisons hydrogène. Cependant, il est plus raisonnable de conclure uniquement que l'effet des liaisons hydrogène sur la barrière d'énergie, s'il existe, n'est pas supérieur à $5\text{-}10 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

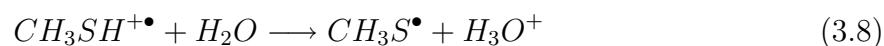
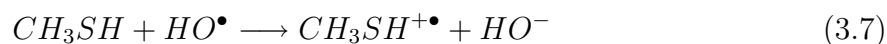
Ce résultat confirme que l'approximation PCM est appropriée pour traiter cette réaction en solution. De plus, dans la mesure où la polarisation du soluté ne change pas lors du franchissement de *TS1*, nous pouvons déduire que la réaction n'est pas spécialement guidée par le solvant, et donc que la dynamique de ce dernier ne joue pas de rôle majeur dans la cinétique de réaction.

Enfin, un dernier aspect à examiner en solution aqueuse est l'éventualité d'un mécanisme à transfert d'électron, qui pourrait entrer en compétition avec l'abstraction de

	$\text{CH}_3\text{HS}..w + \text{HO}^\bullet$	$\text{CH}_3\text{SH} + \text{HO}^\bullet..w$	$\text{CH}_3\text{SH} + w.. \text{HO}^\bullet$
$\Delta\Delta E_{p,w}(TS1)$	+1,9	-1,0	-8,9
$\Delta\Delta E_{p,MK}(TS1)$	+0,9	-8,7	-7,2

TAB. 3.3 – Effet de liaisons hydrogène sur l’oxydation du méthanethiol par $\text{HO}^\bullet$: modifications de la barrière d’énergie par rapport au système de référence $\text{CH}_3\text{SH} + \text{HO}^\bullet$. $\Delta\Delta E_{p,MK}(TS1)$ représente la même modification, mais lorsque l’on remplace la molécule d’eau explicite par la distribution de charges Merz-Kollman équivalente. Toutes les valeurs sont données en kJ.mol^{-1} .

l’atome d’hydrogène :



Malgré sa très importante énergie de solvation, l’intermédiaire $\text{CH}_3\text{SH}^{+\bullet} + \text{HO}^-$ possède une énergie libre de Gibbs supérieure de 103 kJ.mol^{-1} à celle de l’état *RC*. Ceci indique clairement que la probabilité d’un transfert d’électron dans ce cas est négligeable.

3.3.3 Cystéine et radical hydroxyle en phase gazeuse

L’analyse de l’oxydation de la cystéine présente un intérêt particulier, dans la mesure où cet acide aminé est un modèle beaucoup plus représentatif des thiols présents dans les cellules. En particulier, la comparaison entre l’oxydation de la cystéine et du méthane-thiol fournira des indications sur l’effet de l’environnement moléculaire sur la cinétique d’oxydation des thiols.

Les calculs en phase gazeuse ont été effectués sur la forme non-polaire de la cystéine (celle qui est la plus stable *in vacuo*) : $\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$.

Après optimisation, les structures des états *RC*, *A* et *TS1* s’avèrent être très similaires à celles obtenues dans le cas du méthanethiol. L’état le plus sensible au changement de substituant est l’adduit (Fig. 3.8), pour lequel la distance d_{O-S} est plus longue d’environ $0,15 \text{ \AA}$.

En ce qui concerne l’état *TS1* (Fig. 3.9 a), la configuration géométrique des atomes ré-

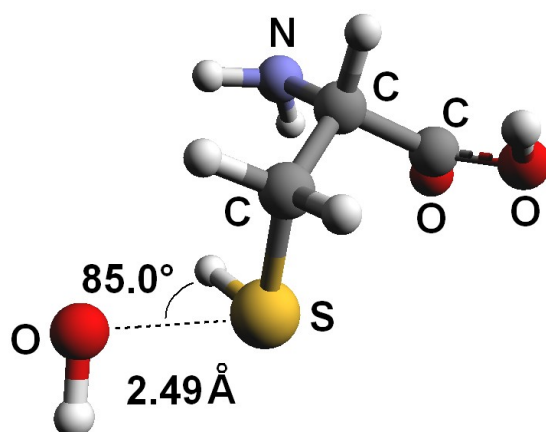


FIG. 3.8 – Oxydation de la cystéine par $\text{HO}^\bullet$: image de l'adduit *A* en phase gazeuse. Les angles sont donnés en degrés et les distances en Å.

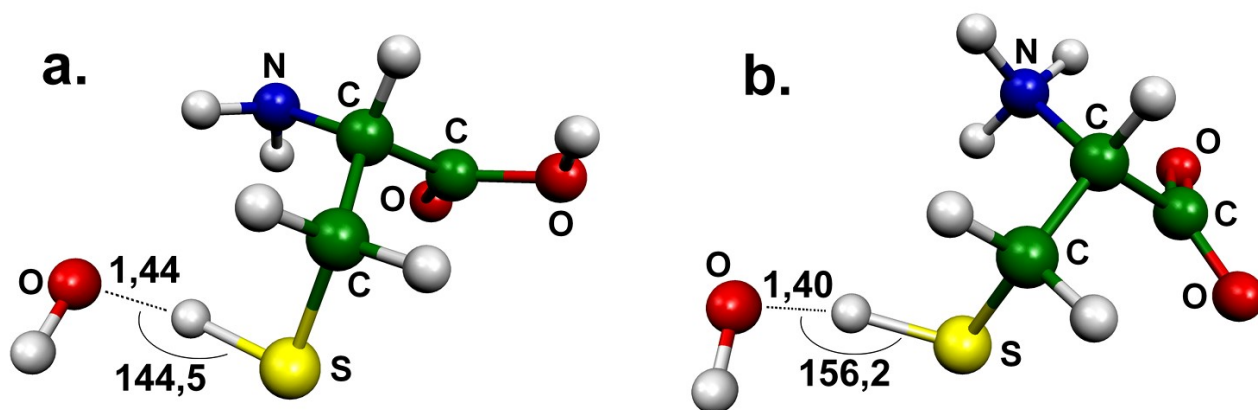


FIG. 3.9 – Oxydation de la cystéine par $\text{HO}^\bullet$: image de l'état *TS1* en phase gazeuse (a) et en solution aqueuse (b). Les angles sont donnés en degrés et les distances en Å.

actifs est pratiquement celle observée avec le méthanethiol (Fig. 3.3). On observe d'ailleurs la même chose pour l'état *RC*.

Analyse énergétique et cinétique

Si les structures stationnaires n'ont pas été beaucoup modifiées lors de la substitution du groupement méthyle par la cystéine, ce n'est pas obligatoirement le cas de leurs énergies. Le tableau 3.4 des énergies potentielles, enthalpies, et énergies libres de Gibbs présente quelques différences intéressantes par rapport au tableau 3.2. Par exemple, $\Delta E_{p,g}(TS1)$ et $\Delta H_g(TS1)$ sont inférieures aux valeurs du méthanethiol, d'environ 4

kJ.mol^{-1} . Mais la variation d'enthalpie semble compensée par la variation d'entropie puisque $\Delta G_g(TS1)$ n'est inférieure que de $0,8 \text{ kJ.mol}^{-1}$ par rapport au cas du méthane-thiol.

	Phase Gazeuse			Phase Aqueuse	
	$\Delta E_{p,g}$	ΔH_g	ΔG_g	G_{solv}	ΔG_{aq}
<i>FR</i>	0,0	0,0	0,0	-62,5	0,0
<i>RC</i>	-18,7	-15,2	+21,0	-67,7	+15,8
<i>TS1</i>	-12,3	-15,4	+21,8	-64,9	+19,4
<i>A</i>	-23,9	-22,0	+16,3		

TAB. 3.4 – Oxydation de la cystéine par le radical hydroxyle : énergies potentielles relatives ($\Delta E_{p,g}$), enthalpies (ΔH_g) et énergies libres de Gibbs (ΔG_g) en phase gazeuse ; énergies libres de Gibbs de solvation G_{solv} , et énergies libres de Gibbs relatives en phase aqueuse ΔG_{aq} . Les énergies de référence sont celles des réactifs libres *FR*. Toutes les valeurs sont données en kJ.mol^{-1} .

L'état *RC* est encore plus instable, $\Delta G_g(RC)$ augmentant d'environ 7 kJ.mol^{-1} . Par conséquent, les énergies libres de Gibbs de *RC* et de *TS1* sont quasiment égales, ce qui suggère que la surface d'énergie libre est encore plus plate que dans le cas du méthane-thiol.

Cependant, ces modifications d'énergie ne sont pas suffisantes pour modifier la cinétique de réaction : *RC* et *A* restent des états qui se dissocient très rapidement, et la constante de réaction peut encore être calculée grâce à l'équation 3.5. Celle-ci donne une valeur de k^{TST} de $2,2.10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ dans le vide, ce qui est légèrement supérieur à la valeur calculée pour le méthane-thiol.

On peut également noter que la barrière d'énergie d'activation est plus basse de 4 kJ.mol^{-1} dans le cas de la cystéine.

3.3.4 Cystéine et radical hydroxyle en milieu aqueux

En solution, la structure stable de la cystéine est un zwitterion : $\text{HS-CH}_2\text{-CH}(\text{NH}_3^+)\text{-COO}^-$. Les géométries des états stationnaires en solution ont été obtenues à partir des structures optimisées dans le vide, en remplaçant le substituant "cystéine non-polaire" par le zwitterion et en incluant bien sûr le modèle PCM.

Les configurations optimisées (voir la Figure 3.9 b pour $TS1$) sont très proches de celles du méthane-thiol en solution, ce qui laisse penser que l'interaction thiol-hydroxyle n'est pas très sensible à la polarité de l'environnement moléculaire.

Analyse énergétique et cinétique

En approfondissant l'étude au niveau des énergies libres de solvation, on détecte une différence intéressante : dans le cas de la cystéine, $G_{solv}(TS1)$ est inférieure à $G_{solv}(FR)$ de $2,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Pour le méthane-thiol, une différence *inverse* est observée (de $6,8 \text{ kJ.mol}^{-1}$). La variation globale atteint donc $9,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$, valeur qui peut être considérée comme fiable puisqu'elle fait à la fois référence à l'état FR , et au méthane-thiol (c'est donc une différence de différences). Par conséquent, $\Delta G_{aq}(TS1)$ est inférieure d'environ 10 kJ.mol^{-1} pour l'oxydation de la cystéine. Une variation similaire de G_{solv} est observée pour RC , mais $\Delta G_{aq}(RC)$ est finalement très proche de la valeur calculée pour le méthane-thiol (différence de moins d'un kJ.mol^{-1}).

L'analyse cinétique montre que la dissociation de l'état RC reste beaucoup plus rapide que la transition $RC \rightarrow TS1$. La constante de réaction peut donc encore être calculée grâce à l'expression 3.5. Le résultat obtenu est $k^{TST} = 2,4.10^9 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$, en bon accord avec la constante expérimentale ($k^{TST} = (5,35 \pm 0,82).10^9 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$).^[50]

La cohérence de ces deux valeurs montre que la méthode théorique que nous avons utilisée fournit une description valable de l'oxydation de la cystéine par le radical hydroxyle en solution.

3.4 Conclusions

Cette étude théorique au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd)//UMP2/6-311+G(d,p) suggère clairement que l'oxydation de thiols par le radical hydroxyle a principalement lieu par abstraction directe de l'atome d'hydrogène, via l'état de transition $TS1$.

Cette réaction a d'abord été étudiée grâce au système modèle [méthane-thiol + radical hydroxyle]. Bien qu'un complexe de réactifs RC et un adduit soufre-oxygène A aient été identifiés, ces deux états se dissocient très vite et ne jouent pas de rôle déterminant dans la cinétique de réaction. À ce niveau de théorie, le chemin de réaction alternatif (formation d'un adduit et élimination d'une molécule d'eau) semble improbable. De plus, pour ce

mécanisme, nous n'avons pas été en mesure d'identifier un état de transition différent de celui qui correspond au transfert direct de l'hydrogène. Le mécanisme d'abstraction directe est aussi appuyé par les données expérimentales, puisque nous observons un bon accord entre nos calculs et les mesures publiées, tant au niveau des barrières d'énergie que des constantes de réaction.

Une analyse détaillée du même système modèle montre que le PCM convient pour l'étude de la réaction thiol- $\text{HO}^\bullet$ en milieu aqueux : la présence de liaisons hydrogène avec le solvant, et la réorganisation des molécules d'eau autour du soluté ne jouent pas de rôle significatif dans le franchissement de la barrière d'énergie.

Le système d'intérêt biologique [cystéine + radical hydroxyle] présente de légères variations énergétiques par rapport au système modèle. La constante de réaction est en très bon accord avec les données expérimentales, ce qui permet de conclure que la méthode présentée ici donne une description réaliste de cette réaction. D'après cette description, l'oxydation de thiols n'est pas très sensible aux liaisons hydrogène ni à la polarisation locale. Les barrières d'énergie libre de Gibbs en phase gazeuse et en solution ne diffèrent que de 2 kJ.mol^{-1} , indiquant que l'hydrophobie de l'environnement moléculaire n'a que peu d'effet sur la cinétique de réaction. Bien sûr, en milieu biologique, des variations des constantes d'oxydation de thiols peuvent être observées, mais elles sont très probablement dues à des facteurs stériques limitant la diffusion du radical hydroxyle.

Chapitre 4

Oxydation de thiols et de sélénols par le peroxyde d'hydrogène

Sommaire

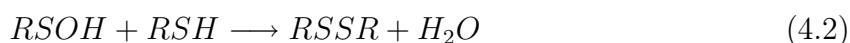
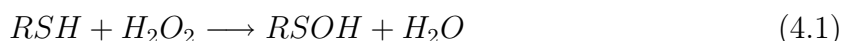
4.1	État des connaissances	74
4.2	Méthodologie	75
4.3	Oxydation du méthaneithiolate et du méthanesélénolate par le peroxyde d'hydrogène	77
4.4	Oxydation de la cystéine et de la sélénocystéine par le peroxyde d'hydrogène	84
4.5	Conclusions	93

Les résultats que nous avons obtenus lors de l'étude de cette réaction ont été publiés dans les revues *ChemPhysChem*^[61] en 2005 et *J. Phys. Chem. A*.^[62] début 2007.

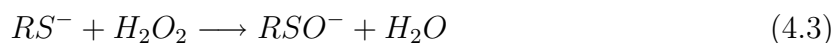
4.1 État des connaissances

Le peroxyde d'hydrogène (qui fait l'objet du paragraphe 1.2.2.2) est un coproduit du métabolisme cellulaire normal^[63] et à ce titre, il est présent dans l'ensemble des cellules à des concentrations significatives. Le peroxyde d'hydrogène a fait l'objet d'études théoriques et expérimentales récentes, en particulier son interaction avec les thiols. Ceux-ci sont les principaux réducteurs de H_2O_2 , avec l'enzyme glutathion peroxydase (GPx).

Les thiols (et notamment les cystéines, en milieu biologique) peuvent être oxydés par le peroxyde d'hydrogène pour former des acides sulféniques $RSOH$ puis des ponts disulfure $RSSR$:



Des études théoriques ont montré que le transfert d'atome d'oxygène du peroxyde au thiol présente une barrière d'énergie de plus de 160 kJ.mol^{-1} , même quand une deuxième molécule de peroxyde d'hydrogène vient catalyser la réaction.^[64] D'autre part, l'étude expérimentale de l'oxydation de la cystéine à différents pH indique que le transfert d'oxygène est précédé de la déprotonation du thiol en thiolate.^{[65][66]} Dans de nombreuses enzymes ou autres protéines, le pKa du couple thiol/thiolate est significativement inférieur à 8,4, valeur du pKa du couple thiol/thiolate de la cystéine libre.^[67] Par conséquent, la réaction qui doit être considérée est plutôt :

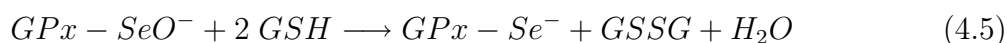


À notre connaissance, aucune étude théorique n'a été publiée sur cette réaction avant nos travaux.

L'autre voie d'élimination de H_2O_2 est sa réduction par deux molécules de glutathion, réaction catalysée par l'enzyme GPx.^[68] Le site actif de la GPx contient une sélénocystéine, acide aminé dont le couple sélénol/sélénolate (pour des molécules libres) présente un pKa de 5,2^[15] soit plus de trois unités de moins que la cystéine. La première étape de la réaction catalysée (Eq. 4.4) est similaire à l'équation 4.3 :



L'enzyme oxydée est ensuite régénérée par deux molécules de glutathion GSH :



En milieu biologique, la sélénocystéine de l'enzyme GPx est une des cibles privilégiées du peroxyde d'hydrogène. Ceci s'explique d'abord par le pKa du couple sélénol/sélénolate (5,2), très inférieur à celui du couple thiol/thiolate. En proportion, les sélénols seront donc beaucoup plus déprotonés que les thiols. D'autre part, même sous sa forme déprotonée la cystéine ne réagit pas très facilement avec H_2O_2 , comme l'indiquent les études expérimentales qui situent la constante de réaction entre 17 et 26 $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$.^{[65][66]} La différence avec les valeurs rapportées pour la sélénocystéine de la GPx est spectaculaire puisqu'elles atteignent $5,0 \cdot 10^7 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$.^{[69][70]} Nous tenterons dans ce chapitre d'identifier les origines de cette différence.

