

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENNE

FACULTE DE CHIMIE



THESE

Présentée pour l'obtention du grade de DOCTEUR

EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Physique et Théorique

Par : SORAYA ABTOUCHE

Sujet

**ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE D'UNE SERIE DE
MOLECULES AYANT UN EFFET TOXIQUE SUR
L'ENVIRONNEMENT : EFFET DE SOLVANT
STRUCTURE-ACTIVITE**

Soutenue publiquement le 21 Novembre 2012, devant le jury composé de :

M ^f . B.Y.MEKLATI	Professeur à l'USTHB	Président
M ^f . M. BRAHIMI	Professeur à l'USTHB	Directeur de thèse
M ^f . X. ASSFELD	Professeur à l'UHP -Nancy1	Co-Directeur de thèse
M ^f . A. MONARI	Maitre de conférence /A à l'UHP- Nancy1	Examineur
M ^f . S.M. MEKELLECHE	Professeur à l'Université de Tlemcen	Examineur
M ^f . M. NAIT ACHOUR	Professeur à l'USTHB	Examineur

MERCI !

Voilà. . . Arrive le moment le plus délicat d'une thèse. . . Les remerciements ! (J'espère n'oublier personne mais si c'est le cas, d'avance mille excuses).

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail de thèse. Je tiens toutefois à adresser quelques remerciements particuliers aux personnes qui seront citées, et qui m'ont très certainement apporté autant sur le plan technique que sur le plan humain.

Ce travail, relevant du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimiques (C.R.A.P.C.) a été effectué pour la plus grande partie au Laboratoire de Chimie et Biochimie Théorique (CBT) de Nancy.

Mes premiers mots seront pour mes deux directeurs de thèse, je tire un coup de chapeau aux professeurs **Meziane Brahimi** et **Xavier Assfeld**, qui m'ont encadré pendant ces années et m'ont donné un défi à relever en me proposant ce sujet très passionnant, qui se situe à la pointe de la recherche scientifique, et grâce auquel j'ai exploité de nombreux aspects de la chimie théorique. Ils ont su m'apporter, par leur relative disponibilité malgré leurs nombreuses responsabilités, leurs différences, et leurs qualités techniques et humaines, tous les ingrédients nécessaires à la réalisation d'un travail de thèse dans des conditions excellentes. Tous deux ont accepté de bon cœur cette tâche, Je leur suis vraiment reconnaissante pour leur soutien, la confiance et l'autonomie qu'ils m'ont accordés et m'avoir guidé, aidé et soutenu dans tous mes travaux de recherche mais aussi dans les différents aléas du quotidien. J'ai bénéficié d'une grande liberté dans mon travail et ils m'ont offert une ouverture vers d'autres domaines que la modélisation.

J'exprime mes vifs remerciements aux membres du Jury pour avoir accepté de juger ce travail. Je remercie le **Professeur Y.B. Meklati** et Directeur du CRAPC d'avoir accepté d'être président de mon jury autant que Professeur et de m'avoir facilité les procédures

administratives pour toutes les bourses dont j'ai bénéficié (bourse ordinaire ou PNE) autant que Directeur de CRAPC.

Je remercie M. **Antonio Monari**, pour avoir accepté de juger ce travail et l'aide précieuse qu'il m'a fournie à mes débuts dans la QM/MM et pour ses avis toujours éclairés, ainsi que pour son attitude très confiante envers moi.

Merci infiniment aux Professeurs **Nait Achour** et **S. M. Mekelleche**, qui ont également accepté de faire partie de ce jury et d'apporter leurs touches particulières.

Je les remercie tous infiniment pour l'intérêt et le temps qu'ils ont accordés à la lecture de mon document et leur contribution à l'évaluation de mon travail et pour toutes leurs remarques et conseils positifs.

D'un point de vue plus pragmatique, je remercie vivement le Centre de Recherche CRAPC d'avoir financé cette thèse, le MESRS et le laboratoire CTB qui ont contribué à ce financement.

Je remercie enfin les centres de calculs pour les nombreuses heures de calculs dont j'ai pu disposer : ICPMB de Lorraine, le calculateur *tejo* et *lisboa* du CBT.

J'apprécie les discussions et les conseils plein d'amitié du Directeur de Recherche **Manuel Ruiz-Lopez** et Directeur du Laboratoire de CBT, nos discussions portent souvent sur d'autres domaines scientifiques.

Outre les personnes que j'ai déjà citées, j'ai eu la chance de faire de multiples connaissances durant ma thèse, au détour de groupes de travail, de conférences ou de séminaires. Je remercie tout d'abord toutes les personnes qui gravitent autour du laboratoire de CBT, **Thibaut**, **Antonio**, **Adèle**, qui m'ont initié à la mécanique moléculaire et la QM/MM, et je pense à **Muhanned**, **Marília**, **Gérald**, **Franscesca**, **Ahcen**..... et tous ceux qui ont su rendre le travail en laboratoire si agréable, et plein d'humour. Et pour finir, merci à tous ceux qui m'ont soutenue pendant ces années en particulier, mon équipe de recherche 4 du Laboratoire LPCTCI de la faculté de chimie : **Kahina**, **Amel**, **Sihem**, **Razika**, **Abdelatif**, **M^{me} Kellou Safia**, ... et surtout à mes chères amies **Dalila**, **Zahia**, **Souhila**, **Zahra**, **Amína Fairouz** et **Lynda** et tous les membres du Laboratoire de LAOF, pour leur soutien moral et leur encouragement.

Merci à tous les professeurs qui m'ont donné l'envie d'apprendre, la curiosité intellectuelle, et le goût de la recherche. Et surtout à Mr Semmam Djamel de la faculté de physique pour son aide à l'impression de cette thèse.

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mon père qui m'a toujours incité et encouragé à travailler passionnément et sans répit pour réussir dans ma vie. Puisse Dieu, le tout puissant, l'accueillir dans son vaste paradis.

A ma mère qui a toujours été présente et m'a soutenu dans mon cursus scolaire. Sans elle, aurais-je poursuivi mes études ? Souhaitant que ma gratitude et mon immense reconnaissance pour elle traverse le temps.

Merci enfin à mes sœurs, mes frères et mes beaux frères leur soutien permanent et leur aide depuis de nombreuses années, et pour tout ceux qui compte réellement pour moi.

Soraya

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I	
ASPECTS THEORIQUES ET METHODOLOGIE	
Préambule.....	12
I. Les méthodes <i>ab initio</i>	14
I.1 Méthode Hartree Fock.....	14
I.2 La théorie des perturbations : Møller-Plesset.....	18
I.3 La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).....	20
I.3.1 Les équations de Khon et Sham.....	20
I.3.2 Les fonctionnelles d'échange-corrélation.....	22
I.3.2.1 L'approximation de la densité locale LDA.....	22
I.3.2.2 L'approximation du gradient généralisé GGA.....	23
I.3.2.3 Les fonctionnels hybrides.....	24
I.3.3 La prise en compte des effets de dispersions.....	24
I.4 Les interactions non covalentes.....	29
I.4.1 Les interactions π - π	29
I.4.2 Interaction hydrogène- π	30
I.5 Détermination des propriétés d'un système.....	31
I.5.1 Détermination des propriétés électroniques d'un système.....	31
I.5.1.1 Moment dipolaire.....	31
I.5.1.2 Analyse de population.....	32
a) Analyse de Mulliken.....	32
b) Analyse NBO (Natural Bond Orbitals).....	34
I.5.1.3 Analyse du Potentiel électrostatique.....	34
I.5.2 Étude de quelques descripteurs physico-chimiques.....	35
I.5.2.1 Définition de grandeurs globales.....	35
a) Le potentiel chimique et l'électronégativité.....	36
b) Dureté chimique η	37
c) L'indice d'électrophilie ω	37
I.5.2.2 Les grandeurs locales.....	38
a) Les indices de Fukui.....	38

b) Électrophilie locale.....	39
Bibliographie	41

CHAPITRE II

Traitement des systèmes complexes par QM/MM

Modélisation moléculaire

II.1 La Mécanique Moléculaire.....	44
II.2 Les champs de forces.....	45
II.2.1 Minimisation.....	46
II.2.1.1 La fonction d'énergie potentielle.....	46
II.2.1.2 Champs de forces usuels.....	48
II.3 Les Méthodes Hybrides QM/MM.....	50
II.3.1 Théorie.....	50
II.3.1.1 Hamiltonien QM/MM.....	50
II.3.1.2 Énergie QM/MM.....	52
II.3.1.3 Couplage "Embedding" mécanique.....	52
II.3.1.4 Couplage " Embendding" électrostatique.....	53
II.4 Les différentes méthodes de QM/MM.....	53
II.4.1 Les approches de types Link-Atom.....	54
II.4.2 Les approches des orbitales localisées.....	55
II.4.3 Le local Self-Consistent Field/MM (LSCF/MM).....	56
II.4.3.1 Introduction.....	56
II.4.3.2 La modification des équations de Roothaan.....	58
II.5 Méthode QM/MM et LSCF.....	60
II.5.2 Utilisation d'orbitales de liaison strictement localisées.....	60
II.5.2 Les critères externes.....	61
II.5.2.1 Approches de Weinstein Pauncz (WP).....	62
II.5.2.2 Approches de Magnasco-Perico (MP).....	62
II.5.3 Les critères internes.....	62
Bibliographie.....	64

CHAPITRE III

Étude des propriétés structurale des polychlorobiphényles

III.1 Introduction.....	69
III.2 Propriétés structurale et énergétique des PCBs.....	70

III.2.1 Relation entre la barrière de rotation et le facteur d'équivalent toxique (TEF).....	73
III.2.1.1 Définition du TEF.....	73
III.2.2 Analyse de l'hydrophobicité des PCBs.....	75
III.3 Étude théorique des PCB-DL par la méthode DFT.....	77
III.3.1 Analyse conformationnelle.....	77
III.3.2 Géométries des PCB-DL à l'état ionique.....	80
III.3.3 Effet de solvant explicite sur les barrières d'énergie.....	83
III.3.4 Analyse de l'énergie de délocalisation E^2	84
III.3.5 Calcul de l'énergie de dissociation BDE de la liaison C-Cl.....	85
III.4 Approche théorique de la réactivité du PCB77.....	86
III.4.1 Analyse des descripteurs locaux.....	90
III.4.2 Analyse de transfert de charges.....	91
Conclusion.....	93
Bibliographie.....	94

CHAPITRE IV

Interactions intermoléculaires entre le ligand PCB77 et les bases nucléiques d'ADN

IV.1 Introduction.....	97
IV.2 Les premières études expérimentales sur l'intercalation des PCBs Dans l'ADN.....	99
IV.2.1 Les travaux expérimentaux de Sargent et col. (1989).....	99
IV.2.2 Les travaux expérimentaux de N. Nishi et col (2003).....	99
IV.2.3 Les travaux expérimentaux de N. Nishi et col (2008).....	100
IV.3 Intérêt de l'étude théorique par le mécanisme de π -stacking.....	100
IV.3.1 Structure et fonctions de l'ADN.....	101
IV.3.2 Dommages causés aux bases nucléiques.....	103
IV.4 Étude du complexe PCB77// bases azotées par différentes méthodes de calculs quantiques à l'état gazeux.....	104
IV.4.1 Introduction.....	104
IV.4.2 Méthodologie computationnelle.....	105
IV.4.3 Optimisation du PCB77 par différentes méthodes de calcul et choix du modèle géométrique du complexe.....	107

IV.5 Analyse de l'énergie d'interaction des complexes PCB77// bases azotées et influence de la méthode de calcul.....	108
IV.5.1 Optimisation du complexe en équilibre sans contrainte.....	108
IV.5.2 Analyse de l'énergie d'interaction à courte et longue portée des complexes PCB77//bases nucléiques.....	110
IV.5.3 Analyse des mouvements du complexe PCB77// bases azotées (compression /étirement).....	112
IV.5.4 Analyse de l'énergie d'interaction des complexe PCB77//bases nucléiques pour chaque orientation ω	114
IV.5.3 Énergie de dispersion.....	117
IV.6 Analyse des propriétés électroniques du complexe PCB77//bases azotées en π -stacking.....	118
IV.6.1 Étude de l'interaction dipôle-dipôle.....	118
IV.6.2 Analyse des propriétés électroniques des complexes.....	121
IV.6.3 Prédiction de l'intercalation dans l'ADN.....	123
Conclusion.....	124
Bibliographie.....	125

CHAPITRE V

Étude des systèmes complexes par les Méthodes hybrides (QM/MM)

V.1 Introduction.....	126
V.2 Étude du système au niveau mécanique moléculaire MM.....	127
V.2.1 Détails computationnel et optimisation du complexe.....	127
V.3 Étude des systèmes complexes par Modélisation Moléculaire.....	131
V.3.1 Le principe et les méthodes utilisées en QM/MM.....	131
V.3.2 Différents modes d'intercalations du PCB-DL au sein de l'ADN.....	133
a) Procédure.....	133
V.4 Étude physico-chimique du ligand dans les sites préférentiels.....	135
V.4.2 Analyse des paramètres géométriques du PCB-DL intercalé entre les paires de bases.....	135
V.4.3 Analyse des paramètres énergétiques et électroniques des complexes.....	137
V.4.4 Calcul de l'énergie de déformation.....	141

V.4.5 Effet électrostatique de l'environnement sur l'énergie d'interaction pour chaque site d'intercalation.....	142
Bibliographie.....	
CONCLUSION GENERALE.....	146
Annexe 1	149
Annexe 2	153

Table des Illustrations

Table des Figures

<i>Figure 1</i>	Structure chimique des PCBs	2
<i>Figure 2</i>	Équivalence de structure du PCB77 coplanaire avec la 2, 3, 7,8 –TCDD...	3
<i>Figure 3</i>	Les différentes bases azotées constituant l'ADN.....	8
<i>Figure 4</i>	Exemple de séparation des parties QM/MM dans une boîte d'eau.....	8
<i>Figure I.1</i>	Courbes des forces d'interaction en fonction de la distance intermoléculaire.....	25
<i>Figure I.2</i>	Moment permanent et moment induit dans un dimère.....	26
<i>Figure I.3</i>	Orientation du moment dipolaire de chaque molécule.....	27
<i>Figure I.4</i>	Schéma des différents benzènes stables, la forme π -stackée en T et π -décalée.....	29
<i>Figure I.5</i>	Variation de l'énergie (E) du système en fonction du nombre total d'électrons (N).....	36
<i>Figure II.1</i>	Exemple d'application de la méthode hybride QM/MM à un système moléculaire.	50
<i>Figure II.2</i>	Notation pour les systèmes QM/MM.....	54
<i>Figure II.3</i>	Illustration de l'orbitale SLBO localisée entre la partie QM et MM du système.....	56
<i>Figure III.1</i>	Exemple d'un PCB-DL (PCB77) (a) et PCB-NDL (PCB135) (b).....	70
<i>Figure III.2</i>	Profil de la surface de l'énergie potentiel (PES) des PCBs.....	71
<i>Figure III.3</i>	Barrière énergétique de rotation le long de la liaison C ₁ -C ₇	72
<i>Figure III.4</i>	Équivalence de structure d'un PCB77 coplanaire avec la 2, 3,7,8-TCDD.....	77
<i>Figure III.5</i>	Géométrie du PCB et sa numérotation adoptée.....	78
<i>Figure III.6</i>	Énergie potentielle des trois composés PCB-DL.....	78
<i>Figure III.7</i>	Distributions des charges ESP avant et après de l'ajout d'un électron.....	81
<i>Figure III.8</i>	Surface d'énergie potentielle PCB77 et ses ions au niveau B3LYP /6-31+G(d).....	82
<i>Figure III.9</i>	Modèle d'hydratation du PCB77 avec des molécules d'eau.....	83
<i>Figure III.10</i>	Les différents sites de dissociation homolytiques des liaisons C-Cl.....	85
<i>Figure III.11</i>	Profil énergétique du PCB77 (a) énergie relative et l'électronégativité.....	88
<i>Figure III.12</i>	Variation de l'électrophilie local ω^+ en fonction de l'angle dièdre.....	90
<i>Figure IV.1</i>	Structure de la membrane cytoplasmique.....	97
<i>Figure IV.2</i>	Les différentes voies possibles de métabolisme du PCB126 dans la cellule d'un mammifère.....	98
<i>Figure IV.3</i>	Spectre DC de la solution de l'ADN (6.8 μ M) avec (A) DD (5.4 μ M)	99
<i>Figure IV.4</i>	Représentation schématique d'une colonne contenant l'ADN éliminant les toxines.....	100
<i>Figure IV.5</i>	Représentation dans le plan un fragment d'une hélice d'ADN-B.....	102
<i>Figure IV.6</i>	Exemple d'une séquence d'un double brin de l'ADN en 3' et 5'.....	102
<i>Figure IV.7</i>	Structures des bases puriques et pyrimidiques constituant la double hélice	

	de l'ADN.....	103
<i>Figure IV.8</i>	Modèle d'une structure de PCB77.....	107
<i>Figure IV.9</i>	Orientation des fragments selon xy du complexe PCB77//cytosine.....	108
<i>Figure IV.10</i>	Énergie d'interaction en fonction du SV (Å) pour différents complexes.....	111
<i>Figure IV.11</i>	Les mouvements de compression et d'étirement du complexe.....	112
<i>Figure IV.12</i>	Différentes orientations du complexe PCB77//G selon l'angle dièdre ω	115
<i>Figure IV.13</i>	Principe d'interaction entre deux dipôles permanent, Interaction tête-bêche.....	118
<i>Figure IV.14</i>	Variation de l'énergie d'interaction et le moment dipolaire du PCB77 // bases nucléique.....	119
<i>Figure IV.15</i>	Diagramme des niveaux énergétiques des orbitales frontières des fragments et du complexe.....	122
<i>Figure V.1</i>	Les différents sites d'intercalation du PCB77 dans le pentadecamère de l'ADN-B.....	128
<i>Figure V.2</i>	Vue stéréoscopique d(AGGCCTCTGGTCTCC). d(GGAGACCAGAGGCCT).....	130
<i>Figure V.3</i>	Énergie potentielle pour chaque site d'intercalation dans l'ADN-B.....	131
<i>Figure V.4</i>	Système réel étudié au niveau QM/MM : partie QM de PCB77 et les deux paires de bases.....	132
<i>Figure V.5</i>	Les orbitales SLBO pour chaque liaison C-N des parties QM et MM.....	132
<i>Figure V.6</i>	Illustration des paramètres géométrique du ligand et des bases nucléiques...	134
<i>Figure V.7</i>	Schémas de différentes possibilités d'intercalation du ligand entre les paires de bases	134
<i>Figure V.8</i>	Paramètres géométriques du PCB77 lors de son intercalation dans l'ADN-B.....	135
<i>Figure V.9</i>	Représentation des sites actifs de séquence d(TGCA) des sites 6 et 11 de l'ADN-B.....	137

Index des Tableaux

<i>Tableau II.1</i>	Temps de calcul SCF (méthode ab-initio) d'un peptide.....	44
<i>Tableau II.2</i>	Détails des interactions QM/MM. Les atomes de la partie QM et la partie MM.....	61
<i>Tableau III.1</i>	Facteurs d'équivalence toxique (TEF) et l'énergie de la barrière de rotation.....	74
<i>Tableau III.2</i>	Les valeurs de log P des différents PCBs.....	76
<i>Tableau III.3</i>	Paramètres géométriques relatifs du PCB77.....	79
<i>Tableau III.4</i>	Angle de torsion ϕ (°) et la distance C ₁ -C ₇ (Å) des ions des PCBs.....	80
<i>Tableau III.5</i>	Énergies d'hydratations des géométries optimisées des PCBs-DL.....	83
<i>Tableau III.6</i>	Énergie de stabilisation E ² pour les interactions NBO (i) et NBO (j) des conformations.....	84
<i>Tableau III.7</i>	Énergie de Dissociation de liaison BDE des dérivés benzéniques.....	86
<i>Tableau III.8</i>	Calcul des différents descripteurs globaux basés sur la DFT du PCB77.....	87

<i>Tableau III.9</i>	Calcul de la dureté chimique commune η_{AB} et η_{BA} (en eV) entre PCB77 et bases azotées.....	91
<i>Tableau III.10</i>	Calcul de la dureté chimique, le potentiel chimique et l'électrophilie.....	92
<i>Tableau III.11</i>	Calcul de transfert de charge ΔN entre PCB77 et les bases d'ADN.....	92
<i>Tableau IV.1</i>	Paramètres géométrique angle de torsion et distance C1-C7 du PCB77 Twist.....	107
<i>Tableau IV.2</i>	Énergie d'interaction pour chaque complexe de la forme twist et plane du PCB77.....	109
<i>Tableau IV.3</i>	Variation de l'énergie d'interaction pour un étirement de 0,4Å.....	113
<i>Tableau IV.4</i>	Variation de l'énergie d'interaction pour une compression de 0,2.....	114
<i>Tableau IV.5</i>	Énergie d'interaction des complexes pour différentes orientation.....	116
<i>Tableau IV.6</i>	L'énergie d'interaction des complexes en équilibre en fonction des variables SV et ω	117
<i>Tableau IV.7</i>	Énergie de dispersion intermoléculaire calculée pour les quatre Complexes.....	118
<i>Tableau IV.8</i>	Moment dipolaire des monomères PCB77 et les bases nucléiques et du complexe.....	120
<i>Tableau IV.9</i>	Quantité de transfert de charge Q des bases nucléiques au PCB77.....	123
<i>Tableau V.1</i>	L'énergie potentielle et l'énergie de stabilisation pour chaque site d'intercalation.....	129
<i>Tableau V.2</i>	Les paramètres géométriques des PCB-DL optimisés des sites S6 et S11 de l'ADN.....	136
<i>Tableau V.3</i>	Les énergétiques totales et les paramètres électroniques des PCB-DL optimisés.....	139
<i>Tableau V.4</i>	Énergie totale des complexes après optimisation QM/MM.....	141
<i>Tableau V.5</i>	Énergie d'interaction pour chaque séquence calculées avec et sans effets électrostatiques.....	142

LISTE DES ABREVIATIONS

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.

PCBs	Polychlorobiphényles.
HAP	Hydrocarbure Aromatique Polycyclique.
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
TEF	Toxic Equivalent Facteur.
TEQ	Toxic Equivalent Quantity.
AhR	Aryl hydrocarbon Recepteur.
CYP2B	Cytochrome P450 2B
SCF	Champ de Force autocohérent
DFT	Density Functional Theory
Å	angstrom
u.a	unité atomique
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
E HOMO	Energy of the Highest Occupied Molecular Orbital
E LUMO	Energy of the Lowest Occupied Molecular Orbital
AM1	Austin Model 1
BDE	Bond Dissociation Enthalpie
IP	Ionization Potential
MM	Molecular Mechanic
DFT	Density Functional Theory
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationship
χ	Electronégativité
μ	Moment dipolaire
α	Polarisabilité moléculaire
PCM	Polarizable Continuum Model
HF	Hartree–Fock
BLYP	Becke-Lee-Yang-Parr (exchange-correlation functional)
B3LYP	Becke's 3-parameter hybrid (exchange-correlation functional)
GGA	Generalized gradient approximation
LDA	local density approximation
KS	Kohn et Sham
MP2	second order Møller–Plesset perturbation
PBE	Perdew-Burke-Ernzerhof (exchange-correlation functional)
QM/MM	(méthode combinant) mécanique quantique et mécanique molécule.
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement.

MPA	Mulliken Population Analysis.
NBO	Natural Bond Orbital
SCF	Self Consistent Field.
TCB	Tétrachlorobipényle.
ADN	Acide desoxyribonucleique
A	adénine
C	cytosine
G	guanine
T	thymine

L'expérience et la théorie sont dialectiquement et indissolublement liées. C'est à partir de phénomènes observés, des faits et de lois établis expérimentalement, que la théorie tente d'élaborer une image cohérente et de plus en plus profonde des divers domaines du réel. Mais l'activité qui conduit l'expérimentateur à ces lois ou à ces faits nouveaux est, elle-même, tributaire de l'état d'avancement des théories disponibles. Ces théories sont, pour l'expérimentateur, un guide et un support conceptuel. Une théorie n'est jamais qu'une représentation approximative et incomplète du réel; des faits nouveaux peuvent apparaître qui la contredisent ou qui ne sont pas expliqués par elle.

A. EINSTEIN et L. INFELD.

"L'évolution des idées en physique, Payot, Paris, 1963".

INTRODUCTION GENERALE

Compte tenu de l'accroissement démographique et l'urbanisation accélérée de la terre, qui dégradent inévitablement l'environnement et la chaîne alimentaire, notre exposition à des agents potentiellement toxiques apparaît comme inévitable à l'heure actuelle. Les êtres vivants se trouvent continuellement exposés à une variété de substances chimiques exogènes, notamment les polychlorobiphényles (PCBs) qui représentent un risque majeur pour la santé. Les PCBs sont extrêmement toxiques et font partie des produits cancérigènes.

Ces molécules sont très stables chimiquement, peu biodégradables. Elles ne sont détruites qu'à très haute température (plus de 300°). Elles sont très solubles dans les graisses (nature lipophile), et peu solubles dans l'eau (hydrophobe). Elles présentent donc un potentiel important d'accumulation dans les sols, les sédiments et les tissus organiques. Ainsi, leur dispersion dans l'environnement a lieu essentiellement sous forme de particules et non sous forme gazeuse. Toutes ces propriétés expliquent leur tendance à s'accumuler le long des chaînes alimentaires pour arriver finalement jusqu'à l'homme. On parle alors de la bioaccumulation.

La compréhension du processus ou du mécanisme d'action toxicologique à l'échelle du nanomètre (structure moléculaire, réactivité, interaction, ...) est un véritable défi à la science qui nécessite une étroite collaboration entre chimistes, biologistes et toxicologues. Les PCBs sont des composés aromatiques chlorés, 209 d'entre eux ont été identifiés (figure1).

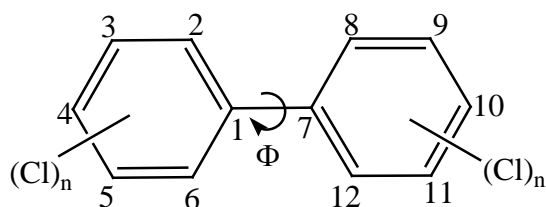


Figure 1 : Structure chimique des PCBs (d'après THOME et al. 1992) [1]

Comme indiqué sur la figure 1, les positions des atomes sont identifiées respectivement par les indices 2, 3, 4, 5,6 et 8, 9, 10, 11,12 auxquels on alloue la nomenclature ortho (=2,8, 6,12) ; méta (=3,9, 5,11) ; para (=4,10). Les cycles phényles du PCB peuvent adopter différentes conformations autour de la liaison 1-7, certains d'entre eux adoptent une configuration pratiquement plane, c'est le cas des congénères ne présentant aucun ou un seul substituant en position ortho (congénères non-ortho et mono-ortho). Dans le cas des composés portant deux atomes de chlores ou plus en position ortho, l'encombrement stérique empêche la coplanarité de la molécule et lui donne un aspect globulaire [2].

Les PCBs coplanaires, en raison de leur configuration très proche de la 2, 3, 7,8-Tétra-Chloro-Dibenzo-p-Dioxine (2, 3, 7, 8-TCDD ou dioxine de Seveso) (figure2), peuvent avoir un effet toxique comparable à ce composé, qui est considéré comme l'un des micropolluants les plus toxiques.

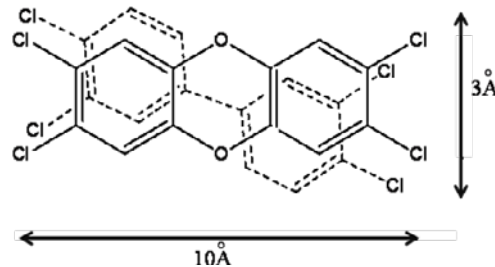


Figure 2 : Équivalence de structure du PCB77 coplanaire avec la 2, 3, 7,8 –TCDD.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) leur a attribué des facteurs de toxicité dont l'acronyme est TEF (Toxicity Equivalent Factor) [3]. Pour des raisons de mécanismes d'action toxique communs, certains PCBs ont été classés "dioxin-like" (PCB-DL), comme congénères PCB77, PCB126 et PCB169 [4].

Ces congénères sont particulièrement réactifs selon le nombre d'atomes de chlores substitués, ce qui les amène à réagir avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN). Les PCBs sont connus depuis deux siècles, mais en raison de leur toxicité complexe, ils ont longtemps constitué l'un des domaines les plus sensibles à étudier. La plupart des connaissances scientifiques concernant la toxicité chronique des PCBs sur l'homme se fondent sur des études épidémiologiques réalisées chez des personnes exposées accidentellement (accidents de Yusho au Japon en 1968 et de Yu-Cheng à Taïwan en 1979) [5]. Aussi certains congénères comme les PCB-DL ont des effets multiples, comprenant notamment des actions d'immunotoxicité, de tératogenèse, des lésions dermiques et de toxicité sur la reproduction, le développement et le système endocrinien [6-11].

La non-biodégradabilité reste un souci majeur pour de nombreux scientifiques et chercheurs. Une recherche sur Scopus par exemple donnée avec le seul mot clé PCBs, fournit plus de 16435 références, dont plus de 50% ont été publiées ces dix dernières années (environ 9484 références). Beaucoup de travaux expérimentaux ont été menés sur la contamination des PCBs dans différentes matrices comme l'eau, le sol et l'air à ce jour [12-14].

X.D.Liu et col [15,16] ont procédé récemment, en médecine génétique, à la purification de l'eau contaminée par la dioxine et ses dérivés en utilisant un ADN synthétisé qui a des propriétés électrostatiques et un pouvoir d'adsorption sélectif pour les petites molécules toxiques. Leur étude montre qu'en solution aqueuse, l'ADN est capable de se lier à ces polluants. Les résultats du spectre de fluorescence, mesuré par Dichroïsme Circulaire (CD), montrent que le mécanisme réactionnel se fait en mode d'intercalation de ces composés planaires ou coplanaire (dioxine et ses dérivés) au sein de la double hélice de l'ADN.

En regard du nombre de publications énoncé ci-dessus, très peu d'études théoriques sur cette famille de congénères ont été réalisées à ce jour. Des études ont été menées sur l'origine de la toxicité des PCBs à savoir leur relation structure-activité dans le milieu biologique d'une manière implicite [17-21] et sur leur propriétés structurales, particulièrement ceux de Arulmozhiraja [22], Chattaraj [23] et leurs collaborateurs respectifs, qui ont fourni des résultats notamment sur le calcul de différents descripteurs tel que le calcul du coefficient de partage octanol/eau d'une molécule appelé (logP) [24], les indices de Fukui [25] etc. D'autres études ont été effectuées sur leurs propriétés thermochimiques [26] qui sont à notre avis d'une grande importance.

L'intérêt de l'étude des PCB-DL est donc multiple :

- Du point de vue structural, les congénères coplanaires sont flexibles, ce qui est dû à la faible barrière de rotation autour de la liaison C₁-C₇ du biphenyle, cette flexibilité leur permet de se lier avec le récepteur Aryl hydrocarbure (AhR) en adduit.
- L'étude de l'interaction entre les congénères et les milieux biologiques est donc d'un intérêt considérable pour la compréhension des phénomènes ecotoxicologiques.
- Les PCB-DL sont électrophiles et ont une structure coplanaire. Ils peuvent être ainsi des intercalant de l'ADN.

La nécessité et l'importance de l'étude théorique s'expliquent par :

- L'existence d'une relation étroite entre la structure géométrique des PCB-DL et la toxicité.
- La modélisation des mécanismes biologiques et toxicologiques passe donc par la compréhension des interactions entre le PCB et son environnement immédiat. Leurs études nécessitent l'emploi des méthodes quantiques fiables et précises prenant en compte le transfert de charge et les effets d'orientations des PCBs vis-à-vis du milieu biologique.

- Les méthodes quantiques permettent de modéliser, avec une bonne précision, différents processus réactionnels et déterminer plusieurs paramètres physico-chimiques qui ont un grand intérêt pour l'interprétation des résultats expérimentaux existants. Elles permettent aussi d'étudier des propriétés utiles à connaître qui sont difficilement accessibles à l'expérience. Par exemple, la structure géométrique, qui est une donnée essentielle pour l'interprétation et l'analyse des résultats, reste très délicate à déterminer expérimentalement, et ne peut se faire que de manière indirecte. Par contre elle est directement accessible par les méthodes quantiques.

Selon notre recherche bibliographique, nous avons été surpris de constater que malgré le nombre important d'études dédiées aux PCBs, les interactions intermoléculaires dans le milieu biologique explicite, restent un domaine vierge, c'est pourquoi nous avons estimé qu'une étude théorique pourrait apporter des éclaircissements utiles.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés au comportement conformationnel et propriétés structurales des PCBs coplanaires (PCB-DL) à savoir le 3,3',4,4'-TCB (PCB77) ; 3,3',4,4',5-PCB (PCB126) et 3,3',4,4', 5,5'-HCB (PCB 169), à l'état isolé et leur interaction intermoléculaire dans un milieu biologique.

De ce fait cette étude est axée selon deux thématiques principales, ayant pour objectif commun l'interaction intermoléculaire. La première option consiste à effectuer une étude purement quantique QM. Même si elle donne de bons résultats, plusieurs restrictions se posent. En effet, si la taille des systèmes n'est pas trop importante (< 500 atomes) alors ils pourront être étudiés dans leur globalité. Ce n'est cependant pas souvent le cas quand on tient compte du milieu biologique. La deuxième thématique s'attachera à comprendre les interactions entre les PCBs et l'ADN par la méthode QM et QM/MM.

Il s'agit tout d'abord de mieux comprendre, d'une manière générale, les propriétés électroniques, énergétiques et structurales des PCB ortho et non ortho substitués. On détermine alors le potentiel d'ionisation (PI), l'affinité électronique (AE), le moment dipolaire (μ) et la polarisabilité (α). Ensuite et afin d'interpréter les effets toxicologiques des PCBs, la stabilité de la structure tridimensionnelle est déterminée par les interactions intermoléculaires du ligand PCB-DL avec les bases azotées de l'ADN à l'état isolé. La recherche des conformations stables consistera à déterminer les minima de l'énergie globale. L'énergie d'interaction (E_{int}) est fractionnée en un certain nombre de termes additifs dépendants.

On analysera par la suite le pouvoir électro donneur ou accepteur sur la stabilité des dimères PCB/DNA lors des processus de transfert de charges des orbitales frontières HOMO/LUMO.

Cette théorie est une simplification de la théorie des perturbations qui attribue à certaines fonctions d'ondes monoélectroniques ou orbitales, une importance particulière sur la réactivité d'une molécule.

Par la suite, nous avons élargi notre étude à des systèmes d'importance biologique, principalement aux constituants des acides désoxyribonucléique (ADN) pour lesquels; nous nous sommes focalisés sur l'intercalation de PCB-DL entre des segments d'ADN. Elle consiste à traiter le problème dans le cadre de la méthode mixte hybride QM/MM (Quantum Mechanics/Molecular Mechanics). Elle traite le centre actif (souvent réactif PCB-DL) au niveau quantique tout en modélisant au niveau classique le reste de l'ADN. Cette méthode résulte de la haute dimensionnalité des systèmes mais aussi de l'intervention d'un grand nombre d'interactions faibles (Van der Waals, liaisons hydrogène, effet hydrophobe, ...).