Dans un premier temps (§ 4.3), nous avons étudié deux systèmes modèles (méthane-thiolate et méthanesélénolate) afin de déterminer si la présence du sélénium à la place du soufre contribue à cette réactivité beaucoup plus importante. Bien qu'il s'agisse ici de modèles simples, leur étude reste biologiquement pertinente. En effet, des études expérimentales ont montré que des thiolates assez différents (cystéine, penicillamine, glutathion, dithiothréitol, etc) présentent des constantes d'oxydation par H_2O_2 très similaires,^[66] et la partie CH_3S^- est la seule partie commune à tous ces composés.

Nous avons ensuite utilisé un modèle de cystéine (et de sélénocystéine), plus proche de la réalité biologique, pour étudier notamment l'effet de la partie "acide aminé" sur leur réactivité (§ 4.4).

4.2 Méthodologie

Méthanethiolate et méthanesélénolate

Les structures des états stationnaires (réactifs et produits complexés, état de transition) ont d'abord été optimisées *in vacuo* au niveau MP2/6-311+G(d,p). La géométrie de départ de l'état *TS* a été obtenue en explorant la surface d'énergie potentielle en fonction de la distance d_{S-O} (d_{Se-O} pour le méthanesélénolate) puis en optimisant sans contrainte la structure d'énergie maximale fournie par le scan.

Des calculs de fréquences (au même niveau de théorie) ont permis d'accéder aux corrections de point-zéro, à l'enthalpie et à l'énergie libre de Gibbs. Ces calculs ont en outre

confirmé la nature de l'état de transition identifié. Afin de vérifier que les états réactifs, *TS* et produits sont bien liés par un unique chemin de réaction, nous avons effectué un calcul de type IRC (*Internal Reaction Coordinate*) qui permet de descendre des deux côtés de l'état de transition en suivant le chemin d'énergie minimum.

Enfin, les énergies potentielles des états stationnaires ont été obtenues grâce à des calculs d'énergie à point fixe, avec les méthodes PMP4^[71]/6-311+G(2df,2pd) et QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd).

Il est important de préciser que la fonction d'onde de l'état *TS* obtenue grâce à la méthode Hartree-Fock restreinte (RHF) présente une instabilité au cours de la relaxation RHF $\rightarrow$ UHF (Hartree-Fock non restreinte). Ce genre d'instabilité peut exister même pour les systèmes qui ne présentent *a priori* pas d'électron non apparié, lorsqu'une liaison est proche de la rupture.^[72] Ce phénomène pourrait induire une erreur significative sur la valeur de l'énergie calculée avec la méthode MP2 restreinte. Nous avons mis ces erreurs en évidence en comparant l'énergie "MP2 restreinte" à la projection de spin de l'énergie "MP2 non restreinte" (méthode PMP2). Pour l'état de transition impliqué dans l'oxydation du thiolate, nous avons trouvé une différence de près de 18 kJ.mol⁻¹ entre les deux valeurs.

La méthode QCISD(T) est censée être moins sensible à l'instabilité RHF $\rightarrow$ UHF^[71] en raison de la taille de l'ensemble des configurations électroniques prises en compte. Et en effet, pour ce même état *TS*, la différence entre les énergies calculées avec les méthodes QCISD(T) restreinte et non restreinte n'est que de 6,3 kJ.mol⁻¹. Dans ce contexte, nous avons jugé que la méthode QCISD(T) restreinte était la plus fiable, étant donné la forte contamination de spin ($\langle S^2 \rangle = 0,58$) de la fonction d'onde non restreinte.

L'énergie libre de solvation a été calculée au niveau PMP2/6-311+G(2df,2dp)//MP2/6-311+G(d,p). La procédure inclut la réoptimisation dans le solvant, et un calcul de fréquences en solution pour chaque structure. Pour tous les calculs effectués en milieu aqueux, nous avons utilisé le modèle PCM de Cossi et al.^[41]

Cystéine et sélénocystéine

Les modèles de résidus cystéine et sélénocystéine ont été conçus à partir des structures réelles des acides aminés, dans lesquelles nous avons remplacé les extrémités -NH₃⁺ et -COO⁻ par -NH-CH₃ et -CO-NH-CH₃, respectivement.

Les optimisations des structures ont été effectuées au niveau MP2/6-311+G(d,p), en phase gazeuse et en phase aqueuse (toujours avec ce même modèle PCM). Les géométries de départ ont été déduites directement des résultats trouvés pour le méthane-thiolate et

le méthanesélénolate. Comme précédemment, la nature des structures stationnaires a été vérifiée par un calcul de fréquences.

Les énergies potentielles en phase gazeuse ont été calculées avec la méthode IMOMO décrite plus haut (§ 2.1.6). Le système "modèle" inclut le peroxyde d'hydrogène et le fragment $\text{CH}_3\text{-S(e)}^-$. Le jeu de fonctions de base utilisé pour H_2O_2 et l'atome S(e) est 6-311+G(2df,pd), tandis que les atomes du groupe CH_3 ont été traités avec 6-311+G(d,p). Le système "réel" a été étudié avec la méthode PMP2^[71]/6-311+G(d,p), méthode préférée à MP2 en raison de l'instabilité de la fonction d'onde de l'état *TS* décrite ci-dessus. L'importance de l'erreur due à cette instabilité est limitée par l'emploi de la méthode QCISD(T) lors des calculs d'énergie potentielle.

L'énergie libre de solvation des structures stationnaires a été calculée en réoptimisant les géométries en milieu aqueux puis en effectuant des calculs d'énergie à point fixe au niveau de théorie PMP2/6-311+G(2df,2pd).

4.3 Oxydation du méthanethiolate et du méthanesélénolate par le peroxyde d'hydrogène

La première étape a consisté à identifier et optimiser les géométries stationnaires de la réaction. L'état de transition (*TS*) de l'équation 4.3 est représenté sur la figure 4.1. Il présente une élongation significative de la liaison O-O, et deux liaisons assez faibles entre le soufre et O_1 d'une part, H_1 d'autre part.

Le calcul IRC (Fig. 4.2) en direction des réactifs a permis d'identifier les réactifs complexés *RC* (Fig. 4.1). Cette structure est stabilisée par deux liaisons hydrogène entre l'atome de soufre et les deux atomes d'hydrogène du peroxyde, rendue possible par la conformation *cis* adoptée par H_2O_2 pour cet état. Le chemin de réaction liant *RC* et *TS* implique donc un changement de conformation *cis-trans*, dont la barrière d'énergie est complètement annihilée par l'énergie de complexation.

En effectuant le calcul IRC en direction des produits (Fig. 4.2), nous avons obtenu un complexe de produits (*PC*, Fig. 4.1) stabilisé par une solide liaison hydrogène entre O_1 et H_1 . Entre *TS* et *PC*, le chemin de réaction combine un transfert de l'atome O_1 jusqu'au soufre, et un passage de H_1 de O_1 à O_2 . L'étude des structures intermédiaires montre que

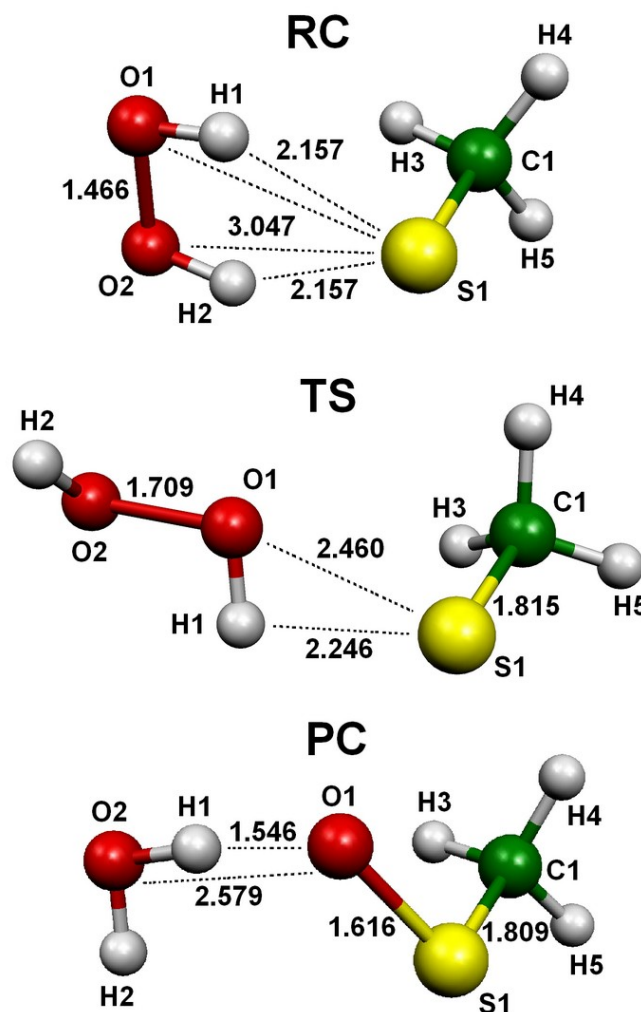


FIG. 4.1 – Oxydation de CH_3S^- par H_2O_2 : image des états *RC*, *TS* et *PC* en phase gazeuse. Les distances sont données en $\text{\AA}$.

ces deux déplacements sont quasiment simultanés.

Nous avons étudié plus spécifiquement les orbitales moléculaires localisées (LMO) de quelques conformations extraites du chemin IRC. Cette analyse montre que la liaison covalente $\text{O}_1\text{-S}_1$ se forme dans l'intervalle $(1,0\text{-}4,0)\text{a}_0 \text{ amu}^{1/2}$. La dissociation de la liaison $\text{O}_1\text{-H}_1$ a lieu au même moment. Par contre, $\text{O}_2\text{-H}_1$ ne se forme que dans l'intervalle $(4,0\text{-}5,0)\text{a}_0 \text{ amu}^{1/2}$. L'évolution de ces trois liaisons est illustrée sur la Figure 4.3, où les poids des participations de O_1 et H_1 aux LMO concernées sont représentés en fonction de la coordonnée de réaction.

Les structures optimisées pour le méthanesélénolate sont très proches de celles présentées sur la Figure 4.1. On observe uniquement une déviation systématique des liaisons

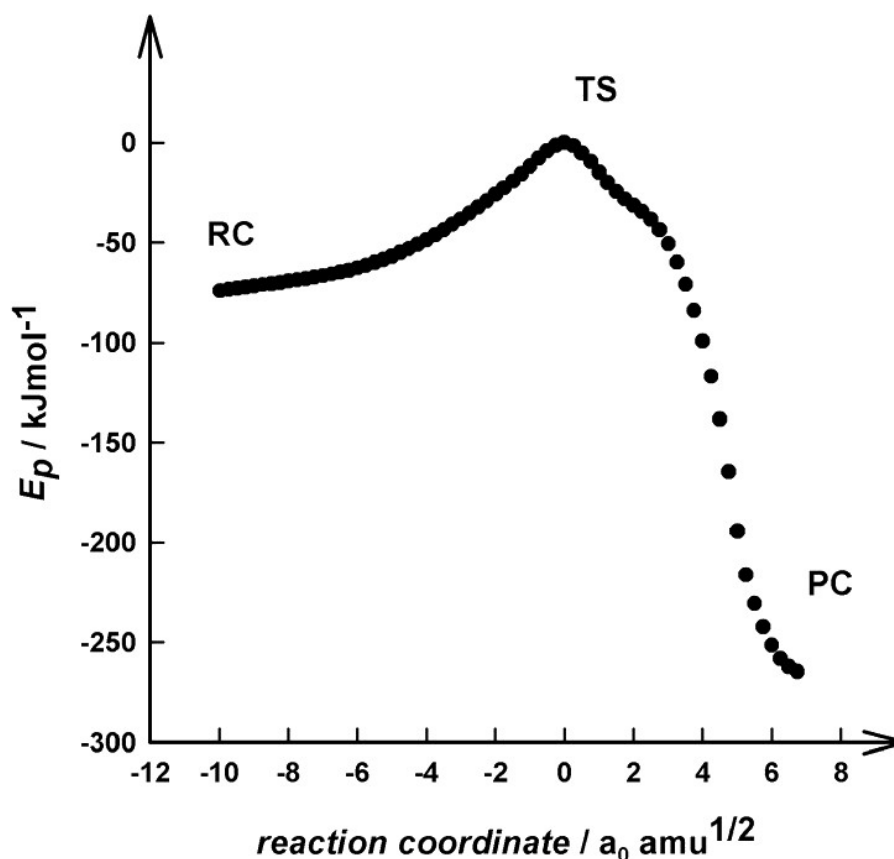


FIG. 4.2 – Courbe IRC de l'oxydation de CH_3S^- par H_2O_2 calculée *in vacuo* au niveau de théorie MP2/6-311+G(d,p).

hydrogène ou covalentes impliquant l'atome de sélénium, toutes plus longues d'environ 0,1 Å que les liaisons correspondantes impliquant l'atome de soufre.

Dans le vide, pour les deux systèmes ($\text{CH}_3\text{S}^- + \text{H}_2\text{O}_2$ et $\text{CH}_3\text{Se}^- + \text{H}_2\text{O}_2$), des barrières d'énergie de dissociation et d'activation significatives stabilisent l'état *RC* (tableau 4.1).

L'énergie libre de Gibbs de dissociation ($G^{FR} - G^{RC}$) calculée au niveau QCISD(T) pour le système $\text{CH}_3\text{S}^- + \text{H}_2\text{O}_2$ est de 73,8 kJ.mol⁻¹, et l'énergie de Gibbs d'activation ($G^{TS} - G^{RC}$) de 86,6 kJ.mol⁻¹. Nous pouvons estimer les constantes de dissociation et d'activation à partir de ces valeurs et des méthodes présentées aux paragraphes 2.4.4 et 2.4.1, respectivement.

Pour une barrière d'énergie libre d'activation de 86,6 kJ.mol⁻¹, l'équation 2.94 donne une constante d'activation *in vacuo* d'environ $0,6 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.

La formule de Debye (Eq. 2.109) nous a permis d'estimer le rayon de réaction à 5 Å,

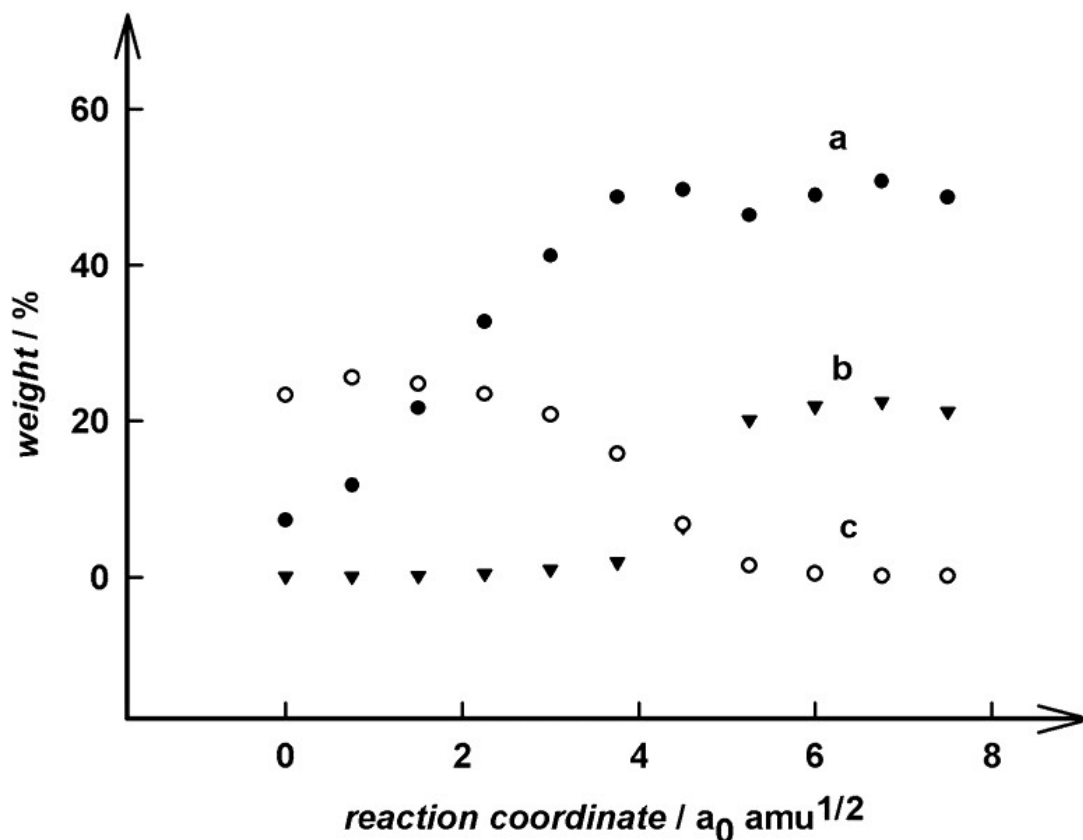


FIG. 4.3 – Evolution de liaisons pendant le transfert de O₁ du peroxyde au thiolate : poids des participations de l'atome O₁ à la liaison O₁-S₁ (a), de H₁ à la liaison O₂-H₁ (b) et à la liaison O₁-H₁ (c). Pour une liaison entre deux atomes *A* et *B*, représentée par la LMO $\psi = \sum_i c_i^A \chi_i^A + \sum_i c_i^B \chi_i^B$ où les χ_i sont les orbitales atomiques, le poids de la participation de l'atome *A* est donnée par $100 \times \frac{\sum_i |c_i^A|^2}{\sum_i |c_i^A|^2 + \sum_i |c_i^B|^2}$. Dans tous les cas, l'analyse LMO indique que les participations des atomes autres que *A* et *B* sont négligeables.

puis la section efficace σ (ici égale à $0,78 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^{-2}$). Le facteur préexponentiel de la formule 2.108 vaut alors $1,2 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1}$, ce qui donne une constante de dissociation dans le vide de $0,17 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Cela signifie que les constantes d'activation et de dissociation sont comparables, et que la durée de vie moyenne *in vacuo* de l'état *RC* est de l'ordre du centième de seconde. La constante globale d'une réaction impliquant la formation d'un complexe s'écrit (cf. Eq. 2.103) :

$$k = \frac{k_a k_d}{k_a + k'_d} \quad (4.6)$$

	CH ₃ S ⁻				CH ₃ Se ⁻			
	$E_0 [kJ.mol^{-1}]$		$G [kJ.mol^{-1}]$		$E_0 [kJ.mol^{-1}]$		$G [kJ.mol^{-1}]$	
	PMP4	QCISD(T)	PMP4	QCISD(T)	PMP4	QCISD(T)	PMP4	QCISD(T)
<i>FR</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>RC</i>	-109,2	-106,9	-76,1	-73,8	-93,1	-93,2	-62,0	-62,1
<i>TS</i>	-12,4	-19,5	19,8	12,8	-4,5	-12,9	26,5	18,2
<i>PC</i>	-299,9	-291,3	-268,4	-259,9	-268,8	-258,9	-236,9	-227,0

TAB. 4.1 – Oxydation du méthanethiolate et du méthanesélénolate par H₂O₂ dans le vide : énergie libre de Gibbs (G) à 298 K et 1 atm, et énergie corrigée de point-zéro (E_0) des réactifs libres (*FR*, pris comme référence des énergies), complexés (*RC*), de l'état de transition (*TS*) et du complexe de produits (*PC*).

Dans notre cas, on a $k'_d \cong k_a/3$ donc $k \cong \frac{3}{4} k_d$. Donc malgré la durée de vie relativement longue de l'état *RC*, la réaction apparaîtra globalement limitée par la probabilité de rencontre des réactifs, donc par le nombre de collisions par unité de temps. Ceci est dû au fait que chaque complexation a une forte probabilité (environ 75%) de donner un produit.

D'autre part, il est important de noter que la différence d'énergie corrigée de point-zéro $E_0^{TS} - E_0^{FR}$ calculée au niveau QCISD(T) est négative. Ce résultat démontre, lorsqu'on le compare aux résultats théoriques publiés sur l'oxydation de H₂S,^{[64][73]} que la déprotonation du thiol réduit la barrière d'énergie du transfert d'oxygène de plus de 160 kJ.mol⁻¹.

Quand on passe du thiolate au sélénolate, les états *RC*, *TS* et *PC* sont un peu moins stables (voir tableau 4.1). Les énergies libres de Gibbs d'activation ($G^{TS} - G^{RC}$) et de dissociation ($G^{FR} - G^{RC}$) sont également affectées, elles donnent ici des constantes de réaction de l'ordre de 10⁻¹ s⁻¹. La cinétique de réaction prédite ne change pas : un complexe de réactifs se forme lors d'un processus limité par collision, et ce complexe évolue vers l'état *PC* en quelques dizaines de secondes.

Cette cinétique d'oxydation des thiols et sélénols paraît contredire les études expérimentales sur la cystéine en solution. En effet, dans ce cas, aucun complexe réactif à longue durée de vie n'a été détecté, et les constantes de réaction globales publiées sont situées entre 17 et 26 mol⁻¹dm³s⁻¹.^{[65][66]} Cette différence suggère que les barrières d'énergie de la réaction 4.3 sont significativement modifiées en milieu aqueux.

Cette hypothèse a été testée en calculant la contribution de la solvation à la barrière de réaction au niveau de théorie MP2/6-311+G(2df,2dp)//MP2/6-311+G(d,p). Les variations des énergies corrigées de point-zéro (ΔE_0^{solv}), et des énergies libres de Gibbs

(ΔG^{solv}) sont consignées dans le tableau 4.2.

	CH ₃ S ⁻				CH ₃ Se ⁻			
	ΔE_0^{solv}	ΔG^{solv}	$E_{0,s}$	G_s	ΔE_0^{solv}	ΔG^{solv}	$E_{0,s}$	G_s
<i>FR</i>	-278,8	-281,4	0,0	0,0	-248,7	-245,2	0,0	0,0
<i>RC</i>	-215,1	-215,6	-43,1	-7,9	-192,1	-189,5	-36,6	-2,9
<i>TS</i>	-224,4	-225,2	34,8	69,0	-201,6	-201,0	34,1	65,9
<i>PC</i>	-237,7	-232,5	-250,3	-211,0	-222,1	-219,0	-232,3	-197,3

TAB. 4.2 – Effet du solvant sur l'oxydation du méthanethiolate et du méthane-sélénolate par H₂O₂ : variations des énergies corrigées de point-zéro (ΔE_0^{solv}), des énergies libres de Gibbs (ΔG^{solv}), et nouvelles valeurs des énergies corrigées de point-zéro ($E_{0,s}$) et des énergies libres de Gibbs (G_s). Toutes les valeurs sont données en kJ.mol⁻¹ et sont calculées à 298 K et 1 atm.

Les énergies corrigées de point-zéro et les énergies libres de Gibbs en solution ont été obtenues en ajoutant les contributions de la solvation aux valeurs QCISD(T) calculées dans le vide. L'effet principal de la présence du solvant est une augmentation considérable des énergies de *RC* et *TS* par rapport à l'état de référence *FR*. Par exemple dans le cas du thiolate, G_s^{RC} et G_s^{TS} sont respectivement supérieures de 65,9 et 56,2 kJ.mol⁻¹ aux valeurs calculées *in vacuo*. Par conséquent, la barrière d'énergie libre de dissociation n'est maintenant plus que de 7,9 kJ.mol⁻¹, ce qui implique une très haute probabilité de dissociation du complexe *RC*. En supposant que la constante de diffusion est voisine de 10¹⁰ mol⁻¹dm³s⁻¹, l'expression 2.110 permet d'évaluer la constante de dissociation en solution à 4,0.10⁸ s⁻¹. Dans le même temps, la barrière d'énergie libre de Gibbs d'activation n'a pas été modifiée significativement par le passage vide → solvant. La constante d'activation reste donc très faible (de l'ordre de 0,26 s⁻¹).

La constante de vitesse globale peut toujours être calculée grâce à l'équation 4.6. Etant donné que k_a est désormais très inférieure à k'_d , la relation 4.6 peut aussi s'écrire (cf. Eq. 2.104) :

$$k \cong \frac{k_a k_d}{k'_d} \quad (4.7)$$

Les équations 2.94 et 2.110 permettent de déduire l'expression de la constante de vitesse globale (cf. Eq. 2.111) :

$$k^{TST} = \frac{k_B T}{h} \frac{1}{c_0} \exp \left(\frac{-(G_{aq}^{TS} - G_{aq}^{FR})}{RT} \right) \quad (4.8)$$

Après substitution des valeurs des énergies libres de Gibbs, l'équation 4.8 donne $k^{TST} = 6,0 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$. Une correction d'effet tunnel doit être appliquée à k^{TST} . En utilisant la méthode décrite plus haut (§ 2.4.3), la fréquence au point-selle ($\nu^\ddagger = 720(\text{i}) \text{ cm}^{-1}$) donne un coefficient de transmission de 1,7 par lequel doit être multipliée k^{TST} . La constante de vitesse globale corrigée est donc de $k^{TST} = 10,2 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$, en bon accord avec les valeurs expérimentales. La déviation observée correspond à une surestimation possible de l'énergie libre de Gibbs d'activation d'environ 1 RT seulement.

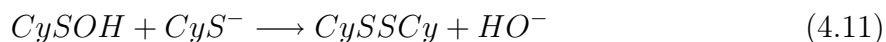
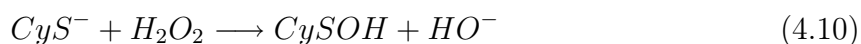
Comme l'on peut le constater en observant les valeurs de G_s du tableau 4.2, notre étude ne prévoit pas de différence significative entre les cinétiques d'oxydation du thiolate et du sélénolate. La constante de vitesse globale pour le cas du sélénolate, calculée avec la même méthode que pour le thiolate, vaut $k^{TST} = 35,4 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ (dans ce cas le coefficient de transmission vaut 1,6). Cette valeur n'est que légèrement supérieure à celle du thiolate, et ne saurait en tout cas pas expliquer l'énorme différence qui demeure entre ces valeurs et les constantes mesurées expérimentalement pour la GPx ($4,0\text{-}5,0$). $10^7 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$.^{[69][70]} On sait que dans le cas de cette enzyme, l'atome de sélénium est niché au centre d'une petite cavité entourée de groupes hydrophobes.^[68] Le modèle de solvant devrait donc être adapté pour prendre en compte cet environnement spécifique. Une méthode simple est d'utiliser le modèle PCM avec une constante diélectrique faible, et des cavités qui adoptent les formes des systèmes moléculaires environnants. Blomberg et Siegbahn^[74] ont recommandé une valeur de la constante diélectrique de $\epsilon = 4,0$ pour des calculs PCM sur des sites actifs d'enzymes. En appliquant cette suggestion, nous avons obtenu une constante de vitesse révisée de $3,6.10^4 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$. Cette valeur est très supérieure à celle calculée dans un environnement purement aqueux, mais la différence avec la valeur expérimentale de la GPx reste importante. Il est donc probable que des interactions spécifiques entre la sélénocystéine et les acides aminés voisins (en particulier une glutamine et un tryptophane) expliquent la très haute réactivité de la GPx. Cette hypothèse est appuyée par une étude récente^[69] qui a montré que l'absence de ce tryptophane entraîne une baisse significative (d'un facteur 500) de la constante de réaction.

Les résultats rapportés dans ce paragraphe mettent en lumière l'importance de l'environnement moléculaire, dans le cas de l'oxydation du thiolate et du sélénolate par H_2O_2 . Lorsqu'aucune interaction externe n'est prise en compte, nos calculs (effectués à un niveau de théorie élevé) prédisent la formation d'un complexe de réactifs RC qui évolue vers les produits en quelques dizaines ou centaines de secondes. En solution aqueuse, la constante de dissociation de RC augmente considérablement, ce qui entraîne une

chute de la constante de réaction globale, qui est alors de l'ordre de quelques dizaines de $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$. Ces résultats suggèrent fortement que l'oxydation très efficace de la GPx est principalement due à son environnement peptidique. La prochaine étape vers l'analyse de ces effets est l'étude de l'acide aminé cystéine (et de la sélénocystéine), plus représentatif d'un fragment peptidique que le méthane-thiolate (et le méthanesélénolate). Cette étude est l'objet du paragraphe suivant.

4.4 Oxydation de la cystéine et de la sélénocystéine par le peroxyde d'hydrogène

Dans une étude expérimentale détaillée, Luo et al.^[75] ont clairement montré que l'oxydation de la cystéine (*CySH*) par H_2O_2 suit la séquence de réactions suivante :



Lors de ce processus, l'étape qui limite la constante de réaction est la formation de l'acide sulfénique *CySOH* (Eq. 4.10). Le mécanisme de cette réaction a été décrit au paragraphe précédent (§ 4.3) dans le cas du méthane-thiolate et du méthanesélénolate : il s'agit simultanément d'un transfert d'oxygène vers le soufre (ou le sélénium), et d'un passage de l'atome d'hydrogène du thiol vers l'autre oxygène du peroxyde. Ce mécanisme présente des similitudes avec celui proposé par Chu et Trout^[76] sur l'oxydation du diméthylsulfide par H_2O_2 , sauf concernant le rôle catalytique des liaisons hydrogène entre solvant et soluté.

Dans notre étude, nous nous sommes servis de l'oxydation du résidu cystéine par H_2O_2 non seulement comme une référence pour l'oxydation de la sélénocystéine, mais aussi comme un test pour notre méthode de calcul.

L'optimisation de notre modèle de résidu cystéine en solution aqueuse (cf. § 4.2) a donné trois conformations stationnaires. La plus stable (*Cys1*) est présentée sur la Figure 4.4. Les deux autres structures sont aussi intéressantes, parce que l'environnement d'une grosse protéine pourrait modifier leurs stabilités relatives. C'est pourquoi nous avons également effectué des calculs de barrières d'énergie pour l'oxydation d'une deuxième structure,

notée *Cys2* (Fig. 4.4). La principale différence entre *Cys1* et *Cys2* concerne la valeur de l'angle de torsion $\tau(\text{S-C1-C2-C3})$, qui vaut $60,9^\circ$ pour *Cys1* et $-68,23^\circ$ pour *Cys2*.

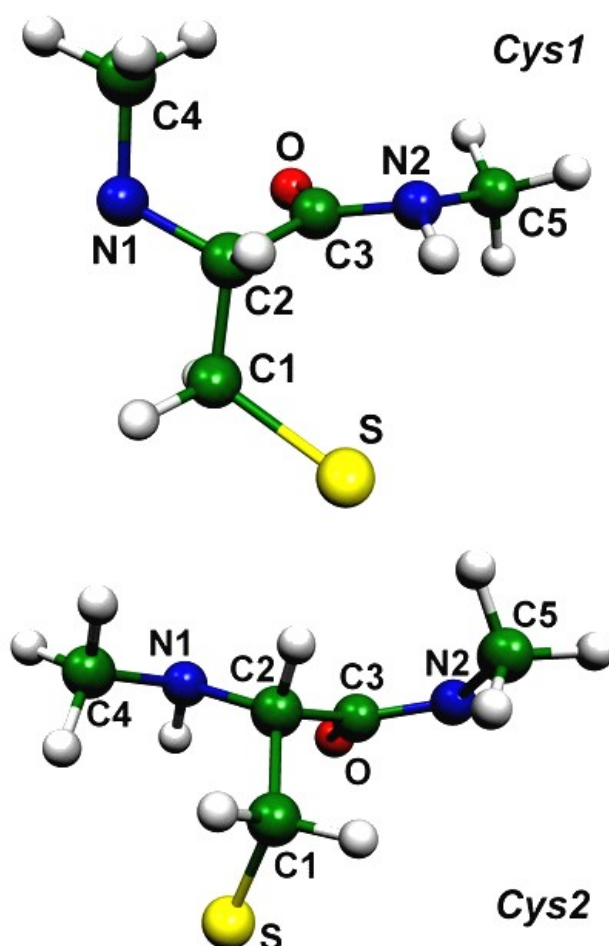


FIG. 4.4 – Modèles *Cys1* et *Cys2* du résidu cystéine, optimisés en solution aqueuse au niveau MP2/6-311+G(d,p).

Les géométries de départ des structures *RC* et *TS* pour l'oxydation de la cystéine (sélénocystéine) ont été construites en reproduisant les configurations correspondantes des atomes participant à la réaction, trouvées pour le méthane-thiolate (méthanesélénolate). Pour le résidu *Cys1*, nous avons obtenu après réoptimisation les structures *RC1* et *TS1a* représentées sur la Figure 4.5.

L'ajout d'une vingtaine d'atomes au système réactif n'affecte que légèrement la géométrie de l'état de transition optimisée *in vacuo*, les distances interatomiques caractéristiques ne variant que de 0,03 Å maximum par rapport au cas du méthane-thiolate.

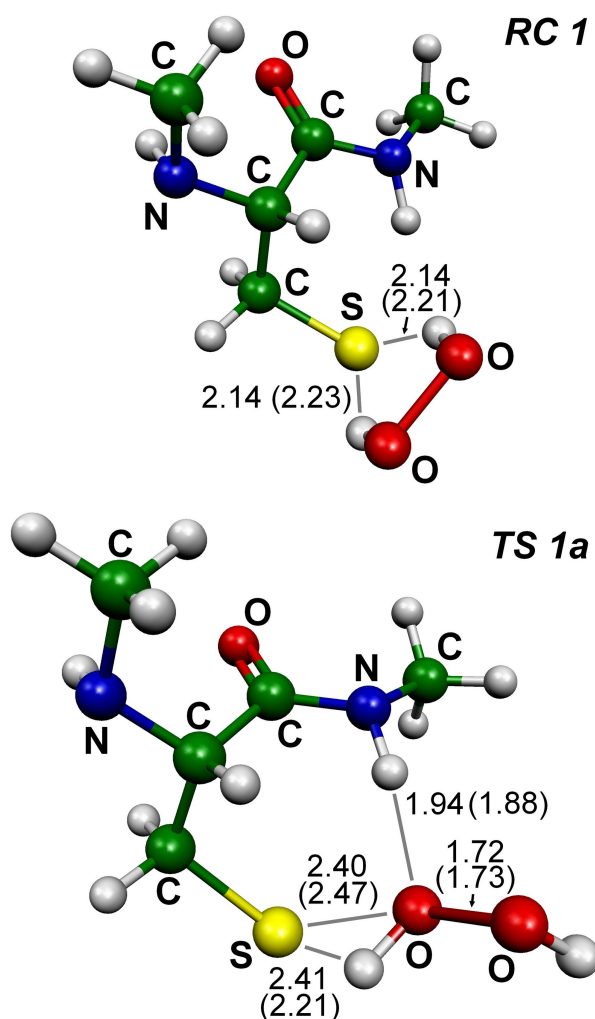


FIG. 4.5 – Oxydation du modèle de cystéine *Cys1* par H_2O_2 : structures du complexe de réactifs *RC1* et de l'état de transition *TS1a*. Les distances interatomiques sont données en Å. Les distances calculées *in vacuo* sont indiquées entre parenthèses.