Cette approche a connu un essor important depuis plus de vingt ans et devient maintenant une méthode de choix pour l'étude des systèmes biologiques. Elle pose toutefois plusieurs problèmes inhérents aux procédés utilisés : temps de calcul pour les méthodes quantiques, précision pour les méthodes classiques. Le couplage est lui aussi source de complications : traitements des frontières et des différentes interactions QM/MM intervenant entre les sous-systèmes QM et MM.

Si les techniques spectroscopiques à savoir la GC/MS, LC/MS, le Dichroïsme Circulaire etc ... restent les méthodes les plus précises, pour identification et quantification des PCBs, les méthodes quantiques *ab initio* et les méthodes hybrides QM/MM sont les méthodes les plus indiquées dans la prédiction des comportements conformationnelles des PCBs.

L'outil de base utilisé dans ce travail de thèse a principalement fait appel d'une part à des méthodes quantiques basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (électronique) connue sous son acronyme anglais DFT (Density Functional Theory). Cette méthode quantique est devenue très populaire ces dernières années pour le bon compromis qu'elle offre entre fiabilité et effort calculatoire. Un double choix est nécessaire pour réaliser les calculs : le type de fonctionnelle et la base d'orbitales atomiques. Nous avons choisi la fonctionnelle de Becke pour l'échange à 3 paramètres et celle de LYP pour la corrélation (B3LYP) et les bases d'orbitales Gaussiennes utilisées sont de type double ou triple zêta plus une ou deux fonctions de polarisation (DZP, TZ2P). Le niveau B3LYP/6-31+G(d) a été retenu pour l'optimisation des PCBs car il présente un rapport qualité/coût satisfaisant compte tenu de la taille de nos systèmes. Pour l'étude des dimères à l'état gazeux et afin de choisir la meilleure méthode qui

décrit bien le système et qui soit la moins coûteuse, les résultats de la DFT ont été comparés à des calculs post Hartree-Fock du type MP2 et au niveau B3LYP-D.

D'autre part, nous avons utilisé les méthodes hybrides QM/MM afin de se rapprocher au mieux de la réalité et comprendre ce phénomène d'interaction. La méthode principale employée est celle développée à Nancy par X. Assfeld et N. Ferré [28-36] depuis les années quatre vingt dix : Local Self Consistent Field (LSCF) pour traiter la jonction covalente entre la partie QM et la partie MM.

Le manuscrit s'articule autour de quatre chapitres avec des objectifs précis, relatifs à la méthode quantique employée, aux propriétés électronique du système, à l'effet de solvation, à la mécanique moléculaire et au traitement des systèmes biologiques par la méthode mixte hybride QM/MM.

Dans l'introduction générale, on exposera une présentation succincte des xénobiotiques concernant l'étude des Polychlorobiphenyles PCBs.

Le premier chapitre sera consacré à l'aspect théorique et à la méthodologie. Un rappel des fondements de la méthode *ab initio* et la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). La résolution des équations couplées de Kohn-Sham selon la méthode itérative SCF (Self Consistent Field).

Dans le chapitre II, on propose une présentation générale des propriétés structurales et électroniques des PCBs. Les PCB-DL seront analysées par l'étude de différents descripteurs et de leur réactivité à l'aide de la technique DFT. L'effet de solvant explicite sur la barrière de rotation autour de l'angle dièdre ϕ sera abordé par la suite. Nous nous focaliserons sur les différentes formes activées des PCB dioxine like (PCB-DL) et prévoir les conformations les plus réactives qui peuvent interagir implicitement avec les bases nucléiques.

Dans le chapitre III, on s'attardera sur les principales propriétés visées par notre étude, à savoir les interactions intermoléculaires des complexes formant le PCB-DL et les bases nucléiques (voir fig.) (guanine, cytosine, thymine, adénine) à l'état gazeux. On présentera les différentes orientations du ligand vis-à-vis de la base azotée selon l'angle dièdre que forme le dimère et selon la séparation verticale (VS) qui les sépare, selon trois niveaux de théorie DFT, DFT-D et la méthode post-HF MP2, afin choisir la méthode qui décrit au mieux notre système. On exposera les paramètres géométriques optimisés et évalués avec la base TZ2P pour DFT et DFT-D et DZP pour MP2 en annexe C.

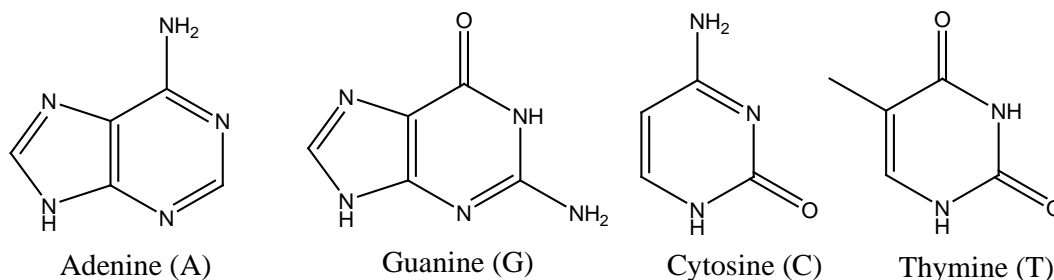


Figure 3 : Les différentes bases azotées constituant l'ADN.

Le comportement électrophile et nucléophile sera ensuite abordé à travers la détermination de l'énergie des orbitales frontières HOMO/LUMO du dimère. On examinera en particulier l'influence du pouvoir électro donneur ou accepteur du système sur les paramètres structuraux du ligand en particulier la quantité de charge transférée de la partie nucléophile vers la partie électrophile.

Le chapitre IV sera consacré au système complexe biomoléculaire. En premier lieu on présentera les différentes façons d'intercaler un ligand dans la cible biologique dans un milieu solvaté, pour chaque site selon la mécanique moléculaire (MM) (figure 4). Les meilleurs sites parmi les quatorze sites étudiés seront sélectionnés et étudiés dans ce chapitre à l'aide de la méthode mixte QM/MM.

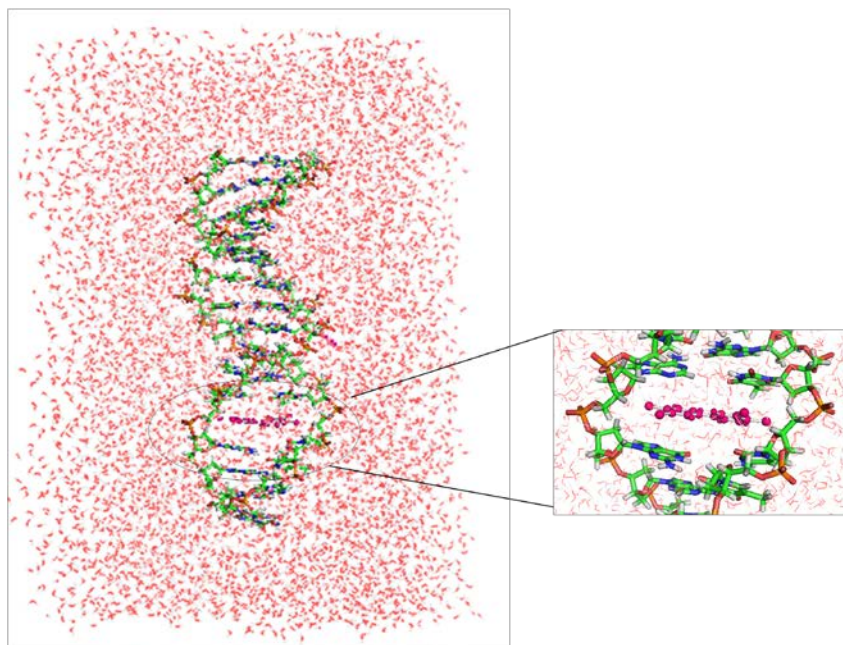


Figure 4 : Exemple de séparation des parties QM/MM dans une boîte d'eau

Enfin, nous portons dans la conclusion générale, un regard global sur la signification des résultats présentés dans ce manuscrit ainsi que les perspectives ouvertes par ce travail.

Bibliographie

- 1- THOME, J.P., J.L. HUGLA and C. JOIRIS, *Transfert des PCBs vers la Mer du Nord: distribution dans les différents compartiments de l'écosystème*. Bull. Soc. r. Sc. Liege, 61: 99-111, **1992**.
- 2- DEBIER C.: *A study of the dynamics of Vitamin A, vitamin E and PCBs in seals during lactation*, 311 pp, **2001**.
- 3- van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A. T. C., Brunstroöm, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J. P., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S., Kubiak, T., Larsen, J. C., van Leeuwen, F. X. R., Djien Liem, A. K., Nolt, C., Peterson, R. E., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillitt, D., Tysklind, M., Younes, M., Waern, F., and Zacharewski, T. *Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife*. Environ. Health Perspect. 106, 775-792, **1998**.
- 4- MCFARLAND V.A. , CLARKE J.V., : *Environmental occurrence, abundance, and potential toxicity of PCB congeners : considerations for a congener specific analysis*. Env. Hlth. Perspect., 81 :225-239, **1989**.
- 5- ATSDR. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, *Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls*. **2000**.
- 6- Kodavanti, P. R. S., Ward, T. R., McKinney, J. D. and Tilson, H. A. *Increased [3H] phorbol ester binding in rat cerebellar granule cells by polychlorinated biphenyl mixtures and congeners: Structure–activity relationships* Toxicol. Appl. Pharmacol. 130, 140– 148, **1995**.
- 7- Silberhorn, E. M., Glauert, H. P. and Robertson, L. W. *Carcinogenicity of polyhalogenated biphenyls: PCBs and PBBs* Crit. Rev. Toxicol. 20, 440– 496, **1990**.
- 8- Pocar, P., Brevini, T. A. L., Antonini, S. and Gandolfi, F. *Cellular and molecular mechanisms mediating the effect of polychlorinated biphenyls on ovocyte in vitro maturation*. Reprod. Toxicol. 22, 242– 249, **2006**.
- 9- Safe, S. *Polychlorinated biphenyls dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEF)* Crit. Rev. Toxicol. 21, 1– 88, **1990**.
- 10- R.D. Kimbrough, *Polychlorinated biphenyls (PCBs) and human health: an update*, Crit. Rev. Toxicol. **25**, pp. 133–163, **1995**.
- 11- O.M. Faroon, S. Keith, D. Jones and C. De Rosa, *Carcinogenic effects of polychlorinated biphenyls*, Toxicol. Ind. Health **17**, pp. 41–62, **2001**.

- 12- B.Jansson, S.Jensen, M. Olsson, L.Renberg, G. Sundstrom and R. Vaz . *Identification by GC-MS of phenolic metabolites of PCB and p,p'-DDE isolated from Baltic guillemot and seal.* *Ambio*, vol4 ,N°2. JSTOR, **1975**.
- 13- H.R Johansen, G.Becher. *Determination of planar PCBs by combining on line SFE-HPLC and GC-ECD.* *Analytical chemistry –ACS*, **1994**.
- 14- E.Cocco, C.Guignard, Hoffman. *Rapid analysis of PCBs in fish by pressurized liquid extraction with in cell cleanup and GC-MS.* *International Journal of Environmental and analytical chemistry* Vol.91,N°4, pp 333-347 (15) , **2011**.
- 15- X.D.Liu, Y. Murayama, M.Yamada, M. Nomizu, M. Matsunaga, N.Nishi. *DNA aqueous solution used for dialytical removal and enrichment of dioxin derivatives.* *I.J. Biol Macromol* 32121–127, **2003**.
- 16- X.D.Liu, H.Y.Diao and N.Nishi. *Applied chemistry of natural DNA.* *Chem. Soc. Rev.*, 37, 2745-2757, **2008**.
- 17- J. Padmanabhan, R. Parthasarathi, V. Subramanian, and P.K. Chattaraj. *QSPR models for polychlorinated biphenyls: n-Octanol/water partition coefficient.* *Bioorga.Medic Chem.* 14, 4, 1021-1028, **2006**.
- 18- R. Parthasarathi, J. Padmanabhan, V. Subramanian, U.Sarkar,B. Maiti, K. Chattaraj, *Electron J.Mol.Des2*, 798, **2003**.
- 19- S.Arulmozhiraja, T.Fuji, H.Tkiwa, *J.Phys.Chem.A.* 104, 1765, **2002**.
- 20- J. Padmanabhan, R. Parthasarathi, V. Subramanian, P.K. Chattaraj. *Chemical reactivity analysis on 33'44'55'-hexa chlorobiphenyl-A DFT approach.* *J. Mol. Struc. THEO.* 730, 1-3, 221-226, **2005**.
- 21- A.Poland and J.C.Knutson. *2.3.7.8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compound examination of the mechanism of toxicity.* *Annu.Rev. Pharmacol. Toxicol*, 22, 517-554, **1982**.
- 22- S.Arulmozhiraja and M. Morita, *Structure-Activity Relationships for the Toxicity of Polychlorinated Dibenzofurans: Approach through Density Functional Theory-Based Descriptors.* *Chem. Res. Toxicol*, 17, 348-356, **2004**.
- 23- R. Parthasarathi, J. Padmanabhan, V. Subramanian, B. Maiti, and P. K. Chattaraj. *Chemical Reactivity Profiles of Two Selected Polychlorinated Biphenyls.* *J. Phys. Chem. A* 107, 10346-10352, **2003**.
- 24- Hansch, C.; Fujita, T. *Correlation of biochemical activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients.* *Nature*, 194, 178-180, **1962**.
- 25- Parr, R.G.; Pearson, R.G.*J.Am.Chem.Soc.* 105,7512, **1983**.

- 26- G. Luthe, James A. Jacobus and L.W. Robertson . Receptor interactions by polybrominated diphenyl ethers versus polychlorinated biphenyls: A theoretical structure–activity assessment. *Env. Toxicol. Pharma.* 25, 2, 202-210, **2008**.
- 27- M. Bures, V. Pekárek and T. Ocelka. Thermochemical properties and relative stability of polychlorinated biphenyls. *Env. Toxicol. Pharm.* 25, 148-155, **2008**.
- 28- V. Théry, D. Rinaldi, J. L. Rivail, B. Maigret, et G. G. Ferenczy, *J. Comput. Chem.* 15,269, **1994**.
- 29- G. Monard, M. Loos, V. Thery, K. Baka, et J.-L. Rivail, *Int. J. Quantum Chem.* 58, 153, **1996**.
- 30- X. Assfeld et J.-L. Rivail, *Chem. Phys. Lett.* 263, 100 , **1996**.
- 31- N. Ferré, X. Assfeld, et J.-L. Rivail, *J. Comput. Chem.* 23, 610, **2002**.
- 32- A. Fornili, Y. Moreau, M. Sironi, et X. Assfeld, *J. Comput. Chem.* 27, 515, **2006**.
- 33- A. Fornili, P.-F. Loos, M. Sironi, et X. Assfeld, *Chem. Phys. Lett.* 427, 236, **2006**.
- 34- P. Loos et X. Assfeld, *J. Chem. Theory Comput.* 3, 1047, **2007**.
- 35- P.F. Loos and X. Assfeld, *AIP Conf. Proc.* 963, 308. **2007**.
- 36- P.F. Loos, A. Fornili, M. Sironi, et X. Assfeld, *Comput. Lett.* 4, 473, **2007**.

Lexique

Xénobiotique : Substance possédant des propriétés toxiques, même à très faible concentration (exemple des pesticides, PCBs, dioxine ...).

Épidémiologie : est l'étude des facteurs influant sur la santé et les maladies de populations. Il s'agit d'une discipline qui se rapporte à la répartition, à la fréquence et à la gravité des états pathologiques.

La tératogenèse : désigne le développement anormal de masses cellulaires durant la croissance fœtale, causant des déformations au fœtus.

Système endocrinien : Ensemble d'organes et de tissus qui libèrent des hormones dans le sang. Ces hormones régulent la croissance, le développement et la fonction de nombreux tissus en plus de coordonner les processus métaboliques à l'intérieur de l'organisme.

Ecotoxicologie : est l'étude des effets toxiques des agents chimiques ou physiques sur les organismes et les communautés ; des voies de transfert de ces agents, ainsi que de leurs interactions avec l'environnement.

Effets clastogènes : Qui provoque des cassures au niveau de l'ADN.

CHAPITRE I
ASPECTS THEORIQUES
ET METHODOLOGIE

Préambule

L'une des questions fondamentales de la chimie théorique est de comprendre l'action d'une entité chimique sur une autre, qu'elle soit solide, moléculaire ou biomoléculaire, existantes ou fictives. Leurs actions réciproques vont en effet induire de nombreux changements sur la géométrie d'équilibre (longueurs de liaisons, paramètres angulaires, conformations, qu'elles peuvent adopter (en phases gaz ou en solution), sur les propriétés physico-chimiques (thermodynamiques, spectroscopiques...), sur la réactivité ou encore sur leurs interactions intra ou intermoléculaires. C'est ainsi qu'il est envisageable de réaliser des expériences dites *in silico* dans lesquelles les réactions chimiques sont simulées sur ordinateur. La chimie théorique est ainsi devenue un partenaire indispensable de l'expérimentateur grâce au développement des moyens informatiques et la puissance des ordinateurs de plus en plus grande.

Les outils les plus utilisés pour analyser le calcul des assemblages atomiques sont très divers. Ces outils permettent d'une part, dans le cas de la mécanique quantique qui sera traité au chapitre I, de déterminer l'énergie et la structure d'équilibre des systèmes avec un traitement explicite des électrons. D'examiner les fluctuations de différentes propriétés des systèmes de grandes tailles comme l'ADN, notamment sa structure et son interaction avec des ligands.

D'autre part, dans le cas d'une approche hybride, type Quantique/Classique dite QM/MM) dont les méthodes standard utilisent un potentiel simple paramétré (dit champ de forces) où les interactions sont estimées à partir de constantes de force harmoniques, de termes coulombiens et de termes de van der Waals. Cette approche a été développée par l'équipe de Nancy et sera abordée au chapitre IV. Le ligand est traité par la mécanique quantique au niveau de la théorie de la fonctionnelle densité (B3LYP/6-31+G(d)). Le solvant est décrit par la mécanique classique par un champ de forces de type AMBER 99. Les interactions soluté-solvant sont prises en compte par un terme électrostatique et un terme de van der Waals.

L'objectif de cette partie est de présenter de façon succincte les différentes méthodes que nous avons utilisées. Elle est inspirée de plusieurs ouvrages de chimie quantique de référence [1-6]. Dans le cas des méthodes qui sont basées sur la résolution de l'équation de Schrödinger, toute l'information que l'on peut obtenir sur un système constitué d'un ensemble de particules est contenue dans sa fonction d'onde Ψ .

La fonction d'onde d'un système composé de N atomes et n électrons est obtenue en résolvant l'équation de Schrödinger non relativiste indépendante du temps (0-1):

$$H\Psi = E\Psi \quad (0 - 1)$$

Nous nous plaçons dans l'approximation des noyaux fixes de Born Oppenheimer qui consiste à séparer l'hamiltonien électronique de l'hamiltonien nucléaire. L'opérateur Hamiltonien \hat{H} s'écrit comme la somme des opérateurs énergie cinétique et énergie potentielle. Ceux-ci sont définis dans l'équation ci-dessous en unité atomique (u.a) où intervient le nombre d'électrons (n) et de noyaux (N) du système, la masse du noyau A (M_A) de nombre atomique Z_A et les distances entre électrons i et j (r_{ij} , $i \neq j$), entre électron i et noyau A (r_{Ai}) et entre noyaux A et B (r_{AB}).

$$H = - \sum_{i=1}^N \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{A=1}^M \frac{\nabla_A^2}{2M_A} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (0 - 2)$$

Les deux premiers termes sont les opérateurs énergies cinétique, électronique et nucléaire, ensuite, sont décrites respectivement l'attraction coulombienne électrons-noyaux, les répulsions électroniques et les répulsions nucléaires.

La résolution analytique exacte de l'équation (0-1) n'est possible que pour l'atome d'hydrogène et les hydrogènoïdes. Pour les systèmes poly-électroniques, il est nécessaire de faire appel aux méthodes d'approximations pour résoudre cette équation de Schrödinger d'une manière approchée. Dans cette partie, nous présenterons les méthodes Hartree-Fock (HF), la théorie des perturbations de Møller Plesset (MP_n) et la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).

En mécanique quantique, les interactions intermoléculaires sont de types électrostatique, d'induction (ou encore de polarisation), de dispersion et d'échange. Les deux premières sont décrites par la mécanique-classique. Par contre, la contribution d'échange qui découle du principe d'exclusion de Pauli, qui impose que deux électrons ne peuvent pas être dans le même état quantique, entraîne une conséquence directe qui fait que la fonction d'onde doit prendre une forme antisymétrique pour l'échange de deux électrons. La dispersion, quant à elle, a pour origine, comme nous le verrons dans ce chapitre, les fluctuations quantiques de la distribution électroniques des charges.

Pour la DFT-D construite avec la correction de dispersion à longue distance proposée par Grimme [7,8], elle a été utilisée, avec un terme dépendant de l'énergie en R^{-6} où R est la distance entre les deux centres de masses des partenaires. Parmi ces interactions intermoléculaires, on peut citer les interactions aryles-aryles qui sont sans doute les plus étudiées des interactions $\pi-\pi$.

Même si elles sont faibles, elles sont néanmoins reconnues pour jouer un rôle essentiel dans la structure des macromolécules biologiques comme l'ADN, les protéines etc.

I- Les méthodes *ab initio*

I-1 Méthode Hartree Fock

L'approche de Born-Oppenheimer est aujourd'hui à la base de beaucoup de calculs en physique de la matière. Reposant sur la différence de la masse d'un électron et d'un noyau, le Hamiltonien polyélectronique de l'équation (0-2) peut être simplifié : le second terme peut être négligé et le dernier terme décrivant la répulsion entre noyaux considéré comme constant pour une géométrie donnée¹. Dans l'équation fondamentale de la théorie de Hartree-Fock (HF), chaque électron ressent l'ensemble des autres électrons comme un champ moyen. Le Hamiltonien poly-électronique de l'équation de Schrödinger devient par conséquent un jeu de Hamiltonien mono-électronique h_i pour un système à couche fermée.

$$h_i = -\frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_A^{\text{noyau}} \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_j^{N/2} (2J_j(r_i) - K_j(r_i)) \quad (1.1)$$

Les deux termes mono-électroniques comprenant l'énergie cinétique et l'interaction électrons-noyaux sont souvent repris dans un terme général, nommé Hamiltonien de cœur h_i^c . Les deux derniers termes de l'Equation. (1.1) sont des termes biélectroniques qui expriment le potentiel ou champ moyen que subit un électron de la part des autres. Cette équation tient compte de la répulsion coulombienne électronique (J_j) et du principe de Pauli (K_j , appelé terme d'échange).

$$J_j(1)\phi_i(1) = \int \frac{\phi_j^*(2)\phi_j(2)}{r_{ij}} \phi_i(1) d\tau \quad (1.2)$$

$$K_j(1)\phi_i(1) = \int \frac{\phi_j^*(2)\phi_i(2)}{r_{ij}} \phi_j(1) d\tau \quad (1.3)$$

Seules les interactions répulsives et d'échange « moyennes » entre la particule et le champ de ses voisins sont considérées. Ainsi, la probabilité de trouver simultanément deux électrons de spins parallèles au même endroit de l'espace est nulle ; cette erreur dite de corrélation peut être minimisée par différentes stratégies donnant lieu aux méthodes post Hartree-Fock et celles s'appuyant sur la théorie de la fonctionnelle de la densité.

¹ La masse d'un électron étant 1836 fois plus légère que la masse d'un noyau, les électrons se déplaceront nettement plus vite que les noyaux. Une bonne approximation est de considérer les électrons d'une molécule comme se déplaçant dans un champ de noyaux fixes.

L'énergie du système est donnée par la relation :

$$E_0 = \langle \Psi_0 | H_0 | \Psi_0 \rangle \quad (1.4)$$

$$|\Psi_0\rangle = |\psi_1 \psi_2 \psi_3 \dots\rangle \quad (1.5)$$

L'équation de Hartree-Fock (1.4) est trop complexe pour permettre une résolution directe par des techniques d'analyse numérique. Il est donc nécessaire d'effectuer une transformation supplémentaire qui sera plus adaptée. Pour ce faire, une nouvelle approximation consiste à exprimer les orbitales moléculaires (OM) comme des combinaisons linéaires de jeux prédéfinis de fonctions monoélectroniques ϕ_N , c'est l'approximation LCAO de l'anglais *Linear Combination of Atomic Orbitals*. Il suffit de résoudre le système linéaire suivant les équations de Roothaan pour déterminer l'énergie propre :

$$h_i \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad (1.6)$$

Ces fonctions de base sont en général centrées sur les noyaux des différents atomes de la molécule. On introduit une base de K orbitales atomique (OA), définie comme $\{\phi_u\}_{1 \leq u \leq K}$: Ainsi, les orbitales peuvent s'écrire sous la forme :

$$\psi_i = \sum_{\mu}^N c_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (1.7)$$

Le calcul des OM se ramène donc à la détermination des coefficients $c_{\mu i}$. Le déterminant de Slater, solution de l'équation à N électrons, est construit à partir des N/2 orbitales de plus basses énergies.

Sur cette base d'OA, l'élément $\mu\nu$ de la matrice de Fock F s'exprime :

$$F_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}^*(1) h(1) \phi_{\nu}(1) dr_1 \quad (1.8)$$

$$= \int \phi_{\mu}^*(1) h^c(1) \phi_{\nu}(1) dr_1 + \sum_a^{N/2} \int \phi_{\mu}^* [2J_a(1) - K_a(1)] \phi_{\nu}(1) dr_1 \quad (1.9)$$

$$= H_{\mu\nu}^c + \sum_a^{N/2} (2(\mu\nu|aa) - (\mu a|a\nu)) \quad (1.10)$$

En insérant l'approximation de la combinaison linéaire, on obtient :

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu}^c + \sum_a \sum_{\lambda\sigma}^{N/2} c_{\lambda a} c_{\sigma a}^* [2(\mu\nu|\lambda\sigma) - (\mu\sigma|\lambda\nu)] \quad (1.11)$$

$$= H_{\mu\nu}^c + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma}^T [(\mu\nu|\lambda\sigma) - \frac{1}{2}(\mu\sigma|\lambda\nu)] \quad (1.12)$$

$$= H_{\mu\nu}^c + G_{\mu\nu}^c \quad (1.13)$$

avec les intégrales biélectroniques :

$$(\mu\nu|\lambda\sigma) = \iint \phi_\mu^*(1) \phi_\nu(1) \frac{1}{r_{12}} \phi_\lambda^*(2) \phi_\sigma(2) dr_1 dr_2 \quad (1.14)$$

$$(\mu\sigma|\lambda\nu) = \iint \phi_\mu^*(1) \phi_\sigma(1) \frac{1}{r_{12}} \phi_\lambda^*(2) \phi_\nu(2) dr_1 dr_2 \quad (1.15)$$

L'élément $\mu\nu$ de la matrice densité totale du système P^T dans le formalisme RHF est défini comme :

$$P_{\mu\nu}^T = 2 \sum_i^N c_{\mu i} c_{\nu i}^* \quad (1.16)$$

La condition de stationnarité de l'énergie par rapport aux coefficients $\{c_{\mu i}\}_{\substack{1 \leq \mu \leq N, \\ 1 \leq i \leq N}}$

$$\frac{\delta E}{\delta c_{\mu i}} = 0 \quad \forall \mu \quad (1.17)$$

conduit aux équations de Roothaan :

$$\sum_\nu^N F_{\mu\nu} c_{\nu i} = \sum_\nu^N S_{\mu\nu} c_{\nu i} \varepsilon_i \quad (1.18)$$

sa forme matricielle devient donc

$$\mathbf{F} \cdot \mathbf{C} = \mathbf{S} \cdot \mathbf{C} \cdot \boldsymbol{\varepsilon} \quad (1.19)$$

où chaque élément est une matrice :

- $\boldsymbol{\varepsilon}$ est une matrice diagonale des énergies orbitales : chacun de ces éléments ε_i représente l'énergie d'un électron de l'OM ϕ_i .
- F est la matrice de Fock représentant l'effet moyen du champ créé par tous les électrons sur chaque orbitale.

- S est la matrice recouvrement représentant le recouvrement entre chaque orbitale tel que $S_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}^*(1)\phi_{\nu}(1)dr_1$.
- C'est la matrice constituée des coefficients des orbitales moléculaires sur les fonctions de base tel que : $(C)_{\mu i} = c_{\mu i}$.

L'énergie électronique du système s'écrit donc, sur la base des OAs :

$$E = \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu}^T H_{\mu\nu} + \frac{1}{2} \sum_{\mu\nu\lambda\sigma} P_{\mu\nu}^T P_{\lambda\sigma}^T G_{\mu\nu\lambda\sigma} \quad (1.20)$$

Les fonctions de base ne sont pas orthogonales entre elles (mais normalisées). Il est donc nécessaire d'orthogonaliser les fonctions de base, afin que la résolution des équations de Roothaan devienne un problème aux valeurs propres. On introduit alors une matrice d'orthogonalisation de la base d'OA \mathbf{X} tel que :

$$\mathbf{X}^\dagger \cdot \mathbf{S} \cdot \mathbf{X} = \mathbf{I} \quad (1.21)$$

où \mathbf{I} est la matrice Identité. Dans le formalisme SCF, la matrice d'orthogonalisation est souvent celle de Lowdin : $\mathbf{X} = \mathbf{S}^{-1/2}$. En substituant \mathbf{C} par $\mathbf{X}\mathbf{C}'$ et en multipliant le terme de gauche de l'équation (1.19) par \mathbf{X}^\dagger (matrice adjointe de la matrice \mathbf{X}), cela mène à un problème standard aux valeurs propres hermitiques :

$$\mathbf{F}' \cdot \mathbf{C}' = \mathbf{C}' \cdot \varepsilon \quad (1.22)$$

avec

$$\mathbf{F}' = \mathbf{X}^\dagger \cdot \mathbf{F} \cdot \mathbf{X} \quad (1.23)$$

La résolution de l'équation (1.22) s'effectue par la diagonalisation de la matrice \mathbf{F}' dépendante des coefficients recherchés \mathbf{C} . La méthode de résolution auto-cohérente ou SCF (*Self-Consistent-Filed*) est alors employée. Son algorithme est résumé ci-dessous :

- 1- Calcul des intégrales $S_{\mu\nu}$, $H_{\mu\nu}^c$ et $(\mu\nu|\lambda\sigma)$.
- 2- Estimation de la matrice de Fock $\mathbf{F} = \mathbf{H}^c + \mathbf{G}$.
- 3- Expression de \mathbf{F} dans la base orthogonale : $\mathbf{F}' = \mathbf{X}^\dagger \cdot \mathbf{F} \cdot \mathbf{X}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{S}^{-1/2}$).
- 4- Diagonalisation de \mathbf{F}' .
- 5- Transformation des OMs dans la base non orthogonales : $\mathbf{C} = \mathbf{X} \cdot \mathbf{C}'$.
- 6- Calcul de la nouvelle matrice densité \mathbf{P} et calcul de l'énergie $E = \frac{1}{2} \text{Tr}[\mathbf{P}(\mathbf{H}^c + \mathbf{F})]$.
- 7- Test de convergence sur E et /ou \mathbf{P} . Si non satisfait, retour à 3.

Il faut également remarquer que, dans le cadre de la méthode HF, les électrons sont considérés comme indépendants les uns des autres et se déplacent chacun dans un potentiel moyen créé par l'ensemble des noyaux et des autres électrons. Il n'y a donc pas d'interaction instantanée électron-électron d'où le développement de certaines méthodes pour tenter de remédier à ce problème de manque de corrélation, on a les méthodes " post Hartree-Fock " permettant de prendre en compte une partie de la corrélation : soit en dépassant la description mono-déterminantale de la fonction d'onde, soit en utilisant la méthode des perturbations (l'une n'excluant pas l'autre). Une autre méthode de prise en compte de la corrélation électronique, toute en restant au même niveau de description mono-déterminantale de la fonction d'onde, c'est la théorie de la densité (DFT). Nous y reviendrons ultérieurement.

I-2 La théorie des perturbations : Møller-Plesset

L'une des problèmes majeurs de l'approche HF tient au fait qu'elle ne prend pas en compte l'énergie de corrélation électronique et seules les orbitales occupées sont considérées dans l'expression de la fonction d'onde. Afin de pallier ces désavantages, des méthodes, dites post Hartree-Fock, ont été développées. Ces méthodes post Hartree Fock se partagent essentiellement en deux catégories : les méthodes perturbatives et les méthodes multi-configurationnelles. La solution la plus économique est la théorie perturbative de Møller-Plesset au second ordre (MP2) [9]. La corrélation y est traitée comme une perturbation de l'hamiltonien de référence. Celles d'ordre supérieur (MP3, MP4,..) sont aussi utilisées. Nous nous proposons de décrire brièvement les fondements de base de cette méthode.

La théorie de perturbation Møller-Plesset s'exprime dans le cadre de la théorie Rayleigh-Schrödinger, qui consiste à développer en série de Taylor l'énergie du système. Cette théorie s'applique lorsque l'hamiltonien H du système peut se décomposer en deux termes : un hamiltonien d'ordre zéro H_0 dont la fonction d'onde ψ_i^0 sont connues et dont les valeurs propres E_i^0 ne sont pas trop éloignées des valeurs propres recherchées de H et d'un opérateur de perturbation V . V supposé petit devant H_0 .

$$H = H^{(0)} + V \tag{1.24}$$

Dans la théorie des perturbations de Møller-Plesset à l'ordre n (MP n), l'opérateur Hamiltonien de référence est donné par la relation suivante :

$$H^{(0)} = \sum_i^N h(i) \quad (1.25)$$

où N est le nombre de fonctions de base et h_i défini par l'Eq. (1.1). En se limitant à l'ordre 2 dans le développement (MP2), on aboutit à cette équation:

$$E^{(MP2)} = E^{(0)} + E^{(1)} + E^{(2)} \quad (1.26)$$

Avec $E^{(0)} + E^{(1)} = E^{(HF)}$ et $E^{(2)}$ la correction de l'énergie à l'ordre 2 qui est donnée par la relation suivante :

$$E^{(2)} = \langle \Psi^{(0)} | V | \Psi^{(1)} \rangle \quad (1.27)$$

$$= \frac{1}{4} \sum_{i,j>i}^{occ} \sum_{a,b>a}^{virt} \frac{[(ij|ab) - ia|jb)]^2}{\epsilon_i + \epsilon_j - \epsilon_a - \epsilon_b} \quad (1.28)$$

avec $(ij||ab)$ sont des intégrales biélectroniques impliquant des orbitales occupées (i,j) et virtuelles (a,b) et ϵ_i est l'énergie de l'orbitale i . les calculs les plus courants sont au niveau MP2 et utilisent des configurations di-excitées. Les méthodes perturbatives sont « *size extensive* »² ce qui est une condition nécessaire pour le calcul correct des énergies d'interactions. Cependant, les calculs MP $_n$ peuvent être de mauvaise qualité si la corrélation statique est forte.

Ainsi , l'énergie électronique totale MP2 est donnée par l'énergie de HF et par la correction de second ordre MP : $E^{MP2} = E^{HF} + E^{(2)}$. La solution de l'équation MP à l'ordre 1 donne l'énergie de Hartree-Fock. La première correction de perturbation au-delà du traitement Hartree-Fock qui ne s'annule pas est le terme d'énergie de second ordre (par le théorème de Brillouin).

Ces méthodes post Hartree-Fock sont très performantes, mais demandent des temps de calculs extrêmement importants et ne peuvent donc être raisonnablement utilisées que sur des systèmes ne contenant qu'un nombre restreint d'atomes.

²La propriété de 'Size Extensivité' est vérifiée si la somme des énergies de chaque fragment constitutif de la molécule est égale à l'énergie de la molécule pour laquelle les fragments sont séparés d'une distance infinie.

I-3 La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

Au cours de ce travail, tous les systèmes moléculaires étudiés ont été modélisés en faisant appel à la théorie de la fonctionnelle de la densité. C'est en effet une méthode de chimie quantique qui jouit d'une grande popularité. Elle est très proche de la méthode HF dans le sens où il s'agit également d'une méthode monodéterminante. Néanmoins, elle s'en écarte au sens où elle propose un bien meilleur traitement de la corrélation électronique, en s'approchant de la qualité des résultats obtenus avec la méthode post HF (MP2). De plus, par rapport aux méthodes post-Hartree-Fock que nous venons de voir, elle présente l'avantage d'être moins coûteuse en ressources informatiques.

La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), introduit la corrélation *via* une fonctionnelle d'échange et de corrélation. Comme son nom l'indique, elle est basée sur la densité des particules $[\rho(\mathbf{r})]$ et non sur la fonction d'onde, pour décrire l'état fondamental du système. Cette approche, introduite par Hohenberg et Khon [10] (HK) est énoncée sous la forme de deux théorèmes. Le premier théorème stipule que toute propriété de l'état fondamental d'un système est complètement déterminée par la densité électronique $\rho(\mathbf{r})$. L'énergie apparaît alors comme une fonctionnelle de cette densité.

En d'autres termes, il existe une relation bi-univoque entre la densité électronique du système et le potentiel externe $V_{\text{ext}}[\rho(\mathbf{r})] \equiv E_{\text{ne}}[\rho(\mathbf{r})]$. Le second théorème prouve l'existence d'un principe variationnel, c'est-à-dire, que l'énergie calculée avec une densité électronique $\rho'(\mathbf{r})$ différente de la densité exacte $\rho(\mathbf{r})$ conduira nécessairement à une énergie supérieure. Ces deux théorèmes permettent de décrire tout le système grâce à un outil mathématique à trois dimensions, la densité électronique $\rho(\mathbf{r})$, comparée aux théories précédentes décrivant le système avec une fonction d'onde $\psi(r_1, r_2, \dots, r_n)$ à $3n$ dimensions [11-13].

I-3-1 Les équations de Khon et Sham

Khon et Sham ont proposé une approche indirecte permettant de calculer exactement une grande partie de la fonctionnelle d'énergie cinétique $T[\rho]$ [14]. Leur approche est basée sur l'idée qu'un système interagissant à n électrons peut être décrit par une équation exacte pour un système de n électrons non-interagissants. La fonctionnelle d'énergie $E[\rho(\mathbf{r})]$ s'écrit comme la somme de trois termes :

$$E[\rho(r)] = V[\rho(r)] + T[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)] \quad (1.21)$$

où $V[\rho(r)]$ regroupe les interactions entre les électrons et les noyaux $E_{ne}[\rho(r)]$ et les électrons entre eux $J[\rho(r)]$.

$$V[\rho(r)] = E_{ne}[\rho(r)] + J[\rho(r)] = \sum_A^M \int \frac{Z_A \rho(r)}{|r - R_A|} + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r - r'|} dr dr' \quad (1.22)$$

Le deuxième terme $T[\rho(r)]$ correspond à l'énergie cinétique d'un système d'électrons sans interactions.

$$T[\rho(r)] = \frac{1}{2} \sum_i^n \int \phi_i^*(r) \Delta_r \phi_i(r) dr \quad (1.23)$$

Quant à $E_{xc}[\rho(r)]$, elle représente la contribution de l'échange (x) et de la corrélation (c), ainsi qu'un terme $T[\rho(r)] - T_S[\rho(r)]$ correspondant à la différence entre l'énergie cinétique du système réel en interaction et celle du système référence sans interactions. Cette quantité est centrale en théorie de la fonctionnelle de la densité. En utilisant la condition de stationnarité de $E[\rho(r)]$ par rapport à $\rho(r)$,

$$\frac{\delta E[\rho(r)]}{\delta \rho(r)} = 0 \quad (1.24)$$

On déduit les équations de KS :

$$\left\{ -\frac{1}{2} \Delta_r - \sum_A^M \frac{Z_A}{|r - R_A|} + \int \frac{\rho(r')}{|r - r'|} dr' + \frac{\delta E_{xc}[\rho(r)]}{\delta \rho(r)} \right\} \phi_i(r) = \varepsilon_i \phi_i(r) \quad (1.25)$$

que l'on peut écrire sous forme d'un problème aux valeurs propres :

$$\hat{F}_{KS} \phi_i(r) = \varepsilon_i \phi_i(r) \quad (1.26)$$

Ces équations se résolvent de manière auto-cohérente, tout comme les équations de HF en développant les orbitales monoélectroniques $\{\phi_i(r)\}_{1 \leq i \leq n}$ sur une base d'orbitales atomiques $\{\chi_\mu(r)\}_{1 \leq \mu \leq N}$,

$$\phi_i(r) = \sum_\mu^N c_{\mu i} \chi_\mu(r) \quad (1.27)$$

qui conduit à :

$$F_{KS} \cdot C = S \cdot C \cdot E \quad (1.28)$$

I-3-2 Les fonctionnelles d'échange-corrélation

La théorie de la fonctionnelle de la densité appliquée dans le cadre de l'approche orbitale de Kohn et Sham demeure exacte dans son formalisme. Progressivement, la partie inconnue dans la fonctionnelle $E[\rho]$ a été réduite à une fonctionnelle universelle $F_{\text{HK}}[\rho]$ et finalement à une énergie d'échange et de corrélation $E_{xc}[\rho]$. A ce stade, il est nécessaire d'approcher l'expression de cette fonctionnelle d'échange et de corrélation, de sorte qu'elle offre une bonne description aussi précise du système. On définit donc le potentiel d'échange et de corrélation $v_{xc}(r)$ par la dérivée de la fonctionnelle d'échange-corrélation $E_{xc}[\rho(r)]$:

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}[\rho(r)]}{\delta \rho(r)} = \varepsilon_{xc}[\rho(r)] + \rho(r) \frac{\partial \varepsilon_{xc}(r)}{\partial \rho(r)} \quad (1.29)$$

La connaissance de ce potentiel, intervenant dans les équations de KS, permet de déterminer de façon exacte la densité électronique, et donc les valeurs exactes de l'ensemble des orbitales de l'état fondamental. Cependant, la nature et la forme mathématique précise de ce potentiel sont inconnues, ce qui donne naissance à plusieurs types d'approximation permettant d'approcher au mieux cette quantité. Généralement, l'énergie d'échange-corrélation E_{xc} est divisé en deux termes : un terme d'échange E_x et un terme de corrélation E_c , bien que cette séparation ne soit pas justifiée théoriquement. L'échange est normalement associé aux interactions entre électrons de même spin, tandis que la corrélation s'applique à tous les électrons.

$$E_{xc}(\rho) = E_x(\rho) + E_c(\rho) \quad (1.30)$$

On distingue trois grande familles de fonctionnelles d'échange et de corrélation [14], qu'on va voir dans la section suivante.

I.3.2.1 L'approximation de la densité locale LDA

Les fonctionnelles de type LDA (*Local Density Approximation*) pour lesquelles la densité est supposée se comporter localement comme la densité d'un gaz uniforme d'électrons (*jellium*). De façon équivalente, la densité est considérée comme uniforme et variant de façon lente avec la position r . Dès lors la densité électronique au voisinage du point r est remplacée par une densité électronique constante qui a la même valeur en tout point r . Cependant cette densité est différente en tout point de l'espace. Suivant ce principe Dirac détermina la fonctionnelle d'échange du gaz uniforme d'électron [15], et elle s'exprime :

$$E_{XC}^{LDA}[\rho(r)] = -\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \rho^{1/3}(r) = -C_x \rho^{1/3}(r) \quad (1.31)$$

Ce qui donna naissance à la méthode X_α de Slater en 1951 [16] où l'exposant 1/3 est remplacé par un paramètre ajustable α . Cette fonctionnelle peut être considérée comme une fonctionnelle LDA où l'énergie de corrélation est négligée et l'énergie d'échange donnée par la fonctionnelle de Dirac, est pondérée par un facteur α .

Dans la théorie HF, le trou de Fermi est diffus et délocalisé, tandis que dans l'approximation locale LDA (Local Density Approximation) de la DFT, il est au contraire trop localisé et trop compact [17-18]. Cette surestimation dans les modèles LDA et l'absence de corrélation dans le modèle HF expliquent pourquoi ces deux méthodes surestiment et sous-estiment respectivement l'énergie électronique totale (en valeur absolue). Remarquons que si l'on tient compte de la polarisation de spin, la fonctionnelle LDA devient LSDA (*Local Spin Density Approximation*).

Basé sur les travaux de Ceperley et Alder [19] qui utilisèrent la méthode Monté-Carlo quantique pour déterminer la fonctionnelle de corrélation du jellium, Vosko, Wilk et Nusair (VWN) trouvèrent une fonction ajustant au mieux leurs données, afin d'obtenir une fonctionnelle de corrélation [20] que nous avons utilisé dans l'étude des interactions intermoléculaire du dimère (PCB- base azotée).

I.3.2.2 L'approximation du gradient généralisé GGA

Pour décrire le caractère non-uniforme la densité électronique dans un système moléculaire, les méthodes GGA (*Generalized Gradient Approximation*) ont été introduites afin d'insérer une correction utilisant le gradient de la densité $\frac{|\nabla\rho|}{\rho}$ à la fonctionnelle LDA :

$$\epsilon_{x/c}^{GGA}[\rho(r)] = \epsilon_{x/c}^{LSDA}[\rho(r)] + \Delta\epsilon_{x/c} \left[\frac{|\nabla\rho(r)|}{\rho^{4/3}(r)} \right] \quad (1.32)$$

Les corrections les plus répandues sont celles de A.D. Becke en 1988 [21] pour l'échange et celles de J.P. Perdew [22-23] ou de Lee-Yang-Parr [24] pour la corrélation. Dans la littérature les approximations LDA et GGA surestiment l'énergie de corrélation, mais dans notre cas, nous avons constaté que l'approximation LDA a conduit à une bonne description des propriétés intermoléculaires de notre système en la comparant à la méthode post HF.

Dans la pratique, les fonctionnelles GGA donnent de meilleurs résultats que les fonctionnelles LDA mais ne conduisent pas à une description précise de toutes les propriétés des molécules. Il existe

également la fonctionnelle de corrélation PW91 [25] et LYP [26] (Lee, Yang et Parr), donnant naissance à la fonctionnelle BLYP [27] par combinaison avec la fonctionnelle d'échange de Becke.

I.3.2.3 Les fonctionnels hybrides

Une amélioration supplémentaire a été apportée aux fonctionnelles de type GGA, en traitant une partie des interactions d'échange par l'opérateur d'échange Hartree-Fock appliqué au déterminant de Slater des spin-orbitales de Kohn-Sham la fonctionnelle d'échange-corrélation la plus utilisée est sans conteste la fonctionnelle hybride B3LYP (*Becke 3 parameters Lee Yang Parr*) [26].

Elle propose une amélioration de la fonctionnelle BLYP en incluant une fonctionnelle d'échange E_x^{HF} de type HF, tel que :

$$E_{xc}^{B3LYP} = E_{xc}^{LDA} + \alpha(E_x^{HF} - E_x^{LDA}) + b\Delta E_x^{B88} + c(E_c^{LYP} - E_c^{LDA}) \quad (1.33)$$

par exemple, les fonctionnelles méta-GGA utilisent la seconde dérivée de la densité pour correction:

$$E_{xc}[\rho(r)] = \int \rho(r) \varepsilon_{xc}[\rho(r), \nabla\rho(r), \nabla^2\rho(r)] dr \quad (1.34)$$

Nous citerons ici les fonctionnelles les plus connues B3PW91 [26-28], BH&-HLYP [29] ou encore PBE0 [30-32].

I.3.3 La prise en compte des effets de dispersions

Les forces intermoléculaires, souvent nommées forces de van der Waals, correspondent à des interactions entre molécules à courtes distances (d'environ 3Å) qui ne modifient pas la nature des molécules, mais qui produisent une force totale d'attraction intermoléculaire responsable d'une stabilité non-négligeable.

Cette force intermoléculaire $F(r)$ est reliée à l'énergie par la relation :

$$F(r) = - \frac{dE(r)}{dr} \quad (1.35)$$

De même l'énergie intermoléculaire $E(r)$ est égale au travail effectué pour amener les molécules à distance r l'une de l'autre en partant de l'infini :

$$E(r) = \int_r^\infty F(r) dr \quad (1.36)$$

Ces forces peuvent être caractérisées par leur énergie potentielle qui dépend généralement de la distance r entre les molécules.

- si l'énergie potentielle décroît avec la distance entre les molécules la force est positive et donc les molécules auront tendance à s'éloigner (interaction répulsive).
- si au contraire l'énergie potentielle croît avec la distance entre les molécules, la force est négative, et les particules s'attirent (interaction attractive).

A très courte distance ($<0.3\text{nm}$) les interactions deviennent répulsives (figure I.1). Il existe une distance optimale qui correspond au maximum d'attraction entre 2 molécules. A cette distance, la courbe d'énergie potentielle résultante présente un minimum à la distance l'équilibre.

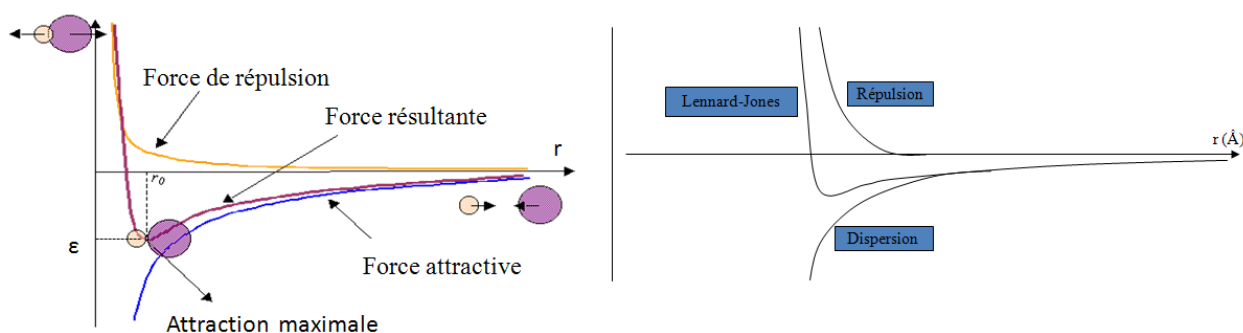


Figure I.1 : Courbes des forces d'interaction en fonction de la distance intermoléculaire.

Au-delà des forces d'attraction mutuelle de 2 molécules, intervient une répulsion lorsqu'elles se rapprochent de trop (lorsqu'intervient un recouvrement des orbitales). Lennard-Jones a suggéré une représentation globale de l'énergie potentielle en ajoutant au terme d'attraction en $1/r^6$ un terme de répulsion en $1/r^{12}$:

$$E_{\text{Lennard-Jones}} = -\frac{a}{r^6} + \frac{b}{r^{12}} \quad (1.37)$$

A distance infinie, où l'interaction est nulle, l'énergie potentielle est égale à zéro. Lorsque les deux molécules très éloignées se rapprochent, le terme attractif l'emporte sur le terme répulsif et l'énergie diminue. Aux courtes distances (au voisinage du contact), le terme répulsif l'emporte. Il existe donc une distance critique r_0 pour laquelle le système des deux molécules présente un minimum d'énergie potentielle. Le potentiel de Lennard-Jones dépend de deux paramètres a et b , dont la valeur dépend de la nature des molécules mises en jeu. Ces interactions appelées aussi attractives, apparaissent suite aux mouvements instantanés des électrons qui font apparaître

temporairement un moment dipolaire. En effet, si le moment dipolaire ou moyen d'un atome ou d'une molécule est nul ou constant, la polarisation temporaire apparaît suite à ce mouvement. Cette polarisation, bien que momentanée, peut alors être la source d'interaction de type dipôle-dipôle et d'induction.

On peut citer les différentes forces existantes :

Les forces de London ou effet de dispersion qui sont des forces faibles intermoléculaires créées par des dipôles instantanés : le dipôle instantané d'une molécule A induit un dipôle instantané sur une molécule B et interagit avec lui. Ces forces représentent en général la plus importante composante des forces de van der Waals (0.5 - 40 kJ.mol⁻¹). Elles apparaissent lorsque la densité électronique d'une molécule n'est équitablement répartie autour de celle-ci, ce qui crée ainsi un léger moment dipolaire. Ces moments dipolaires instantanés varient très rapidement au cours du temps. Ainsi à chaque distribution inhomogène se crée un moment dipolaire instantané qui peut interagir avec les moments dipolaires qu'il induit sur les molécules voisines et une force, dite de London, s'exerce alors entre les molécules. Le moment dipolaire induit (fig. I.2) est proportionnel au champ de polarisation et le coefficient de proportionnalité est la polarisabilité α :

$$\mu_{ind} = \alpha E \quad (1.38)$$

Dans le cas d'un dipôle en rotation thermique au voisinage d'une molécule non polaire, l'énergie d'interaction est encore en $1/r^6$ et correspond au terme dit de Debye dans les interactions générales de van der Waals :

$$E_{int} = -\frac{\mu^2 \alpha}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6} \quad (1.39)$$

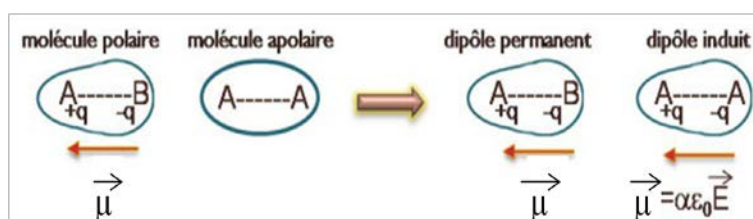


Figure I.2 : Moment permanent et moment induit dans un dimère.

Les forces de Keesom résultent quant à elles d'une interaction intermoléculaire entre dipôles permanents (voir figure I.3). Quand la molécule A possède un dipôle permanent, elle peut induire un dipôle instantané sur une molécule B, cette interaction est due aux forces de Debye. Les orientations antiparallèles conduisent à une attraction des deux molécules.

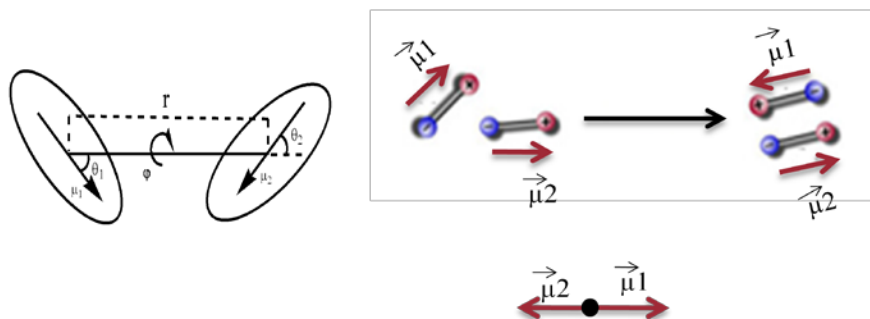


Figure 3: Orientation du moment dipolaire de chaque molécule.

La formule de l'énergie d'interaction est donnée dans cette expression :

$$E_{int} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{\mu_1 \mu_2}{r^3} [2\cos\theta_1 \cos\theta_2 - \sin\theta_1 \sin\theta_2 \cos\varphi] \quad (1.40)$$

Ici les angles $\theta_1, \theta_2, \varphi$ spécifient les orientations respectives des deux molécules comme schématisé sur la figure 3, μ_1 et μ_2 sont les moments dipolaires des molécules distantes de r . C'est encore une interaction à longue portée. En phase liquide l'alignement d'un dipôle dans le champ d'un dipôle voisin est rare, bien souvent l'énergie d'interaction est celle correspondant à des dipôles en rotation thermique naturelle, dont l'orientation mutuelle est pondérée statistiquement par un facteur de Boltzman, l'expression correspondante, dite de Keesom est l'un des trois termes consécutifs des interactions en $1/r^6$ de van der Waals :

$$E_{int} = -\frac{\mu_1^2 \mu_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 kT r^6} \quad (1.41)$$

En général, la représentation correcte de la distribution des charges d'une molécule correspond à un ensemble de moments multipolaires de différents ordres : quadrupolaire, octapolaire et plus élevés.

Les forces de London, étant la contribution majoritaire dans les forces de vdW, jouent un rôle important au niveau atomique (repliement de protéines, empilement des bases de l'ADN, reconnaissance moléculaire,...) dans les systèmes biologiques (ADN, protéine) mais aussi dans des systèmes chimiques *via* des interactions π - π stacking , T-shape, qui sont détaillées dans la section

suivante . Théoriquement, les contributions électrostatique et d'échange peuvent être décrites, comme nous l'avons vu, à l'aide d'un champ moyen (HF) tandis que la dispersion est un effet purement lié à la corrélation électronique entre deux molécules. Dans les méthodes dites de fonction d'onde, la dispersion est prise en compte par CI (Interaction de configuration) via les di-excitations (Théorème de Nesbet). Des méthodes comme MP2 peuvent décrire cette dispersion mais elles surestiment systématiquement les énergies d'interactions et sous-estiment les distances entre molécules de système π - π . Quant à la DFT, il y a des cas où elle échoue complètement pour décrire correctement les interactions dispersives de dimères [33-35], mais dans le cas de notre système elle a réussi à les traiter.

Récemment, la dispersion a été introduite dans la DFT par Grimme [36] en corrigeant l'énergie totale. Ces approches traitent la dispersion à l'aide d'une correction empirique de l'énergie en $C_6^{ij} R_{ij}^{-6}$ où R_{ij} est la distance interatomique et C_6^{ij} sont les coefficients de dispersion. L'énergie totale en DFT, par exemple, devient :

$$E_{DFT-D} = E_{DFT} + E_{disp} \quad (1.42)$$

Où l'énergie de dispersion est définie empiriquement par la loi :

$$E_{disp} = -S_6 \sum_i^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{C_6^{ij}}{R_{ij}^6} f^{att}(R_{ij}) \quad (1.43)$$

$$f^{att}(R_{ij}) = \frac{1}{1 + e^{-D(R_{ij}/R_0 - 1)}} \quad (1.44)$$

où S_6 et D sont deux paramètres optimisés respectivement en accord avec la fonctionnelle utilisée et avec la fonction d'atténuation ($f^{att}(R_{ij})$). Cette dernière est nécessaire pour empêcher la divergence à courte distance. N représente le nombre d'atomes, R_0 est la somme des rayons atomiques de vdW des atomes i et j . Les coefficients C_6^{ij} sont obtenus en faisant la moyenne des valeurs atomiques. Les géométries obtenues avec la DFT-D sont en excellent accord avec les méthodes post-HF incluant la dispersion. De nombreuses publications sont apparues sur ce sujet [37-42], notamment sur les interactions entre paires de bases de l'ADN, dimères polyaromatiques,...

I.4 Les interactions non covalentes

I.4.1 Les interactions π - π

Les interactions π - π ou aryles-aryles ont été sans doute les plus étudiées. Même si elles sont faibles, elles sont néanmoins reconnues pour jouer un rôle essentiel dans la structure des macromolécules biologiques comme l'ADN, les protéines et plusieurs autres [43]. Dans le cas des protéines, ces interactions sont impliquées dans la stabilité thermique ainsi que dans leurs repliements [44,45]. Une vaste étude sur 34 protéines a démontré que 60% des chaînes secondaires aromatiques participaient à ces interactions [46].

Le dimère du benzène a été utilisé à maintes reprises comme modèle pour l'étude des interactions π - π . La superposition des cycles aromatiques, qui a été longtemps acceptée comme stabilisatrice n'est plus considérée comme telle aujourd'hui. En effet, les premiers travaux, qui remontent en 1975, démontrent l'impossibilité de cet arrangement [47] et que c'est plutôt l'arrangement en T qui est préféré [48], où l'interaction stabilisatrice serait de l'ordre de 1 à 3.5 kcal/mol [49] (fig. I.4).

Cependant, des calculs plus récents démontrent qu'il existe deux arrangements isoénergétiques, soient l'arrangement en T et le déplacement parallèle [50].

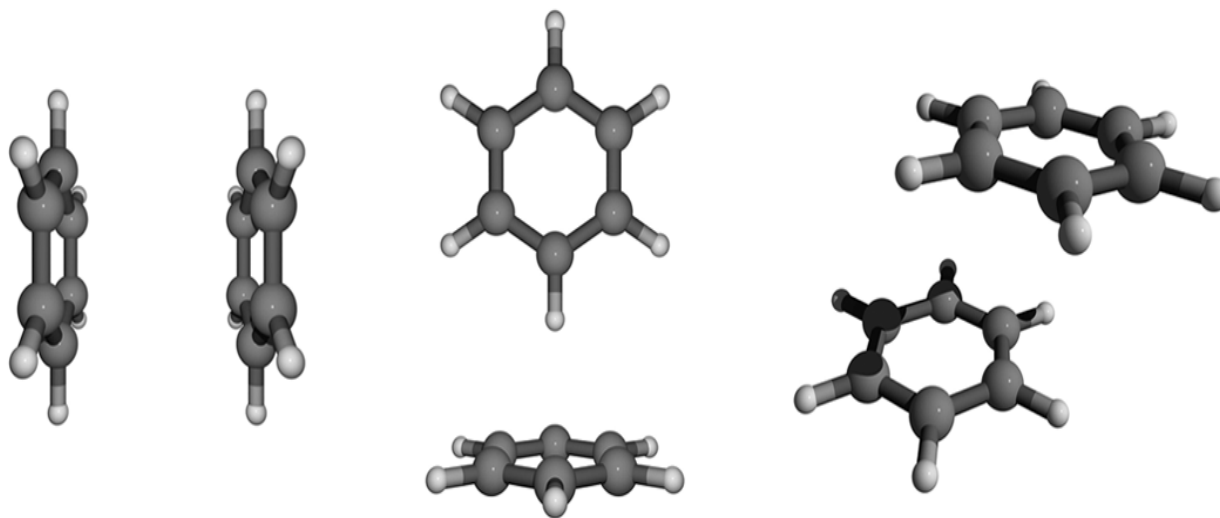


Figure I.4 : Schéma des différents benzènes stables, de gauche à droite, la forme π -stackée en T et π -décalée [51].

Des calculs théoriques ont montré la part prépondérante des forces de dispersion dans ces interactions et le léger avantage énergétique des conformations en T et déplacée (les énergies de stabilisation sont respectivement de 2.7 et 2.8 kcal/mol) par rapport au sandwich (1.8kcal/mol).

Ces interactions font appel aux interactions électrostatiques attractives, tel qu'il existe la distribution inégale des charges au travers des systèmes π ferait en sorte que les atomes chargés positivement s'alignent pour faire face aux atomes chargés négativement.

Certains mentionnent qu'il s'agit d'interactions polaire/ π dans l'espace ou bien simplement des forces de van der Waals. Sanders et Hunters [52] ont développé un modèle électrostatique simple à partir de porphyrines d'où ils tirèrent une série de règles générales pour une compréhension qualitative des interactions π - π . Ceux-ci considèrent les électrons π et les liaisons σ séparément, et que ce sont les répulsions π - π et les attractions σ - π qui contrôlent les interactions entre les molécules aromatiques [53]. Ce modèle a été fortement critiqué et il a été suggéré que seulement les moments quadrupolaires moléculaires devaient être reconnus pour jouer un rôle dans les interactions aromatiques [54], un argument déjà avancé dans l'analyse du système benzène/hexafluorobenzène [55]. Dans le cas d'un amide et d'un cycle aromatique, il est fait mention d'interactions électrostatiques quadrupolaires (aromatique)-dipolaires (amide) et de dispersions.

I.4.2 Interaction hydrogène- π

Au début des années 1990, plusieurs études démontrèrent sur des systèmes benzène-eau et benzène-ammoniaque, que le benzène était capable d'accepter un hydrogène déficient électroniquement pour former une liaison hydrogène- π [56].

Hors, l'analyse de différentes protéines établit que les amines préfèrent être parallèles aux cycles aromatiques et que les liaisons hydrogène- π entre phényle et amine isolée sont rares [57]. De plus, des calculs ont permis d'avancer que c'est la fonction amide au complet qui était responsable de la stabilisation plutôt que seulement l'amine et que celle-ci est de l'ordre de 4 kcal/mol [54].

I.5 Détermination des propriétés d'un système

I.5.1 Détermination des propriétés électroniques d'un système

Les méthodes de calcul, décrites précédemment, permettent la détermination de la structure électronique d'un système moléculaire donné. Cependant, l'examen théorique d'un tel système ne se limite pas uniquement à l'obtention de son énergie totale et de sa fonction d'onde. En effet, l'étude d'une molécule ou d'un système moléculaire nécessite, la plupart du temps, la détermination d'un certain nombre de propriétés électroniques. A partir de la fonction d'onde, il est, en principe possible de calculer toutes les propriétés électroniques d'un système, elles sont décrites à partir des sommes d'opérateurs monoélectroniques dont la forme générale est :

$$O_I = \sum_{i=1}^N h(i) \quad (1.45)$$

$h(i)$ correspond à un opérateur dépendant uniquement des coordonnées d'un électron. Les valeurs moyennes attendues de tels opérateurs ont toujours la forme suivante :

$$\langle O_I \rangle = \langle \Psi_0 | O_I | \Psi_0 \rangle = \sum_a^{N/2} \langle \psi_a | h | \psi_a \rangle = \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} \langle \nu | h | \mu \rangle \quad (1.46)$$

II.5.1.1 Moment dipolaire

Dans le cas du moment dipolaire d'une collection de charges q_i décrites par leur vecteur position \vec{r}_i , sa définition classique est :

$$\vec{\mu} = \sum_i q_i \vec{r}_i \quad (1.47)$$

La définition correspondant à un calcul de mécanique quantique d'une molécule est de la forme :

$$\vec{\mu} = \langle \Psi_0 | - \sum_{i=1}^{N/2} \vec{r}_i | \Psi_0 \rangle + \sum_A Z_A \vec{R}_A \quad (1.48)$$

où le premier terme est la contribution (quantique) des électrons de charge -1, alors que le deuxième terme correspond à la contribution (classique) des noyaux de charge Z_A .

L'opérateur dipôle électronique étant défini par

$$\vec{r} = - \sum_{i=1}^N \vec{r}_i$$

en utilisant l'Equation (1.41), on obtient l'expression du moment dipolaire :

$$\vec{\mu} = - \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} \langle \nu | \vec{r} | \mu \rangle + \sum_A Z_A \vec{R}_A \quad (1.49)$$

Cette équation correspond à une équation vectorielle dont les composantes sont données, dans le cas de la composante x, par :

$$\mu_x = - \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} \langle \nu | x | \mu \rangle + \sum_A Z_A X_A \quad (1.50)$$

I.5.1.2 Analyse de population

Parmi les propriétés que la mécanique quantique numérique permet de calculer, la densité électronique occupe une place de choix. Décrivant la répartition statistique des électrons du système, elle se représente sous la forme de lignes d'isodensité. Elle permet aussi de réaliser une analyse de population qui vise la densité électronique en charges ponctuelles placées sur des centres atomiques réels mais aussi parfois virtuels. Rappelons cependant, que la charge atomique n'a aucune réalité physique. Pourtant bien utile dans les modèles de mécanique moléculaire, elle ne peut être estimée qu'en faisant des approximations.

a) Analyse de Mulliken

Pour construire un modèle simple pour calculer les charges que nous voulons attribuer à chaque atome de la molécule, considérons une molécule diatomique AB. Les orbitales moléculaires sont la combinaison linéaire de deux orbitales atomiques χ_A et χ_B centrées sur A et B respectivement.

Une orbitale moléculaire ϕ_i contenant n_i électrons :

$$\phi_i = c_{Ai} \cdot \chi_A + c_{Bi} \cdot \chi_B$$

La norme au carré de ϕ_i s'écrit :

$$\|\phi_i\|^2 = c_{Ai}^2 + c_{Bi}^2 + 2 \cdot c_{Ai} \cdot c_{Bi} \cdot S_{AB} \quad (1.52)$$

S_{AB} étant le recouvrement entre les deux orbitales atomiques. On peut considérer que c_{Ai}^2 représente la probabilité de trouver un électron, situé dans ϕ_i , localisé sur l'atome A et c_{Bi}^2 de le trouver localisé sur l'atome B. Le terme de recouvrement restant représente plus ou moins une probabilité de délocalisation sur A et B.

L'hypothèse de Mulliken, est de considérer que l'on peut partager cette partie restante par moitié sur chacun des atomes A et B.

Les probabilités de présence de l'électron sur chacun des atomes s'écrivent alors :

$$p_{iA} = c_{Ai}^2 + c_{Ai} \cdot c_{Bi} \cdot S_{AB} \quad \text{et} \quad p_{iB} = c_{Bi}^2 + c_{Ai} \cdot c_{Bi} \cdot S_{AB} \quad (1.53)$$

Si on a n_i électrons sur l'orbitale moléculaire numéro i , et si l'on a N orbitales moléculaire contenant des électrons, on peut calculer la population électronique donc la charge électronique se trouvant sur chacun des atomes ; par exemple sur A :

$$q_A = -e \cdot \sum_i n_i \cdot p_{iA} \quad (1.54)$$

Soit encore en généralisant :

$$q_A = -e \cdot \sum_i \sum_B n_i \cdot (c_{iA}^2 + c_{iA} \cdot c_{iB} \cdot S_{AB}) \quad (1.55)$$

Ou en charge nette :

$$Q_A = e \cdot Z_A - e \cdot \sum_i \sum_{B \neq A} n_i \cdot (c_{iA}^2 + c_{iA} \cdot c_{iB} \cdot S_{AB}) \quad (1.56)$$

$$\text{avec} \quad \sum_A Q_A = \text{charge totale de la molécule}$$

Par définition, les charges de Mulliken dépendent naturellement de la base d'orbitale atomique utilisée, les bases les plus étendues donnant parfois les valeurs les moins réalistes. Pourtant elle reste très utilisée du fait de la simplicité de l'analyse qui la rend disponible dans tous les logiciels.

b) Analyse NBO (Natural Bond Orbitals)

C'est une analyse visant à sommer les degrés d'occupation des NAO (Natural Atomic Orbitals). Les orbitales moléculaires sont délocalisées sur toute la molécule et n'ont généralement aucune ressemblance avec des liaisons covalentes σ ou π si employées dans les raisonnements chimiques habituels. Pourtant, les chevauchements entre les orbitales hybrides inventé par L. Pauling pour décrire les liaisons localisées a un fondement physique fort en la personne de la densité électronique. L'analyse NBO consiste à transformer les N orbitales atomiques en N Natural Atomic Orbitals, puis à combiner les NAO en NHO (Natural Hybrid Orbitals) de façon à décrire l'implication des atomes dans la densité électronique de la molécule. Enfin, les NHO donnent les NBO en se recouvrant. Les orbitales moléculaires ou NBO forment chacun un ensemble d'orbitales solutions de l'équation de Schrödinger monoélectronique. Une différence essentielle est que les orbitales moléculaires possèdent 0, 1 ou 2 électrons tandis que les NBO peuvent posséder un degré d'occupation fractionnel entre 0 et 2 inclus. Les NBO fractionnelles décrivent généralement des orbitales anti-liant responsables des phénomènes de « donneur π », de conjugaison, ... Cette similarité avec les raisonnements chimiques (liaisons covalentes, π , conjugaison, donneur, accepteur) sont à l'origine de la popularité grandissante des orbitales NBO. Elles sont calculées notamment par le logiciel GAUSSIAN.