Par contre, la différence d'énergie libre de Gibbs $\Delta G_g(TS1a) = G_g(TS1a) - G_g(FR1)$ entre *TS1a* et les réactifs libres *FR1* est désormais de $27,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (tableau 4.3), soit $14,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$ de plus qu'avec le méthanethiolate.

En solution aqueuse, la différence d'énergie libre de Gibbs entre les deux états devient $79,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (tableau 4.3), ce qui indique que le solvant "déstabilise" considérablement l'état de transition. $\Delta G_{aq}(TS1a) = G_{aq}(TS1a) - G_{aq}(FR1)$ est ici supérieure de $10,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$ à celle calculée pour le méthanethiolate. Etant donné que l'énergie libre de Gibbs de dissociation $\Delta G_{aq}(RC1) = G_{aq}(RC1) - G_{aq}(FR1)$ n'est que de $-2,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$, le complexe *RC1* ne joue pas de rôle dans la cinétique de réaction. Celle-ci ne dépendra

que de la valeur de $\Delta G_g(TS1a)$, qui représente donc la barrière d'énergie effective.

	$\Delta E_{0,g}$	ΔH_g	ΔG_g	G_{solv}	ΔG_{aq}
<i>FR1</i>	0,0	0,0	0,0	-232,2	0,0
<i>RC1</i>	-82,4	-83,3	-42,9	-187,3	2,0
<i>TS1a</i>	-13,9	-16,1	27,0	-179,6	79,6
<i>TS1b</i>	8,5	6,4	49,4	-196,0	85,6
<i>FR2</i>	0,0	0,0	0,0	-276,7	0,0
<i>RC2</i>	-96,4	-97,3	-56,8	-221,6	-1,7
<i>TS2</i>	-12,1	-14,2	28,8	-225,2	80,3

TAB. 4.3 – Oxydation de la cystéine par H_2O_2 : énergie corrigée de point-zéro $\Delta E_{0,g}$, enthalpie ΔH_g et énergie libre de Gibbs ΔG_g relatives en phase gazeuse ; énergie libre de solvation G_{solv} et énergie libre de Gibbs relative en solution aqueuse ΔG_{aq} . Les états de référence pour les paramètres relatifs sont *FR1* pour le modèle *Cys1* et *FR2* pour *Cys2*. Toutes les valeurs sont données en kJ.mol^{-1}

La structure *TS1a* (Fig. 4.5) suggère que la barrière d'énergie d'oxydation de la cystéine est affectée par la formation d'une liaison hydrogène entre le peroxyde et le groupe -NH de *Cys1*. Pour tester cette hypothèse, nous avons exploré l'espace de configuration des deux fragments, et nous avons identifié un deuxième état de transition (*TS1b*, Fig. 4.6) qui ne présente pas de liaison hydrogène entre le peroxyde et -NH.

Pour ce deuxième chemin de réaction, la barrière d'énergie libre de Gibbs est supérieure : $49,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$ *in vacuo* et $85,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$ en solution aqueuse. Ce résultat suggère que la liaison hydrogène analysée ici a un effet catalytique sur la réaction, très important dans le vide mais beaucoup plus léger dans le solvant.

Le rôle catalytique de -NH paraît contredit par le résultat obtenu sur la conformation *Cys2*. Dans ce cas également, il n'y a pas de liaison hydrogène entre H_2O_2 et -NH (Fig. 4.6), mais la barrière d'énergie $\Delta G_g(TS2)$ n'est que légèrement supérieure à $\Delta G_g(TS1a)$. Cependant, la comparaison directe entre *Cys1* et *Cys2* n'est peut-être pas pertinente car la différence entre les deux systèmes est complexe. Par exemple, le complexe *RC2* entre H_2O_2 et *Cys2* présente une énergie libre de Gibbs de complexation $\Delta G_g(RC2)$ plus basse de 14 kJ.mol^{-1} que $\Delta G_g(RC1)$. Ceci suggère qu'une attraction plus forte entre les deux réactifs dans le cas de *Cys2* pourrait également faire baisser le niveau d'énergie de *TS2*.

Les énergies des états *TS* présentées dans le tableau 4.3 n'ont pas subi de corrections aux BSSE (cf. fin du § 2.2), qui ne semblent pas pertinentes dans le cas des états de

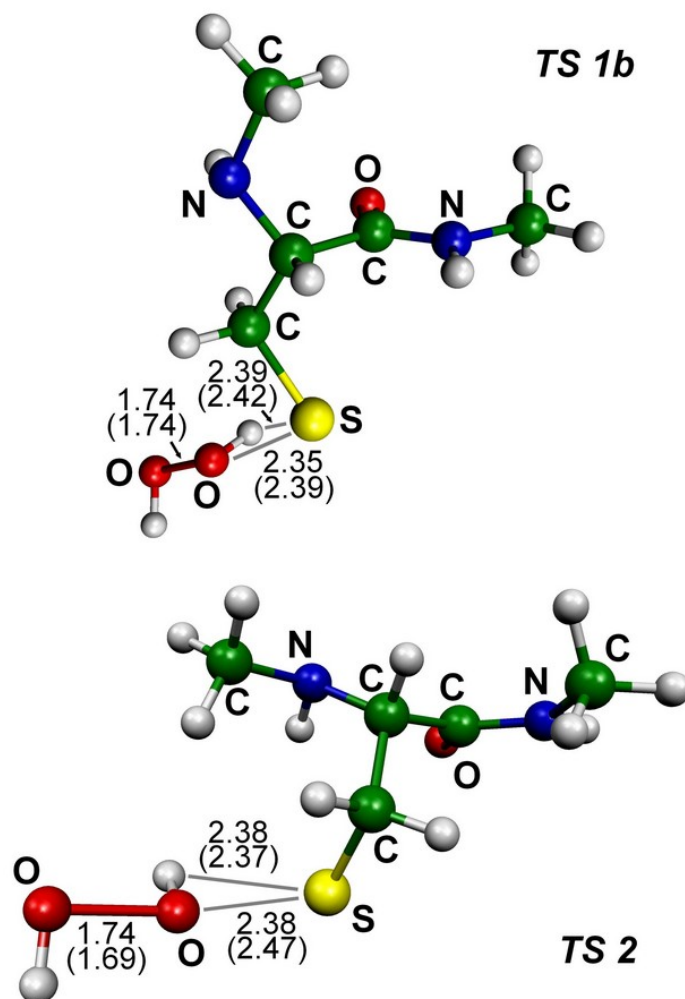


FIG. 4.6 – Oxydation du modèle de cystéine *Cys2* par H_2O_2 : structures de l'état de transition *TS2* et de l'état de transition alternatif *TS1b* pour l'oxydation de *Cys1*. Les distances interatomiques sont données en Å. Les distances calculées *in vacuo* sont indiquées entre parenthèses.

transition (et évidemment des réactifs séparés). Par contre, la situation pourrait être différente pour l'état *RC1*, dans la mesure où la liaison hydrogène n'implique qu'un réarrangement limité de la densité électronique. Dans ce cas, la correction aux BSSE calculée avec la méthode du contreponds de Boys et Bernardi^[39] au niveau de théorie IMOMO(QCISD(T)/PMP2) est d'environ $8,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$. La valeur corrigée de $\Delta G_{aq}(\text{RC1})$ est donc $10,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

Nous avons également évalué les erreurs engendrées par la présence de rotations cachées (§ 2.3.4) pour les états *TS1a* et *FR1*. Celles-ci entraînent une augmentation de seulement

1,5 kJ.mol⁻¹ de $\Delta G_{aq}(TS1a)$.

La barrière d'énergie théorique que nous obtenons finalement est environ 13,0 kJ.mol⁻¹ plus haute que la valeur expérimentale publiée pour la cystéine libre en solution aqueuse.^[75] Cette déviation pourrait être partiellement due à la différence de structure entre l'acide aminé cystéine libre (valeurs expérimentales) et le modèle de résidu cystéine que nous avons utilisé.

Une contribution significative à l'erreur globale provient du calcul des énergies libres de solvation. Par exemple lorsque l'on utilise le modèle IPCM (*Isodensity Polarizable Continuum Model*), la barrière d'énergie de la réaction est de 62,8 kJ.mol⁻¹, ce qui est 4 kJ.mol⁻¹ plus bas que la barrière d'énergie expérimentale de la cystéine libre. Cependant, nous pensons que le modèle PCM est plus fiable dans notre cas, car cette méthode prédit une énergie libre de solvation de -291,8 kJ.mol⁻¹ pour le méthanethiolate, beaucoup plus proche de la valeur expérimentale (-303,5 kJ.mol⁻¹)^[77] que la méthode IPCM (-233,2 kJ.mol⁻¹).

Oxydation de la sélénocystéine par H₂O₂

La conformation du fragment sélénocystéine qui apparaît en diffraction X dans la structure de l'enzyme GPx^[78] est très similaire au modèle de cystéine *Cys1* présenté Figure 4.4. Pour nos calculs, le modèle *SelCys1* a donc été obtenu en extrayant le fragment moléculaire correspondant de la structure de la GPx, et en ajoutant deux groupements méthyle aux atomes d'azote terminaux. Ce modèle a ensuite été réoptimisé dans le vide, et en milieu aqueux. Une deuxième conformation *SelCys2* a été générée à partir de *Cys2* en remplaçant l'atome de sélénium par du soufre. Après réoptimisation, la structure *SelCys2* est très proche de *Cys2*, sauf bien sûr en ce qui concerne la longueur des liaisons impliquant le sélénium.

Les configurations *RC1* et *TS1* obtenues de la même manière sont représentées sur la Figure 4.7. Ces structures sont très similaires à celles obtenues avec la cystéine. En particulier, dans le cas de *TS1*, on observe bien la liaison hydrogène entre le groupe -NH de *SelCys1* et H₂O₂.

Quand on compare la structure *TS1* avec celle trouvée pour le système modèle CH₃Se⁻, on note une augmentation de d_{Se-O} de 0,02 Å et une diminution de d_{Se-H} d'environ 0,05 Å. Ces modifications sont certainement dues à l'ajout des atomes supplémentaires au système. Comme dans le cas de la cystéine, cet ajout entraîne également une hausse de la

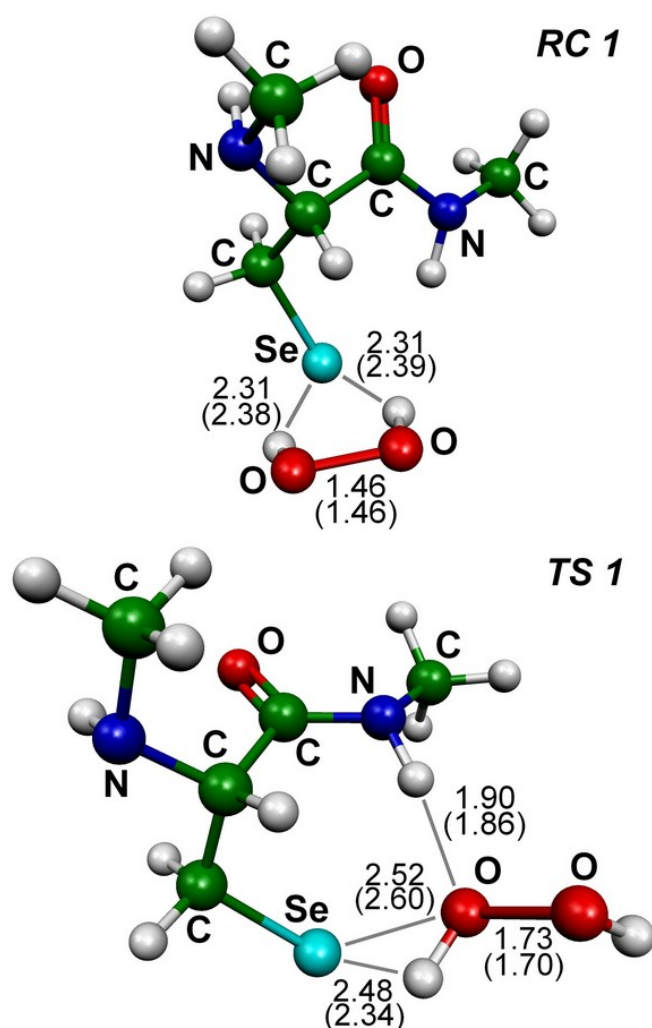


FIG. 4.7 – Oxydation du modèle de sélénocystéine *SelCys1* par H_2O_2 : structures des réactifs complexés *RC1* et de l'état de transition *TS1*. Les distances interatomiques sont données en Å. Les distances calculées *in vacuo* sont indiquées entre parenthèses.

barrière d'énergie de réaction effective, qui devient $25,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$ dans le vide (tableau 4.4). Cette valeur est plus élevée de $7,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$ que celle calculée pour le méthanesélenolate.

La différence est plus importante en solution ($11,8 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Il est intéressant de constater que la barrière d'énergie en solution aqueuse $\Delta G_{aq}(TS1)$ n'est inférieure que de $1,8 \text{ kJ.mol}^{-1}$ à la valeur trouvée pour la cystéine *Cys1*. Il semble donc que la substitution du soufre par le sélénium a peu d'effet sur la réactivité du système. Ceci confirme les conclusions déjà tirées de l'étude de l'oxydation du méthane-thiolate et du méthanesélenolate par H_2O_2 (§ 4.3).

	$\Delta E_{0,g}$	ΔH_g	ΔG_g	G_{solv}	ΔG_{aq}
<i>FR1</i>	0,0	0,0	0,0	-221,0	0,0
<i>RC1</i>	-76,1	-76,1	-36,6	-178,0	6,4
<i>TS1</i>	-17,2	-17,4	25,6	-168,8	77,8
<i>FR2</i>	0,0	0,0	0,0	-260,3	0,0
<i>RC2</i>	-83,6	-83,6	-41,7	-214,8	3,8
<i>TS2</i>	-10,8	-11,0	34,3	-214,7	79,9

TAB. 4.4 – Oxydation de la sélénocystéine par H_2O_2 . Les notations sont identiques à celles du tableau 4.3.

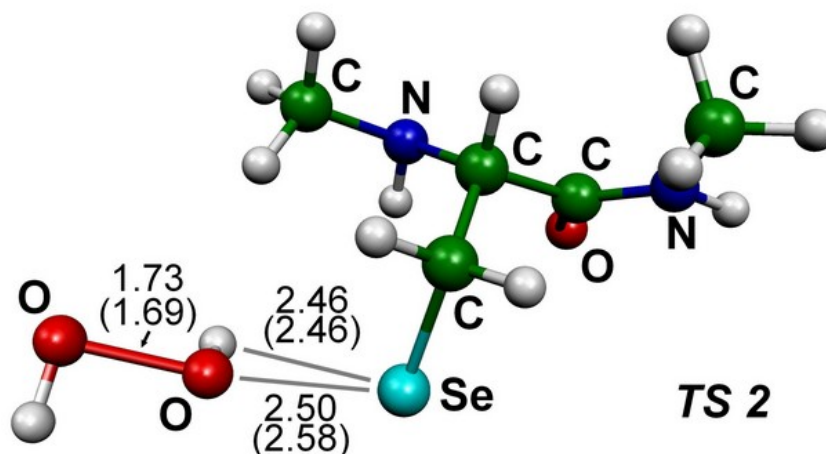


FIG. 4.8 – Oxydation du modèle de sélénocystéine *SelCys2* par H_2O_2 : structure de l'état de transition *TS2*. Les distances interatomiques sont données en Å. Les distances calculées *in vacuo* sont indiquées entre parenthèses.

Les données du tableau 4.4 indiquent également que la barrière d'énergie de l'oxydation de *SelCys2* (Fig. 4.8) en phase gazeuse est supérieure de $8,7 \text{ kJ.mol}^{-1}$ à celle de *SelCys1*. Cependant, en milieu aqueux le solvant compense partiellement cette différence, les barrières d'énergies ne différant que de $2,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

Il est intéressant de comparer la réactivité des sélénocystéines avec celle de la GPx. Aucune barrière d'énergie expérimentale n'a été mesurée pour la formation du produit GPx-SeO⁻. Par contre, la valeur expérimentale de la constante de vitesse k_1 de cette réaction a été publiée.^{[69][70]} Il est possible de calculer une valeur théorique de k_1 d'après $\Delta G_{aq}(TS1)$, pour notre sélénocystéine en solution. L'équation 2.111 permet d'évaluer la constante de

vitesse : pour une barrière d'énergie de 77,8 kJ.mol⁻¹, k_1 vaut 0,18 mol⁻¹dm³s⁻¹. En appliquant la correction d'effet tunnel ($\kappa = 1,36$), la constante de réaction devient 0,25 mol⁻¹dm³s⁻¹. Cette valeur est très éloignée de la mesure expérimentale sur la GPx (5,0.10⁷ mol⁻¹dm³s⁻¹), et cette différence énorme n'a rien à voir avec l'erreur attendue pour de tels calculs théoriques (environ 10 kJ.mol⁻¹ selon les données sur la cystéine).