Les charges NBO sont très peu sensibles à la base d'orbitales atomiques utilisée, ce qui en fait une analyse alléchante pour comparer des travaux avec des logiciels différents et des bases différentes.

In fine, les valeurs de charges ponctuelles varient énormément d'une méthode d'analyse à l'autre. Toutes sont des représentations approximatives de la densité électronique. Par conséquent, le choix d'une méthode est impossible *a priori*.

I.5.1.3 Analyse du Potentiel électrostatique

Les potentiels électrostatiques sont devenus des outils indispensables pour l'analyse de la réactivité. Le potentiel électrostatique représente l'énergie d'interaction électrostatique d'une charge unitaire positive fictive de valeur +1.0 u.a avec tous les noyaux et électrons d'un système moléculaire située en un point de l'espace défini par r et soumis au champ électrique créé par l'environnement moléculaire. L'expression d'une telle propriété s'écrit sous la forme :

$$V_{PES}(r) = \sum_A \frac{Z_A}{|R_A - r|} - \int \frac{\rho(r')}{|r - r'|} dr' \quad (1.57)$$

Les Z_A sont les charges des noyaux aux positions R_A et $\rho(r')$ représente la densité électronique à la position r' . Si l'on admet que l'approche d'une espèce électrophile est conditionnée par l'interaction électrostatique, les régions d'interaction maximale coïncident avec le minima du potentiel électrostatique. La localisation du minimum global déterminera la zone d'interaction la plus probable. L'assimilation des zones d'approche d'une espèce nucléophile aux maxima du potentiel électrostatique est plus délicate, car les maxima coïncident avec la position des noyaux atomiques. L'analyse topologique doit alors être limitée aux zones extérieures aux sphères de Van der Waals [58]. La détermination de cette propriété est importante pour l'étude des interactions moléculaires. De part sa définition, les régions de potentiel électrostatique négatif sont favorables aux attaques électrophiles, tandis que les régions de potentiels positifs sont plus sensibles aux attaques nucléophiles. En générale, elles sont couramment représentées par une carte bidimensionnelle d'isocontours ou par une carte tridimensionnelle.

I.5.2 Étude de quelques descripteurs physico-chimiques.

Pourquoi certaines molécules sont réactives tandis que d'autres elles sont stables ? est il possible de prédire la sélectivité ? Différents théories ont eu l'ambition de traiter ces questions. Parmi celles-ci on peut citer la théorie des orbitales frontières initié par K.Fukui [59,60].

Les différents descripteurs physico-chimiques, tels que le potentiel chimique (μ), la dureté chimique (η), l'électrophilie (ω) ainsi les indices de Fukui ont été utilisés par de nombreux auteurs [61] afin de comprendre les différents aspects de la réactivité chimique et de les relier à la toxicité.

I.5.2.1 Définition de grandeurs globales

On peut classer les descripteurs de réactivité selon le degré de localités auxquels ils correspondent. Ainsi, μ , η , sont des grandeurs indépendantes de l'espace. Ils prennent la même valeur en tout point du système auquel ils se rapportent. On les qualifie de descripteurs globaux. A ce titre ils peuvent permettre de décrire des concepts chimiques tels que la stabilité ou encore la réactivité globale d'une molécule. Il est important de comprendre le sens physique associé à chacun de ces descripteurs pour les utiliser à bon escient comme indicateurs de stabilité, réactivité ou sélectivité.

a) Le potentiel chimique et l'électronégativité

Le potentiel chimique (μ) et l'électronégativité (χ) représentent la tendance d'un atome ou d'une molécule à retenir ses électrons. Elle est définie comme la dérivée de l'énergie par rapport à la densité électronique en un point r de l'espace, à potentiel externe constant. La figure 5 illustre la variation de l'énergie en fonctions du nombre d'électrons d'un système donné :

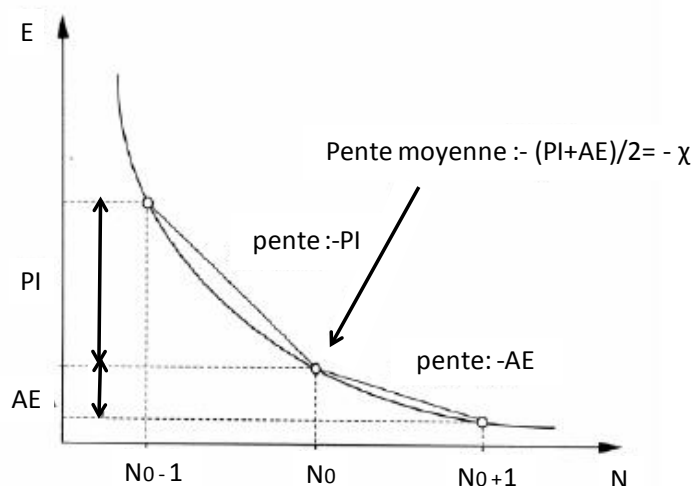


Figure 5 : Variation de l'énergie (E) du système en fonction du nombre total d'électrons (N).

D'après la figure I.5, on peut déduire que la pente $P1$ du segment liant les points (N_0-1) et N_0 n'est autre que $-PI$ par contre la pente $P2$ du segment liant les points N et (N_0+1) n'est autre que $-AE$. Par conséquent, la pente moyenne au point N_0 peut être approchée comme la valeur

moyenne des deux pentes $P1$ et $P2$:
$$pente = -\frac{PI+AE}{2}$$

Cependant, la quantité $-(PI+AE)/2$ n'est autre que l'électronégativité de Mulliken au signe près

$$\chi = (PI + AE)/2 \quad (1 - 58)$$

où PI est l'énergie nécessaire pour arracher un électron d'un système. C'est à dire l'énergie nécessaire pour passer de la molécule neutre (N électrons) au cation ($N-1$ électrons) :

$$PI = E(N - 1) - E(N) \quad (1 - 59)$$

et AE est l'énergie gagnée par un système lorsqu'il capte un électron. C'est à dire le gain d'énergie qu'accompagne le passage d'un système neutre à un anion.

$$AE = E(N) - E(N + 1) \quad (1 - 60)$$

Parr et coll [62,63] ont montré que la pente de la courbe (figure 5) est égale au potentiel chimique électronique μ .

$$\text{pente} = \mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (1 - 61)$$

Cette propriété mesure la tendance des électrons à s'échapper d'une molécule. C'est une constante caractéristique de la molécule. Selon Parr, le multiplicateur de Lagrange qui dérive de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), peut être défini comme le potentiel chimique électronique μ .

$$\mu = -\chi \quad (1 - 62)$$

b) Dureté chimique η

La deuxième propriété qu'on peut tirer à partir de la figure 5 est définie comme la dureté chimique.

$$\eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (1 - 63)$$

En tenant compte de la définition que donne Koopmans à l'évaluation de l'énergie d'ionisation et de l'affinité électronique, dans les équations (1-62) et (1-63), on aura :

$$\eta = \frac{PI - AE}{2} \quad (1 - 64)$$

Donc la dureté chimique exprime la résistance au transfert de charge.

A partir de ces descripteurs globaux, des indices dérivés qui sont des indices d'électrophilie ont été élaborés.

c) L'indice d'électrophilie ω

C'est un descripteur chimique très utilisé dans diverses études de la réactivité moléculaire, son application aux propriétés toxicologiques nous inspire à réaliser des études plus approfondies afin d'évaluer le potentiel toxicologique. On peut définir l'électrophilie d'un système moléculaire comme sa capacité à se lier fortement à un partenaire nucléophile par transfert d'électrons. Un électrophile de potentiel chimique μ et de dureté η , en contact avec un réservoir d'électrons de potentiel chimique nul acceptera des électrons jusqu'à ce que son potentiel chimique devienne nul lui aussi, en accord avec le principe d'égalisation des électronégativités de Sanderson [64]. La quantité d'électrons nécessaire pour saturer l'électrophile est donc donnée par :

$$\Delta\mu_{el} = -\mu_{el} = \eta_{el}\Delta N_{sat} \leftrightarrow \Delta N_{sat} = -\frac{\mu_{el}}{\eta_{el}} \quad (1 - 65)$$

Suite à ce flux d'électrons, l'énergie électronique de l'électrophile est stabilisée d'une quantité :

$$\Delta E_{el} = \mu_{el}\Delta N_{sat} + \frac{1}{2}\eta_{el}(\Delta N_{sat})^2 = -\frac{1}{2}\frac{\mu_{el}^2}{\eta_{el}} \quad (1 - 66)$$

Plus l'énergie de stabilisation est importante, plus le système est électrophile, de sorte qu'une mesure de l'électrophilie ω d'un système peut être définie par [62] :

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (1 - 67)$$

ω est appelé « indice global d'électrophilie ». Il s'agit d'une grandeur positive. Plus la valeur de ω est élevée, plus le système est électrophile. Ce sont en réalité des études expérimentales menées par Maynard et al. [65] qui ont conduit Parr et al [62]. à penser que ω pouvait être un bon indice d'électrophilie.

I.5.2.2 Les grandeurs locales

Si l'étude de la réactivité des espèces se basent sur les indices globaux, déduits des propriétés électroniques, l'étude de la sélectivité doit s'appuyer sur des indices locaux. Le premier indice local de la réactivité correspond à la fonction de Fukui.

a) Les indices de Fukui

La fonction de Fukui est définie comme la réponse du potentiel chimique électronique, à la variation du potentiel externe en un point [66].

$$f(r) = \left(\frac{\partial\rho(r)}{\partial N}\right)_{v(r)} = \left(\frac{\delta\mu}{\delta v(r)}\right)_N \quad (1 - 68)$$

La fonction de Fukui à la caractéristique d'être normalisée [61].

$$\int f(r)dr = 1 \quad (1 - 69)$$

Du point de vue chimique, il est important de différencier la réponse de la densité électronique lors de l'ajout ou du retrait, c'est-à-dire distinguer les attaques nucléophiles et les attaques électrophiles.

C'est pourquoi, deux fonctions de Fukui différentes ont été proposées :

$$f^+(r) = \left(\frac{\partial\rho(r)}{\partial N}\right)_{v(r)}^+ \quad (1 - 70)$$

$$f^-(r) = \left(\frac{\partial\rho(r)}{\partial N}\right)_{v(r)}^- \quad (1 - 71)$$

Ainsi au cours d'un transfert d'électron d'un nucléophile vers un électrophile, ce sont les sites de l'électrophile (E) ou f^+ est la plus grande qui vont voir leur densité électronique augmentée considérablement et ce sont les sites du nucléophile (Nu) ou f^- est la plus grande qui vont perdre le plus de densité électronique. La fonction de Fukui f^+ (f^-) permet de différencier au sein d'un même système moléculaire, les sites les plus aptes à recevoir (perdre) de la densité électronique. En revanche pour la plupart des études de sélectivité chimique, les fonctions de Fukui sont calculées à l'aide des charges de Mulliken ou NBO comme suites :

- Pour une attaque nucléophile :

$$f_k^+ = q_k(N + 1) - q_k(N) \quad (1 - 72)$$

- Pour une attaque électrophile :

$$f_k^- = q_k(N) - q_k(N - 1) \quad (1 - 73)$$

- Pour une attaque radicalaire :

$$f_k^0 = [q_k(N + 1) - q_k(N - 1)]/2 \quad (1 - 74)$$

avec :

q_k : Population de charge électronique de l'atome k dans une molécule.

$q_k(N+1)$: Population de charge électronique de l'atome k dans une molécule chargée positivement.

$q_k(N-1)$: Population de charge électronique de l'atome k dans une molécule chargée négativement.

N : Nombre d'électrons du système.

Une valeur élevée de f_k^+ indique que l'atome k présente un caractère électrophile prêt à une attaque nucléophile sur son site, par ailleurs une valeur élevée de f_k^- signifie que le site de l'atome k présente un caractère nucléophile qui est disponible pour une attaque électrophile.

a-1 Électrophilie locale

Un système peut avoir un certain pouvoir électrophile global, cela ne signifie pas que tous les sites réactionnels le constituant ont la même capacité à recevoir des électrons, d'où la nécessité de définir un pouvoir électrophile local. Comme il a été dit précédemment l'électrophilie globale ω mesure la réactivité de la molécule, par contre l'électrophilie locale ω^+ [61] définit la réactivité de l'atome considéré. Le site où la valeur de ω_k^+ est maximale est considérée comme un site actif.

Cet indice tient compte à la fois du pouvoir électrophile global du système, et de la différence de réactivité des différents sites le constituant il est défini comme suit :

Pour une attaque nucléophile, nous avons :

$$\omega_k^+ = \omega f_k^+ \quad (1 - 75)$$

La nucléophilie locale ω_k^- est définie comme suit:

$$\omega_k^- = \omega f_k^- \quad (1 - 76)$$

Bibliographie

- 1- J. Slater, "*Quantum Chemistry of Atomic Structure*, Vol 1". McGraw Compagny, New York, **1960**.
- 2- C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models* (Wiley, Chichester, **2002**).
- 3- A. Szabo et N. Ostlund, *Modern quantum chemistry*, McGraw-Hill, New York) **1989**.
- 4- F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, Wiley, Chichester, **1999**.
- 5- M. Sringborg, *Methods of Electronic-structure Calculations : From Molecules to Solids* Wiley, Chichester, **2000**.
- 6- X. Assfeld, N. Ferré. *Manual for Hybrid Quantum Mechanical/Molecular Mechanics calculations within the Local Self-Consistent Field method and the Link-Atom scheme*, **2009**.
- 7- S. Grimme, *J. Comp. Chem.*, 27, 1787-1799, **2006**.
- 8- S. Grimme et al., *J. Chem. Phys.*, 132,154104, **2010**.
- 9- C. Møller, M. S. Plesset, *Phys. Rev.* 46, 618-622, **1934**.
 - (a) E.W. Schlag; P. Hozba; H.L. Selzle *Chem. Rev.*, 94, 1767, **1994**.
 - (b) P. Hobza; K. Müller-Dethlefs *Chem. Rev.*, 100, 143, **2000**.
 - (c) K.S. Kim; P. Tarakeshwar; J. Yong Lee *Chem. Rev.*, 100, 4145, **2000**.
- 10- P. Hohenberg et W. Kohn, *Phys. Rev. B.* 136, 864, **1964**.
- 11- R. G. Parr and W. Yang, *Density Functional Theory for Atoms and Molecules*, Oxford University Press, **1989**.
- 12- R. M. Deizler and E. K. U. Gross, *Density Functional Theory*; Springer-Verlang : Heidelberg, Germany, **1995**.
- 13- E. J. Baerends and O. V. Gritsenko, *J. Phys. Chem. A.* , 101, 5383, **1997**.
- 14- W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev.* 140, 1133-1138, **1965**.
- 15- P. A. M. Dirac, *Proc. Camb. Phil. Soc.*, 26, 376, **1930**.
- 16- J. C. Slater, *Phys. Rev.*, 81, 385, **1951**.
- 17- (a) R. Jaffe; G.D. Smith *J. Chem. Phys.* 105, 163, **1996**.
 - (b) J. Nagy; V.H. Smith Jr.; D.F. Weaver *J. Phys. Chem.*, 99, 13868, **1995**.
 - (c) P. Hobza; L. Heinrich; E. W. Schlag *J. Phys*, 100, 18790, **1996**
- 18- S. Tsuzuki; K. Honda; T. Uchimaru; M. Mikami *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 104.
- 19- D. M. Ceperley and B. J. Alder, *Phys. Rev. Lett.*, 45, 566, **1980**.
- 20- S.H. Vosko, L. Wilk, M. Nusair, *Can. J. Phys.*, 58, 1200, **1980**.
- 21- A. Becke, *Phys. Rev. B*, 38, 3098, **1988**.

- 22- J. P. Perdew et Y. Wang, *Phys. Rev. B*, 33, 8800, **1986**.
- 23- J. P. Perdew et Y. Wang, *Phys. Rev. B*, 45, 13244, **1992**.
- 24- C. Lee, W. Yang, et R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 37, 785, **1988**.
- 25- J. P. Perdew, J. A. Chevary, S. H. Vosko, K. A. Jackson, M. R. Pederson, D. J. Singh, and C. Fiolhais, *Phys. Rev. B*, 46, 6671, **1992**.
- 26- C. Lee, W. Yang, and R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 37, 785, **1988**.
- 27- K. Morokuma *Acc. Chem. Res.*, 10, 294, **1977**.
- 28- P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, and M. J. Frisch. *Journal of Physical Chemistry*, 98 (45):11623-11627, **1994**.
- 29- A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 98, 5648, **1993**.
- 30- J. P. Perdew and Y. Wang, *Phys. Rev. B*, 45, 13244, **1992**.
- 31- J. P. Perdew, K. Burke, and Y. Wang, *Phys. Rev. B*, 54, 16533, **1996**.
- 32- A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 98, 1372, **1993**.
- 33- C. Adamo and V. Barone, *J. Chem. Phys.*, 110, 6158, **1999**.
- 34- S. Kristy'an et P. Pulay, *Chem. Phys. Lett.*, 229, 175, **1994**.
- 35- U. Zimmerli, M. Parrinello, et P. Koumoutsakos, *J. Chem. Phys.*, 120, 2693, **2004**.
- 36- S. Grimme, *J. Comput. Chem.*, 25, 1463, **2004**.
- 37- I. Mackie et G. DiLabio, *J. Phys. Chem. A* 112, 10968, **2008**.
- 38- M. Elstner, P. Hobza, T. Frauenheim, S. Suhai, et E. Kaxiras, *J. Chem. Phys.* 114, 5149, **2001**.
- 39- J. Antony et S. Grimme, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8, 5287, **2006**.
- 40- T. Schwabe et S. Grimme, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9, 3397, **2007**.
- 41- S. Grimme, C. Diedrich, et M. Korth, *Angew Chem Int Ed Engl*, 45, 625, **2006**.
- 42- V. Barone, M. Biczysko, et M. Pavone, *Chem. Phys.* 346, 247, **2008**.
- 43- E.A Meyer; R.K Castellano; F. Diederich *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 42, 1210, **2003**.
- 44- N. Kannan; S. Vishveshwara *Protein Eng.* 13, 753, **2000**.
- 45- V.H. Smith Jr.; G. Duan; D.F. Weaver. *Chem. Phys. Lett.* 310, 323, **1999**.
- 46- (a) S.K. Burley; G.A. Petsko *Science*, 229, 23, **1985**.
(b) S.K. Burley; G.A. Petsko. *Adv. Protein. Chem.* 39, 125, **1988**.

- 47- K.C. Janda; J.C Hemminger; J.S. Winn; S.E. Novick; S. J. Harris; W. Klemperer *J. Chem. Phys.*, **63**, 1419, **1975**.
- 48- J.M. Steed, T.A. Dixon and W. Klemperer. *J. Chem. Phys.*, **70**, p. 4940, **1979**.
- 49- (a) R. Jaffe; G.D. Smith *J. Chem. Phys.* **105**, 163, **1996**.
(b) J. Nagy; V.H. Smith Jr.; D.F. Weaver *J. Phys. Chem.*, **99**, 13868, **1995**.
(c) P. Hobza; L. Heinrich; E.W. Schlag. *J. Phys.*, **100**, 18790, **1996**.
(d) S. Sun; B.R. Berstein *J. Phys. Chem.*, **100**, 13384, **1996**.
- 50- S. Tsuzuki; K. Honda; T. Uchimarui; M. Mikami *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 104, **2002**.
- 51- Chipot, C, Jaffe, R, Maigret, B, Pearlman, DA, Kollman, PA, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118,45, 11 217–11 224
- 52- C.A. Hunters; J.K.M. Sanders *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 5525, **1990**.
- 53- K. Müller - Dethlefs; P. Hozba *Chem. Rev*, **100**, 143, **2000**.
- 54- V.H. Smith Jr.; G. Duan; D.F. Weaver. *Chem. Phys. Lett.* **310**, 323, **1999**.
- 55- J.H. Williams *Acc. Chem. Res*, **26**, 593, **1993**.
- 56- (a) S. Suzuki; P.G. Green; R.E. Bumgarner; S. Dasgupta *Science*, **257**, 942, **1992**.
(b) J. L. Atwood; F. Hamada; K. D. Robinson; G.W. Orr and R.L. Vincent. *Nature* **1991**
(c) G. Waskman; D. Kominos; S.C. Robertson; N. Pant *Nature*, **358**, 646, **1992**.
(d) D. A. Rodham; S. Susuki; R. D. Suenram; F. J. Lovas *Nature* **1993**, 362, 735.
- 57- (a) J. Singh; J. M. Thornton *J. Mol. Biol.*, **211**, 595, **1990**.
(b) J. B. O. Mitchell, C.L. Nandi; S. Ali; I. K. MacDonald *Nature*, **366**, 413, **1993**.
(c) J. B. O. Mitchell, C.L. Nandi; I.K. MacDonald *J. Mol. Biol.*, **239**, 315, **1994**.
- 58- M. Bernard, « Molecular Electrostatic Potentials, Chapter 11 », edited by J. S. Murray and K. Sen, Elsevier, **1996**.
- 59- Fukui, K. ; Yonezawa, Y ; Shingu, H. *J. Chem. Phys.* **152**, 20, 722.
- 60- R. G. Parr W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 4049, **1984**.
- 61- Chattaraj, P. K. Maiti, B. ; Sarkar, (Unified treatment of chemical reactivity and selectivity. *U. J. Phys. Chem. A*, **107**, 4973-4975. **2003**.
- 62- R. G. Parr, L. v. Szentpaly et S. Liu, *Electrophilicity index* , *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 1922-1924, **1999**.
- 63- Pearson, R. G. Chemical hardness-Applications from molecules to solids, VCH-Wiley: Weinheim, Germany, **1997**.
- 64- Sanderson, R.T. *Science* **114**, 170, **1951**.
- 65- Maynard, A.T.; Huang, M.; Rice, W. G.; Covell, D. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 11578, **1998**.
- 66- Fukui, K., Role of frontiere orbitals in chemical reactions, *science*, **218**, 747.

CHAPITRE II
Traitement des systèmes complexes
par QM/MM

Modélisation moléculaire

II.1 La Mécanique Moléculaire

Les méthodes quantiques, évoquées dans la partie I, se caractérisent par le haut degré de précision qu'elles peuvent atteindre et plus particulièrement de la fonction d'onde. Lorsque le nombre d'atomes devient très important (plusieurs milliers d'atomes), il n'est plus possible d'utiliser ces méthodes. Leur coût calculatoire en termes de temps et de ressources informatiques peut devenir très important, comme l'étude de systèmes biologiques tels que les protéines par exemple. Ce coût est dû au calcul de l'énergie électronique pour une configuration nucléaire donnée. Il est alors indispensable d'avoir recours aux méthodes basées sur la mécanique classique. Le tableau II.1 suivant nous illustre une estimation temporelle d'un système traité au niveau quantique.

Tableau II.1: Temps de calcul SCF (méthode ab-initio) en CPU d'un peptide [1] :

Nombre de résidus	Temps de calcul
2	8 secondes
5	2.1minutes
10	16.7 minutes
20	2.2 heures
50	1.4 jours
100	11.6 jours
200	3.1mois
500	4ans
1000	31.7 ans
2000	253.6 ans

La mécanique moléculaire est apparue en 1930. Elle a commencé à se développer réellement à partir des années 60 avec l'accessibilité et les performances de l'outil informatique [2].

Elle permet de déterminer la conformation des molécules et leurs propriétés thermodynamiques. Cette méthode ne traite pas explicitement les électrons et ne peut pas modéliser correctement les phénomènes impliquant des variations importantes de densité électronique. Par contre c'est une méthode rapide et adaptée aux gros systèmes moléculaires. Quoiqu'il en soit, les méthodes qui en découlent présentent un inconvénient majeur car elles ne peuvent pas décrire les dissociations et les formations des liaisons chimiques.

Pour pallier ces défauts, des méthodes mixtes, notées QM/MM, ont été développées et permettent de traiter le centre actif au niveau quantique et l'environnement au niveau classique [3].

II.2 Les champs de forces

Les champs de force sont un des ingrédients des logiciels de modélisation moléculaire les plus délicats à mettre en œuvre [4]. En effet, ils contiennent tous les paramètres qui entrent en jeu dans la simulation (minimisation d'énergie). Celle-ci utilise ces paramètres pour calculer l'énergie moléculaire et les forces qui s'exercent sur chacun des atomes. Les champs de force contiennent les valeurs d'équilibre pour les longueurs de liaisons atomiques, les angles de liaison, les angles dièdres, les torsions hors du plan pour des atomes liés à un cycle aromatique. L'optimisation d'un champ de force peut être accomplie en ajustant les paramètres du potentiel de telle sorte que les fréquences de vibrations, la conformation et les données thermodynamiques (enthalpie) calculées soient en accord avec celles observées expérimentalement (optimisation par la méthode des moindres carrés) [5,6]. Les champs de force sont calculés, testés et affinés à partir :

- de bases de données cristallographiques [7-8] et d'énergie d'empilement dans les cristaux ("crystal packing" [9].
- de calculs de chimie théorique [10,11], stabilité des nucléotides cycliques [Marsh et coll., 1980], calculs *ab initio* ou empiriques. pour les charges [12] ou pour les champs de force de valence [13].
- de la comparaison énergétique des différentes conformations d'une petite molécule [14] : énergie de transition chaise-bateau du méthylcyclohexane, n-alcanes...
- de données spectroscopiques [15] : vibrations dans l'infrarouge, vibrations Raman...

Les paramètres des champs de force sont aussi testés, par exemple en contrôlant le comportement d'une macromolécule en simulation de dynamique moléculaire dans le champ de force [16]. Les molécules sont donc décrites comme, un ensemble d'atomes par leurs paramètres. Ces derniers interagissent entre eux par des potentiels prédéfinis suivant les lois de la mécanique newtonienne, définissant ainsi la fonction d'énergie potentielle du champ de force considéré [17, 19]. Dans ce travail, nous avons utilisé le champ de force Amber 99 [20] inclus dans le logiciel Tinker.

II.2.1 Minimisation

La mécanique moléculaire a pour but de trouver le minimum de la fonction d'énergie $E(\mathbf{x})$ décrite au dessus (\mathbf{x} : vecteur des coordonnées du système par rapport auxquelles est définie l'énergie). Pour avoir un minimum global de l'énergie, il serait nécessaire de parcourir tout l'espace des variables indépendantes, ce qui est impossible vu leur nombre. Toutes les méthodes de minimisation ne permettent de trouver que des minimums locaux et la surface d'énergie pour un tel nombre de variables est très accidentée. Les structures trouvées par minimisation d'énergie sont donc toujours relativement proches de la structure de départ. Les méthodes de minimisation utilisées en simulation moléculaire sont dites "de gradients", c'est à dire que la recherche du minimum en un point est faite dans la direction opposée au gradient ($-\frac{\partial E}{\partial \mathbf{x}}$) de la fonction énergie par rapport aux coordonnées, c-à-d. dans le sens de la plus grande pente.

II.2.1.1 La fonction d'énergie potentielle

De manière générale, la fonction d'énergie potentielle d'un système moléculaire comprenant M atomes de position $\{\mathbf{r}_A\}_{1 \leq A \leq M}$, est définie par la relation suivante :

$$V^{MM}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_M) = \underbrace{V_{liaisons} + V_{angles} + V_{diédres} + V_{impropres}}_{\text{liés}} + \underbrace{V_{vdW} + V_{elec}}_{\text{non-liés}} \quad (2.1)$$

où $V_{liaisons}$, V_{angles} et $V_{diédres}$ représentent respectivement l'énergie potentielle des liaisons, des angles de valence, des dièdres et des dièdres impropres. Ces quatre termes sont regroupés dans les potentiels concernant les termes liés. On définit aussi les termes correspondant aux interactions non-liées, V_{vdW} et V_{elec} qui sont les potentiels d'interaction de van der Waals (vdW) et électrostatiques.

Dans les champs de forces les plus communs, les termes liés suivent en général, les relations suivantes :

$$V_{liaisons} = \sum_{\text{liaisons}} \frac{1}{2} k_r (r - r_0)^2 \quad (2.2)$$

$$V_{angles} = \sum_{\text{liaisons}} \frac{1}{2} k_r (\theta - \theta_0)^2 \quad (2.3)$$

$$V_{diédres} = \sum_{diédres} \sum_n \frac{V_n}{2} [(1 \cos(n\phi - \gamma))] \quad (2.4)$$

$$V_{impropres} = \sum_{impropres} \frac{1}{2} k_i d^2 \quad (2.5)$$

L'énergie de liaison (ou d'angle) est décrite par un potentiel harmonique, de constante de force k_r (ou k_θ) et de valeur géométrique à l'équilibre égale à r_0 (ou θ_0). Le potentiel correspondant aux angles dièdres est développé en série de Fourier, ce qui permet de reproduire le caractère périodique de ce potentiel. Les valeurs de V_n permettent de reproduire le profil de torsion, tandis que ϕ représente l'angle de torsion et γ le déphasage à l'origine. Dans la plupart des champs de forces, on considère aussi les angles dièdres impropres. Ces derniers permettent de contraindre la géométrie de molécules, ils servent notamment dans le cas où on veut contraindre la planéité d'un groupement d'atomes (*e.g.* un groupement carbonyle : empêcher la pyramidalisation d'un atome hybride sp^2 , avec une constante de raideur k_i et d représente la distance entre le plan défini par les trois premiers atomes et le dernier). Dans la majorité des cas, on peut convertir un angle dièdre impropre en un angle dièdre à quatre atomes.

Considérons maintenant les termes non-liés. Leurs expressions sont données par :

$$V_{vdW} = \sum_{A>B} 4\varepsilon_{AB} \left[\left(\frac{\sigma_{AB}}{R_{AB}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{AB}}{R_{AB}} \right)^6 \right] \quad (2.6)$$

$$V_{elec} = \sum_{A>B} \frac{q_A q_B}{R_{AB}} \quad (2.7)$$

où V_{vdW} représente le potentiel de Lennard-Jones (LJ) 6-12, tel que le terme en r^{-12} du potentiel de LJ correspond à la répulsion à très courte portée (non inter-pénétrabilité des nuages électroniques ou violation du principe de Pauli et répulsion noyau-noyau), tandis que le terme en r^{-6} reproduit l'attraction à longue portée principalement due aux forces de dispersion³. Le potentiel V_{elec} représente l'interaction coulombienne entre deux charges q_A et q_B .

Dans la majeure partie des cas, les paramètres $\{\varepsilon_{AB}\}_{\substack{1 \leq A \leq M \\ 1 \leq B \leq M}}$ et $\{\sigma_{AB}\}_{\substack{1 \leq A \leq M \\ 1 \leq B \leq M}}$ entre deux atomes A et B sont calculés d'après les règles de combinaisons de Lorentz-Berthelot⁴ :

$$\varepsilon_{AB} = \sqrt{\varepsilon_A \varepsilon_B} \quad (2.8)$$

$$\sigma_{AB} = \frac{\sigma_A + \sigma_B}{2} \quad (2.9)$$

Les interactions non-liées suivent, dans la plupart des cas, la condition 1-4. Celle-ci stipule que les interactions entre deux atomes sont prises en compte, s'ils sont séparés par au moins trois liaisons. Dans le cas d'une séparation par trois liaisons, les interactions électrostatiques et de vdW sont pondérées par un facteur préalablement défini, afin d'illustrer que les deux atomes interagissent déjà par un angle dièdre. Pour les séparations supérieures à trois liaisons, l'interaction totale est prise en compte.

II.2.1.2 Champs de forces usuels

En mécanique moléculaire, il existe un grand nombre de champ de force, plus ou moins spécialisés dans un domaine d'application précis. Nous ne citerons ici que les plus connus :

- Le champ de forces AMBER [21-26] (*Assited Model Building with Energy Refinement*) est le champ de forces le plus connu, et le plus utilisé. Il a été développé par le groupe de Peter Kollmann, puis de David Case. Il existe plusieurs versions de ce champ de forces (*ff96, ff99 ou bien encore ff03*), qu'on verra dans l'annexe programme (2.1). Ce champ de forces est très spécifique à l'étude des systèmes biologiques et plus particulièrement aux protéines et aux acides nucléiques⁵.
- La version GAFF (*Generalized AMBER Force Field*) de ce champ de forces a été développée pour les molécules organiques.
- Le champ de force CHARMM [27-29] (*Chemistry at HARvard using Molecular Mechanics*), développé par Karplus et collaborateurs, est lui aussi principalement utilisé pour les systèmes biologiques. Sa fonction énergie potentielle est quasi-identique à celle du champ de forces AMBER.

³Dans les versions précédentes des champs de forces, un terme prenant en compte l'interaction spécifique par la liaison hydrogène (LH) était présente, de forme $\sum_{LH} \left[\frac{C_{AB}}{R_{AB}^{12}} - \frac{D_{AB}}{R_{AB}^{10}} \right]$.

⁴Le champ de force OPLS (section 2.3) utilise une moyenne géométrique pour calculer à la fois ε_{AB} ($\varepsilon_{AB} = \sqrt{\varepsilon_A \varepsilon_B}$), mais aussi σ_{AB} ($\sigma_{AB} = \sqrt{\sigma_A \sigma_B}$).

⁵Dans le cas des acides nucléiques, un potentiel de LJ 10-12 est utilisé.

- Le champ de force OPLS [30,31] (*Optimized Potential for Liquid Simulation*), basé sur certains paramètres d'AMBER, est plutôt utilisé pour les composés organiques. Il est développé par le groupe de Jørgensen.
- Les champs de forces MM [32], MM2 [33], MM3 [34-36] et MM4 [37,38] de Allinger et col. sont des champs de forces beaucoup plus généraux. Ils utilisent une fonction énergie potentielle très différente, des trois champs de forces ci-dessus. Par exemple, le champ de force MM3 contient des termes d'interactions additionnels [35] (liaison-angle, liaison-torsion, angle-angle) comparé aux champs de forces usuels.
- Dreiding [39] et UFF [40] (*Universal Force Field*), implanté dans le programme Gaussian03 et développés par Goddard et collaborateurs. Ces deux champs de forces, dits universels, déterminent les différents paramètres à l'aide des propriétés atomiques des éléments (rayons atomiques, potentiels d'ionisation, électronégativités, polarisabilités, etc.) ils permettent donc de couvrir l'ensemble des éléments de la classification périodique. Bien qu'ils permettent d'obtenir des géométries qualitativement bonnes, les résultats concernant les énergies conformationnelles sont souvent moins concluants.
- AMOEBA (Atomic Multipole Optimized Energetics for Biomolecular Applications), champ de forces polarisables basé sur des multipôles atomiques [41-43].