D'autre part, les résultats consignés dans le tableau 4.4 montrent que la barrière d'énergie de l'oxydation de la sélénocystéine est considérablement plus basse *in vacuo* qu'en milieu aqueux. On peut donc supposer que la différence réelle entre la GPx et la sélénocystéine libre est principalement due à l'environnement hydrophobe de la sélénocystéine au sein de la GPx. Cependant, la sélénocystéine ne peut pas être totalement enfouie dans l'enzyme, car des molécules assez grosses comme le glutathion doivent pouvoir y accéder (pour la deuxième partie du cycle de réduction de H₂O₂). Une accessibilité au moins partielle du solvant est nécessaire pour conférer un pKa raisonnablement bas à la sélénocystéine. Cette accessibilité partielle est confirmée par la structure de l'enzyme déterminée par diffraction X.^[78] On sait de plus que la structure des protéines fluctue à température ambiante, améliorant l'accès du solvant aux acides aminés. Dans le cas du méthanesélénolate (§ 4.3), nous avons grossièrement simulé l'environnement des acides aminés partiellement exposés au solvant en effectuant des calculs avec une constante diélectrique intermédiaire entre eau et vide. Nous avons montré que cette modification augmente la constante de réaction significativement, mais pas suffisamment pour être comparable avec la valeur expérimentale de la GPx.

Un traitement plus spécifique de l'environnement de la sélénocystéine devrait prendre en compte l'effet des charges électriques portées par les deux lysines et les quatre arginines situées autour de la sélénocystéine. Ces résidus chargés positivement ont un rôle important dans la stabilisation du complexe glutathion-GPx lors de la seconde étape du cycle de réduction de H₂O₂ (Eq. 4.5).^[68] Ils pourraient aussi jouer un rôle dans la stabilisation de la forme déprotonée de la sélénocystéine. Dans ce contexte, une étude mixte (QM/MM) permettrait de donner une barrière d'énergie plus réaliste. Une telle approche nécessiterait, bien sûr, un choix prudent des paramètres du champ de force MM, pour décrire précisément les interactions à longue portée impliquées ici.

Une autre explication réside dans la liaison hydrogène entre le sélénium et le groupe imino du tryptophane voisin, ou le groupe amido de la glutamine située également à la bonne distance.^[79] Bien que cette hypothèse soit appuyée par l'étude sur le tryptophane voisin mentionnée à la fin du § 3.3, le mécanisme de la diminution de la barrière d'énergie n'a pas encore été identifié. Cependant, nos résultats (en particulier la comparaison de $\Delta G_g(TS1a)$ et $\Delta G_g(TS1b)$ dans le tableau 4.3) suggèrent que la liaison hydrogène entre

le peroxyde et un groupe -NH contribue à une diminution non négligeable de la barrière d'énergie, en particulier dans un environnement hydrophobe. Cet effet pourrait bien être présent au sein de la GPx dans la mesure où le peroxyde peut former diverses liaisons hydrogène avec les groupes imino/amido des tryptophane/glutamine voisins.

4.5 Conclusions

L'étude de l'oxydation de systèmes modèles (CH_3S^- et CH_3Se^-), puis des résidus cystéine et sélénocystéine, nous a permis d'identifier le chemin de réaction puis de calculer avec une précision satisfaisante les barrières d'énergie de ces oxydations. L'analyse a montré que l'effet de la conformation des résidus cystéine et sélénocystéine n'est pas négligeable.

D'autre part, la liaison hydrogène qui se forme entre un groupe -NH du résidu et le peroxyde d'hydrogène entraîne une baisse significative de la barrière de réaction, effet qui est cependant fortement atténué en milieu aqueux.

Nous avons aussi montré que l'oxydation de la cystéine et la sélénocystéine présentent des barrières d'énergie très voisines. Cependant, les constantes de réaction calculées restent inférieures de plusieurs ordres de grandeur à la valeur expérimentale mesurée sur la GPx. Ce résultat suggère fortement que dans le cas de la GPx, la réaction est très affectée par l'environnement moléculaire de la sélénocystéine. La grande sensibilité de la barrière d'énergie en fonction de la constante diélectrique du milieu et l'effet catalytique du groupe -NH observé dans le cas de la cystéine sont autant d'indications en ce sens.

Chapitre 5

Oxydation de thiols par le radical superoxyde

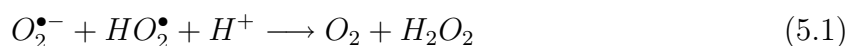
Sommaire

5.1	État des connaissances	96
5.2	Méthodologie	97
5.3	Résultats	98
5.4	Conclusions	111

Les résultats obtenus lors de l'étude de cette réaction ont été soumis au *Journal of Physical Chemistry A* (première version du manuscrit en juillet 2007, et version révisée en septembre 2007).

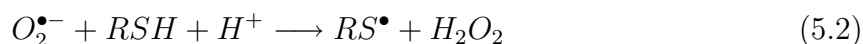
5.1 État des connaissances

Le radical anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ (cf. § 1.2.2.3) est un des plus importants agents du stress oxydant. Ce radical pourtant peu réactif subit une dismutation rapide en peroxyde d'hydrogène, catalysée par l'enzyme superoxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD).^[80] La dismutation peut aussi avoir lieu spontanément en présence de perhydroxyle (la forme protonée du radical superoxyde) :

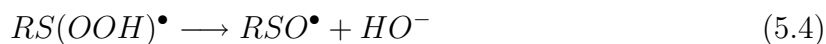
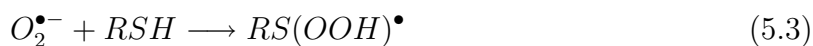


Les radicaux superoxyde restants sont neutralisés par le glutathion. Le mécanisme de cette réaction est controversé, deux chemins de réaction différents ayant déjà été proposés dans la littérature :

- Selon certains auteurs,^{[81][82][83]} le radical superoxyde réagit avec les thiols RSH en arrachant directement l'atome d'hydrogène du soufre, pour donner comme produits le radical thiyl $RS^{\bullet}$ et du peroxyde d'hydrogène (*chemin a*) :



- D'autres auteurs^{[84][85][66]} considèrent que la première étape de la réaction est la formation d'un complexe radicalaire présentant une liaison à trois électrons, qui se sépare ensuite en un radical sulfinyl $RSO^{\bullet}$ et un anion hydroxyde (*chemin b*) :



Dans les deux schémas de réaction, les radicaux intermédiaires $RS^{\bullet}$ et $RSO^{\bullet}$ interagissent ensuite avec un thiolate pour donner un pont disulfure RSSR.

Il est intéressant de constater que les valeurs publiées des constantes de réaction sont très dispersées : elles se situent entre 10 et $10^3 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$, même si des valeurs comme $10^5 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ ont également été reportées.^[81] Cette situation peut s'expliquer par la complexité spécifique des conditions expérimentales requises pour mesurer ces constantes de réaction. En effet, d'autres espèces oxydantes comme H_2O_2 ou $HO^{\bullet}$ étant présentes, il

est difficile de quantifier les effets de leur compétition avec le superoxyde.

L'importance des adduits qui présentent des liaisons à trois électrons a déjà été soulignée^{[86][87][88][89]} et l'intérêt de l'étude de tels complexes, en particulier de leurs liaisons et de leurs propriétés, ne fait qu'augmenter. Les analyses théoriques basées sur des méthodes MO (Molecular Orbital) *ab initio* ont montré une grande efficacité pour ce type de système.^{[90][91][92][93]} De tels calculs, effectués à un haut niveau de théorie, sont souvent capables de prédire des barrières d'énergie de réaction avec une précision "chimique" ($<10 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Nous pensons donc qu'une étude de ce type pourrait contribuer à clarifier significativement le mécanisme d'oxydation des thiols par le radical superoxyde.

Lors de ce travail, nous avons analysé de manière systématique l'interaction entre un thiol et le radical superoxyde, que ce soit sous sa forme anionique ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ou protonée ($\text{HO}_2^{\bullet}$). Les chemins de réaction ont été identifiés, et les barrières d'énergie calculées en phases gazeuse et aqueuse. Les prédictions théoriques ont ensuite été confrontées aux données expérimentales et nous avons pu tirer des conclusions concernant la prédominance du *chemin a* ou du *chemin b*.

5.2 Méthodologie

Tous les calculs de ce chapitre ont été effectués en utilisant le modèle de thiol CH_3SH (méthanethiol).

Pour une exploration qualitative de la surface d'énergie potentielle, nous avons utilisé la méthode DFT (cf. § 2.1.2) avec la fonctionnelle B3LYP.^[94] Afin de localiser les points stationnaires du chemin de réaction, la SEP a été explorée selon chacun des paramètres géométriques amenés à évoluer pendant la réaction : $d_{\text{S-O}}$, $d_{\text{H}_\text{S}-\text{O}}$, $d_{\text{H}_\text{S}-\text{S}}$ et $d_{\text{O-O}}$. Ces scans nous ont permis d'identifier des états stationnaires qui ont été réoptimisés sans contrainte au niveau UB3LYP/6-311+G(d,p). Des calculs de fréquences ont confirmé la nature de chaque état de transition (présence d'une et une seule fréquence imaginaire). La présence d'un chemin de réaction continu entre réactifs, états de transition et produits a été vérifiée grâce à des calculs IRC.

En ce qui concerne les systèmes qui présentent des liaisons à trois électrons, les méthodes DFT ont beaucoup de mal à donner des structures optimisées fiables et précises.^{[91][92]} Nous avons donc réoptimisé tous les états stationnaires en utilisant la méthode Møller-Plesset non restreinte, au deuxième (UMP2) et quatrième ordre (UMP4), avec le même

jeu de fonctions de base. Des divergences significatives ont été constatées en comparant les structures optimisées avec ces trois méthodes (DFT, UMP2, UMP4). Afin de vérifier la cohérence des structures *TS2* optimisées, nous avons réalisé une optimisation au niveau QCISD/6-311+G(d,p). Les différences avec l'optimisation UMP4 ne sont pas négligeables, donc un niveau de théorie au moins équivalent à QCISD/6-311+G(d,p) semble nécessaire pour optimiser l'ensemble des structures. Il est intéressant de noter que la méthode IMOMO^[34] donne des structures optimisées très proches de celles données par QCISD/6-311+G(d,p) (dans le cas de *TS2* les déviations de distances interatomiques ne dépassent pas 0,02 Å). Dans nos calculs IMOMO, le "système modèle" ($\text{SH}_2 + \text{O}_2^{\bullet-}$) a été traité au niveau QCISD/6-311+G(d,p), et le "système réel" ($\text{CH}_3\text{SH} + \text{O}_2^{\bullet-}$) au niveau UMP2/6-311+G(d,p). Finalement la méthode IMOMO a été préférée pour toutes les optimisations de structures, dans la mesure où elle est significativement plus rapide. Ceci nous a permis d'effectuer des calculs de fréquences, nécessaires pour l'application de la TST variationnelle.

Les énergies libres de Gibbs *in vacuo* ont été calculées selon l'équation 2.86, où l'énergie potentielle a été déterminée au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd) et les corrections thermodynamiques évaluées au niveau IMOMO décrit ci-dessus.

Les énergies libres de Gibbs en solution aqueuse ont été calculées avec l'équation 2.88, où l'énergie de solvation (différence entre l'énergie de la structure solvatée, et celle de la structure *in vacuo*) a été évaluée grâce au modèle IPCM de Cossi et al.^[41]

Enfin, la nature des états intermédiaires identifiés a été étudiée en effectuant des analyses de populations naturelles (NPA)^[95] afin d'obtenir la distribution de densité de spin et les charges atomiques partielles.

5.3 Résultats

Interaction entre le méthaneithiol et $\text{O}_2^{\bullet-}$

La forme anionique du radical superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) est largement prédominante à pH physiologique, car le pKa du couple $\text{HO}_2^{\bullet}/\text{O}_2^{\bullet-}$ est égal à 4,8.^[96] Plusieurs couples de produits pourraient, en principe, résulter de l'interaction entre $\text{O}_2^{\bullet-}$ et CH_3SH (*FR*) : $\text{CH}_3\text{SO}^{\bullet} + \text{HO}^-$ (*FP1*), $\text{CH}_3\text{SO}^- + \text{HO}^{\bullet}$ (*FP2*), $\text{CH}_3\text{S}^- + \text{HO}_2^{\bullet}$ (*FP3*) et $\text{CH}_3\text{S}^{\bullet} + \text{HO}_2^-$

(*FP4*). Parmi eux, ceux dont l'énergie libre de Gibbs est supérieure à celle des réactifs libres *FR* ne sont pas des produits de réaction stables. Les énergies de Gibbs relatives des produits *FP1* à *FP4* sont listées dans le tableau 5.1 :

	Produits	ΔG_g	ΔG_{aq}
<i>FP1</i>	$\text{CH}_3\text{SO}^\bullet + \text{HO}^-$	-123,9	-170,5
<i>FP2</i>	$\text{CH}_3\text{SO}^- + \text{HO}^\bullet$	-60,0	-52,5
<i>FP3</i>	$\text{CH}_3\text{S}^- + \text{HO}_2^\bullet$	13,4	32,2
<i>FP4</i>	$\text{CH}_3\text{S}^\bullet + \text{HO}_2^-$	85,4	68,2

TAB. 5.1 – Oxydation du méthanethiol par $\text{O}_2^{\bullet-}$: énergies de Gibbs relatives (*FR* est pris comme état de référence) en phase gazeuse ΔG_g et en solution aqueuse ΔG_{aq} de 4 couples possibles de produits. Les énergies sont calculées au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd)//IMOMO, à 298 K et sont données en kJ.mol^{-1} .

Seuls les couples de produits *FP1* et *FP2* sont plus stables que *FR* en solution aqueuse. D'autre part, l'énergie libre de Gibbs de *FP1* est nettement plus basse que celle de *FP2*. Par conséquent, trouver un chemin de réaction reliant *FR* et *FP1* prouverait que le couple radical sulfinyl / anion hydroxyde est de loin le produit le plus important de l'oxydation de CH_3SH par $\text{O}_2^{\bullet-}$.

Les scans de la surface d'énergie potentielle par rapport aux distances $d_{\text{S-O}}$ et $d_{\text{H}_\text{S}-\text{O}}$ indiquent qu'à des distances intermédiaires, les deux réactifs adoptent une position relative qui favorise la création d'une liaison hydrogène entre H_S et O . Lorsque $d_{\text{H}_\text{S}-\text{O}}$ descend sous 1,6 Å, le transfert de proton a lieu de S à O sans barrière d'énergie *in vacuo*, et avec une barrière négligeable en milieu aqueux. Après ce transfert, un complexe *RC* se forme, stabilisé par une liaison hydrogène. Le complexe *RC* réoptimisé avec la méthode IMOMO est présenté Fig. 5.1. L'analyse des "populations naturelles" électroniques (NPA) indique clairement que la densité de spin (différence entre les populations de spin α et β) située sur l'atome de soufre est négligeable. Par contre, la charge partielle portée par ce même atome est de -0,70 e. *RC* est donc un complexe entre le méthanethiolate CH_3S^- et le radical perhydroxyle $\text{HO}_2^\bullet$, complexe qui pourrait être un précurseur du couple de produits *FP3*. D'autre part, un état électronique précurseur des produits *FP4* pourrait en principe être engendré à partir de *RC*, par un transfert d'électron de CH_3S^- à $\text{HO}_2^\bullet$. Mais malgré une exploration systématique de la surface d'énergie potentielle en fonction des distances $d_{\text{O-O}}$ et $d_{\text{S-H}_\text{S}}$, nous n'avons pu identifier d'état de transition pour ce transfert d'électron. Ce résultat suggère qu'au moins *in vacuo*, le précurseur de *FP4* est un état électronique

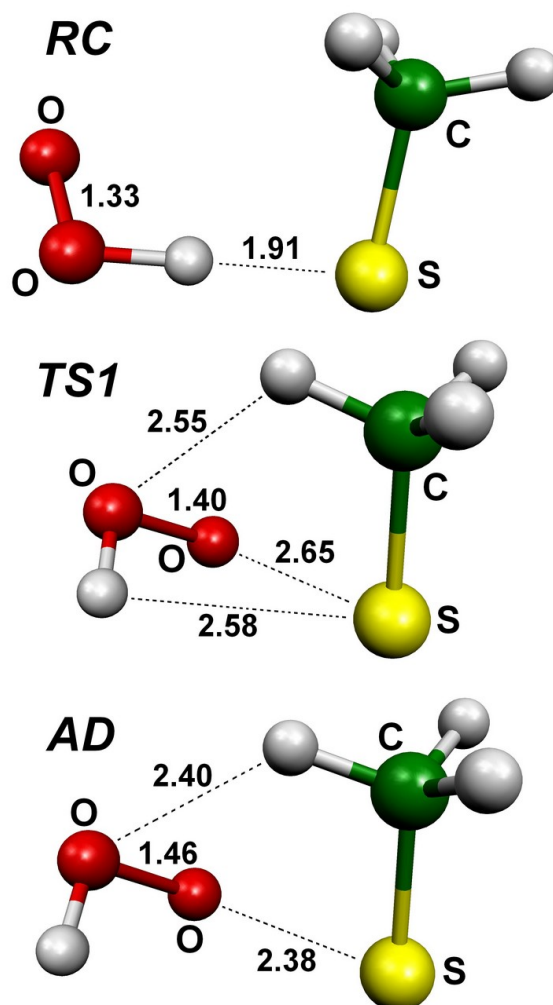


FIG. 5.1 – Oxydation du méthanethiol par $\text{O}_2^{\bullet-}$: images du complexe de réactifs *RC*, de l'état de transition *TS1* et de l'adduit *AD* (qui présente une liaison à trois électrons). Les distances interatomiques sont données en Å. Les géométries ont été optimisées *in vacuo* avec la méthode IMOMO(QCISD/6-311+G(d,p) + UMP2/6-311+G(d,p).

excité dont la surface d'énergie potentielle ne recoupe pas celle de l'état fondamental. Par contre, un couplage adiabatique de deux surfaces d'énergie potentielle pourrait avoir lieu en solution aqueuse, où une nouvelle coordonnée (la réorganisation du solvant) peut participer à l'évolution du système vers *FP4*. Ce point reste cependant assez anecdotique dans la mesure où *FP4* n'est pas un produit de réaction stable, même en solution aqueuse (cf. Tableau 5.1).

La seule évolution intéressante de *RC* reste celle qui mène à la formation d'un adduit de

type S-O. L'état de transition correspondant ($TS1$), localisé en scannant la surface d'énergie potentielle en fonction de la distance d_{S-O} et réoptimisé avec la méthode IMOMO, est présenté Figure 5.1. Un calcul de type IRC (Fig. 5.2) effectué en direction des réactifs aboutit à une structure de type $CH_3S^- \cdots HO_2^\bullet$ presque identique à RC . Le passage de l'un à l'autre consiste en une simple réorientation relative de CH_3S^- et $HO_2^\bullet$, pratiquement sans barrière d'énergie. D'autre part, le calcul IRC en direction des produits mène à un

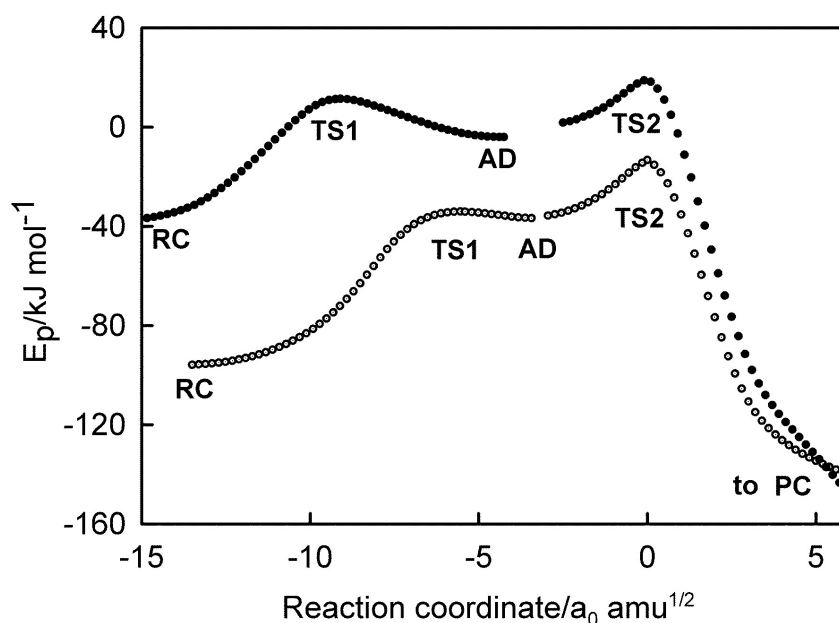


FIG. 5.2 – Oxydation du méthanethiol par $O_2^{\bullet-}$ (*chemin b*) : trajectoires de réaction calculées *in vacuo* (cercles clairs) et en solution aqueuse (cercles noirs) au niveau UB3LYP/6-311+G(d,p). Chaque trajectoire a été obtenue en joignant les courbes IRC respectives des états de transition $TS1$ et $TS2$.

adduit que nous noterons AD , dont la structure réoptimisée avec la méthode IMOMO est présentée Fig. 5.1. L'analyse NPA indique que l'électron non apparié est partagé entre les atomes S et O_S , alors que la somme des charges sur ces deux atomes est de -0,77 e. L'adduit AD présente donc une liaison S-O à trois électrons. AD est également stabilisé par deux liaisons hydrogène entre H_O et S, et entre O_H et H_C , respectivement (Fig. 5.1).

La transition entre RC et AD affecte aussi la distance d_{O-O} : elle passe de 1,31 Å (distance pour $HO_2^\bullet$ optimisé) à 1,45 Å, qui correspond à la longueur de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène. Par conséquent, la barrière d'énergie pour casser cette liaison a beaucoup baissé et l'état de transition correspondant à cette séparation ($TS2$, voir Fig. 5.3) devient accessible. Les calculs IRC (Fig. 5.2) montrent que $TS2$ est directement relié

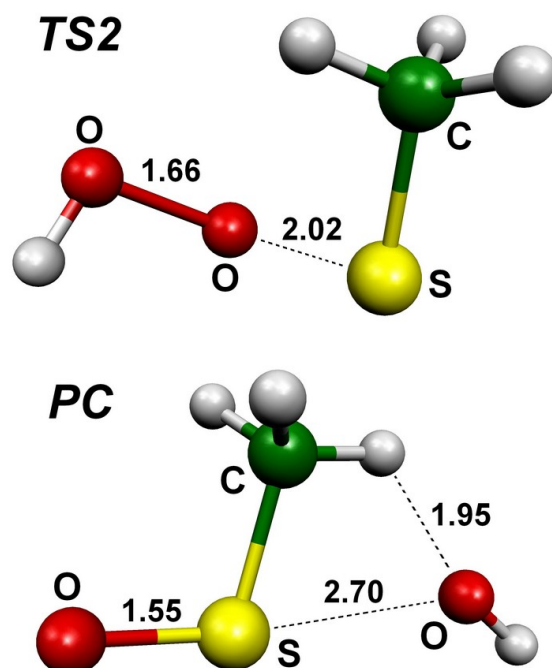


FIG. 5.3 – Oxydation du méthanethiol par $O_2^{\bullet-}$: images de l'état de transition *TS2* et du complexe de produits *PC*. Les distances interatomiques sont données en Å. Les géométries ont été optimisées *in vacuo* avec la méthode IMOMO(QCISD/6-311+G(d,p) + UMP2/6-311+G(d,p).

à *AD* dans une direction, et à un complexe stabilisé par liaison hydrogène (*PC*) dans l'autre direction. D'après les analyses NPA, la charge négative du complexe est située sur O_H (-0,98 e) et l'électron non apparié est partagé entre les atomes S et O_S . *PC* (Fig. 5.3) peut donc être présenté sous la forme $CH_3SO^{\bullet} \cdots HO^-$: c'est un précurseur des produits *FP1*.

Un transfert d'électron pourrait mener à un précurseur des produits *FP2* ($CH_3SO^- + HO^{\bullet}$), mais ce chemin de réaction alternatif n'est pas des plus intéressants dans la mesure où *FP2* est significativement moins stable que le couple de produits $CH_3SO^{\bullet} + HO^-$.

Les structures optimisées avec la méthode IMOMO ont ensuite été utilisées pour calculer les énergies corrigées de point-zéro, les enthalpies et les énergies libres de Gibbs des états stationnaires de la trajectoire de réaction. Les valeurs relatives de ces paramètres (calculées en prenant *FR* comme référence) sont données dans le Tableau 5.2.

En phase gazeuse, les énergies corrigées de point-zéro et les enthalpies des états *TS1*,

	$\Delta E_{0,g}$	ΔH_g	ΔG_g	ΔG_{aq}
<i>RC</i>	-99,7	-98,7	-72,6	-2,2
<i>TS1</i>	-12,7	-13,4	22,1	75,3
<i>AD</i>	-15,9	-15,7	19,1	67,1
<i>TS2</i>	-10,1	-10,5	25,4	69,7
<i>PC</i>	-221,0	-221,4	-184,4	-147,6

TAB. 5.2 – Oxydation du méthanethiol par $\text{O}_2^{\bullet-}$: énergie corrigée de point-zéro $\Delta E_{0,g}$, enthalpie ΔH_g et énergie libre de Gibbs ΔG_g relatives en phase gazeuse ; énergie libre de Gibbs relative en solution aqueuse ΔG_{aq} . L'état de référence est *FR*, toutes les valeurs sont données en kJ.mol^{-1} et ont été calculées au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd)//IMOMO.

AD et *TS2* sont légèrement inférieures à celles de *FR*. Cependant, les énergies libres de Gibbs de ces trois états sont toutes positives, car les contributions de l'entropie de translation sont plus petites que pour *FR*. La valeur maximale de ΔG_g est atteinte pour l'état *TS2*.

En solution aqueuse, la barrière d'énergie de réaction augmente significativement, car *FR* est plus soluble que les complexes *RC*, *TS1*, *AD*, *TS2* et *PC*. Les valeurs de ΔG_{aq} des états *TS1*, *AD* et *TS2* sont très voisines, mais la valeur maximale est atteinte pour *TS1* ($78,7 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Selon la TST classique, il s'agit de la barrière de réaction théorique en solution aqueuse. Étant donné le fort effet de la solvation sur les énergies libres de Gibbs, le choix de la méthode de calcul de la solvation doit avoir un impact important sur le résultat final. Heureusement, la barrière d'énergie de réaction dépend de l'énergie de solvation *relative*, qui est un paramètre beaucoup plus stable que l'énergie de solvation absolue. Une comparaison entre les énergies de solvation relatives calculées avec deux méthodes différentes (IPCM et PCM) a montré des différences pouvant aller jusqu'à 10 kJ.mol^{-1} . Comme le modèle IPCM semble plus adapté aux configurations impliquant des distributions électroniques spéciales (états de transition, liaisons à trois électrons), il a été préféré dans l'ensemble de ce travail.

La localisation exacte du point de plus haute énergie le long du chemin de réaction nécessite l'application de la théorie de l'état de transition variationnelle,^[97] car la surface d'énergie potentielle est assez plate entre *TS1* et *TS2*. Dans la formulation canonique de cette théorie (CVT), l'état de transition effectif correspond au point du chemin de

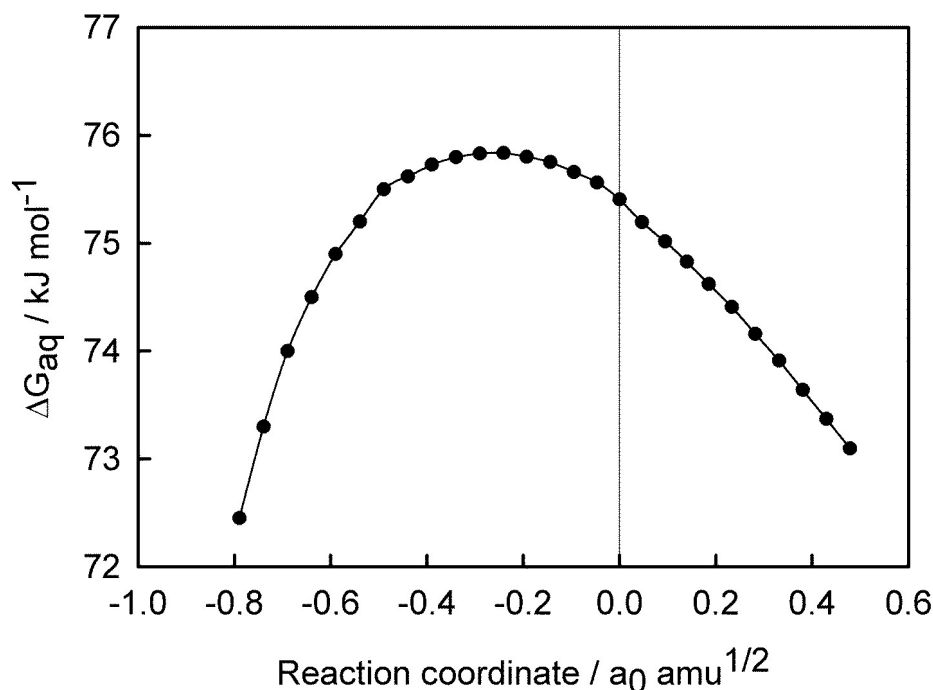


FIG. 5.4 – Oxydation du méthanethiol par $\text{HO}_2^\bullet$: courbe d'énergie libre de Gibbs en solution aqueuse au voisinage de l'état de transition $TS1$. La courbe du MEP a été déterminée avec la méthode IMOMO, et l'énergie libre de Gibbs a été évaluée pour chaque point du MEP au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd)//IMOMO où IMOMO signifie QCISD/6-311+G(d,p) + UMP2/6-311+G(d,p). L'énergie de solvation a été évaluée avec le modèle IPCM.

plus basse énergie (MEP) ayant l'énergie libre de Gibbs maximale. Dans ce travail, nous avons déterminé le MEP autour de $TS1$ et $TS2$ en effectuant des calculs IRC avec un pas de $0,05 a_0 \text{ amu}^{1/2}$ avec la méthode IMOMO (QCISD + UMP2). L'énergie de Gibbs en solution aqueuse a ensuite été évaluée pour chaque point du MEP. Pour $TS1$ comme pour $TS2$, les corrections apportées par la CVT entraînent un déplacement léger de l'état de transition, mais les changements apportés aux barrières d'énergie ne dépassent pas $0,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (Figures 5.4 et 5.5).

L'étape limitante au long du chemin de réaction est finalement le franchissement de $TS1$. Comme l'énergie libre de Gibbs du complexe RC est négative, sa formation est limitée par la diffusion des réactifs et la barrière d'énergie de réaction effective correspond à l'énergie libre de Gibbs de l'état $TS1$.

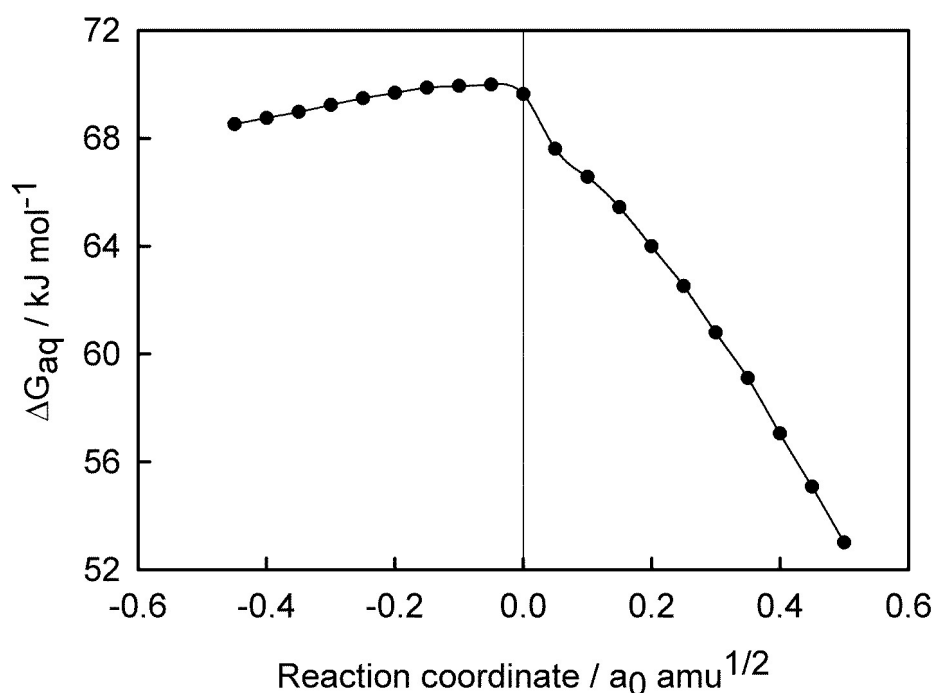


FIG. 5.5 – Oxydation du méthanethiol par $\text{HO}_2^\bullet$: courbe d'énergie libre de Gibbs en solution aqueuse au voisinage de l'état de transition $TS2$. La courbe du MEP a été déterminée avec la méthode IMOMO, et l'énergie libre de Gibbs a été évaluée pour chaque point du MEP au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd)//IMOMO où IMOMO signifie QCISD/6-311+G(d,p) + UMP2/6-311+G(d,p). L'énergie de solvation a été évaluée avec le modèle IPCM.

Les corrections d'effet tunnel n'ont besoin d'être considérées que pour la transition $RC \rightarrow AD$, dans la mesure où la transition $AD \rightarrow PC$ n'est limitée que par la diffusion (barrière de seulement 2 kJ.mol^{-1}). Le coefficient d'effet tunnel a été évalué à 1,13 avec la méthode de la parabole tronquée décrite au paragraphe § 2.4.3. Un calcul précis de cette correction en milieu aqueux n'est pas possible, car nous ne pouvons pas isoler la contribution de l'énergie corrigée de point-zéro à l'énergie libre de Gibbs de solvation. En supposant que toute la différence entre les énergies libres de Gibbs de solvation de AD et RC provient de l'énergie corrigée de point-zéro, la barrière d'énergie corrigée de point-zéro ne baisserait que de 87 à environ 70 kJ.mol^{-1} , ce qui n'aurait qu'un effet très limité sur le coefficient d'effet tunnel.