L'écriture et la paramétrisation de ces champs de forces diffèrent, mais ils possèdent tous des termes de valences et des termes d'interaction d'atomes non-liés.

Dans le champ de force AMBER que nous avons utilisé dans notre étude, l'énergie potentielle V d'un système moléculaire en interaction contient plusieurs composantes qui modélisent les forces intra et intermoléculaires.

Son équation s'écrit comme suit:

$$\begin{aligned}
 E = & \sum_b \frac{1}{2} k_b (r - r_b)^2 + \sum_a \frac{1}{2} k_a (\theta - \theta_a)^2 + \sum_d \sum_n \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) \\
 & + \sum_i \sum_{j>i} \left\{ \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right\} \quad (2.10)
 \end{aligned}$$

II.3 Les Méthodes Hybrides QM/MM

Comme on l'a déjà évoqué, la mécanique moléculaire ne permet pas de traiter la réactivité des molécules. Quant aux méthodes quantiques, elles sont rapidement limitées par la taille du système étudié.

Les méthodes QM/MM sont nées alors de ce besoin de traiter des milieux étendus et réactifs. Elles consistent généralement, à traiter le centre actif au niveau quantique tout en modélisant le reste du système par la mécanique moléculaire (voir fig. II.1). On peut ainsi explorer des systèmes complexes comportant quelque centaines, voir quelques milliers d'atomes. Le concept a été initialement proposé par Warshel et Levit en 1976 [44]. Depuis, de nombreuses méthodes différentes ont été développées et sont désormais couramment utilisées sur des systèmes variés [45-53].

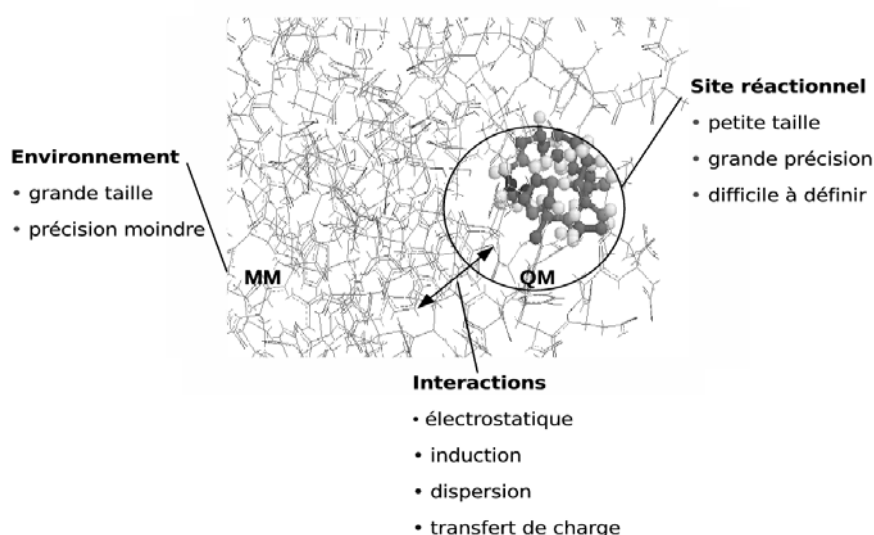


Figure II.1: Exemple d'application de la méthode hybride QM/MM à un système moléculaire.

II.3.1 Théorie

II.3.1.1 Hamiltonien QM/MM

Dans le cas de la méthodologie QM/MM, l'hamiltonien total du système $\hat{\mathcal{H}}$ s'écrit, sous la forme conventionnelle, de la manière suivante :

$$\hat{\mathcal{H}}_{total} = \hat{\mathcal{H}}^{QM} + \hat{\mathcal{H}}^{QM/MM} + \hat{\mathcal{H}}^{MM} \quad (2.11)$$

Où $\hat{\mathcal{H}}^{QM}$ et $\hat{\mathcal{H}}^{MM}$ sont les hamiltoniens de la partie QM et MM respectivement. L'hamiltonien $\hat{\mathcal{H}}^{QM/MM}$ correspond à l'interaction entre les parties QM et MM, et il définit les spécificités des différentes approches.

Comme précédemment, on peut séparer l'hamiltonien $\hat{\mathcal{H}}^{QM}$ en deux parties correspondant à l'hamiltonien de la partie électronique et la partie nucléaire ($\hat{\mathcal{H}}_{elec}^{QM}$ et $\hat{\mathcal{H}}_{nucl}^{QM}$):

$$\hat{\mathcal{H}}^{QM} = \hat{\mathcal{H}}_{elec}^{QM} + \hat{\mathcal{H}}_{nucl}^{QM} \quad (2.12)$$

où

$$\hat{\mathcal{H}}_{elec}^{QM} = -\frac{1}{2} \sum_i^n \Delta_i - \sum_i^n \sum_A^M \frac{Z_A}{|R_A - r_i|} + \sum_i^n \sum_{j>i}^n \frac{1}{|r_j - r_i|} \quad (2.13)$$

$$\hat{\mathcal{H}}_{nucl}^{QM} = \sum_A^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{|R_B - R_A|} \quad (2.14)$$

L'hamiltonien $\hat{\mathcal{H}}^{QM/MM}$ s'explique suivant cette relation :

$$\hat{\mathcal{H}}^{QM/MM} = V_{elec}^{QM/MM} + V_{nucl}^{QM/MM} + V_{vdW}^{QM/MM} \quad (2.15)$$

où $V_{elec}^{QM/MM}$, $V_{nucl}^{QM/MM}$ et $V_{vdW}^{QM/MM}$ sont les potentiels d'interactions électron-charge, noyau-charge et de van der Waals (vdW) respectivement. $V_{vdW}^{QM/MM}$ représente l'interaction de vdW donnée par la relation (2.6), entre l'ensemble des atomes (QM et MM). Ceci nécessite donc la connaissance des paramètres $\{\epsilon_A \sigma_A\}_{A \in QM}$ pour les atomes de la partie QM. Le choix le plus commun est d'utiliser les paramètres du champ de forces MM considéré pour les atomes de la partie QM. Cependant ceci n'est pas toujours possible, et une reparamétrisation des atomes est nécessaire [37]. Quant à $V_{nucl}^{QM/MM}$ est donné par la relation :

$$V_{nucl}^{QM/MM} = \sum_A^M \sum_{B \in MM} \frac{Z_A q_B}{|R_B - R_A|} \quad (2.16)$$

II.3.1.2 Énergie QM/MM

En accord avec la décomposition de l'hamiltonien précédente, on définit alors l'énergie totale E d'un système QM/MM^a (ou QM : MM) comme la somme des énergies de la partie QM, E^{QM} , de la partie MM, E^{MM} , et de l'énergie entre les deux parties $E^{QM/MM}$:

$$E_{total} = E^{QM} + E^{QM/MM} + E^{MM} \quad (2.17)$$

$$= E_{elec}^{QM} + E_{nucl}^{QM} + E_{elec}^{QM/MM} + E_{nucl}^{QM/MM} + E_{vdW}^{QM/MM} + E^{MM} \quad (2.18)$$

$$E_{elec}^{QM/MM} = \langle \Psi | - \sum_i^n \sum_{B \in MM} \frac{q_B}{|R_B - r_i|} | \Psi \rangle \quad (2.19)$$

L'énergie électronique de la partie quantique E_{elec}^{QM} , diffère selon les méthodes utilisées pour les problèmes de la coupure d'une liaison covalente dans le cas du couplage QM/MM. Les coupures en QM/MM seront détaillées plus loin.

Nous verrons ci-après que le couplage électrostatique entre le système modèle et son environnement peut être traité selon les schémas suivants.

II.3.1.3 Couplage "Embedding" mécanique

L'énergie du système modèle est calculée au niveau QM sans tenir compte de la présence des charges extérieures. Les interactions électrostatiques entre le système modèle et le système extérieur sont traitées seulement au niveau MM. Dans le cas d'un calcul QM/MM ou QM : MM, le potentiel $V_{elec}^{QM/MM}$ est donc calculé grâce à la relation (2.7).

Il faut donc disposer d'un jeu de charges classiques pour les atomes quantiques. On peut résoudre ce problème en utilisant les charges natives du champ de forces pour les atomes de la partie QM. Néanmoins, ceci n'est pas toujours disponible. Pour obtenir un jeu de charges pour les atomes QM, un moyen simple et peu coûteux, consiste à dériver les charges du potentiel électrostatique de la partie quantique.

^a QM/MM utilise diverses descriptions pour des régions différentes d'une molécule, il est alors possible pour des systèmes de tailles conséquentes, de procéder à l'étude théorique des processus chimiques traités localement par mécanique quantique (QM) alors que le reste des interactions est traité physiquement par mécanique quantique (MM).

Cette procédure permet par exemple, d'obtenir des charges Mertz-Kollman [54] (MK), CHELP [55] (*Charges from Electrostatic Potential*) ou CHELPG [56] (*Charges from Electrostatic Potential Grid Method*).

La contribution électrostatique de l'environnement ne modifie pas le Fockien de la partie QM. Dès lors la partie QM n'est pas polarisée par l'environnement électrostatique. Alors que ce terme est particulièrement important lorsque le phénomène chimique étudié engendre un transfert de charges.

II.3.1.4 Couplage " Embendding" électrostatique

Contrairement au schéma ME, le schéma Electronic Embendding (EE) polarise la fonction d'onde QM et donc sa densité de charge. En effet, le calcul QM sur le système modèle est effectué en incluant les interactions électrostatiques avec les charges extérieures. Ces charges sont les charges partielles des atomes appartenant au système extérieur et sont pris en compte dans le processus de convergence SCF.

Le Hamiltonien de cœur se voit donc modifié par l'introduction d'un terme :

$$V_{elec}^{QM/MM} = \sum_i^n \sum_{B \in MM} \frac{q_B}{|R_B - r_i|} \quad (2.20)$$

L'EE est très souvent implémenté dans les méthodes QM/MM, cependant son cout calculatoire est évidemment plus important que l'approche ME, mais il est souvent négligeable par rapport au calcul QM (le calcul des intégrales biélectroniques étant beaucoup plus couteux par exemple). Ce schéma est maintenant le plus utilisé dans le calcul QM/MM et QM:MM.

II.4 Les différentes méthodes de QM/MM

La connexion entre les deux systèmes, QM et MM, joue un rôle très important dans la précision et l'efficacité de la méthode. Il existe deux approches pour le traitement des liaisons de frontière :

- L'approche utilisant des atomes de saturations ("Link-atom") [58,59]. Des atomes d'hydrogène sont ajoutés pour saturer la valence des atomes QM de frontière. Ces atomes ajoutés n'interagissent pas avec les atomes MM mais ils sont inclus dans le calcul QM (voir figure 8), quand le sous-système I est lié de manière covalent au sous système ε , le premier atome QM sera noté X_1 et le premier atome MM sera noté Y_1 .

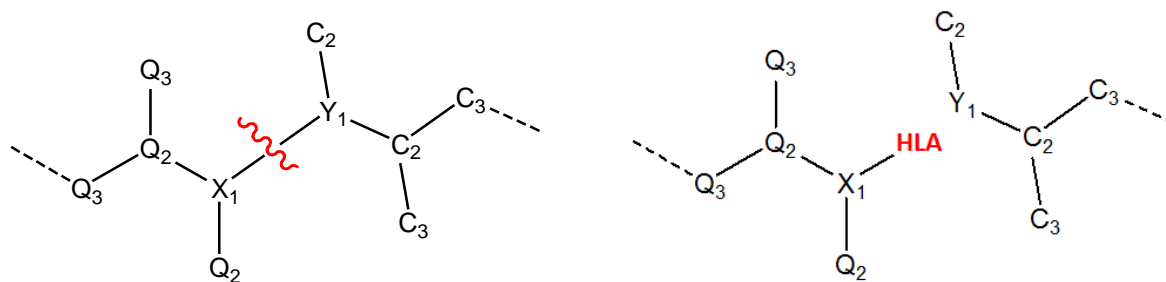


Figure II.2: Notation pour les systèmes QM/MM. Les atomes de la partie QM sont notés Q, le reste de l'environnement est noté C. le premier atome de la partie QM(MM) est noté X(Y)

La coupure d'une liaison covalente introduit trois problèmes majeurs :

- 1- La liaison pendante de l'atome X_1 doit être saturée ce qui entraîne une troncature de la région QM, la liaison étant coupée de manière homolytique ou hétérolytique.
 - 2- Comme il a été dit précédemment dans le cas de l'EE, une sur-polarisation de la densité de charges QM par les charges ponctuelles MM trop proches peut apparaître [59,60].
 - 3- Au niveau de la région frontière, les contributions liantes MM impliquant les atomes des sous-systèmes doivent être correctement définies et certaines devront être supprimées afin d'éviter un double comptage.
- L'approche dite "boundary-region" (pseudo-liaison, atomes de connexion, orbitales hybrides gelées). Il s'agit d'une région située entre le système QM et le système MM et qui sera prise en compte dans les deux calculs.

II.4.1 Les approches de types Link-Atom

Dans cette approche, un atome d'hydrogène (HLA) est ajouté à la partie quantique afin de saturer les liaisons coupées. Cependant, cet atome apporte des degrés de liberté additionnels au système qui ne devraient pas être présents. En effet, ce HLA n'appartient ni à la partie QM, ni à la partie MM, entraînant quelques ambiguïtés dans la définition de l'énergie du système. Afin d'éliminer ses degrés de libertés, la position du HLA est contrainte sur la ligne définie par les atomes X_1 et Y_1 . Conformément aux développements de Morokuma et al [60,61], la distance $R(X_1-HLA)$ est modifiée suivant la relation suivante :

$$R(X_1-HLA) = c_{HLA} R(X_1-Y_1) \quad (2.21)$$

Le facteur c_{HLA} peut être défini de plusieurs manières, mais il est souvent déterminé par un rapport des rayons covalents R_0 des atomes de la liaison X_1-Y_1 :

$$c_{HLA} = \frac{R_0(X_1-HLA)}{R_0(X_1-Y_1)} \quad (2.22)$$

Sa valeur est souvent proche de 0.7 dans la plupart des cas.

Une liaison X-Y est remplacée par une liaison X-H. il faut que la polarité de la liaison X-H soit proche de celle de la liaison X-Y qu'elle est censée représenter, ainsi les coupures en LA sont préférentiellement entre 2 atomes de même nature.

Des solutions pour remédier à la surpolarisation sont :

- d'utiliser une base de fonctions atomiques assez petite et donc très localisée sur les atomes.
- de supprimer de l'hamiltonien, la charge de l'atome Y_1 , ainsi que celles de certains atomes MM directement liés à ce dernier atome Y_1 . Si sa charge est annulée, on parlera du schéma Z_1 , si les charges de Y_1 et C_2 sont annulées, on dira Z_2 , ... Dans le logiciel Gaussian03, c'est le schéma Z_3 qui est employé par défaut dans l'approche ONIOM. Il est aussi possible d'atténuer les charges de Y_1 , C_2 et C_3 mais cela entraîne la non-neutralité de la partie MM, pouvant introduire des artefacts dans la description du système.
- de redistribuer (atténuer) la charge de l'atome Y_1 sur les atomes MM voisins.

II.4.2 Les approches des orbitales localisées

Dans ces approches, la liaison pendante entre les atomes frontières QM et MM est représenté à l'aide d'orbitales localisées (OL). Plusieurs approches ont été développées : la méthode *Local Self-consistent Field* (LSCF), que nous verrons en détails dans la section suivante, l'approche des orbitales gelées (FO, *Frozen Orbitals*), des orbitales hybrides généralisées (GHO, *Effective Fragment Potentiels*).

De manière générale, les méthodes qui utilisent les orbitales localisées sont théoriquement plus réalistes que les approches *Link Atom*, car elles décrivent de manière quantique la distribution de charges autour de la frontière QM/MM. La délocalisation des charges quantiques dans les OL aide à empêcher ou à limiter la sur-polarisation qui est parfois présente dans les méthodes LA.

Dans l'approche LSCF on utilise des orbitales localisées pour décrire la liaison entre les atomes frontières des deux sous-systèmes (fig.II.3). Une approche similaire, celle des orbitales gelées (OF), a été développée par Friesner [62,63] dans laquelle les interactions QM/MM dans la région frontière sont fortement paramétrisées.

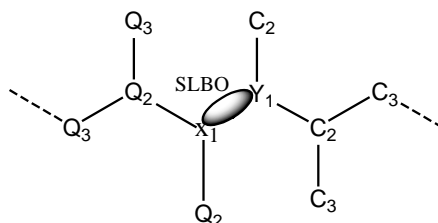


Figure II.3 : Illustration de l'orbitale SLBO localisée entre la partie QM et MM du système.

II.4.3 Le local Self-Consistent Field/MM (LSCF/MM)

II.4.3.1 Introduction

Le principe fondamental de la méthode LSCF développé à Nancy, traite à l'aide d'orbitales localisées la liaison covalente, délicate à traiter dans un système où la partie QM est liée à la partie MM. Cette méthode fut développée par V. Théry dans laquelle la partie quantique était traitée à l'aide de méthodes semi-empirique [64,65]. Elle fut ensuite étendue aux méthodes *ab-initio* par X. Assfeld [66].

Dans cette approche, la liaison chimique entre le premier atome QM (X_i) et le premier atome MM (Y_j) est décrite par une orbitale localisée $|l_i\rangle$. On définit les N orbitales atomiques $|\lambda\rangle$, $|\mu\rangle$, $|\nu\rangle$ sur tous les atomes de la partie QM et sur l'atome frontière Y . Cet atome est qualifié d'hybride ou d'atome quanto-classique car il possède des orbitales de fonction atomiques ainsi que tous les paramètres propres au type d'atome qu'il possède dans la partie MM. Les orbitales localisées sont décrites comme combinaison linéaire des orbitales de fonctions atomiques :

$$|p\rangle = \sum_{\lambda}^N c_{\mu_p} |\mu\rangle \quad (2.23)$$

Pour respecter les contraintes d'orthogonalité entre toutes orbitales, il est crucial que les OM soient orthogonales aux OL. Une méthode existe pour construire les OM dans une base de fonctions atomiques à la fois orthogonales entre elles et orthogonales aux OL.

La première étape de ce processus est l'orthogonalisation des OL entre elles afin d'obtenir un jeu d'orbitales localisées orthogonales (OLO) :

$$|l_p\rangle = \sum_{\lambda}^N l_{\mu p} |\mu\rangle \quad (2.24)$$

Les N orbitales atomiques du jeu de base de fonctions atomiques peuvent être ensuite orthogonalisées à ces OLO en les projetant dans le sous-espace complémentaire des OLO grâce à une fonction :

$$|\tilde{\mu}\rangle = \left[1 - \sum_i^L S_{\mu i}^2 \right]^{-\frac{1}{2}} \left[|\mu\rangle - \sum_p^L |l_p\rangle \langle l_p | \mu \rangle \right] \quad (2.25)$$

représente l'intégrale de recouvrement :

$$\text{où } S_{\mu i} = \sum_{\lambda}^N a'_{\lambda i} S_{\mu \lambda} \quad (2.26)$$

Ceci permet de définir une matrice M transformant les OAs de départ $\{|\mu\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$ en un jeu de fonctions orthogonales aux Fos $\{|\tilde{\mu}\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$, de terme général :

$$M_{\mu\nu} = \left[1 - \sum_p^L S_{\mu p}^2 \right]^{-\frac{1}{2}} \left[\delta_{\mu\nu} - \sum_p^L \sum_{\lambda}^N l_{\nu p} l_{\lambda p} S_{\lambda\mu} \right] \quad (2.27)$$

L'ensemble $\{|\tilde{\mu}\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$ ne forme pas une base de fonctions mutuellement orthogonales. Ceci peut être résolu en procédant à une orthogonalisation canonique [67] transformant le jeu précédent en un jeu $\{|\tilde{\mu}\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$ à l'aide de la matrice \mathbf{X} :

$$X = U \cdot \tilde{S}^{-\frac{1}{2}} \quad (2.28)$$

où \mathbf{U} représente la matrice des vecteurs propres de la matrice \tilde{S} (matrice de recouvrement) entre $\{|\tilde{\mu}\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$ et $\tilde{\mathfrak{S}}$, cette même matrice dans la base des vecteurs propres (c'est-à-dire la matrice diagonale). Cependant, cette matrice $\tilde{\mathfrak{S}}$ possède L valeurs propres nulles correspondant à L dépendances linéaires introduites par les L FOs. Il nous faut alors éliminer les L colonnes correspondant à ces valeurs propres.

La combinaison de ces deux configurations permet de définir la matrice \mathbf{B} de dimension $(N \times (N-L))$, matrice de passage vers une base de $(N - L)$ AOs mutuellement orthogonales, et orthogonales aux L FOs, $\{|\mu\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$:

$$\mathbf{B} = \mathbf{M} \cdot \mathbf{X} \quad (2.29)$$

La matrice \mathbf{B} joue le rôle de $\mathbf{S}^{-1/2}$ dans la procédure habituelle du SCF. Les éléments du Fockien sont définis de manière habituelle :

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu}^c + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma}^T \left[(\mu\nu|\lambda\sigma) - \frac{1}{2}(\mu\nu|\lambda\sigma) \right] \quad (2.30)$$

Le premier terme est l'hamiltonien de cœur et le second représente les intégrales bi-électroniques $(\mu\nu|\lambda\sigma)$. P^T est la matrice densité du système que l'on scinde en deux composantes dans le formalisme LSCF : une contribution due aux FOs (P^F) et une seconde due aux OM variationnelles (P^Q).

$$P_{\mu\nu}^T = P_{\mu\nu}^Q + P_{\mu\nu}^F \quad (2.31)$$

La matrice de Fock F de dimension $(N \times N)$ est ensuite transformée dans la base $\{|\mu\rangle\}_{1 \leq \mu \leq N}$ à l'aide de la matrice \mathbf{B} pour obtenir le nouveau Fockien F' de dimension $((N-L) \times (N-L))$ ($F' = \mathbf{B}^\dagger \cdot F \cdot \mathbf{B}$). Ensuite, il faut diagonaliser ce nouveau Fockien F' pour obtenir la matrice de $(N-L)$ vecteurs propres C' et les $(N-L)$ valeurs propres (ϵ) . Après avoir retransformer dans le jeu de fonctions atomiques initial ($C = \mathbf{B} \cdot C'$) pour calculer la nouvelle matrice densité correspondant aux MOs (P^Q). En ajoutant la contribution des FOs (P^F), on obtient alors la matrice de densité totale du système.

II.4.3.2 La modification des équations de Roothaan

La condition de stationnarité de l'énergie par rapport aux coefficients de MOs variationnelles $\{c_{\mu p}\}_{\substack{1 \leq \mu \leq N \\ 1 \leq p \leq N-L}}$ est :

$$\frac{\delta E}{\delta c_{\mu p}} = 0 \quad (2.32)$$

et la contrainte d'orthogonalité entre toutes les orbitales (FOs et MOs) du système,

$$\sum_{\mu\nu} c_{\mu p} S_{\mu\nu} c_{\nu q} = \delta_{pq} \quad (2.33)$$

$$\sum_{\mu\nu} I_{\mu P} S_{\mu\nu} l_{\nu Q} = \delta_{PQ} \quad (2.34)$$

$$\sum_{\mu\nu} c_{\mu p} S_{\mu\nu} l_{\nu Q} = 0 \quad (2.35)$$

modifient les équations de Roothaan [68,69] :

$$F.C = S.C.E + S.L.\Lambda \quad (2.36)$$

où L est la matrice des FOs et $\{\Lambda_{pQ}\}_{\substack{1 \leq p \leq (N-L) \\ 1 \leq Q \leq L}}$ sont les multiplicateurs de Lagrange du bloc des MOs-FOs :

$$\Lambda_{pQ} \equiv \varepsilon_{pQ} = \sum_{\mu\nu} c_{\mu p} F_{\mu\nu} l_{\nu Q} \quad (2.37)$$

En utilisant les relations $C=B.C'$ et $B^\dagger.S.B = \mathbb{1}$, et en multipliant par la gauche par B^\dagger on obtient :

$$F'.C' = C'.E \quad (2.38)$$

avec $F'=B^\dagger.F.B$ et $C'.S.L = \mathbb{0}$ (orthogonalité entre les OMs et les FOs).

On aboutit à un problème hermitique qui peut être résolu en diagonalisant la matrice F' .

L'algorithme SCF dans Gaussian03 a été modifié de la manière suivante par X.Assfeld :

- 1- Orthogonaliser mutuellement les FOs.
- 2- Construire la matrice \mathbf{M} , orthogonalisant la base des OA aux FO.
- 3- Construire la matrice \mathbf{X} . Transformer les fonctions obtenues en (2) en une base de fonctions orthogonales et linéairement indépendantes.
- 4- Calculer $B=M.X$.
- 5- Définir la matrice de Fock \mathbf{F} dans la base originale.
- 6- Calculer $F'=B^\dagger.F.B$.
- 7- Diagonaliser $F' : \epsilon = C'^\dagger.F'.C'$ où ϵ est la matrice diagonale des valeurs propres.

- 8- Transformer les vecteurs propres dans la base originale : $C = B \cdot C'$.
- 9- Calculer P^Q
- 10- Test de sortie. Si non satisfait, retour à 5.

II.5 Méthode QM/MM et LSCF

II.5.1 Utilisation d'orbitales de liaison strictement localisées (SLBO)

Dans le formalisme LSCF, il est donc possible de geler des orbitales. Celles-ci doivent être occupées ou vacantes, localisées ou bien délocalisée. Dans un système QM/MM, nous utilisons une orbitale liante strictement localisée SLBO (*Strictly Localised Bond Orbital*) pour décrire la liaison frontière. Cette orbitale localisée sera définie entre les deux atomes X_i et Y_i . L'atome frontière de la partie classique, possède un caractère hybride. En effet ce dernier possède certains paramètres MM du champ de force utilisé, mais aussi un jeu de fonction de base, identique à celui qu'il aurait s'il était dans la partie QM.

De plus, pour prendre en compte le fait que chaque atome frontière participe à la SLBO en donnant un électron⁷, une charge +1 est ajoutée à l'atome classique en plus de sa charge classique MM.

Le tableau II.2 suivant reprend toutes les interactions qu'il faut considérer dans la région frontière.

⁷ Dans le cas des liaisons datives, l'un des atomes peut donner deux électrons et l'autre zéro.

^a Condition 1-4 standard des champs de forces.

^b $k \neq l$

Tableau II.2 : Détails des interactions QM/MM. Les atomes de la partie QM sont noté Q, et ceux de la partie MM sont notés C. Z_A et q_A représentent respectivement la charge nucléaire et la charge classique de l'atome A. $P_{\mu\nu}^T$ est l'élément de $\mu\nu$ de la matrice densité totale du système.

Termes liés	
Liaisons	Y-C ₁
Angles	X-Y- C ₁ , Y- C ₁ - C ₂
Torsions	Q ₂ - X-Y-C ₂ , X-Y- C ₁ -C ₂ , Y- C ₂ -C ₃ - C ₄
Termes non-liés	
vdw ^a	Q_i -Y _k , Q_i -C _B , Y _k - C _B , Y _k - Y _l ^b
Electrostatique	Z-Z $Z_{Q_i} - Z_{Y_k}, Z_{Y_k} - Z_{Y_l}$ ^b
	Z-q $Z_{Q_i} - q_{Y_k}, Z_{Q_i} - q_{C_B}, Z_{Y_k} - q_{C_B}, Z_{Y_k} - q_{Y_l}$ ^b
	q-q ^a $q_{Y_k} - q_{C_B}, q_{Y_k} - q_{Y_l}$ ^c
e-Z	$\sum_k \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu}^T \langle \mu \left \frac{Z_{Y_k}}{r_k - r} \right \nu \rangle$
e-q	$\sum_k \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu}^T \langle \mu \left \frac{q_{Y_k}}{r_k - r} \right \nu \rangle, \sum_{A \in MM} \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu}^T \langle \mu \left \frac{q_{C_A}}{R_A - r} \right \nu \rangle$

Les SLBO sont déterminées par l'utilisateur sur un système modèle contenant la liaison chimique d'intérêt et appliquées sur le système réel en accord avec le principe de transférabilité, après rotation et renormation. Il est cependant important de tester la position de la SLBO afin qu'elle minimise le nombre d'artefacts lors du calcul d'une propriété.

Nous verrons que nous avons étudié cette position lors de l'interaction de PCB77 dans la double hélice de l'ADN. La SLBO peut être localisée par différents critères en deux catégories : interne et externe

II.5.2 Les critères externes

Les deux critères que nous allons présenter font partis des critères externes, c'est-à-dire que l'utilisateur doit spécifier les atomes X et Y entre lesquels, il veut localiser une MO à partir des MOs canoniques.

II.5.2.1 Approches de Weinstein Pauncz (WP)

Le critère de Weinstein Pauncz [70,71] consiste à maximiser la quantité $\langle \Omega \rangle_{WP}$ qui représente la population du recouvrement, en sens du Mulliken [72] entre X et Y :

$$\langle \Omega \rangle_{WP} = \sum_{\mu \in X} \sum_{\nu \in Y} c_{\mu i} S_{\mu\nu} c_{\nu i} \quad (2.39)$$

II.5.2.2 Approches de Magnasco-Perico (MP)

Quant au critère de Magnasco-Perico [73,74], il consiste à maximiser la quantité $\langle \Omega \rangle_{MP}$ donnée par la relation (2.40).

$$\langle \Omega \rangle_{MP} = \sum_{\mu \in \{X,Y\}} \sum_{\nu \in \{X,Y\}} c_{\mu i} S_{\mu\nu} c_{\nu i} \quad (2.40)$$

Ceci correspond à maximiser la population de recouvrement entre les atomes X et Y de manière identique au critère de WP, mais incorpore aussi les populations électronique des deux atomes. De manière générale, ces deux critères produisent des orbitales (LO pour *Localized Orbital* très similaire). Cependant lorsque la différence d'électronégativité entre les atomes X et Y est importante, les LOs ont un caractère plus ionique avec le second critère, conséquence de la prise en compte de la population électronique des atomes [75]. Du point de vue pratique, ce dernier est toujours utilisé comme affinement du critère WP.

II.5.3 Les critères internes

Les approches de Pipek-Mezey (PM) [76], Boys-Foster (BF) [77,78] et Edmiston Ruedenberg (ER) [79,80] ce sont des critères de localisation internes. Le critère PM minimise la somme du carré des charges atomiques du Mulliken divisé par le nombre d'atomes total, celui du BF minimise la distance au carré des deux électrons et la localisation et ER maximise l'énergie de *self-repulsion* (inverse de la distance au carré). Pour plus de détails on renvoie le lecteur à voir l'article de Pipek-Mezey [76].

N. Férre et al. ont ensuite montré que la SLBO et la charge nucléaire +1 attribuée à l'atome Y_i (LSCF/+1) ne suffisent pas à décrire correctement la distance interatomique entre X_i et Y_i [81]. En effet, les interactions électrostatiques sont sous-estimées parce que la charge nucléaire de l'atome quantique Y_i a été remplacée par la charge nucléaire +1. De plus, les variations du

recouvrement entre les bases de fonctions atomiques en fonction de la longueur de la liaison ne sont pas considérées. Pour cela, il a été nécessaire de définir un potentiel de liaison frontière (*Frontier Bond Potential* (FBP)) spécifique à la liaison $X_i - Y_i$ de formule :

$$V_{X-Y} = (A + Br + Cr^2)e^{Dr} + \frac{E}{r_{X-Y}} \quad (2 - 41)$$

Tel que, le premier terme est le terme correctif pour prendre en compte les variations du recouvrement entre les OA des deux atomes en fonction de leur distance r (forme du potentiel prise d'après le recouvrement de deux orbitales $1s$ de Slater, $D < 0$) et le second terme est un correctif quand à la trop faible répulsion électrostatique entre les deux atomes. Ainsi, ils ont défini les paramètres du potentiel pour les liaisons frontières présentes dans les molécules organiques : $C(sp^3)-C(sp^3)$, $C(sp^3)-O$, $O-C(sp^3)$, $C(sp^3)-N$, $N-C(sp^3)$, $C(sp^2)-N$, $N-C(sp^2)$, $C(sp^3)-C(sp^2)$, $C(sp^2)-C(sp^3)$ [124].

La définition de ce potentiel n'est pas évidemment simple. Pour toutes liaisons frontières, il est nécessaire de redéfinir un ensemble de paramètres ce qui est laborieux. Une approche alternative pour obtenir des distances interatomique correctes et pour supprimer ce FBP est de considérer explicitement les deux électrons de cœur de l'atome Y_i .

Deux électrons sont considérés pour les atomes de la seconde rangée d'atomes du tableau périodique ($Li \rightarrow Ne$), dix électrons pour ceux de la troisième rangée ($Na \rightarrow Ar$), Le formalisme pour les atomes de la seconde rangée est appelé LSCF/+3. De cette manière, trois électrons de Y_i sont explicitement inclus dans le calcul SCF (un dans la SLBO et deux électrons de cœur de l'atome Y_i). Une charge nucléaire de +3 lui est assignée pour garantir la neutralité du système [82,83]. Le LSCF/+3 a été testé à l'aide de deux approches : l'une plaçait les électrons de cœur dans une orbitale de cœur gelée (FCO, *Frozen Core Orbital*), voir figure 2, l'autre les considérait comme tous les autres électrons, c'est-à-dire dans une orbitale de cœur auto-cohérente (SCCO, *Self-consistent Core Orbital*) [82]. Les deux schémas ont des résultats comparables et ont été validés sur des critères géométriques et énergétiques sur des liaisons de nature différentes : C-C, C-N, C-O. Dans une étude des modulations de l'affinité électronique d'un acide nucléique simple et double brin de 3'-DCMPH (2'-deoxycytidine-3'-monophosphate) [84]. Les SLBO était placées de part et d'autre de l'acide nucléique (base, phosphore et sucre) sur la liaison $C'_5-O'_5$. Le choix de la position des SLBO est logique, les liaisons $C'_3-O'_3$ ayant une forte affinité électronique [85-87].