Interaction entre le méthanethiol et $HO_2^\bullet$

A pH physiologique, la concentration en radical perhydroxyle $HO_2^\bullet$ est 400 fois plus faible que celle de $O_2^{\bullet-}$. Cependant, cette forme alternative pourrait jouer un rôle non négligeable dans l'oxydation des thiols si un chemin de réaction spécifique existait, avec une barrière d'énergie suffisamment basse. Un scan de la surface d'énergie potentielle suivant la distance d_{O-H_S} (Fig. 5.6) révèle la présence d'un état de transition $TS1'$ reliant un complexe de réactifs RC' stabilisé par liaison hydrogène, à un complexe de produits $PC1'$ (Fig. 5.7). La distance O-O dans $PC1'$ est presque la même que la longueur caractéris-

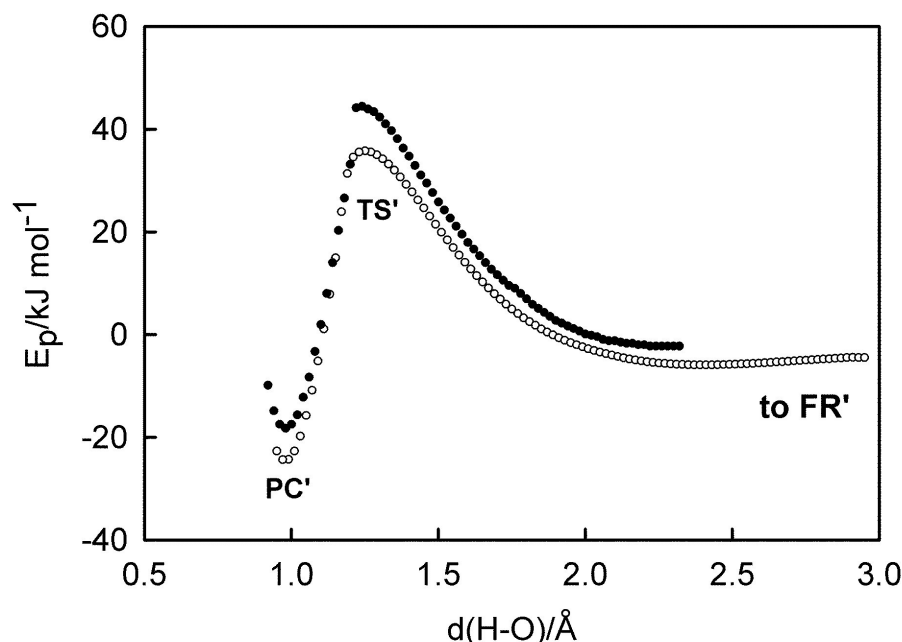


FIG. 5.6 – Oxydation du méthanethiol par $HO_2^\bullet$: trajectoires de réaction du *chemin a* en phase gazeuse (cercles blancs) et en phase aqueuse (cercles noirs). Les courbes ont été calculées au niveau UB3LYP/6-311+G(d,p) en scannant la surface d'énergie potentielle en fonction de la distance d_{O-H_S} .

tique au sein du peroxyde d'hydrogène, et l'analyse NPA indique que le spin non apparié est clairement localisé sur l'atome de soufre. $PC1'$ est donc le précurseur du couple de produits $CH_3S^\bullet + H_2O_2$ ($FP1'$). La transformation chimique liée à l'état de transition $TS1'$ est une abstraction directe de l'atome H_S de CH_3SH à $HO_2^\bullet$ (*chemin a* avec les notations précédentes). Les structures des états intermédiaires RC' , $TS1'$ et $PC1'$ réoptimisées avec la méthode IMOMO sont présentées Fig. 5.7. Les paramètres thermodynamiques des

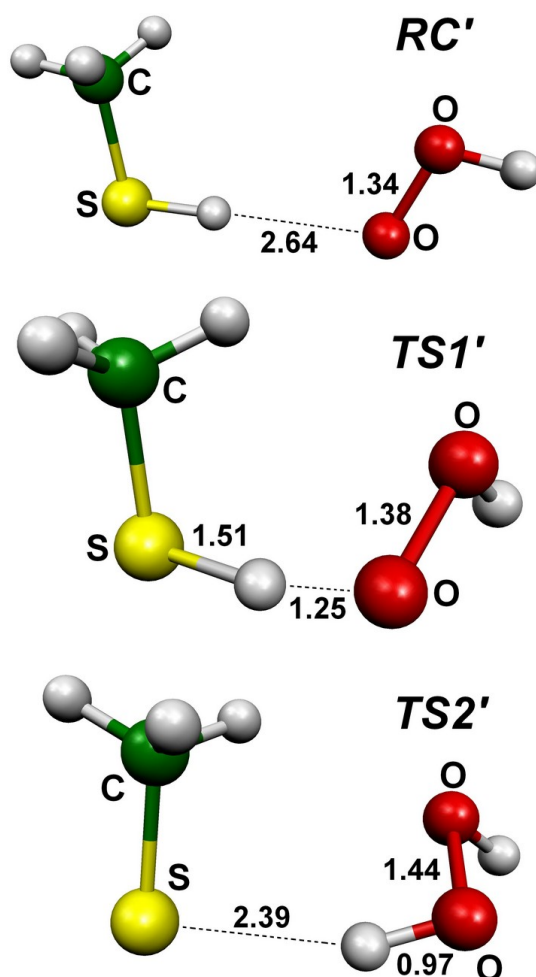


FIG. 5.7 – Oxydation du méthanethiol par $\text{HO}_2^\bullet$: images du complexe de réactifs RC' , de l'état de transition $TS1'$ et du complexe de produits $PC1'$. Les distances interatomiques sont données en Å. Les géométries ont été optimisées *in vacuo* avec la méthode IMOMO(QCISD/6-311+G(d,p) + UMP2/6-311+G(d,p).

réactifs libres FR' , des produits libres $FP1'$, et des états intermédiaires sont donnés dans le Tableau 5.3.

Selon ces données, l'énergie libre de Gibbs de $FP1'$ en solution aqueuse est légèrement inférieure à celle de FR' . D'autre part, l'énergie libre de Gibbs relative de $TS1'$, qui représente la barrière d'énergie de la réaction, est égale à $89,9 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Pour comparer cette valeur à celle trouvée pour le *chemin b*, nous devons encore ajouter 49 kJ.mol^{-1} qui correspondent à la différence d'énergie libre de Gibbs entre FR et FR' (cette différence a été calculée en utilisant la valeur expérimentale du pKa du couple $\text{HO}_2^\bullet / \text{O}_2^{\bullet-}$ ^[96]). La

	$\Delta E_{0,g}$	ΔH_g	ΔG_g	ΔG_{aq}
FR'	0,0	0,0	0,0	0,0
RC'	-7,2	-3,2	25,3	38,5
$TS1'$	47,1	42,3	87,2	89,9
$PC1'$	-23,0	-22,6	10,0	12,1
$FP1'$	-6,7	-7,3	-5,4	-11,3
$TS2'$	108,6	105,0	151,3	111,6
$PC2'$	-294,7	-292,0	-265,6	-274,9
$FP2'$	-263,2	-262,1	-257,4	-278,7

TAB. 5.3 – Oxydation du méthanethiol par $\text{HO}_2^\bullet$: les notations sont identiques à celles du Tableau 5.2. L'état de référence est FR' , toutes les valeurs sont données en kJ.mol^{-1} et ont été calculées au niveau QCISD(T)/6-311+G(2df,2pd)//IMOMO.

barrière d'énergie qui en résulte est donc beaucoup plus élevée que celle trouvée pour l'oxydation du méthanethiol par $\text{O}_2^{\bullet-}$. L'abstraction directe de l'atome d'hydrogène par le radical perhydroxyle reste par conséquent un chemin de réaction très minoritaire.

Pour ce couple de réactifs, un autre chemin de réaction est possible, basé sur une interaction entre S et O_O , qui induirait finalement la coupure de la liaison O-O. Un nouveau scan nous a permis de localiser un état de transition correspondant à cette réaction ($TS2'$). Sa structure réoptimisée avec la méthode IMOMO est donnée Fig. 5.8. Le calcul IRC en direction des réactifs aboutit au complexe $\text{CH}_3\text{SH} + \text{HO}_2^\bullet$ (RC'), tandis qu'en direction des produits, le calcul mène à un produit intermédiaire IP (Fig. 5.8). Une analyse de la densité de spin montre qu' IP est un complexe entre le radical hydroxyle $\text{HO}^\bullet$ et l'hydrogène-méthyl-sulfoxyde CH_3SHO , qui est une structure moléculaire assez instable. Cet intermédiaire évolue (après avoir franchi une barrière d'énergie négligeable) en un complexe de produits plus stable $PC2'$ qui s'avère être composé d'une molécule d'eau et du radical sulfinyl $\text{CH}_3\text{SO}^\bullet$. Cette réaction alternative constitue donc un chemin de réaction équivalent au *chemin b* évoqué plus haut. Cependant, la barrière d'énergie effective correspondante atteint $160,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (Tableau 5.3), rendant presque impossible la formation du radical sulfinyl par ce chemin de réaction.

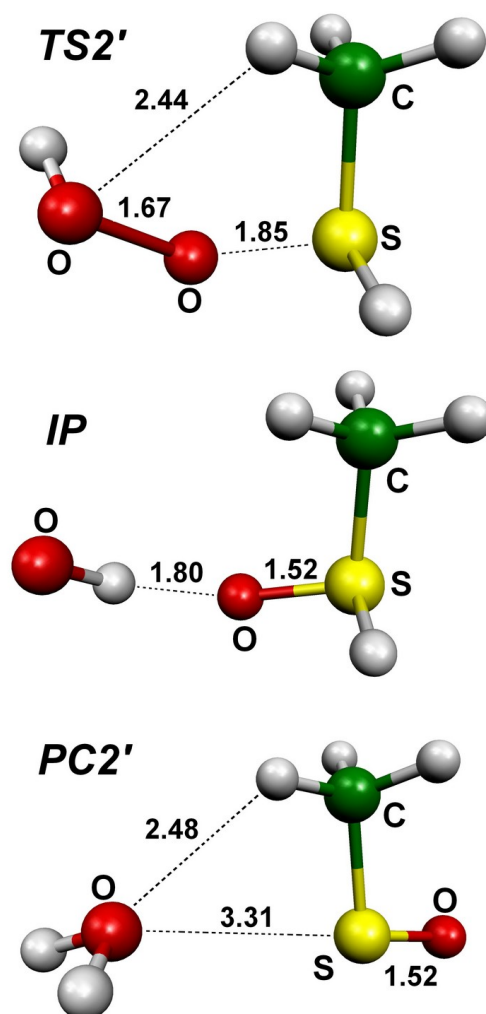


FIG. 5.8 – Oxydation du méthanethiol par $\text{HO}_2^\bullet$: images de l'état de transition $TS2'$, de l'état intermédiaire IP et du complexe de produits $PC2'$. Les distances interatomiques sont données en Å. Les géométries ont été optimisées *in vacuo* avec la méthode IMOMO(QCISD/6-311+G(d,p) + UMP2/6-311+G(d,p)).

Analyse et Discussion

Notre étude prédit que la formation du radical sulfinyl est la première étape de l'oxydation de thiols par le radical superoxyde. Le mécanisme implique la formation d'un adduit qui présente une liaison à trois électrons, suivie de l'élimination d'un anion hydroxyde (*chemin b*). Il est intéressant de constater qu'un mécanisme similaire (impliquant deux états de transition reliés par un adduit présentant une liaison à trois électrons) a aussi été identifié pour l'oxydation du monoxyde de carbone CO par le radical perhydroxyle, pour former CO_2 et $\text{HO}^\bullet$.^[86] Nous pouvons noter, à propos de l'état AD , qu'il est isoélec-

tronique avec le biologiquement important anion disulfide $[RS_1 \cdot SR_2]^-$.^[98] Cependant, alors que ce dernier est suffisamment stable pour être détecté en radiolyse pulsée, l'adduit *AD* ne l'est pas assez pour cela car la barrière d'énergie pour son évolution vers *PC* n'est que de 2 kJ.mol⁻¹.

Quand on considère le radical superoxyde sous sa forme protonée (perhydroxyle), un transfert d'atome d'hydrogène est possible (*chemin a*), mais la barrière d'énergie correspondante est plus haute d'environ 64 kJ.mol⁻¹ que celle du *chemin b*. Cette différence est clairement au-delà de l'incertitude attendue pour les méthodes de calcul utilisées ici. Ce résultat appuie fortement les études expérimentales qui concluent à une prédominance de la formation du radical sulfinyl, pour l'oxydation des thiols par le radical superoxyde.

La validation du mécanisme de réaction proposé ici nécessite une comparaison attentive avec les données expérimentales. Une première question concerne la pertinence de l'utilisation du méthane-thiol en tant que modèle pour des thiols plus complexes (cystéines, glutathion, dithiothréitol...) pour lesquels des constantes de réaction expérimentales sont disponibles. Ces valeurs couvrent certes une gamme assez large, mais il n'est pas évident de dire si le type de thiol étudié est responsable de cette dispersion. Par exemple, des constantes de vitesse de 35 mol⁻¹dm³s⁻¹ pour le dithiothréitol,^[84] 24 mol⁻¹dm³s⁻¹ pour le glutathion,^[99] et 68 mol⁻¹dm³s⁻¹ pour la N-acétylcystéine^[85] ont été reportées. Dans la mesure où des valeurs telles que 10³ et même 10⁵ mol⁻¹dm³s⁻¹ ont aussi été proposées pour le glutathion,^[81] il semble que la diversité des thiols n'est pas la principale explication de cette dispersion. De plus, dans le cas de l'oxydation de thiols par H₂O₂, les constantes de réactions pour des thiols assez différents (cystéine, cystéamine, glutathion, penicillamine...) sont remarquablement groupées entre 18 et 26 mol⁻¹dm³s⁻¹.^[66] Nous avons également vu lors de l'étude de cette même réaction (Chapitre 4) que le remplacement du groupement méthyle par un modèle plus complexe, celui du résidu cystéine, ne modifiait presque pas la barrière d'énergie de réaction en milieu aqueux. Il est donc raisonnable d'affirmer que la barrière d'énergie que nous avons calculée est pertinente dans le cas de thiols plus complexes également.

La comparaison directe entre notre barrière de réaction théorique (78,7 kJ.mol⁻¹) avec les données expérimentales est impossible car à notre connaissance, aucune barrière d'énergie expérimentale n'a été publiée pour cette réaction. Cependant, nous pouvons obtenir une estimation satisfaisante de la barrière expérimentale en utilisant la valeur expérimentale de la constante de vitesse de réaction et l'équation 2.111 qui relie cette constante à la barrière de réaction. En partant par exemple d'une valeur de la constante de vitesse de 35 mol⁻¹dm³s⁻¹ reportée pour le dithiothréitol,^[84] cette équation donne une

barrière d'énergie d'environ 65 kJ.mol^{-1} (calculée à 298 K), soit 10 kJ.mol^{-1} de moins que notre barrière d'énergie théorique. Bien sûr, une partie de cette différence est due aux difficultés de traitement des anions présentant une liaison à trois électrons.^[92] Pour de tels anions *stables* (F_2^- , Cl_2^- , I_2^- , ClI^- , BrI^-), la méthode CCSD(T) (§ 2.1.5), qui est presque équivalente à QCISD(T), a donné des résultats en très bon accord avec les données expérimentales, la déviation moyenne étant d'environ 4 kJ.mol^{-1} .^[91] Cependant, l'erreur est certainement plus grande pour des anions peu stables présentant une liaison à trois électrons, et les énergies libres de Gibbs de nos états *TS1*, *AD* et *TS2* seront donc affectées.

Les différences d'énergies de solvation pourraient aussi contribuer à l'erreur globale affectant nos résultats.

Mais finalement, l'accord entre notre barrière de réaction et les constantes de vitesse expérimentales comprises entre 10 et $100 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ est satisfaisant. Par contre, des constantes de vitesse expérimentales de l'ordre de $10^5 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ impliqueraient une surestimation de notre barrière d'énergie théorique de 34 kJ.mol^{-1} , ce qui paraît très improbable.

5.4 Conclusions

L'interaction entre le radical superoxyde (sous ses formes anionique et protonée) et le méthane-thiol a été étudiée ici à un haut niveau de théorie *ab initio*. Les calculs des énergies libres de Gibbs indiquent qu'en solution aqueuse, parmi les différents couples de produits possibles, le plus stable est $\text{CH}_3\text{SO}^\bullet + \text{HO}^-$. Une exploration systématique de la surface d'énergie potentielle et des calculs IRC nous ont permis d'identifier le chemin de réaction reliant les réactifs libres au précurseur de ces produits. Le mécanisme de réaction consiste en la formation d'un adduit qui présente une liaison à trois électrons, suivie par l'élimination d'un anion hydroxyde.

Ces résultats suggèrent fortement que la formation du radical sulfinyl est la première étape de l'oxydation des thiols par le radical superoxyde. L'analyse reportée ici pourrait aider à interpréter les données expérimentales liées à l'oxydation des thiols en milieu biologique.

Conclusions

Nous avons réalisé une analyse théorique des mécanismes de trois réactions très importantes dans le métabolisme cellulaire : les oxydations de thiols par le radical hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène et le radical superoxyde. Cette étude présente deux caractéristiques principales :

- elle a été effectuée à un haut niveau de théorie *ab initio*,
- nous avons utilisé deux systèmes modèles : le méthane-thiol et le résidu cystéine.