Bibliographie

- 1- D. Liotta, *Advances in Molecular Modeling*. 1, Ed. JAI Press, **1988**.
- 2- Andrews D.H., *The relation between the Raman spectra and the structure of organic molecules*. Phys. Rev. 36, 544-554, **1930**.
- 3- M. F. Ruiz-Lopez et J. L. Rivail, *Encyclopedia of Computational Chemistry*, **1**, 437, Ed. P.v.R.Schleyer, Wiley & Sons , **1998**.
- 4- Pearlman & Kollman: Pearlman, D. A. et Kollman, P. A. "*The overlooked bond-stretching contribution in free energy perturbation calculations*". J. Chem. Phys., 94 (6), 4532-4545, **1991**.
- 5- Dillen, J. L. M. "*PEFF: A program for the development of empirical force field*". J. Comp.Chem., 13 (3), 257-267, **1992**.
- 6- Ermer, O. et Lifson, S. "*Consistent force field calculations. III. Vibrations, conformations, and heats of hydrogenation of nonconjugated olefins*". J. Amer. Chem. Soc., 95, 4121-4132, **1973**.
- 7- Momany, F. A., McGuire, R. F., Burgess, A. W. et Sheraga, H. A. "Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interactions, hydrogen bond interactions, and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids". J. Phys. Chem., 79 (22), 2361-2381, **1975**.
- 8- Némethy, G., Pottle, M. S. et Sheraga, H. A. "Energy parameters in polypeptides. 9. Updating of geometrical parameters, nonbonded interactions, and hydrogen bond interactions for the naturally occurring amino acids". J. Phys. Chem., 87, **1883-1887**.
- 9- Weiner, S. J., Kollman, P. A., Case, D. A., Singh, C., Ghio, C., Alagona, G., Profeta, S. et Weiner, P. "A new force field for molecular mechanical simulation of Nucleic acids and Proteins.". J.Amer. Chem. Soc., 106, 765-784, **1984**.
- 10- Sippl, M. J., Némethy, G. et Sheraga, H. A. "*Intermolecular potentials from crystal data. 6.Determination of empirical potentials for O-H...O=C hydrogen bonds from packing configurations*". J. Phys. Chem., 88, 6231-6233, **1984**.
- 11- Fukui, K., *Role of frontiere orbitals in chemical reactions* , science, ,218,747.
- 12- Allinger, N.. "Conformational Analysis. 130. MM2. A hydrocarbone force field utilizing V1 and V2 torsional terms". J. Amer. Chem. Soc., 99 (25), 8127-8134, **1977**.
- 13- Brunck, T. K. et Weinhold, F. "*Quantum-mechanical studies on the origin of barriers to internal rotation about single bonds*". J. Amer. Chem. Soc., 101 (7), 1660-1665, **1979**.
- 14- Momany, F. A., McGuire, R. F., Burgess, A. W. et Sheraga, H. A. "Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interactions, hydrogen bond interactions, and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids". J. Phys. Chem., 79 (22), 2361-2381, **1975**.
- 15- Palmö, K. Pietilä, L. O. and Krimm, S. "*Construction of molecular mechanics energy functions by mathematical transformation of Ab Initio forces fields and structures*". J. Comp. Chem., 12 (3), 385-390, **1991**.

- 16- Allinger, N. "Conformational Analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms". J. Amer. Chem. Soc., 99 (25), 8127-8134, **1977**.
- 17- Ermer, O. et Lifson, S. "Consistent force field calculations. III. Vibrations, conformations, and heats of hydrogenation of nonconjugated olefins". J. Amer. Chem. Soc., 95, 4121-4132, **1973**.
- 18- Nilsson, R. et Karplus, M. "Empirical energy functions for energy minimisation and dynamics of nucleic acids." J. Comp. Chem., 7 (5), 591-616, **1986**.
- 19- J. P. Perdrew , K. Burke, and Y. Wang, Phys. Rev. B. 54, 16533, **1996**.
- 20- M. P. Allen and D. J. Tildesley, Computer Simulation of Liquids: Oxford University Press, **1989**.
- 21- W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. Merz Jr. ,D. M. Ferguson, D.C. Spellmeyer, T. Fox, J.W.Caldwell, and P.A. Kollman. J. Am. Chem. Soc., 117:5179, **1995**.
- 22- P. Kollman, R. Dixon, W. Cornell, T. Fox, C. Chipot, and A. Pohorille ; Vol.3 of Computer Simulation of Biomolecular Systems ; p. 83,**1997** .
- 23- J. Aqvist, J. Phys. Chem., 94, 8021, **1990**.
- 24- W. S. Ross and C. C. Hardin, J. Am. Chem. Soc., 116, 6070,**1994**.
- 25- W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz Jr., D. M. Ferguson,D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. A. Kollman, J. Am. Chem. Soc., , 117, 5179, **1995**.
- 26- T.E. Cheatham III, P. Cieplak, and P. A. Kollman, J. Biomol. Struct. Dyn., 16, 845,**1999**.
- 27- G. Moyna, H. J. Williams, R. J. Nachman, and A. I. Scott, Biopolymers, 49,403,**1999**.
- 28- A. D. Mackerel Jr., C. L. Brooks III, L. Nilsson, B. Roux,Y. Won, and M. Karplus ; John Wiley&Sons : Chichester ; Vol.1 of the Encyclopedia of Computational Chemistry ; page 271,**1998**.
- 29- N. Foloppe and A. D. Mackrell Jr., J. Comput. Chem., 21, 86, **2000**.
- 30- B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, D. J. State, S. Swaminathan, and M. Karplus, J. Comput. Chem., 4, 187.**1983**.
- 31- W. L. Jorgenson, D. S. Maxwell, and J. Tirado-Rives, J. Am. Chem. Soc., 117,1122, **1996**.
- 32- G. A. Kaminski, R. A. Friesner, J. Tirado-Rives, and W. L. Jorgensen,J. Phys. Chem. B, 105, 6474, **2001**.
- 33- M. T. Tribble, N. L. Alinger, M. A. Miller, and D. H. Wertz, J. Am. Chem. Soc., 93, 1637, **1971**.

- 34- N. L. Allinger, J. Am. Chem. Soc., 99, 3278, **1977**.
- 35- N. L. Allinger, Y. H. Yuh, and J. H. Lii, J. Am. Soc., , 111,8551, **1989**.
- 36- J.H. Lii et N. L. Allinger, J.Phys. Org. Chem.,7, 591, **1994**.
- 37- J. H. Lii et N. L. Allinger , J. Comput. Chem. , 11 ,868 ,**1990**.
- 38- N. L. Allinger, K. Chen, and J. H. Lii, J. Comput. Chem.,14, 642, **1996**.
- 39- N. L. Allinger, K. Chen, J. A. Katzeellenbogen, S. R. Wilson, and G. M. Anstead. J. Comput. Chem., 14, 747, **1996**.
- 40- S.L. Mayo, B.D. Olafson, and W.A. Goddard, J.Phys. Chem., 94, 8897, **1990**.
- 41- A. K. Rappé, C. J. Casewit, K.S. Colwell, W.A. Goddard III, and W.M. Skiff, J. Am. Chem. Soc. , 114 ,10024. **1992**.
- 42- P. Ren and J.W.Ponder, J. Comput. Chem., 23, 1497, **2002**.
- 43- P. Ren and J. W. Ponder, J. Comput. Chem., 107, 5933, **2003**.
- 44- J.W.Ponder and D.A.Case, Adv. Prot.Chem., 66, 27, **2003**.
- 45- Warshel A., Levitt M. "Theoretical Studies of Enzymatic Reactions: Dielectric Electrostatic and Steric Stabilization of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysozyme". *J. Mol. Biol.* 103 (2): 227–49, **1976**.
- 46- Amara P., Field M., "*Combined quantum mechanics and molecular mechanics potentials*". Enc. Comp. Chem. 1, Ed. P. v. R. Schleyer, Wiley & sons, 431-437, **1998**.
- 47- H. Lin and D.G. Truhlar. Theor. Chem.Acc.,117 :185-199, **2007**.
- 48- T.Vreven and K.Morokuma. Theor.Chem. Acc.,109 :125-132, **2003**.
- 49- Gao J., "*Methods and applications of combined quantum mechanical and molecular mechanical potentials*". K.B, Boyd D.B., Eds.; Rev. Comp. Chem. 7, VCH, 119-185, **1996**.
- 50- G. Monard, Kenneth M. Merz. Jr., *Combined Quantum Mechanics and Molecular Mechanical Methodologies applied to Biomolecular systems. Acc. Chem. Res.*, 32 (10), pp 904–911, **1999**.
- 51- Ruiz-López M. F., Rivail J.L., "*Combined quantum mechanics and molecular mechanics approaches to chemical and biochemical reactivity*". Enc. Comp. Chem. 1, Ed. P. v. R. Schleyer, Wiley & sons, 437-448, **1998**.
- 52- U. C. Singh and P. A. Kollman. J. Comp.Chem., 7(6):718-730, **1986**.
- 53- M.J.Field, P.A.Bash, and M.Karplus, J.Comp.Chem.,11 (6) :700_733,**1990**.
- 54- B. H. Besler, K. M. Merz Jr., and P. A. Kollman, J. Comput. Chem., 11, 431, **1990**.

- 55- U. C. Singh and P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.*, 5, 129, **1984**.
- 56- L. E. Chirlian and M. M. Francl, *J. Comp. Chem.*, , 8, 894, **1987**.
- 57- C. M. Breneman and K. B. Wibber, *J. Comput. Chem.*, 11, 361, **1990**.
- 58- Imamoto, Y.; Mihara, K.; Hisatomi, O.; Kataoka, M.; Tokunaga, F.; Bojkova, N.; Yoshihara, K. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 12905-12908, **1997**.
- 59- Yamaguchi, S.; Kamikubo, H.; Kurihara, K.; Kuroki, R.; Niimura, N.; Shimizu, N.; Yamazaki, Y.; Kataoka, M. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 440-444, **2009**.
- 60- N. Reuter, A. Dejaegere, B. Maigret, et M. Karplus, *J. Phys. Chem. A* 104, 1720, **2000**.
- 61- D. Bakowies et W. Thiel, *J. Phys. Chem* 100, 10580, **1996**.
- 62- S. Humbel, S. Sieber, and M. Karplus, *J. Comput. Chem.*, 11, 700, **1990**.
- 63- S. Dapprich, I. Komarino, K. S. Byun, K. Morokuma, and M. J. Frisch, *J. Mol Struct.(Theochem)* , 461, 1, **1999**.
- 64- D. Philipp et Friesner, *J. Comput. Chem.* 20, 1468, **1999**.
- 65- R. Murphy, D. Philipp, et R. Friesner, *Journal of Computational Chemistry* 21, 1442 **2000**.
- 66- V. Théry, D. Rinaldi, J. L. Rivail, B. Maigret, et G. G. Ferenczy, *J. Comput. Chem.* 15, 269 (**1994**).
- 67- G. Monard, M. Loos, V. Thery, K.Baka, et J.-L. Rivail, *Int. J. Quantum Chem.* 58,153 (**1996**).
- 68- X. Assfeld et J.-L. Rivail, *Chem. Phys. Lett.* 263, 100, **1996**.
- 69- A. Szabo and N.S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Structure Theory*; Dove publications Inc., Mineola, New-York, **1989**.
- 70- N. Ferré, X. Assfeld, et J.-L. Rivail, *J. Comput. Chem.* . 23, 610, **2002**.
- 71- N. Ferré, PhD. Thesis, Laboratoire de Chimie Théorique, UMR CNRS-UHP 7565, Université Henri Poincaré, Nancy I, **2001**.
- 72- H. Weinstein et R. Pauncz, *Symp. Faraday Soc.* 2, 23, **1968**.
- 73- H. Weinstein et R. Pauncz, et M. Cohen, *Adv Atom Mol Phys* 7, 97, **1971**.
- 74- R. S. Mulliken, *J. Chem. Phys.*, , 23, 1833, **1955**.
- 75- V. Magnasco and A. Perico, *J. Chem. Phys.*, 47,971, **1967**.
- 76- Magnasco and A. Perico, *J. Chem. Phys.*, 47, 800, **1967**.

- 77- O. Marresca, A. Ionesco, A. Allouche, J.P. Aycard, M. Rajzmann, and F. Hutschka, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 119, 620, **2003**.
- 78- J. Pipek et P. Mezey, *J. Chem. Phys.* 90, 4916, **1989**.
- 79- S.F. Boys, *Proc. Roy. Soc.* 200, 542, **1950**.
- 80- J. M. Foster et S. F. Boys, *Rev. Mod. Phys.*, 32, 300, **1960**.
- 81- C. Edmiston et K. Ruedenberg, *J. Chem. Phys.* 43, 457, **1963**.
- 82- C. Edmiston et K. Ruedenberg, *J. Chem. Phys.* 43, 457, **1964**.
- 83- N. Ferré, X. Assfeld, et J.-L. Rivail, *J. Comput. Chem.* 23, 610, **2002**.
- 84- A. Fornili, P.-F. Loos, M.Sironi, et X.Assfeld, *Chem. Phys.Lett.*427, 236, **2006**.
- 85- P.-F. Loos, A. Fornili, et X.Assfeld, *Comput. Lett.* 4,473, **2007**.
- 86- P.-F. Loos, E. dument, A. D. Laurent, et X.Assfeld, *Chem. Phys. Lett.* 475,120, **2003**.
- 87- J.Gu,Y. Xie, et H. F . Schaefer III, *J. Am. Soc.* 128, 1250, **2005**.

CHAPITRE III

Étude des propriétés structurales des PCBs

III.1 Introduction

Les interactions intermoléculaires sont d'une importance capitale en chimie. Parmi celles-ci, on peut citer la liaison hydrogène, les interactions H- π et les interactions π - π . Avant d'aborder les interactions entre les PCBs dioxine like et la double hélice de l'ADN qui ont fait l'objet de nos recherches, il convient tout d'abord de caractériser les propriétés physico-chimiques des PCBs d'une manière générale. Dans ce chapitre, nous proposons donc d'établir l'état de l'art de plusieurs paramètres (cités ci-dessous) des PCBs ortho substitués (PCB-NDL) et non-ortho substitués (PCB-DL). La plus grande partie de l'étude que nous avons ciblée, est consacrée aux PCBs non ortho substitués qui sont sans doute les composés les plus dangereux pour l'organisme à cause de leur effet toxique sur la santé. Parmi ces propriétés on peut citer :

- Paramètres structuraux du ligand : longueurs de liaison, angles de valence, angles de torsion.
- Paramètres énergétiques : énergie de la molécule, énergie d'hydratation.
- Une attention toute particulière a été portée au calcul de leurs propriétés électroniques à savoir, les énergies des orbitales frontières (HOMO/LUMO), le potentiel d'ionisation (PI), l'affinité électronique (AE), le moment dipolaire, la polarisabilité.
- Paramètres stériques : polarisabilité.
- Paramètres hydrophobiques : log P.
- Propriétés intrinsèques : l'énergie de la dissociation de la liaison (BDE : Bond Dissociation Energy).
- Effet de solvant explicité sur la géométrie du ligand.
- Analyses des descripteurs de la réactivité [1-5].

Pour entamer cette étude, nous nous sommes posé plusieurs questions parmi elles :

- Est-ce qu'une méthode semi-empirique suffit pour décrire ses propriétés ?
- Faut-il utiliser des méthodes post-Hartree Fock ? Si oui, quelle base doit-on utiliser ?
- Quels sont les paramètres qui interprètent leurs réactivités et leurs toxicités ?
- Quels sont les sites responsables de la toxicité des PCBs ?

Pour répondre à toutes ces questions, il faut faire des tests systématiques et interpréter les résultats obtenus.

III.2 Propriétés structurale et énergétique des PCBs

Le paramètre primordial de reconnaissance moléculaire par les récepteurs, est la géométrie d'une molécule. Il est par conséquent indispensable de connaître la conformation privilégiée adoptée par le PCB, aussi bien dans leur état fondamental que dans leurs états excités. Plusieurs travaux ont été consacrés à l'étude de la variation de l'angle dièdre mettant en jeu la distance C₁-C₇ qui relie les deux phényles, voir figure I.1 [6-9]. Expérimentalement l'angle dièdre peut être déterminé par la méthode de spectrométrie de photoélectrons induits par rayons X et par diffraction d'électrons en phase gazeuse [6].

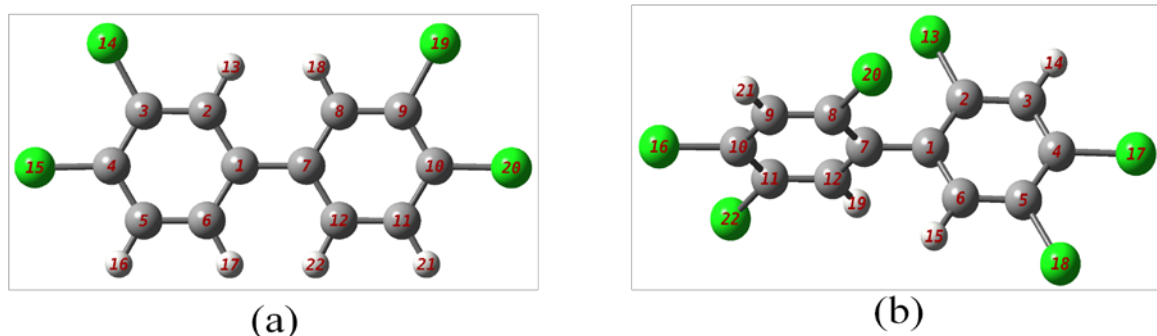


Figure 1 : Exemple d'un PCB-DL (PCB77) (a) et PCB-NDL (PCB153) (b).

Nous avons optimisé une série de PCBs (au total 19 ligands) comprenant les PCB-DL et PCB-NDL selon l'angle dièdre $\varphi_{2,1,7,8}$ par la méthode semi-empirique (AM1) afin d'examiner d'une manière rapide les différentes conformations possibles. Des méthodes post-HF ont été utilisées par la suite pour confirmer le choix des conformations.

La courbe d'énergie potentielle a été obtenue pour différentes valeurs de l'angle dièdre $\varphi_{2,1,7,8}$, en optimisant le reste de la structure moléculaire. Le pas séparant deux points consécutifs est de 10° , ce qui permet d'obtenir des courbes lisses tout au long de la rotation. Les différentes structures des PCBs apparaissent sur la surface de l'énergie potentielle figure I.2. Pour un PCB donné, on peut associer un temps de vie qui sera proportionnel à la hauteur de la barrière énergétique E_b à franchir. Plus la barrière est basse, plus cette durée de passage de la conformation plane à la conformation twist est courte. Pour les PCBs non ortho substitués, on observe deux minima à 45° et 135° , séparés par deux barrières à 0° (9.65 kJ.mol^{-1}) et 90° (4.24 kJ.mol^{-1}). A température ambiante le passage par la forme en T (90°) est donc possible, la forme plane sera plus facilement accessible. Par ailleurs La position des atomes de chlores en position méta/para n'a aucune influence sur les paramètres géométriques spécialement l'angle de torsion [10,11]. La stabilité de la conformation

d'équilibre (forme twist) à 45° et 135° peut être expliquée, par deux facteurs compétitifs : l'effet des électrons π qui favorisent la coplanarité des cycles phényles d'une part et des critères de répulsion stérique entre les atomes d'hydrogène en position ortho. La balance de ces deux interactions résulte une structure de composé en forme twist [12,13], ce qui globalement conduit à un minimum énergétique.

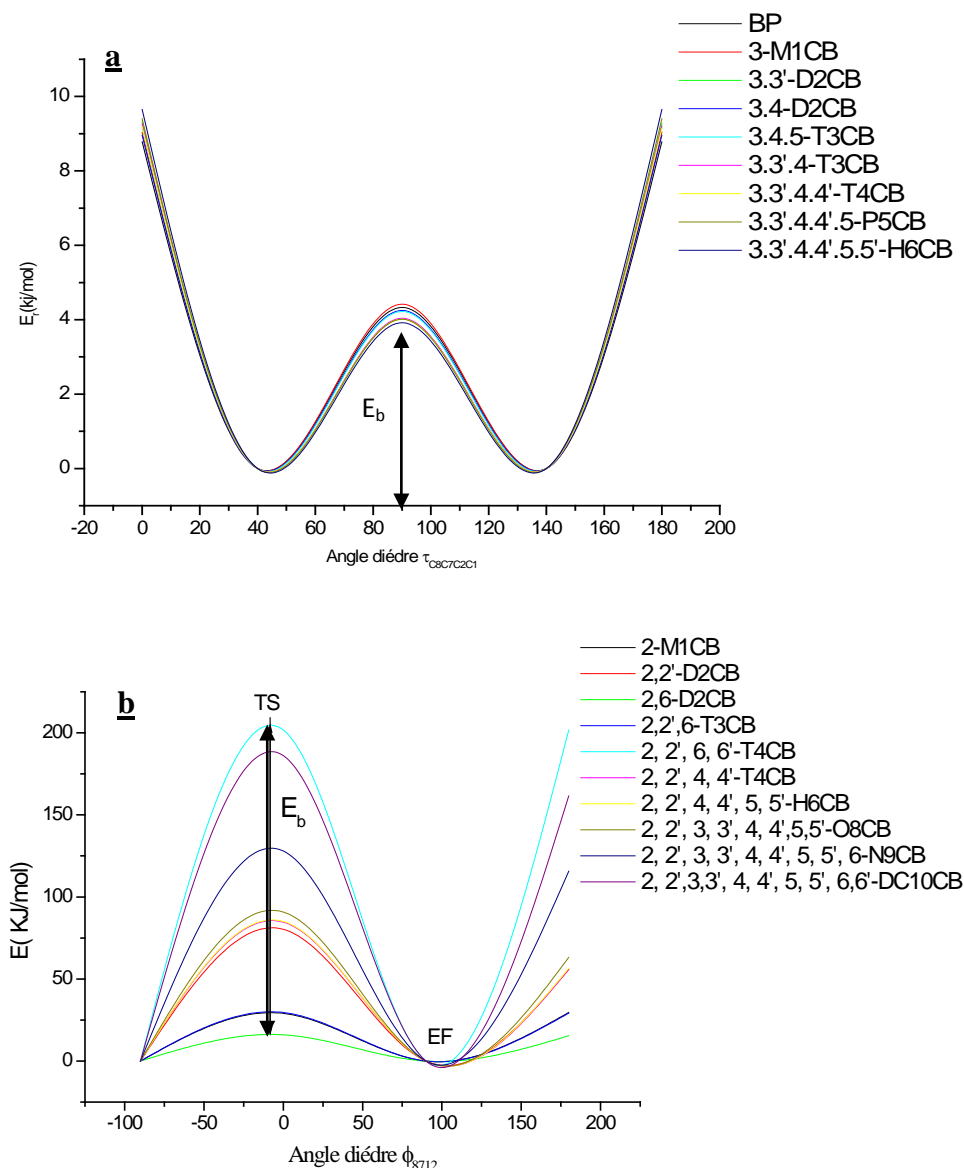


Figure 2 : Profil de la surface de l'énergie potentiel (PES) des PCBs non ortho-substitué (a) et PCBs ortho substitué (b) calculés au niveau AM1.

Par contre les congénères ortho substitués (fig.III.2.b), présentent une barrière d'énergie E_b varie de 28.98 à 201.76 kJ/mol selon le nombre de chlores substitués. Le PCB twist a donc des difficultés à adopter une configuration plane, ce qui peut être expliqué par l'encombrement stérique des atomes de chlores en position ortho, empêchant

ainsi la rotation autour de l'angle dièdre ϕ . On remarque que la géométrie d'équilibre est la forme en T. Afin de savoir s'il existe d'autres minima que ceux trouvés par la méthode semi empirique, nous avons utilisé les méthodes DFT et post-HF (MP2) qui tiennent en compte la corrélation électronique. Pour simplifier, nous avons pris comme exemple PCB77, pour un congénère non ortho substitué, et le PCB153 pour un congénère ortho substitué.

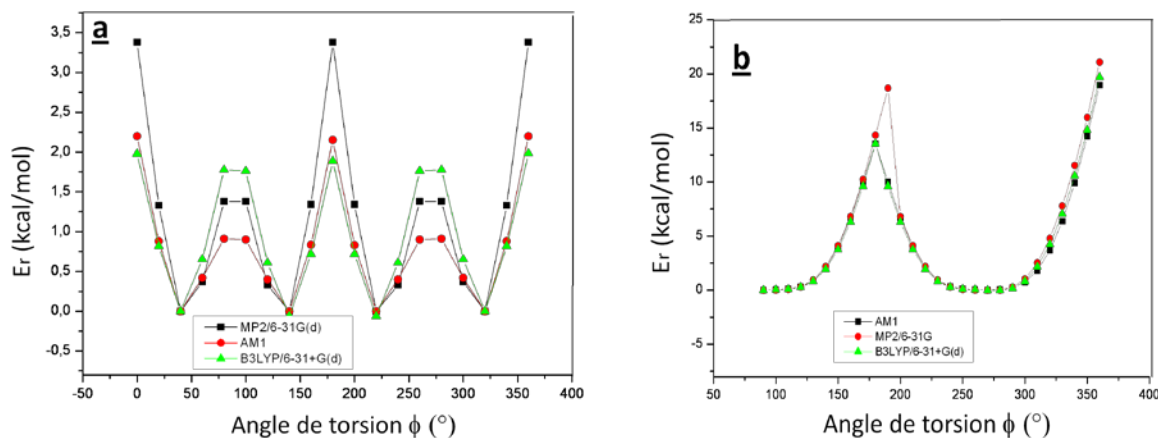


Figure 3 : Profil énergétique (kcal.mol⁻¹) de rotation le long de l'angle de torsion ϕ (°) (a) PCB 77 (b) PCB 153 en phase gazeuse selon les trois méthodes de calcul.

L'utilisation de ces différentes méthodes, a un impact mineur sur l'énergie relative (voir figure 3). Nous avons ainsi trouvé deux minima aux alentours de 38° et 140°, correspondant aux PCB non ortho substitués, avec une énergie de la barrière de rotation relativement faible (< 4 kcal/mol) pour toutes les méthodes (figure III.3.a). En revanche les PCB ortho substitués présentent deux minima à 90° et 270°, l'énergie de la barrière de rotation est (< 22 kcal/mol). La méthode semi-empirique est ainsi validée pour ces composés. Nous avons également étudié l'influence du solvant pour les mêmes variations de l'angle dièdre, en utilisant le modèle du continuum diélectrique (modèle PCM : Polarizable Continuum Model) qui stabilise les systèmes. L'énergie de la barrière pour le congénère PCB77 passe de 4 kcal/mol en phase gazeuse à 1.63 kcal/mol en phase aqueuse pour la barrière à 0°. Quant au PCB153, l'énergie de la barrière passe de 22 kcal/mol à 13.75 kcal/mol à l'état solvaté. Cette étude préliminaire qui a une relation étroite avec le facteur de toxicité (TEF) [14], va nous orienter vers le choix de nos composés pour la suite du travail. Des données expérimentales du TEF sont données dans la section suivante.

III.2.1 Relation entre la barrière de rotation et le facteur d'équivalent toxique (TEF).

Comme nous l'avons évoqué dans l'introduction générale, la pollution causée par les PCBs et ses effets toxicologiques ont attiré beaucoup de préoccupations. Dr Opanashuk, de l'université de Rochester a publié deux articles dans le journal *Neuro-Toxicology* (2004, 2005), où il a étudié le lien entre les PCBs et la maladie de Parkinson¹. Son groupe a décrit comment les PCBs perturbent les neurones dopaminergiques (les cellules qui dégènèrent au cours de la maladie de Parkinson). Pour ce grand souci, l'OMS a attribué un facteur d'équivalence toxique (nom acronyme TEF : Toxicity Equivalent Factor) [15]. Récemment, le 11 décembre 2011, l'union européenne l'a appliqué comme un règlement officiel.

III.2.1.1 Définition du TEF

L'approche des TEF s'appuie sur la définition d'un composé de référence considéré comme étant le plus toxique qui est 2, 3, 7,8 -TCDD (Tetrachloro-dibenzo-dioxine) pour son effet d'induction au récepteur AhR. Un TEF égal à 1 lui est attribué. Pour les autres congénères, un TEF compris entre 0 et 1 est déterminé en fonction de leur potentiel toxique relativement à celui du composé de référence, à partir de la formule suivante :

$$TEF_i = \frac{\text{Toxicité du congénère } i}{\text{Toxicité du congénère de référence}} \quad (I - 1)$$

D'après de nombreux travaux, des auteurs ont suggéré que la toxicité des PCBs est généralement associée à la barrière de rotation autour de la liaison C₁-C₇. Une faible barrière donne une toxicité élevée, alors qu'une barrière de rotation élevée correspond à une toxicité réduite [16,17]. Afin de pouvoir relier l'aspect toxicologique à la géométrie de quelques PCBs sélectionnés, nous avons établie le tableau ci-dessous.

¹La maladie de Parkinson est caractérisée par un désordre neurologique progressif qui survient quand certaines cellules nerveuses dans la région substantia nigra meurent ou ne peuvent plus produire de dopamine. Ce manque de dopamine provoque les tremblements et la raideur des membres.

Tableau III.1 : Facteurs d'équivalence toxique (TEF) et l'énergie de la barrière de rotation E_{rot} ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) calculées au niveau AM1.

Composé	Isomère PCB (Numéro IUPAC)	TEF	E_{rot}
TCDD	2, 3, 7,8-TCDD	1	---*
PCB non-ortho	3, 3', 4', 5-TCB (PCB 81)	0,0001	8.78
	3, 3', 4,4'-TCB (PCB 77)	0,0003	8.75
	3, 3', 4, 4',5-P ₅ CB (PCB 126)	0,1	9.00
	3, 3', 4, 4', 5, 5'-H ₆ CB (PCB 169)	0,03	9.61
PCB mono-ortho	2, 3, 3', 4, 4'-P ₅ CB (PCB105)	0,00003	32.8
	2, 3, 4, 4', 5- P ₅ CB (PCB114)	0,00003	33.5
	2, 3', 4, 4', 5- P ₅ CB (PCB 118)	0,00003	29.6
	2', 3, 4, 4', 5- P ₅ CB (PCB123)	0,00003	29.5
	2, 3, 3', 4, 4', 5-H ₆ CB (PCB 156)	0,00003	33.5
	2, 3, 3', 4, 4', 5'-H ₆ CB (PCB 157)	0,00003	33.7
	2, 3', 4, 4', 5, 5'-H ₆ CB (PCB 167)	0,00003	29.6
	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-H ₇ CB (PCB 189)	0,00003	34.2

Sur le tableau III-1, nous remarquons que les PCB-DL qui ont une faible énergie de la barrière de rotation, ont le facteur TEF élevé. Leur flexibilité fait que ces derniers, se présentent souvent dans des conformations planes, et sont capables de se lier au récepteur cellulaire (Récepteur Ah). Leur mécanisme d'action est similaire à celui de la dioxine. Par contre les PCB-NDL présentent une barrière d'énergie élevée avec un faible facteur TEF, ils agissent selon un mécanisme d'action différent de celui des dioxines. La position de substitution des atomes d'hydrogène par des chlores détermine ainsi la possibilité de leur biodégradabilité [18].

* la structure de TCDD est plane donc elle n'est pas flexible, l'énergie de la barrière de rotation n'a pas été calculée.

III.2.2 Analyse de l'hydrophobicité des PCBs

Les PCBs sont des composés hydrophobes et lipophiles. Leur hydrophobicité a été déterminée par leur coefficient de partage log P, appelée aussi log K_{ow} (pour octanol-water). Ce facteur est très largement utilisé dans des études de relations structure-activité quantitatives (QSARs), dans les sciences pharmaceutiques, biochimiques, toxicologiques et dans les sciences de l'environnement. La lipophilie d'une substance est caractérisée par le logarithme du coefficient de partage de cette dernière entre une phase aqueuse et une phase lipidique, (le plus souvent le système *n*-octanol/eau) dont la polarité est voisine de celle des lipides membranaires, conditionnant en partie ses propriétés biologiques. Ce coefficient peut être évalué expérimentalement en selon l'équation suivante :

$$P = \frac{\text{Concentration du composé en solution dans l'octanol}}{\text{Concentration du composé en solution dans l'eau}} \quad (I - 2)$$

Ou bien, il peut être déterminé théoriquement par le logiciel HyperChem, qui prédit les valeurs de log P. Ces derniers sont données par Padmakar et col. [19,20] et sont listés sur le tableau III.2 ci-dessous.

Tableau III.2 Les valeurs de log P des différents PCBs [19,20].

	Congénère	logP
Biphenyle		
Monochloro-	3	4,66
Dichloro-	2,2'	4,72
	3,3'	5,27
Trichloro-	2,2',3	5,12
	2,3',5	5,65
Tetrachloro-	2,2',3,3'	5,67
	2,3',4',5	6,23
	3,3',4,4'	6,40
Pentachloro-	2,3,3',4,4'	6,79
	3,3',4,4',5	6,96
Hexachloro-	2,2',3,3',4,5'	7,30
	2,3',4,4',5,5'	7,23
Heptachloro-	2,2',3,3',4,4',5	7,08
	2,3,3',4,4',5,5'	7,72
Octachloro-	2,2',3,3',4,4',5,6	7,35
	2,2',3,3',4,4',5,5'	7,62
Nonachloro-	2,2',3,3',4,4',5,6,6'	7,88
Decachloro-	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'	8,20

Les composés hydrophobes sont généralement caractérisés par une valeur élevée de log P (cas des composés les plus chlorés), tandis que les composés hydrophiles ont un log P très faible (cas des composés les moins chlorés). Nous remarquons que plus le nombre d'atome de chlore augmente, plus le composé devient lipophile, ce qui facilite ainsi son passage à travers la membrane plasmique.

III.3 Étude théorique des PCB-DL par la méthode DFT

Compte tenu de ces données expérimentales, nous avons finalement retenu trois PCB-DL pour la suite de l'étude à savoir le PCB77, PCB126 et le PCB169, qui sont lipophiles, très toxiques et structurellement proche de la dioxine et de dibenzo-furannes (fig.III.4). Ces propriétés se traduisent par une forte capacité d'induction du cytochrome CYP1A (Safe-1992).

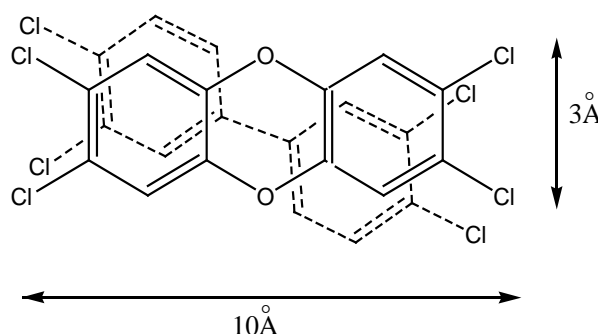


Figure 4 : Équivalence de structure d'un PCB77 coplanaire avec la 2, 3, 7,8 –TCDD.

Afin de comprendre le mécanisme d'action de ces congénères dans le milieu biologique, une étude succincte a été développée dans cette section. Les méthodes quantiques nous donnent beaucoup d'informations au niveau moléculaire : comme la densité électronique, les énergies des orbitales frontières HOMO et LUMO qui sont utiles dans les études de réactivité [21], l'énergie de la barrière de rotation autour de l'axe C₁-C₇ [22,23], les énergies de dissociation de liaison C-Cl (appelée BDE pour *Bond Dissociation Energy*) [24], etc...

III.3.1 Analyse conformationnelle

Le concept de la réactivité des PCB-DL est relié principalement à la barrière de rotation [25-27]. Nous avons réalisé une analyse conformationnelle. De point de vue géométrique le PCB77 et son homologue le PCB169 possèdent un groupe de symétrie C_s et un groupe de symétrie C₁ pour le PCB126 (figure 5) pour les conformations planes.

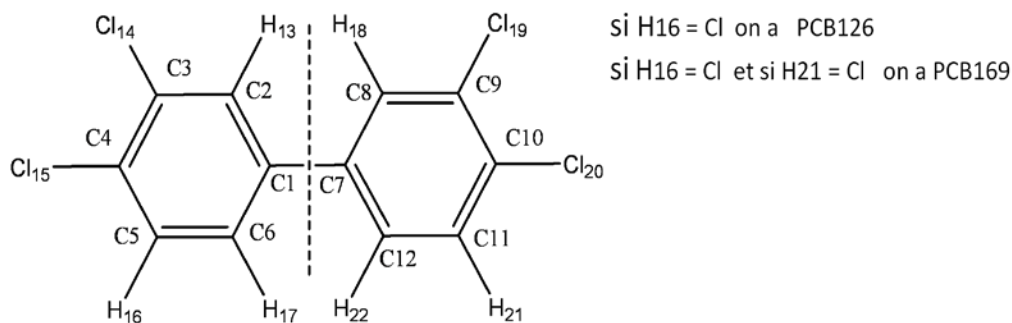


Figure 5 : Géométrie du PCB et sa numérotation adoptée.

Comme nous avons vu dans la section précédente, le rôle de l'angle dièdre est au centre de cette étude. La courbe d'énergie potentielle suivante obtenue au niveau B3LYP/6-31+G(d) illustre bien les minima et les états de transition pour les différentes conformations des PCB-DL à l'état gazeux (fig.6). Les modes normaux de vibration dans les états de transitions à 0° , présentent une fréquence de vibration imaginaire de l'ordre de $46,91 \text{ cm}^{-1}$ pour le PCB77, 47 cm^{-1} pour PCB126 et $31,42 \text{ cm}^{-1}$ pour le PCB169.

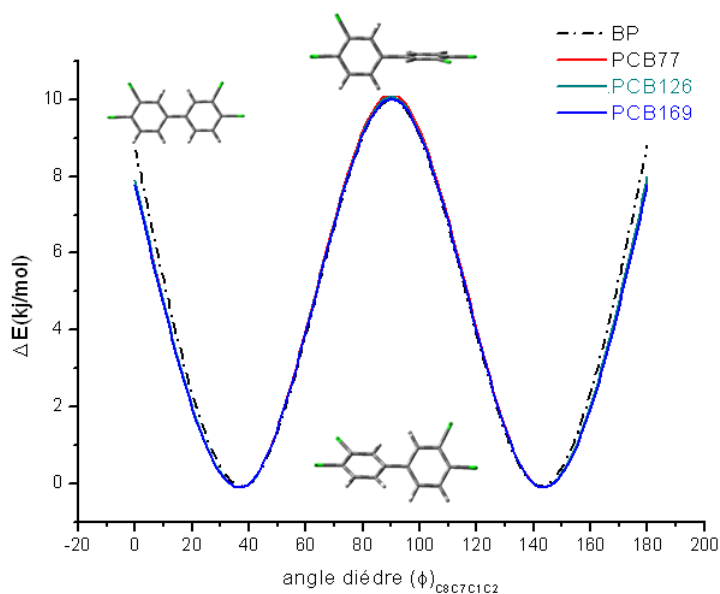


Figure 6 : Énergie potentielle des trois composés PCB-DL pour les différents états au niveau B3LYP/6-31+G(d).

Dans le tableau III.3, nous reportons les paramètres géométriques du PCB77 dans ses conformations planes, twist et dans la conformation en T.

Tableau III.3 : Paramètres géométriques relatifs du PCB77.

Structure	Twist	Plan (TS)	T (TS)
Distances (Å)			
C ₁ -C ₇	1.4855	1.4927	1.49611
C ₁ -C ₂	1.4023	1.4050	1.3994
C ₆ -C ₁	1.40524	1.40802	1.40244
C ₇ -C ₈	1.40236	1.40509	1.39947
C ₇ -C ₁₂	1.40524	1.40802	1.40244
C ₂ -H ₁₃	1.08514	1.08260	1.08554
C ₆ -H ₁₇	1.08602	1.08350	1.08633
C ₃ -Cl ₁₄	1.74743	1.74802	1.74723
C ₄ -Cl ₁₅	1.74560	1.74400	1.74669
Distance non-covalente des atomes ortho substitués			
H ... H	2.410/2.423	1.962/1.976	3.553/3.577
Angles (°)			
A(C ₂ -C ₁ - C ₇)	120.682	121.406	120.249
A(C ₇ -C ₁ - C ₆)	121.117	121.708	120.979
A(C ₁ -C ₇ - C ₁₂)	121.117	121.708	120.979
A(C ₁ -C ₂ - H ₁₃)	120.330	121.250	120.191
A(C ₁ -C ₆ - H ₁₇)	120.002	120.918	119.863
Torsions (°)			
D(C ₂ -C ₁ -C ₇ -C ₈)	38.2	0.	90.
Moment dipolaire (D)			
	2.43	2.61	1.84

L'angle de torsion obtenu pour la géométrie optimisée est de 38° (configuration twist), qui est en bonne accord avec l'angle obtenu en phase gazeuse du composé biphenyle [28]. Ce qui nous amène à dire que, la position des atomes de chlore n'affecte pas la distance C₁-C₇ qui est de 1.485 Å pour le PCB et elle est de l'ordre de 1.484 Å pour le biphenyle.

Lors du passage de la configuration twist à la configuration plane (ou en T), l'élongation de la liaison C₁-C₇ est faiblement affectée, $\Delta d_{C-C} = 0.01 \text{Å}$, par contre, la variation de la distance C-H pour les atomes d'hydrogènes ortho substitués est de l'ordre de $\Delta d_{C-H} = 0.03 \text{Å}$.

III.3.2 Géométries des PCB-DL à l'état ionique

Pour bien comprendre la toxicité des PCBs, des études révèlent que la dioxine et les dioxines-like agissent comme accepteurs d'électrons (on parle alors des ligands électrophiles) quand ils sont dans un milieu biologique [29,30].

C'est dans ce contexte que nous voulons analyser, le comportement géométrique des PCBs, lors d'un gain d'électron d'une espèce extérieure ou une perte d'électron vers une espèce extérieure. Le tableau III.4 montre que l'angle de torsion φ pour les PCBs sélectionnés diminue d'une manière considérable du ligand neutre au ligand ionique.

Tableau III.4 : Angle de torsion φ ($^{\circ}$) et la distance C_1-C_7 (\AA) des ions des PCBs obtenues au niveau B3LYP/6-31+G(d)

ligand	Neutre			Cation			Anion		
	Φ Cl	C_1-C_7	C-	φ	C_1-C_7	C-Cl	φ Cl	C_1-C_7	C-
PCB77	39.9	1.49	1.74	21.00	1.45	1.707	0	1.43	1.767
PCB126	39.8	1.49	1.74	21.66	1.45	1.70	0	1.43	1.762
PCB169	39.6	1.49	1.74	22.49	1.45	1.699	0	1.43	1.749

Nous remarquons que lorsque le ligand perd un électron de son orbitale HOMO, la distance C_1-C_7 se réduit de 0.03\AA par rapport au ligand neutre ce qui lui confère une structure coplanaire avec un angle de torsion $\varphi \approx 20^{\circ}$ et la liaison C-Cl devient plus forte, elle diminue de 0.04\AA , cela certainement dû à la conjugaison des paires libres des Chlores avec les cycles aromatiques. Par contre quand le ligand gagne un électron sur son orbitale LUMO, la distance C_1-C_7 diminue de 0.06\AA et le caractère de la liaison C-C a augmenté en liaison π , ce qui engendre une diminution de l'angle de torsion jusqu'à atteindre l'angle $\varphi=0^{\circ}$, alors le ligand devient plan. Quant à la distance C-Cl, elle s'allonge de 0.02\AA . Des auteurs ont suggérés que la déchloration des PCBs se fera plus facilement avec le PCB qui gagne un électron (PCB oxydé) plutôt qu'avec celui qui perd un électron (PCB réduit) [31]. Ces constatations s'expliquent à l'aide des orbitales frontières, en particulier la LUMO qui lie les atomes C_1 et C_7 .

Du point de vue distribution de charges électrostatiques ESP à l'état neutre, les charges positives sont localisées sur les atomes d'hydrogènes ortho substitués, avec $q^+ = 0.5371e$, entraînant ainsi une répulsion stérique et électrostatique entre atomes. Par ailleurs, les charges négatives sont localisées sur les atomes de carbones (C_2 (par symétrie C_8), C_5 (C_{11}), C_6 (C_{12})) et sur les atomes de chlores avec une charge globale $q = -1.053e$.

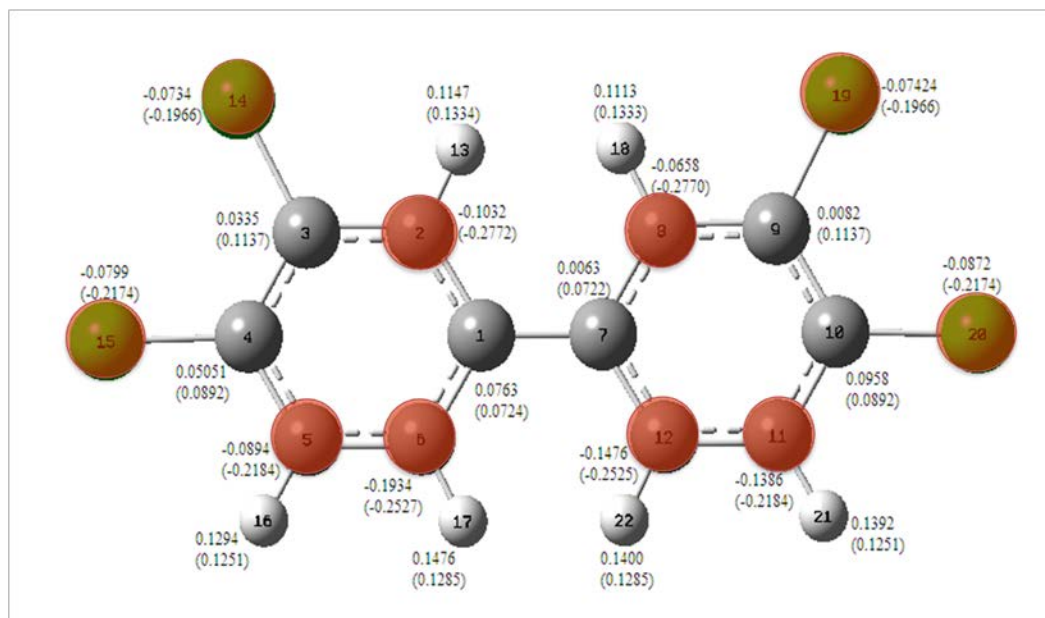


Figure 7 : Distributions des charges ESP avant et après de l'ajout d'un électron (valeurs entre parenthèse).

Toutefois dans le cas où le PCB gagne un électron (forme anionique), on observe des changements dans la quantité de charge. L'électron ajouté a été distribué sur les atomes de carbone colorés en rouge (voir fig.7), avec une quantité de charge totale $q = -2.324e$. Une situation qui conduirait alors à l'énergie minimale globale du PCB avec une conformation plane (voir fig. 8).

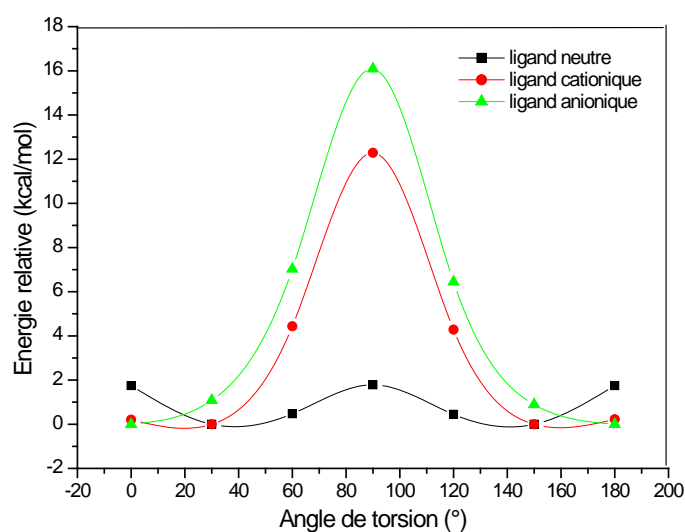


Figure 8 : Surface d'énergie potentielle PCB77 et ses ions au niveau B3LYP/6-31+G(d).

La figure 8 ci-dessus, représente la surface de l'énergie potentielle pour différents états du ligand (neutre, anion et cation) en fonction de l'angle dièdre. Elle illustre clairement le changement brusque de la barrière de rotation, à l'état ionique $\varphi=90^\circ$ [$\Delta E^{90} = E(\varphi=90^\circ) - E(\text{structure d'équilibre})$], la barrière de rotation passe de 1,78 kcal/mol pour le ligand neutre à 16 kcal/mol pour le ligand anionique, où la surface de potentiel est très plane aux alentours de 0° . Ainsi le transfert de charge du milieu extérieure vers le ligand, rend la structure plane ce qui a un rôle important dans la toxicité, ce qu'il lui facilite le passage à travers la membrane cytoplasmique.

III.3.3 Effet de solvant explicite sur les barrières d'énergie

Le premier paramètre qui a été étudié dans ce chapitre, est l'angle de torsion autour de la liaison C_1-C_7 , il s'est avéré nécessaire de prendre en compte l'effet de solvant explicite (H_2O) sur cette barrière de rotation (on parle alors de la supermolécule). Dans un premier temps, nous avons mené une investigation sur le changement de géométrie du PCB twist, dans un milieu hydraté. De ce fait nous avons pris le modèle de cluster donné par Mizukami [32], en ajoutant une à deux molécules d'eau placées près des atomes d'hydrogène ortho substitués du PCB77, dans sa forme la plus stable (twist). Le modèle de la supermolécule est représenté sur la figure 9.

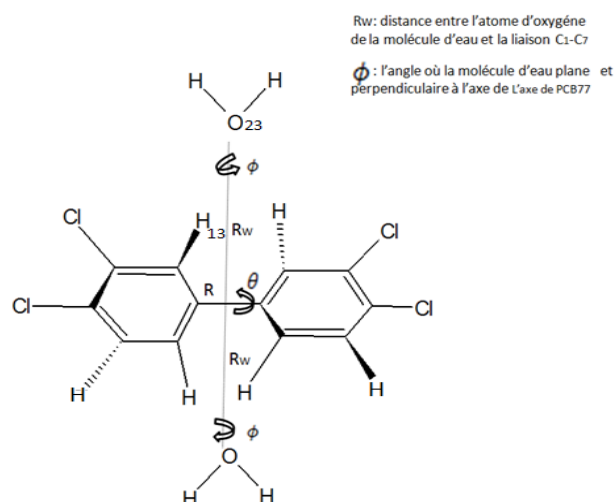


Figure 9 : Modèle d'hydratation du PCB77 avec des molécules d'eau.

Plusieurs tendances se dégagent de ce concept. Après avoir procédé à l'étude du profil d'énergie potentielle correspondant à la rotation autour de la liaison C₁-C₇, l'angle de torsion ϕ du PCB à l'état stable (twist) était de 38.2° sans hydratation, il devient 31° avec une molécule d'eau et à 27° avec deux molécules d'eau. La distance entre C₁-C₇ reste invariable quelle que soit le nombre de molécules d'eau ajouté, elle est de l'ordre de 1.49 Å. Le système est stabilisé par la présence d'une part de la liaison hydrogène entre O₂₃.....H₁₃, et d'autre part par une interaction électrostatique entre les atomes d'hydrogènes ortho substitués et les atomes d'oxygènes (voir tableau III.5).

Tableau III.5 : Énergies d'hydratations (E_{hyd}) des géométries optimisées des PCB_s-DL et calcul des barrières d'énergies (E_r) à 0° et 90° avec une et deux molécules d'eau (kcal/mol).

Ligand	Φ (°)	$R_{\text{C1-C7}}$ (Å)	E_{hyd}	E_r à 0°	E_r à 90°
<u>PCB77</u>					
<i>gaz</i>	39.9	1.48	0.0	1.89	2.42
+H ₂ O	33.8	1.48	3.75	1.34	2.91
+2H ₂ O	27.9	1.48	6.57	0.75	3.16
<u>PCB126</u>					
<i>gaz</i>	39.8	1.48	0.0	2.00	2.42
+H ₂ O	33.6	1.48	3.78	1.79	2.84
+2H ₂ O	28.6	1.49	7.34	0.89	3.64
<u>PCB169</u>					
<i>gaz</i>	39.6	1.48	0.0	1.94	1.97
+H ₂ O	33.6	1.48	3.94	1.34	2.87
+2H ₂ O	28.8	1.49	7.78	0.92	3.82

$E_{\text{H}_2\text{O}} = -76.4225724$ u.a

Les molécules d'eau explicites, jouent un rôle significativement dans la planéité du ligand. Plus on rajoute de l'eau et plus l'énergie relative (à la conformation à 0° et 180°) diminue de 1kcal/mol environ, d'où la stabilité du système et la flexibilité du PCB. Cette énergie relative se voit augmentée de 1 à 2 kcal/mol environ à la conformation en T (90°) avec l'ajout des molécules d'eau, tel que leur flexibilité est moins rapide.

III.3.4 Analyse de l'énergie de délocalisation E^2

Afin de décrire les effets électroniques stabilisants dus aux interactions donneur-accepteur, la méthode NBO a été utilisée. Nous avons relevé juste les valeurs de l'énergie E^2 de $\pi_{C1-C2} \rightarrow \pi^*_{C7-C8}$ afin de comprendre les interactions entre atomes qui se trouvent autour de l'angle dièdre. Les résultats sont listés sur le tableau III.6. L'énergie de délocalisations E^2 a été calculée pour différents ligands au niveau B3LYP/6-31+g(d) selon la formule suivante :

$$E^2 = \Delta E_{ij} = q_i \frac{F(i,j)^2}{\xi_j - \xi_i} \quad (I.3)$$

Avec : - q_i est la charge NBO.

- ξ_i, ξ_j sont des énergies des orbitales.

- $F(i, j)$ est l'élément non-diagonal de matrice NBO de Fock.

Tableau III.6 : Énergie de stabilisation E^2 pour les interactions NBO (i) et NBO (j) des différentes conformations.

Interaction $NBO(i) - NBO(j)$	E^2 (kcal/mol)		
	PCB77	PCB126	PCB169
$\pi_{C1-C2} \rightarrow \pi^*_{C7-C8}$			
$\left\{ \begin{array}{l} \text{plan} \\ T \\ \text{twist} \end{array} \right.$	15.16	14.72	15.01
	pas de délocalisation	pas de délocalisation	pas de délocalisation
	9.29	9.33	9.34

Ces interactions sont relativement identiques pour les trois ligands. En revanche la variation de l'énergie de délocalisation E^2 est significative, lors du passage du ligand de la conformation plane à la conformation twist, où elle diminue environ de 5 kcal.mol^{-1} pour les congénères sélectionnés. Par contre la délocalisation est absente quand la conformation est en forme T. Nous remarquons que les conformations planes sont plus stabilisées que les conformations twist. Cette énergie de délocalisation joue un rôle important pour prédire la stabilité de la molécule ou bien sa réactivité vis-à-vis du milieu extérieur.

III.3.5 Calcul de l'énergie de dissociation BDE de la liaison C-Cl

Un xénobiotique (PCB) peut activer le récepteur AhR sous sa forme radicalaire et sous l'effet d'un rayonnement UV [33]. Dans le but de comparer la facilité d'un PCB à générer un radical libre à travers la coupure de la liaison C-Cl, trois dérivés de benzène ont été utilisés comme modèle le monochlorobenzène, le trichlorobenzène et l'hexachlorobenzène. Nous avons effectué des coupures homolytiques à différents points (sites) pour chaque modèle, qui sont représentées sur la figure 10. La réaction suivante est une dissociation homolytique.

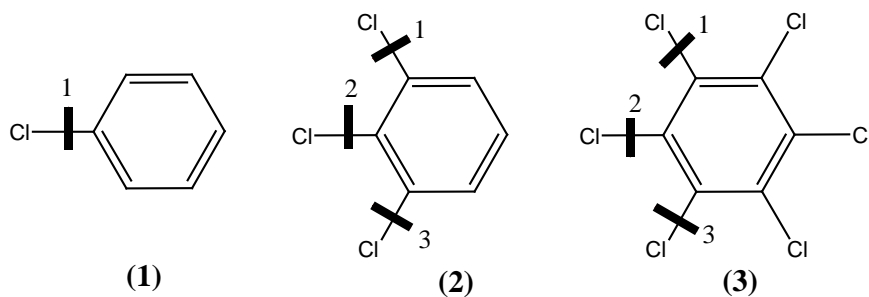
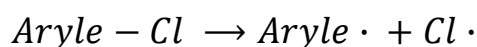


Figure 10 : Les différents sites de dissociation homolytiques des liaisons C-Cl.

l'énergie de dissociation de liaison (BDE) (Bond *Dissociation Energy*) sont calculées au niveau B3LYP/6-31+G (d,p) [34]. Cette grandeur énergétique du modèle est obtenue en utilisant l'énergie électronique totale (corrigée du ZPE) $E = E_0 + \text{ZPE}$, où E_0 représente l'énergie électronique et ZPE est l'énergie au point zéro.

La BDE est exprimée selon l'équation suivante :

$$BDE (Ar - Cl) = E(Ar\cdot) + E(Cl\cdot) - E(ArCl) \quad (1.4)$$

Le tableau III.7 récapitule les valeurs des énergies de la dissociation (BDE). Nous remarquons que plus le nombre d'atome de chlore augmente quand on passe du modèle 1 à 3, plus l'énergie de la BDE diminue. Par conséquent pour obtenir un radical d'un monochlorobenzène par exemple, il faut une énergie de BDE de 88.51 kcal/mol, qui est plus élevée que celle trouvée pour un radical hexachlorobenzène, une variation qui est de 5 kcal/mol).

Tableau III.7 Énergie de Dissociation de liaison BDE en kcal.mol⁻¹ des dérivés benzéniques.

Site de coupure	1	2	3	Exp ¹
Modèle	BDE C-Cl pour le site			
1	88.51	88.51	88.51	95.5
2	85.66	85.13	85.66	
3	83.03	83.03	83.03	

¹cette valeur expérimentale est donnée par la référence [34].

Par analogie, le PCB dans cet état (avec 4, 5 ou 6 chlores) active facilement le récepteur AhR. Enfin la réactivité du radical issu du PCB vis-à-vis du récepteur est un paramètre à prendre en compte. De plus nous avons constaté que les calculs théoriques sous estiment le calcul de la BDE par rapport aux calculs expérimentaux qui est de l'ordre de 6 kcal/mol.

III-4 Approche théorique de la réactivité du PCB77

L'étude des propriétés toxiques des PCBs, nécessite de connaître sa capacité de transférer ou de capter un électron du milieu extérieur (milieu biologique). Cette étude est possible en calculant des concepts chimiques dérivant de la DFT caractérisant le ligand à l'état isolé. Le potentiel chimique μ , la dureté chimique η , la polarisabilité χ et l'indice global d'électrophilie ω ont été étudiés. Parallèlement, les indices locaux de Fukui ont été évalués, la charge électrostatique q est calculée selon la méthode NBO, permettant de décrire la capacité d'atome de s'impliquer dans des interactions électrostatiques avec d'autres molécules.

Durant notre analyse, nous avons constaté que le nombre de chlore influe d'une manière directe sur la réactivité et la stabilité du PCB, plus il ya des atomes de chlores, plus la BDE

est faible et plus le nombre des atomes de chlores ortho-substitués augmentent et plus la barrière d'énergie est grande.

Pour cela et afin d'étudier le transfert de charge qui est, à notre avis, au cœur de la toxicité entre le xénobiotique et le récepteur AhR, nous avons pris comme modèle le ligand PCB77 (vu que sa structure est similaire à celle de la dioxine, voir figure III.5) et procéder à une étude succincte des indices globaux et locaux pour chaque conformation donnée correspondant à un angle considéré du PCB77.

Un profil d'énergie potentielle a été établi, correspondant à la variation de l'angle dièdre $\varphi_{2,1,7,8}$ avec un pas de 30° . L'optimisation des géométries a été effectuée au niveau B3LYP/6-31+G(d). La dureté chimique et le potentiel chimique sont calculés à partir des équations (1-58), (1-62) et (1-64) de la partie I où PI^a et AE^b sont respectivement, le potentiel d'ionisation et l'affinité électronique, d'où découle le calcul de l'électrophilie ω . La variation de l'énergie relative E_r et les différents descripteurs pour chaque conformation donnée à chaque angle de rotation φ sont représentés sur le tableau III.8 et les figures III.11 (a) - (e).

Tableau III.8 : Calcul des différents descripteurs globaux basés sur la DFT du PCB77.

$\varphi(^\circ)$	E_r (kcal/mol)	η (eV)	μ (eV)	χ (eV)	ω (eV)	α (u.a)
-30	0,20	3.69	-4.37	4.37	2.58	202.49
0	1,98	3.59	-4.40	4.40	2.69	204.18
30	0,20	3.69	-4.37	4.37	2.59	202.49
40	0	3.74	-4.36	4.36	2.54	200.90
60	0,65	3.87	-4.34	4.34	2.43	197.23
90	1,99	3.59	-4.40	4.40	2.69	204.18
120	0,60	3.87	-4.34	4.34	2.43	197.27
140	0	3.74	-4.36	4.36	2.54	200.90
150	0,12	3.69	-4.37	4.37	2.58	202.78
180	1,88	3.59	-4.40	4.40	2.69	204.18

^a PI : c'est l'énergie nécessaire pour arracher un électron, passage de la molécule neutre (N électron) au cation (N-1 électron)

$$PI = E(N-1) - E(N).$$

^b AE : c'est l'énergie gagnée par un système lorsqu'il capte un électron, ou bien le gain d'énergie qu'accompagne le passage d'un système neutre (N électron) à un anion (N+1 électron). $AE = E(N) - E(N+1)$.

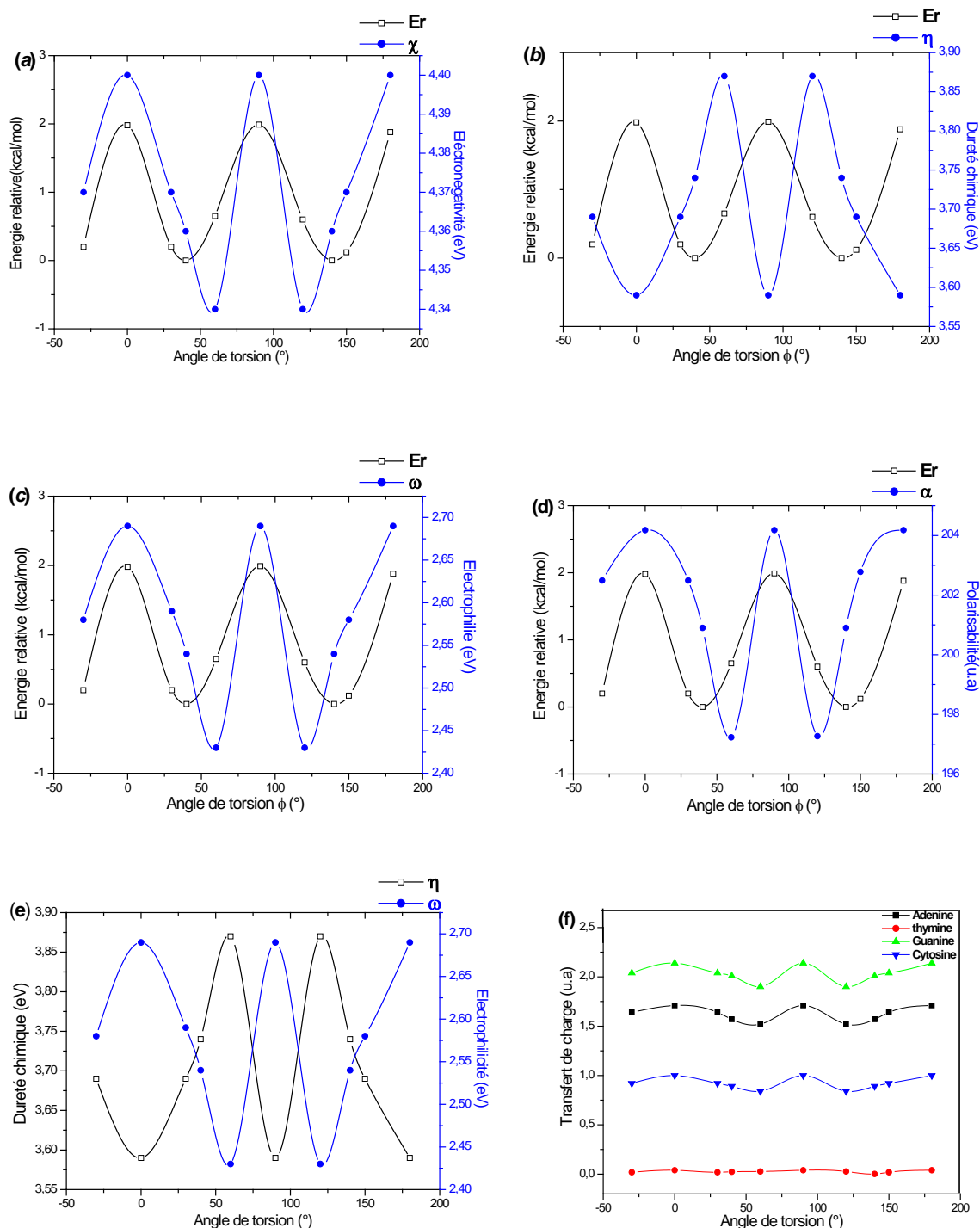


Figure III.11 : Profil énergétique du PCB77 (a) énergie relative et l'électronégativité, (b) énergie relative et la dureté chimique, (c) énergie relative et l'électrophilie, (d) énergie relative et la polarisabilité, (e) dureté chimique et électrophilie et (f) quantité de transfert de charge entre PCB et bases azotées pour différents angles de torsion.

La figure III.11.a montre l'évolution de l'énergie relative et de la dureté chimique η en fonction de l'angle de torsion. On observe que le minimum global de la dureté chimique coïncide avec les maxima du profil énergétique à ($\phi = 0^\circ, 90^\circ$ et 180°), indiquant que ces trois

conformations, c'est elles qui semblent être les plus réactives. La dureté maximale est observée pour $\varphi = 60^\circ$, qui ne correspond pas à un minimum énergétique. Cette flexibilité est à notre avis une des causes de toxicité de ce composé. Quant à la variation de l'énergie relative E_r , de l'électronégativité χ et de la polarisabilité α pour différents angles de torsion (voir figures III.11.b et III.11.c) présentent également un profil similaire. Nous constatons que la valeur de l'électronégativité la plus élevée est observée pour la conformation plane ($\varphi = 0^\circ, 180^\circ$) et à la conformation en T ($\varphi = 90^\circ$), où l'énergie maximale est obtenue. Ces conformations attirent facilement des électrons du milieu extérieur. On peut considérer ce comportement comme une conséquence de la toxicité du système. Mais, la valeur minimale de l'électronégativité et polarisabilité ne sont pas observés aux conformations les plus stables. A partir de ces descripteurs globaux, un indice dérivé le plus important a été calculé qui est sans doute l'indice « d'électrophilie (ω) », il explique l'activité biologique et la toxicité d'une toxine [35,36], plus sa valeur est élevée plus le système est électrophile donc réactif. Autrement dit, nous voulons savoir combien un électrophile (dans notre cas le PCB77) peut acquérir des électrons s'il est immergé dans un espace riche en électron. La figure II.11.d représente la variation de l'électrophilie et l'énergie relative pour différents angle de torsion, une grande valeur de l'électrophilie est obtenue pour les conformations plane et en T correspondant à $\varphi = 0^\circ, 180^\circ$ et 90° d'où leur réactivités. Le profil énergétique de l'électrophilie suit celui de l'énergie relative.

Les plus importants descripteurs globaux sont la dureté chimique et l'électrophilie qui représentent la stabilité et la réactivité respective du PCB77, et sont comparés sur la figure III.11.e. Pour différentes conformations, une remarque de la relation entre η et ω est à noter. Il est observé qu'une valeur maximale de l'électrophilie à $\varphi = 0^\circ, 90^\circ$ et 180° correspond une valeur minimale de la dureté chimique, d'une part cela illustre que ces conformations ont une grande capacité d'acquérir des électrons d'une autre entité d'où sa réactivité et d'autre part c'est composé qui donne difficilement son électron d'où sa stabilité.

III.4.1 Analyse des descripteurs locaux

Un système peut avoir un certain pouvoir électrophile global, cela ne signifie pas que tous les sites le constituant ont la même capacité à recevoir des électrons, d'où la nécessité d'analyser et évaluer les indices locaux. Néanmoins, l'électrophilie local, tient compte de l'électrophilie globale du système.

On a vu précédemment que le PCB77 est un électrophile et que la structure la plus réactive c'est celle de la conformation plane. Nous avons jugé intéressant de savoir quel est le ou les sites responsables de cette réactivité. En se basant sur l'équation (1-70) décrite dans le chapitre I, nous avons calculé les indices de Fukui à travers l'analyse des charges naturelle NPA (Natural Population Atomic) effectuées par la méthode NBO (Natural Bond Orbital) [37]. Les valeurs calculées sont listées en annexe tableau III.12.

L'indice d'électrophilie local ω^+ a été calculé selon l'équation 1-73 donnée dans le chapitre I. A noter que le PCB77 a une géométrie symétrique par rapport à l'axe séparant les deux phényles donc l'environnement est similaire, pour cela, nous avons considéré qu'un seul phényle, et les valeurs d'électrophilie local ω^+ sont les mêmes.

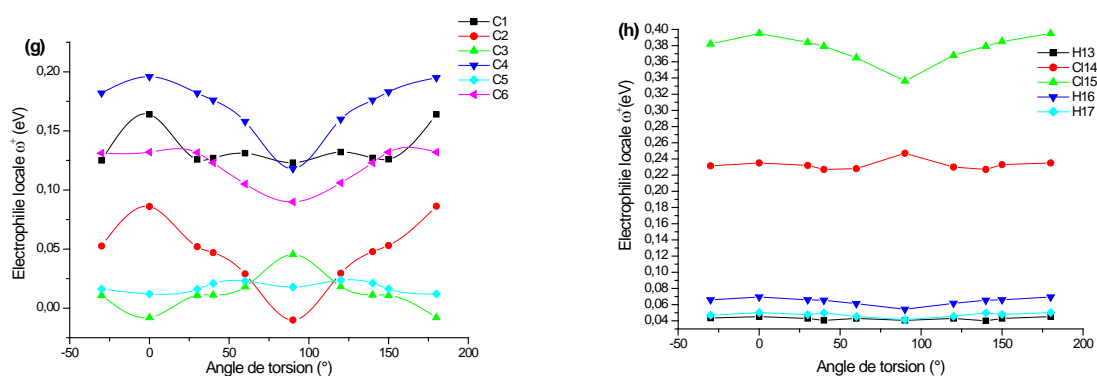


Figure III. 12 : Variation de l'électrophilie local ω^+ en fonction de l'angle dièdre, (g) pour les atomes de carbones, (h) pour les atomes de chlores et d'hydrogènes du PCB77.