Les résultats que nous avons obtenus viennent compléter les données expérimentales et contribuent à une description cohérente et détaillée des processus d'oxydation en milieu biologique.

Les réactions traitées sont complexes et délicates, à cause de la participation d'états électroniques peu stables. Cependant, la comparaison entre les paramètres physico-chimiques calculés ici et ceux déterminés expérimentalement (lorsqu'ils existent) montre un accord très satisfaisant. Cela constitue une preuve de l'efficacité des méthodes *ab initio* utilisées, et de leur pouvoir de prédiction.

En ce qui concerne la pertinence de nos résultats pour des processus d'oxydation qui ont effectivement lieu en milieu biologique, tout dépend de l'importance du rôle joué par l'environnement dans tel ou tel cas. Les résultats reportés ici sont tout à fait pertinents pour l'oxydation de thiols libres (glutathion, cystéine) en solution aqueuse. Pour les autres situations (oxydation de résidus cystéine inclus dans la structure de protéines), dans les cas où l'influence de l'environnement moléculaire sur la réaction peut être traitée comme une perturbation, nos résultats peuvent être considérés comme une solution correcte en première approximation. Une solution affinée pourrait être obtenue en incluant l'interaction avec l'environnement par l'intermédiaire d'un champ de force supplémentaire agissant sur le système quantique. Les paramètres de ce champ devraient être choisis avec prudence afin que la description de l'interaction entre le système quantique et l'environnement soit

aussi réaliste que possible (ce n'est pas toujours le cas avec les champs de force couramment utilisés, tels Amber ou Charmm). Si l'interaction avec l'environnement ne peut pas être traitée comme une perturbation, la seule façon possible de prendre en compte cette interaction est d'ajouter les atomes les plus importants de l'environnement (participant à l'interaction) au système quantique.

Dans tous les cas, il semble nécessaire de conserver, pour le traitement du système quantique, un niveau de théorie au moins équivalent à celui utilisé dans ce travail. Dans le cas contraire, les résultats perdront une grande part de leur signification malgré la prise en compte de l'environnement moléculaire.

Bibliographie

- [1] J. DELATTRE, J.L. NEAUDEUX et D. BONNEFOND-ROUSSELOT : *Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques)*. Tec et Doc, Paris, 2005.
 - [2] C. von SONNTAG : *Free radical induced DNA damage and its repair*. Springer, Berlin, 2006.
 - [3] C.D. JONAH et B.S.M. RAO : *Radiation chemistry : present status and future trends*. Elsevier, Amsterdam, 2001.
 - [4] O.I. ARUOMA et B. HALLIWELL : *Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases*. OICA int., London, 1998.
 - [5] C. HOUEE-LEVIN, C. SICARD-ROSELLI et J. BERGÈS : *Chimie et biochimie radicalaires*. Belin, Paris, 2005.
 - [6] K.O. HOLEVINSKY et D.J. NELSON : *J. Biol. Chem.*, 270:8328–8336, 1995.
 - [7] A. FAVIER : *L'actualité chimique*, 269-270:108–115, 2003.
 - [8] D.A. DICKINSON et H.J. FORMAN : *Biochem. Pharmacol.*, 64:1019–1026, 2002.
 - [9] The alpha tocopherol betacarotene cancer prevention GROUP : *New Engl. J. Med.*, 330:1029, 1994.
 - [10] R.S. SOHAL, R.J. MOCKETT et W.C. ORR : *Free Rad. Biol. Med.*, 33(5):575, 2002.
 - [11] L. MONTAGNIER, R. OLIVIER et C. PASQUIER : *Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases*. Marcel Dekker, New York, 1998.
 - [12] H.Y. HUANG, L.J. APPEL, K.D. CROFT, E.R. MILLER III, T.A. MORI et I.B. PUDDEY : *Am. J. Clin. Nutr.*, 76:549–555, 2002.
 - [13] S.P. MEZYK et D.A. ARMSTRONG : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, pages 1411–1419, 1999.
 - [14] B. HALLIWELL et J.M.C. GUTTERIDGE : *Free radicals in biology and medicine (3rd edition)*. Oxford University Press, 1999.
-

-
- [15] G.M. LACOURCIERE et T.C. STADTMAN : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:44–48, 1999.
- [16] M. JONSSON et H.B. KRAATZ : *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 2:2673–2676, 1997.
- [17] G.V. BAXTON, C.L. GREENSTOCK, W.P. HELMAN et A.B. ROSS : *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 17:513–886, 1988.
- [18] J.A. BADWEY et M.L. KARNOVSKY : *J. Biol. Chem.*, 254:11530–11537, 1979.
- [19] J.F. TURRENS et A. BOVERIS : *Biochem. J.*, 191:421–427, 1980.
- [20] M. GARDÈS-ALBERT, D. BONNEFONT-ROUSSELOT, Z. ABEDINZADEH et D. JORE : *L'actualité chimique*, 269-270:91–96, 2003.
- [21] J.B. FORESMAN et A. FRISCH : *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods (2nd edition)*. Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, 1996.
- [22] I.N. LEVINE : *Quantum Chemistry (5th edition)*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 2000.
- [23] M. BORN et J.R. OPPENHEIMER : *Ann. Physik*, 874:457, 1927.
- [24] C.C.J. ROOTHAAN : *Ev. Mod. Phys.*, 23:69–89, 1951.
- [25] G.G. HALL : *Proc. Roy. Soc. A (London)*, 205:541, 1951.
- [26] P. HOHENBERG et W. KOHN : *Phys. Rev.*, 136:B864–B871, 1964.
- [27] C. MOLLER et M.S. PLESSET : *Phys. Rev.*, 46:618–622, 1934.
- [28] P.J. KNOWLES, K. SOMASUNDARAM, N.C. HANDY et K. HIRAO : *Chem. Phys. Lett.*, 113:8, 1985.
- [29] W.D. LAIDIG, G. FITZGERALD et R.J. BARTLETT : *Chem. Phys. Lett.*, 113:151, 1985.
- [30] M.W. WONG et L. RADOM : *J. Phys. Chem.*, 99:8582, 1995.
- [31] J.A. POPLE, M. HEAD-GORDON et K. RAGHAVACHARI : *J. Chem. Phys.*, 87:5968, 1987.
- [32] G.D. PURVIS-III, et R.J. BARTLETT : *J. Chem. Phys.*, 76:1910, 1982.
- [33] S. HUMBEL, S. SIEBER et K. MOROKUMA : *J. Chem. Phys.*, 105:1959, 1996.
- [34] M. SVENSSON, S. HUMBEL et K. MOROKUMA : *J. Chem. Phys.*, 105:3654–3661, 1996.
- [35] S.F. BOYS : *Proc. Roy. Soc. A (London)*, 200:542, 1950.
-

-
- [36] M. J. FRISCH, G. W. TRUCKS, H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. CHEESEMAN, J. A. MONTGOMERY JR, T. VREVEN, K. N. KUDIN, J. C. BURANT, J. M. MILLAM, S. S. IYENGAR, J. TOMASI, V. BARONE, B. MENNUCCI, M. COSSI, G. SCALMANI, N. REGA, G. A. PETERSSON, H. NAKATSUJI, M. HADA, M. EHARA, K. TOYOTA, R. FUKUDA, J. HASEGAWA, M. ISHIDA, T. NAKAJIMA, Y. HONDA, O. KITAO, H. NAKAI, M. KLENE, X. LI, J. E. KNOX, H. P. HRATCHIAN, J. B. CROSS, V. BAKKEN, C. ADAMO, J. JARAMILLO, R. GOMPERTS, R. E. STRATMANN, O. YAZYEV, A. J. AUSTIN, R. CAMMI, C. POMELLI, J. W. OCHTERSKI, P. Y. AYALA, K. MOROKUMA, G. A. VOTH, P. SALVADOR, J. J. DANNENBERG, V. G. ZAKRZEWSKI, S. DAPPRICH, A. D. DANIELS, M. C. STRAIN, O. FARKAS, D. K. MALICK, A. D. RABUCK, K. RAGHAVACHARI, J. B. FORESMAN, J. V. ORTIZ, Q. CUI, A. G. BABOUL, S. CLIFFORD, J. CIOSLOWSKI, B. B. STEFANOV, G. LIU, A. LIASHENKO, P. PISKORZ, I. KOMAROMI, R. L. MARTIN, D. J. FOX, T. KEITH, M. A. AL-LAHAM, C. Y. PENG, A. NANAYAKKARA, M. CHALLACOMBE, P. M. W. GILL, B. JOHNSON, W. CHEN, M. W. WONG, C. GONZALEZ et J. A. POPLE : Gaussian 03, Revision C.02. Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004.
- [37] D.W. SCHWENKE et D.G. TRUHLAR : *J. Chem. Phys.*, 82:2418–2426, 1985.
- [38] T.H. DUNNING, Jr : *J. Phys. Chem. A*, 104:9062–9080, 2000.
- [39] S.F. BOYS et F. BERNARDI : *Mol. Phys.*, 19:553–557, 1970.
- [40] P.W. ATKINS : *Chimie Physique (6ème édition)*. De Boeck Université, Bruxelles, 1999.
- [41] M. COSSI, G. SCALMANI, N. REGA et V. BARONE : *J. Chem. Phys.*, 117:43–54, 2002.
- [42] J.B. FORESMAN, T.A. KEITH, K.B. WILBERG, J. SNOONIAN et M.J. FRISCH : *J. Phys. Chem*, 100:16098–16104, 1996.
- [43] P.Y. AYALA et H.B. SCHLEGEL : *J. Chem. Phys.*, 108:2314–2325, 1997.
- [44] K.S. PITZER et W.D. GWINN : *J. Chem. Phys.*, 10:428, 1942.
- [45] S. GLASSTONE, K.J. LAIDLER et H. EYRING : *Theory of rate processes*. MacGraw-Hill, New York, 1941.
- [46] J.T. FERMAN et S. AUERBACH : *J. Chem. Phys.*, 112:6787–6794, 2000.
- [47] B. PETERS et A.T. BELL : *J. Chem. Phys.*, 121:4461–4466, 2004.
- [48] C. GONZALEZ et H.B. SCHLEGEL : *J. Phys. Chem*, 94:5523–5527, 1990.
- [49] M. ENESCU et B. CARDEY : *ChemPhysChem*, 7:912–919, 2006.
-

-
- [50] S.P. MEZYK : *Radiat. Res.*, 145:102–106, 1996.
- [51] M. LIPHARD, E. BOTHE et D. SCHULTE-FROHLINDE : *J. Radiat. Biol.*, 58:589–602, 1990.
- [52] V. MISIK, I.T. MAK, R.E. STAFFORD et W.B. WEGLIICKI : *Free Radical Biol. Med.*, 15:611–619, 1993.
- [53] P.H. WINE, R.J. THOMPSON et D.H. SEMMES : *Int. J. Chem. Kinet.*, 16:1623–1636, 1984.
- [54] N.I. BUTKOVSKAYA et D.W. SETSER : *J. Phys. Chem. A*, 103:6921–6929, 1999.
- [55] C. WILSON et D.M. HIRST : *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 91:3783–3785, 1995.
- [56] R. BENASSI : *Theor. Chem. Acc*, 112:95–105, 2004.
- [57] P.L. MUINO : *J. Comput. Chem.*, 26:618–622, 2005.
- [58] M.L. MACKEE : *J. Phys. Chem.*, 97:10971–10976, 1993.
- [59] A.E. REED, L.A. CURTISS et F. WEINHOLD : *Chem. Rev.*, 88:899–926, 1988.
- [60] B.H. BESLER, K.M. MERZ et P.A. KOLLMAN : *J. Comput. Chem.*, 11:431–439, 1990.
- [61] B. CARDEY et M. ENESCU : *ChemPhysChem*, 6:1175–1180, 2005.
- [62] B. CARDEY et M. ENESCU : *J. Phys. Chem. A*, 111:673–678, 2007.
- [63] S.R. LEE, K.S. YANG, J. KWON, C. LEE, W. JEONG et S.G. RHEE : *J. Biol. Chem.*, 277:20336–20342, 2002.
- [64] R.D. BACH, M.D. SU et H.B. SCHLEGEL : *J. Am. Chem. Soc.*, 116:5379–5391, 1994.
- [65] R. RADI, J.S. BECKMAN, K.M. BUSH et B.A. FREEMAN : *J. Biol. Chem.*, 266:4244–4250, 1991.
- [66] C. WINTERBOURN et D. METODIEWA : *Free Radical Biol. Med.*, 27:322–328, 1999.
- [67] T. KORTEEMME et T.E. CREIGHTON : *J. Mol. Biol.*, 253:799–812, 1995.
- [68] F. URSINI, M. MAIORINO, R. BRIGELIUS-FLOHÉ, K.D. AUMANN, A. ROVERI, D. SCHOMBURG et L. FLOHÉ : *Methods in Enzymology*. Lester Packer, Academic Press, San Diego, 1995.
- [69] G. TAKEBE, J. YARIMIZU, Y. SAITO, T. HAYASHI, H. NAKAMURA, J. YODOI, S. NAGASAWA et K. TAKAHASHI : *J. Biol. Chem.*, 277:41254–41258, 2002.
- [70] M. MAIORINO, C. GREGOLIN et F. URSINI : *Methods in Enzymology*. Lester Packer, Academic Press, San Diego, 1990.
- [71] W. CHEN et H.B. SCHLEGEL : *J. Chem. Phys.*, 101:5957–5968, 1994.
- [72] H.B. SCHLEGEL : *J. Chem. Phys.*, 84:4530–4534, 1986.
-

-
- [73] Z. BENKOVA, J. KONA, G. GANN et W.M.F. FABIAN : *Int. J. Quantum. Chem.*, 90:555–565, 2002.
- [74] M.R.A. BLOMBERG et P.E.M. SIEGBAHN : *J. Phys. Chem. B*, 105:9375–9386, 2001.
- [75] D. LUO, S.W. SMITH et B.D. ANDERSON : *J. Pharm. Sci.*, 94:304–316, 2005.
- [76] J.W. CHU et B.L. TROUT : *J. Am. Chem. Soc.*, 126:900–908, 2004.
- [77] J.R. PLIEGO JR et J.M. RIVEROS : *J. Phys. Chem. A*, 105:7241–7247, 2001.
- [78] O. EPP, R. LADENSTEIN et A. WENDEL : *Eur. J. Biochem.*, 133:51–69, 1983.
- [79] G. MUGESH et W.W. DUMONT : *Chem. Eur. J.*, 7:1365–1370, 2001.
- [80] E. CADENAS et K. DAVIES : *J. Free Rad. Biol. and Med.*, 29:222–230, 2000.
- [81] S. DIKALOV, V. KHRAMTSOV et G. ZIMMER : *Arch. Biochem. Biophys.*, 326:207–218, 1995.
- [82] C.M. JONES, A. LAWRENCE, P. WARTMAN et M.J. BURKITT : *Biochem. Soc. Trans.*, 31:1337–1339, 2003.
- [83] G. FEROCI et A. FINI : *Inorg. Chim. Acta*, 360:1023–1031, 2007.
- [84] N. ZHANG, H.P. SCHUCHMANN et C. von SONNTAG : *J. Phys. Chem.*, 95:4718–4722, 1991.
- [85] M. BENRAHMOUNE, P. THÉRON et Z. ABEDINZADEH : *Free Rad. Biol. Med.*, 29:775–782, 2000.
- [86] T.L. ALLEN, W.H. FINK et D.H. VOLMAN : *J. Phys. Chem.*, 100:5299–5302, 1996.
- [87] A. RAUK, D.A. ARMSTRONG et D.P. FAIRLIE : *J. Am. Chem. Soc.*, 122:9761–9767, 2000.
- [88] C. SCHÖNEICH, D. POGOICKI, P. WISNIEWSKI, G.L. HUG et P. HIBERTY : *J. Am. Chem. Soc.*, 122:10224–10225, 2000.
- [89] H. MOHAN et J.P. MITTAL : *J. Phys. Chem. A*, 106:6574–6580, 2002.
- [90] S. HUMBEL, I. COTE, N. HOFFMAN et J. BOUQUANT : *J. Am. Chem. Soc.*, 121:5507–5512, 1999.
- [91] H. CHERMETTE : *J. Chem. Phys.*, 115:11068–11078, 2001.
- [92] B. BRAÏDA, L. THOGERSEN, W. WU et P. HIBERTY : *J. Am. Chem. Soc.*, 124:11781–11790, 2002.
- [93] D. MAITY : *J. Am. Chem. Soc.*, 124:8321–8328, 2002.
- [94] A.D. BECKE : *J. Chem. Phys.*, 98:5648–5642, 1993.
- [95] A.E. REED, R.B. WEINSTOCK et F. WEINHOLD : *J. Chem. Phys.*, 83:735–746, 1985.
-

- [96] B.H.J. BIELISKI, D.E. CABELLI, R.L. ARUDI et A.B. ROSS : *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 14:1041–1100, 1985.
 - [97] D.G. TRUHLAR et B.C. GARETT : *Acc. Chem. Res.*, 13:440–448, 1980.
 - [98] S.P. MEZYK : *Chem. Phys. Lett.*, 335:89–93, 1995.
 - [99] C. WINTERBOURN et D. METODIEWA : *Arch. Biochem. Biophys.*, 314:284–290, 1994.
-