Les profils de l'électrophilie local ω^+ , en fonction de l'angle de torsion pour les atomes C, H et Cl d'un groupement phényle du PCB77, sont représentés sur la figure III.12 (g-h). Sur la figure III.12.g, nous remarquons que la valeur de ω^+ de l'atome de carbone C₄ (et par symétrie l'atome de carbone C₁₀) est la plus élevée par rapport aux autres atomes, ce qui pourrait être associé à la toxicité du site, de plus celui-ci est plus prononcé dans le cas des conformations planes (0°, 180°) et moins élevé pour la conformation en T.

Par ailleurs, sur la figure III.13.h, nous constatons que l'atome de chlore Cl₁₅ (et par symétrie l'atome Cl₂₀), présente un indice ω^+ le plus élevé dans ses conformations planes, par rapport aux autres atomes, sauf pour la conformation à $\varphi=90^\circ$, où l'atome Cl₁₅ perd un peu de son effet électrophile avec un indice ω^+ plus faible. En somme les atomes qui sont aptes à subir des attaques nucléophiles sont C₄ (Cl₁₅) et C₁₀ (Cl₂₀).

III.4.2 Analyse de transfert de charges

Comme nous avons vu précédemment, la planéité et l'affinité électronique AE sont deux critères qui expliquent la toxicité du PCB. D'après de nombreux travaux, le transfert de charge se fait plus facilement entre les molécules planes et le récepteur AhR [38]. Le principe de Sanderson [39] montre que le passage des électrons se fait généralement entre un système le moins électronégative vers le système le plus électronégative. Afin de voir le sens de transfert d'électrons du système A vers le système B et/ou vice-versa, nous avons calculé un nouveau descripteur : la dureté chimique commune η_{AB} entre deux systèmes A (PCB77) et B (une base nucléique), en appliquant l'équation suivante, donnée par Parr et coll. [40]:

$$\eta_{AB} = \frac{PI_A - AE_B}{2} \quad (I.5)$$

le tableau ci après, illustre bien que les valeurs de la dureté chimique commune de η_{AB} sont supérieures aux valeurs de η_{BA} .

Tableau III.9 : Calcul de la dureté chimique commune η_{AB} et η_{BA} (en eV) entre PCB77 et bases azotées au niveau B3LYP/6-31+G(d).

Molécule	η_{AB}	η_{BA}
Adénine	3.030	2.044
Guanine	3.159	1.932
Cytosine	2.860	2.164
Thymine	2.735	2.381

Ce qui explique que le passage des électrons se fait du système B vers le système A, ceci montre clairement que le PCB77 est un accepteur d'électrons (électrophile) et les bases d'ADN sont des nucléophile (donneur d'électrons). Par ailleurs, nous avons calculé la quantité de charges transférée entre chaque conformation du PCB77 et chaque base azotée, on rappelle que ΔN est calculé selon la relation suivante :

$$\Delta N = \frac{\mu_A - \mu_B}{2(\eta_A - \eta_B)} \quad (I.6)$$

Les valeurs des différents descripteurs des bases nucléiques (B) sont listées sur le tableau III.10, par contre ceux du PCB77 (A) sont listés sur le tableau III.11, ceux-ci permettent de calculer ΔN .

Tableau III.10 : Calcul de la dureté chimique, le potentiel chimique et l'électrophilie (en eV) des bases nucléiques au niveau B3LYP/6-31+G(d).

Base azotées	η_B	μ_B	ω
Adénine	2.68	-3.60	2.41
Guanine	2.66	-3.41	2.18
Cytosine	2.64	-3.93	2.92
Thymine	2.70	-4.42	3.33

La variation de transfert de charge ΔN en fonction de l'angle dièdre a été analysée. Le tableau I-11 illustre bien que les ligands en forme plane et en forme T permettent un maximum de transfert de charges des bases nucléiques de l'ADN vers le ligand.

Tableau III.11: Calcul de transfert de charge ΔN entre PCB77 et les bases d'ADN.

Angle de torsion(°)	A	T	G	C
-30	1,64	0,019	2,04	0,92
0	1,71	0,040	2,14	1,00
30	1,64	0,019	2,04	0,92
40	1,57	0,024	2,01	0,89
60	1,52	0,027	1,90	0,84
90	1,71	0,040	2,14	1,00
120	1,52	0,027	1,90	0,84
140	1,57	0,0015	2,01	0,89
150	1,64	0,019	2,04	0,92
180	1,71	0,040	2,14	1,00

On a constaté que la quantité maximale de charge transférée ΔN a été observée avec la guanine avec une valeur de 2,14 et minimale avec la thymine qui est de 0.04. Le PCB77 a plus d'affinité avec la paire de base guanine-cytosine que la paire de base adénine-thymine.

Conclusion

Aux PCB-DL (PCB77, PCB126, PCB169) correspond une faible barrière d'énergie par conséquent, une grande flexibilité autour de la liaison C₁-C₇ à l'état gazeux, cette barrière de rotation se voit diminuée de moitié à l'état solvaté, et le ligand tend vers la planéité. D'autre part, plus le nombre de chlore augmente, plus l'énergie d'hydratation est grande. Cette flexibilité de ces ligands, rend possible leur interaction avec les biomolécules ce qui leurs permet de s'orienter vers une protéine avec la formation adéquate pour s'y intercaler. Ce qui, à notre avis, est une des causes principales de la toxicité de ces composés.

L'étude spécifique des propriétés électroniques et de la réactivité de ces ligands, bien que longue, est d'un grand intérêt pour les expérimentateurs. Les profils de dureté chimique, d'indice d'électrophilie et la polarisabilité fournissent des informations décisives concernant la toxicité des PCB en relation avec la flexibilité observée.

Le calcul de l'électrophilie local de l'atome révèle clairement que les atomes C₄, C₁₀ et Cl₁₅, Cl₁₉ sont des sites les plus probables pour des attaques nucléophyle, en accord avec ce qui a été trouvé par d'autres auteurs [41]. Poland et Glover [42] ont constaté que le site des atomes de chlores ainsi que leur nombre régissent la toxicité et l'activité biologique des dioxines. Par ailleurs le calcul de la dureté chimique commune η_{AB} , nous a renseigné sur le sens du transfert de charge lors de l'interaction entre le PCB et les bases d'ADN, ce qui montre la nature électrophiles de ces ligands (accepteurs d'électrons).

Pour la suite du travail et en s'appuyant sur ces descripteurs globaux et locaux, nous avons envisagé, une étude succincte des interactions intermoléculaire du complexe (PCB-DL/bases azotées) à l'état gazeux, comme les interactions en π -stacking où les deux phényles se placent face à face.

Plusieurs questions sont posées : quelle est la meilleure méthode qui décrit bien le complexe ? Comment se comporte le complexe ? Quelle est la meilleure position du ligand par rapport à la base azotée pour que le système se stabilise ? Nous tenterons d'apporter des réponses à toutes ces questions dans le chapitre IV qui va suivre.

BIBLIOGRAPHIE :

- 1- L. Pauling, *the Nature of the Chemical Bond*, Cornell University Press, Ithaca, NY, **1960**.
- 2- K.D. Sen, C.K. Jorgensen, "*Electronegativity Structure and Bonding*", vol 66, Springer, Berlin, **1987**.
- 3- R.G. Pearson, *Hard and Soft Acids and Bases*, Dowden (Hutchinson & Ross), Stroudsburg, PA, **1973**.
- 4- K.D. Sen, D.M.P. Mingos, "*Chemical Hardness: Structure and Binding*", vol. 80, Springer, Berlin, **1993**.
- 5- P.K. Chattaraj, J. Indian. *Electronegativity and hardness: A density functional treatment*. Chem. Soc. 69, 173, **1992**.
- 6- J. J. Dynes, F. L. Baudais, R. K. Boyd . "*Inter-ring dihedral angles in polychlorinated biphenyls from photoelectron spectroscopy*". Canadian Journal of Chemistry, 63: (6) 1292-1299, 10.1139/v85-220, **1985**.
- 7- Sassa, S.; Sugita, N.; Imajo, S.; Okumura, T.; Noguchi, T.; Kappas, A. "*Chloro-substituent sites and probability of co-planarity in polychlorinated biphenyls in determining uroporphyrin formation in cultured liver cells*". Biochem. J. (), 235,291-296, **1986**.
- 8- Cullen, J.M.; Kaiser, K.L.E. "*In QSAR in Environmental Toxicology*", Eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 39-66, **1984**.
- 9- McKinney, J.D.; Gottschalk, K.E.; Pedersen, L. J. Mol. Struct. 104, 445-450, **1983**.
- 10- Miller, G.; Sontum, S.; Crosby, D. G. "*Electron-acceptor properties of chlorinated dibenzo-p-dioxins*". Bull Environ Contam Toxicol.; 18 (5):611-6, **1977**.
- 11- Arulmozhiraja, P.C. Selvin, T. Fujii, "*Structure, Energy, Vibrational Frequencies, and Potential Energy*". J. Phys. Chem. A 106. 1765 [33], **2002**.
- 12- Almenningen, A., Bastiansen, O., Cyvin, L. and Samdal, S., "*Structure and barrier of internal rotation of biphenyl derivatives in the gaseous state*"; Part I. "*The molecular structure and normal coordinate analysis of normal biphenyl and perdeuterated biphenyl*". J. mol. Struct. , 128, 59-76, **1985**.
- 13- Bastiansen, O. and Samdal, S., "*Structure and barrier of internal rotation of biphenyl derivatives in the gaseous state*"; Part 4. "*Barrier of internal rotation in biphenyl, perdeuterated biphenyl and seven non-ortho-substituted halogen derivatives*". J. Mol. Struct. 128, 115-125, **1985**.
- 14- Hang, T.H., Nowakowska, M., Guilet, J.E., Csizmadia T.G. J. Mol. Struct. (Theochem) 232 :133-146, **1991**.

- 15- Martin van den Berg et al., "The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds", *Toxicological Sciences* 93(2), 223–241, **2006**.
- 16- Tang, T.H., Nowakowska, M., Guillet, J.E., Csizmadia, I.G. "Rotational barriers for selected polybromobiphenyl (PBB) congeners". *J. Mol. Struct. (Theochem.)* 232:133-146, **1991**.
- 17- Erickson, M.D. "Analytical Chemistry of PCBs". Boston: Butterworth, **1985**.
- 18- INERIS fiche des données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, **2005**.
- 19- Padmakar V. Khadikar, Shalini S., Dheeraj M., Sheela J. and Amrit V. *J. Bioorg & Medic Chem.* 11, 5045–5053, **2003**.
- 20- G.S. Patil, "Correlation of aqueous solubility and octanol-water partition coefficient based on molecular structure". *Chemosphere* 22:723, **1991**.
- 21- Meyer, M. "Ab initio study of flavonoids". *Int. J. Quantum Chem.* 76 (6), 724-732, **2000**.
- 22- Z.C. Zhai, Z.Y. Wang, X.H. Chen, L.S. Wang, *J. Mol. Struct.* : 714, 123-131, **2005**.
- 23- P.U. Biedermann, I. Agranat. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 6 (2) 67-68, **1999**.
- 24- Herradon, B., Montero, A., Mann, E., and Maestro, M.A. "Crystallization-induced dynamic resolution and analysis of the non-covalent interactions in the crystal packing of peptide-biphenyl hybrids". *Crys. Eng. Comm.* 6, 512-521, **2004**.
- 25- J. D. M. McKennedy, P. Singh, "Investigation of the effects of substitution position on the radical anions of chlorobiphenyls", 0108-2701, **1988**.
- 26- D. Pan, D. L. Phillips, *Chem. Phys. Lett.* 318, 214–221, **2000**.
- 27- P. U. Biedermann, V. Schurig, I. Agranat, "Enantiomerization of Environmentally Significant Overcrowded Polychlorinated Biphenyls". *Wiley-Chirality*, 9:350-353, **1997**.
- 28- S. Arulmozhiraja, T. Fujii, H. Tokiwa, "2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD): A Density Functional Study", *J. Phys. Chem., A* 104, 7068-7072 (2000) *J. Phys. Chem. A* 104, 7068, **2000**.
- 29- A. Almenningen, O. Bastiansen, L. Fernholt, B.N. S.J. Cyvin and S. Samdal, "The conformations of substituents and the deformations of naphthalene rings in equilibrium and saddle point conformers are discussed". *J. Mol. Struct.*, 128, 59, **1985**.
- 30- Miller, G. Sontum. S. and Crosby, D.G. "Electron-acceptor properties of chlorinated dibenzo-p-dioxins". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 611-616, **1977**.
- 31- Arulmozhiraja, S.; Christopher Selvin, P.; Fujii, T. *J. Phys. Chem. A*, 106, 1765, **2002**.

- 32- Y.Mizukami, "Exploratory *ab initio* MO calculations on the structures of polychlorinated biphenyls (PCBs): a possible way to make a coplanar PCB stable at coplanar conformation", J. Mol. Struct.(Theochem) 488,11-19,**1999**.
- 33- Safe (S.), O.HUTZINGER. "Polychlorinated Biphenyls : Photolysis of 2, 4, 6, 2', 4', 6' - Hexachlorobiphenyl". Nature vol. 232, **1971**.
- 34- Watanabe, T., Wang, Z.-Y., Takahashi, O., Morihash, K., and Kikuchi, O. Calculation of systematic set of bond dissociation enthalpies of polyhalogenated benzenes. J.Mol.Struct. (Theochem) 682,63-72, **2004**.
- 35- R. Parthasarathi, B.Maiti, V. Subramanian, P.K.Chattaradj, *Population provide correlations of similar quality*, Bioorg. Med. Chem. 13, 3405, **2005**.
- 36- R. Parthasarathi , V. Subramanian, D.R.Roy, P. K. Chattaradj , *an electrophilicity Based Analysis of Toxicity of Aromatic Compounds Towards Tetrahymena Pyriformis*. Bioorg. Med. Chem.12, 5533, **2004**.
- 37- Reed, A. E., Curtiss, L. A. and Weinhold, F., Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor–acceptor viewpoint. *Chem. Rev.*, , **88**, 899–926, **1998**.
- 38- U. Sarkar, J. Padmanabhan, R. Parthasarathi, V. Subramanian and P. K. Chattaraj . *Toxicity analysis of polychlorinated dibenzofurans through global and local electrophilicities*. J. Molec. Struc (THEOCHEM), 758, 119, **2006**.
- 39- Sanderson RT. *Partial Charges on Atoms in Organic Compounds*. Science. 11; 121(3137): 207-8, **1955**.
- 40- R.G.Parr, R.G.Pearson, *Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity*. J.Am.Chem.Soc.105, 7512, **1983**.
- 41- R. Parthasarathi, J. Padmanabhan†, V. Subramanian*, B. Maiti‡ and P. K. Chattaraj. Toxicity analysis of 3,3',4,4',5-pentachloro biphenyl through chemical reactivity and selectivity profiles. CURRENT SCIENCE, VOL. 86, NO. 4, 25 ,**2004**.
- 42- Poland, A. Glover, E. Mol.Pharmacol ,9, 736, **1973**.

CHAPITRE IV

Interactions intermoléculaires entre le ligand PCB77 et les bases nucléiques d'ADN

IV.1 INTRODUCTION

Nous avons vu dans le chapitre III, que les PCB-DL sont flexibles et se présentent plusieurs conformations (plane et twist), ce qui facilite leurs pénétration dans la membrane cytoplasmique (voir fig.IV.1).

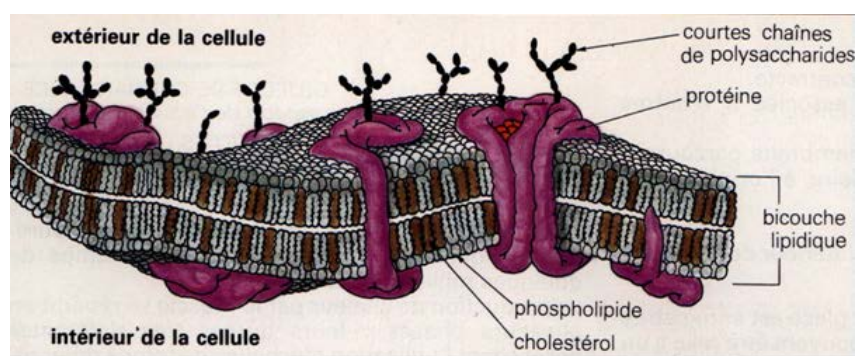


Figure IV.1 : Structure de la membrane cytoplasmique [1].

Ces dernières sont constituées d'une matrice lipidique où une grande quantité de xénobiotiques (PCBs) hydrophobes peuvent être stockés. Les effets toxiques des PCBs sur le développement et le fonctionnement du système nerveux ainsi que sur la barrière hémato-encéphalique restent un domaine peu connu. Néanmoins leurs mécanismes d'action sur la cible biologique sont sans doute multiples.

Ces effets toxiques sont liés vraisemblablement aux mécanismes de formation des métabolites des PCBs par l'intermédiaire des cytochromes P-450 [2]. Ces métabolites réagissent avec les macromolécules cellulaires notamment l'ADN en formant des adduits, d'où découle leur toxicité ou bien leur génotoxicité, voir figure IV.2, voie 2.

Ils conduisent aussi à la formation d'oxydes d'arènes qui sont ensuite transformés en composés hydroxylés. Ces derniers sont hydrosolubles et sont ainsi éliminés par voie urinaire. Ils peuvent donner aussi naissance à des quinones capables de réagir sur les sites nucléophiles des protéines ou de l'ADN [3], voir figure IV.2 voie 1.

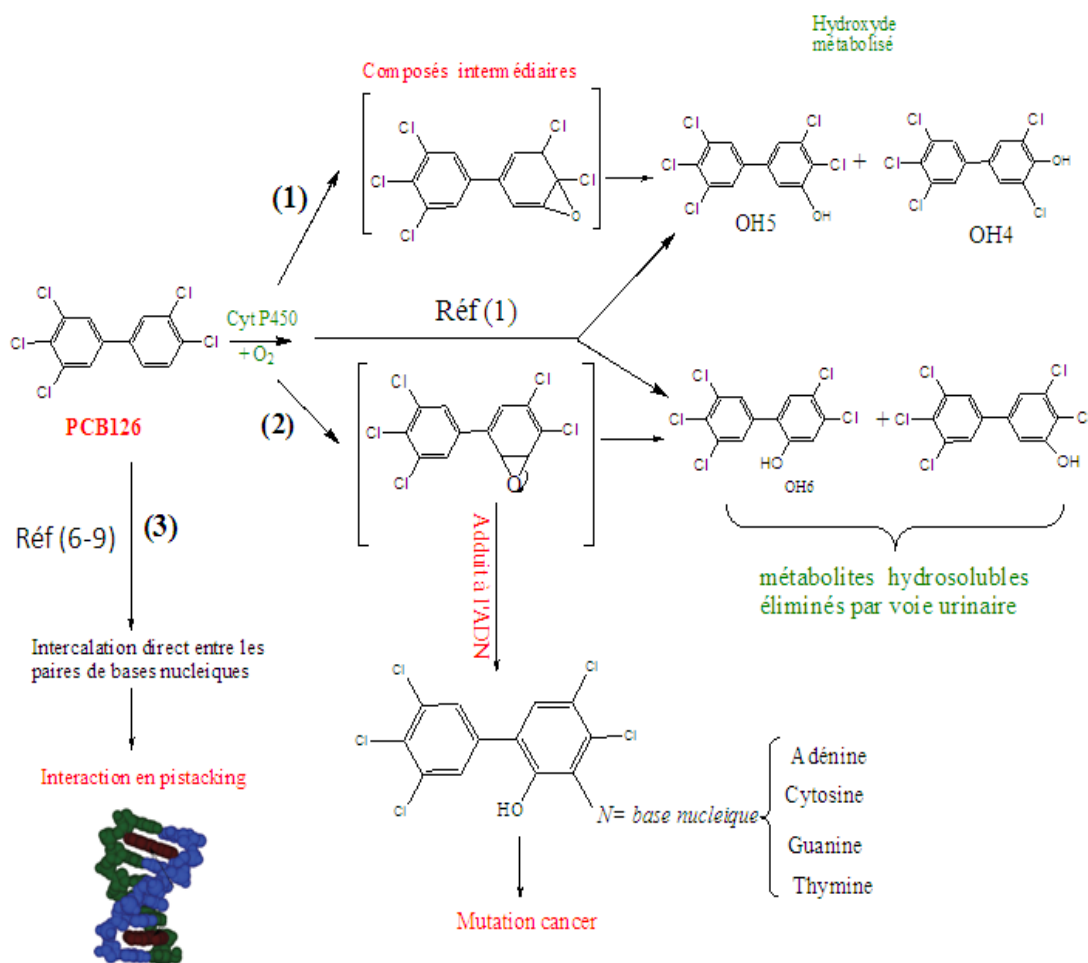


Figure IV.2 : Les différentes voies possibles de métabolisme du PCB126 dans la cellule d'un mammifère [2,3].

D'autres mécanismes peuvent être liés aux interactions intermoléculaires, où les PCBs peuvent interagir avec l'ADN de deux façons : soit le PCB se place sur le gros ou le petit sillon, soit il s'intercale dans les espaces séparant les paires de bases de l'ADN (on parle alors d'interactions π -stacking) [4], voir figure IV. 1, voie 3. Enfin, cette molécule semble agir sur toutes les phases du cycle cellulaire. Ce phénomène d'interactions intermoléculaires a attiré notre attention et nous a interpellés pour approfondir l'étude de la réactivité des PCB-DL dans le milieu biologique. Il est à noter qu'au début de notre étude, et à notre connaissance, aucune donnée théorique n'était disponible et que seul quelques études expérimentales existaient à ce sujet.

IV.2 Les premières études expérimentales sur l'intercalation des PCBs dans l'ADN.

VI.2.1 Les travaux expérimentaux de Sargent et coll. (1989)

Ces auteurs ont effectué l'étude des effets clastogènes du PCB77 (non ortho substitué) et PCB135 (ortho substitué) chez les lymphocytes humains avec une concentration bien déterminée de ces composés. Ils ont utilisé le cyclophosphamide (une molécule anticancéreuse) comme témoin. Cette étude montre que le PCB77 cause des cassures des chromosomes et des échanges des chromatides sœurs à de faibles doses. En revanche le PCB135 ne cause aucun dommage chromosomique même à des concentrations élevées. Sargent et coll. ont proposé que ces effets soient probablement dus à leur intercalation directement dans la double hélice de l'ADN [5,6].

IV.2.2 Les travaux expérimentaux de N. Nishi et coll. (2003)

Ces auteurs ont proposé une méthode de dialyse, ils ont effectué la dépollution d'une eau contaminée par des xénobiotiques (Dibenzofurane, TCDD, PCBs...) avec une solution aqueuse de l'ADN synthétique [7].

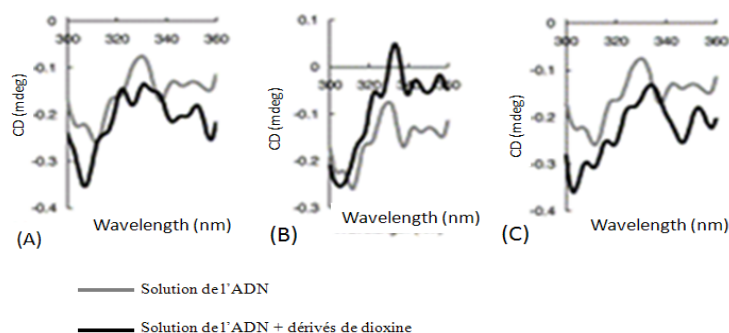


Figure IV.3 : Spectre DC de la solution de l'ADN (6.8 μM) avec (A) DD (5.4 μM) ; (B) DF (6.0 μM) ; (C) BP (6.5 μM) à (pH 7.0) (-): solution de l'ADN ; (-): solution de l'ADN + dérivés de dioxine [7].

L'expérience se base alors, sur une méthode de dialyse qui utilise une colonne contenant une solution aqueuse d'ADN à pH neutre. Une eau polluée par la dioxine et ses dérivés, à savoir dibenzo-p-dioxine (DD), dibenzofuranne (DF) et de biphenyle (BP) (à des concentrations bien déterminées) a traversée cette colonne. La solution récupérée (avant et après l'ajout des toxines) a été analysée par un spectre DC dans l'UV lointain.

La figure IV.3 représente le spectre de dichroïsme circulaire* (DC) de l'ADN à l'état pur et à l'état complexé. Nishi et coll. ont constaté que le profil de l'ADN pur est similaire à celui de l'ADN comportant le polluant. L'analyse par HPLC de cette eau polluée, a montré aussi que les dérivés de la dioxine ont été concentrés dans la solution d'ADN d'environ 200 fois. Ils suggèrent alors que cette similarité semble être due à l'insertion de ces polluants (dans leurs conformations planes) dans la double hélice de l'ADN, ce qui facilite leur élimination et obtenir une eau dépolluée.

IV.2.3 Les travaux expérimentaux de N. Nishi et col. (2008)

Le même groupe de chercheurs a continué de travailler sur la même idée. Ils ont proposé une autre méthode intéressante, qui consiste à polluer l'eau avec un mélange d'une concentration connue de toxines et une quantité connue des vitamines B2 et B12 (voir fig.IV.4), afin de voir le rôle de l'ADN dans la sélectivité des composés [8]. Une telle affinité sélective à été exploitée pour diverses applications.

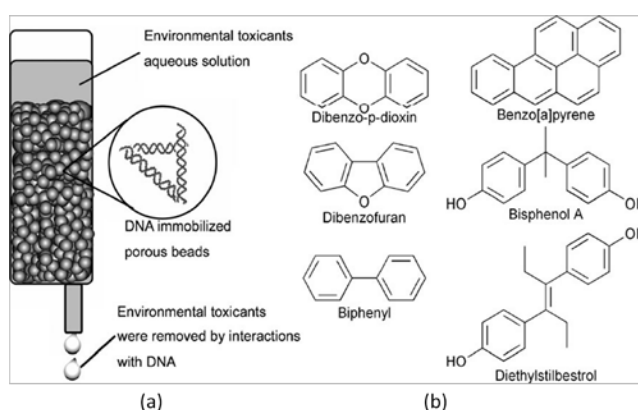


Figure IV. 4 : Représentation schématique d'une colonne contenant l'ADN éliminant les toxines (a) et les différentes toxines à analyser (b) réalisé par l'équipe de N.Nishi [8].

Ces auteurs ont constaté que l'ADN qui est une molécule soluble dans l'eau et biodégradable par des enzymes nucléases n'est pas adaptée pour le traitement des eaux. Yamada et coll.) [4] ont remédié ce problème. Ils ont rapporté un film d'ADN préparé par irradiation de lumière UV, ce film UV-irradié est devenu insoluble dans l'eau et résistant aux nucléases. Cet ADN résultant a le pouvoir d'accumuler des composés ayant une structure plane par exemple les dibenzo-p-dioxine, dibenzofuranne et les PCBs.

*Le dichroïsme circulaire (DC) permet de savoir si la molécule s'intercale entre les plans de bases de l'ADN ou se loge dans le petit sillon de l'ADN. Cette méthode est basée sur la différence d'absorption observée pour l'ADN seul et pour l'ADN en présence du ligand étudié. La fixation du ligand perturbe la structure de la double hélice et crée des effets d'écrans entre les bases, ce qui modifie les absorbances résultantes. Le DC est mesuré en fonction de la longueur d'onde. En règle générale, la fixation d'une molécule dans le petit sillon de l'ADN se traduit par l'apparition d'un signal dichroïque positif alors que les agents intercalant donnent lieu à un signal dichroïque de signe négatif et l'amplitude faible.

La figure 3 représente le processus de dépollution de l'eau. Leur résultat montre que la matrice d'ADN était très sélective, les vitamines B2 et B12 sont restées dans la mixture, alors que les composés toxiques ont été effectivement éliminés à cause de leur intercalation dans la double hélice de l'ADN.

IV.3 Intérêt de l'étude théorique par le mécanisme de π -stacking

Plusieurs voies de mécanismes avaient donc été étudiées expérimentalement : une voie de formation d'adduit proposé par Poland et coll. [2,3] et une autre voie d'intercalation du PCB entre les segments de l'ADN proposé par Nichi et coll. [8,9]. Au vue de ces résultats expérimentaux et de l'absence de données théoriques dans la littérature, nous avons procédé à une investigation de bases nucléiques à l'état gazeux et les interactions intermoléculaires mises en jeu. Avant de parler de ces interactions entre le xénobiotique et le milieu biologique il est intéressant de donner un aperçu général sur la structure de l'ADN.

IV.3.1 Structure et fonctions de l'ADN

Dans cette section, une présentation succincte de la structure de l'ADN est réalisée afin de pouvoir aborder les interactions PCB/ADN. La structure de l'acide désoxyribonucléique (ADN), est un long polymère constitué de deux brins enroulés formant une double hélice proposée par Watson et Crick [10-11]. Chaque brin est composé de sous-unités appelées les nucléotides, en effet chaque nucléotide est une entité constituée d'un groupement phosphate lié par covalence à un sucre (un pentose), le 2'-désoxyribose lui-même relié par un lien *N*-glycosidique à une base nucléique azotée. Des ponts phosphodiester en 3' et 5' des furanoses connectent ensuite les nucléotides entre eux (voir fig.IV.5). Les bases appartiennent à deux groupes : les purines, A et G, et les pyrimidines, C et T. Une purine est formée de deux cycles accolés, par contre une pyrimidine n'en contient qu'un.

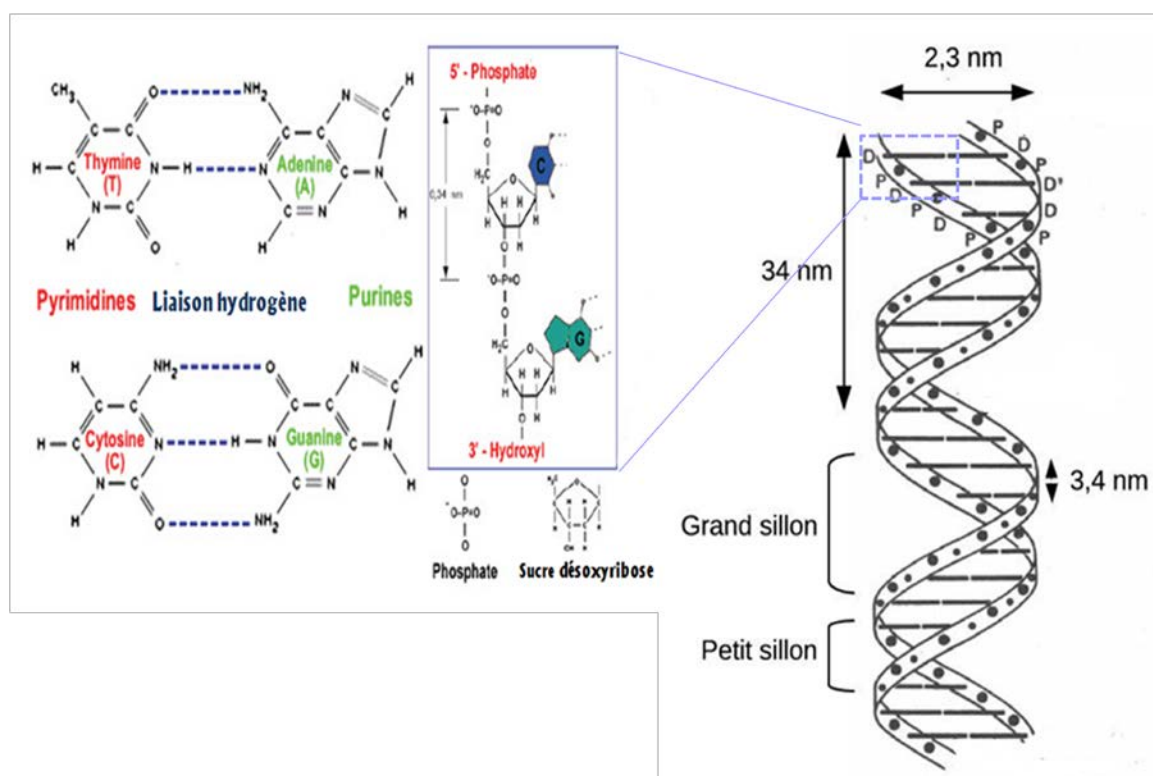


Figure IV.5 : Représentation dans le plan un fragment d'une hélice d'ADN-B et l'appariement des bases nucléiques.

Pour un brin d'ADN possédant vingt nucléotides comme illustrer sur la figure IV.6, on peut retrouver la séquence du brin complémentaire et reconstituer la double séquence de la double hélice. Les deux chaînes sont représentées comme suit:



Figure IV.6 : Exemple d'une séquence d'un double brin de l'ADN en 3' et 5'.

Les bases azotées se divisent en deux catégories selon leur nature chimique, l'adénine (A) et la guanine (G), constituant les bases puriques : la cytosine (C) et la thymine (T) qui constituent les bases pyrimidiques (voir fig. IV.7). L'adénine se lie à la thymine par deux liaisons hydrogènes et la guanine se lie à la cytosine grâce à trois liaisons hydrogènes. La distance qui sépare deux paires de bases est de l'ordre de $3,4\text{\AA}$, par contre la longueur totale d'ADN du génome humain est de 1,8 m [12,13].

Cette structure hélicoïdale est stabilisée par d'importantes interactions d'empilement de type π entre les bases. Nommée ADN de forme B, elle correspond à la forme canonique retrouvée majoritairement dans la cellule.

polycycliques, aromatiques et planes et forment de bons marqueurs de l'acide nucléique et qui sont potentiellement mutagènes. La structure plane des agents intercalant, leur permet de s'insérer au cœur de la double hélice d'ADN, par un mode de "stacking" (interactions hydrophobes) entre deux plans de paires de bases, produisant ainsi des interactions intermoléculaires. Cette intercalation induit un changement dans la structure locale du brin d'ADN, soit un "débobinage" de la double hélice ou bien un allongement du brin d'ADN.

IV.4 Étude du complexe PCB77// bases azotées par différentes méthodes de calculs quantiques à l'état gazeux.

IV.4.1 Introduction

L'article, "*Insight on the interaction of polychlorobiphenyl with nucleic acide-base*", a fait l'objet d'une publication parue dans la revue *Journal of Molecular Modelling* en 2012^a. Dans ce travail, nous avons montré que le calcul de l'énergie de dispersion intermoléculaire est la contribution la plus importante de l'énergie d'interaction totale du complexe (PCB/bases azotées), mais nous avons vu que d'autres contributions jouent un rôle non négligeable, à savoir les interactions électrostatiques et le transfert de charge de a base azotée vers le ligand. Ce transfert de charge a tendance à planifier la géométrie du PCB ce qui pourrait donc l'intercaler facilement entre les paires de bases de l'ADN ; Nous avons d'abord étudié les interactions intermoléculaires des complexes optimisés au niveau LDA, DFT-D et MP2, le but est de présenter les contributions relatives de ces différentes méthodes dans la compréhension de mécanismes d'interaction PCB/ADN et tester ainsi la fiabilité de la méthode DFT. Les complexes obtenus ont subis des orientations selon deux coordonnées ; la distance SV qui sépare les deux fragments [fragment1 : PCB77 ; fragment2 : base nucléique G, C, T, A)] et l'orientation de l'angle dièdre ω que forme le ligand et une base azotée.

^a S.Abouche, T.Very, A.Monari, M.Brahimi and X.Assfeld, "*Insight on the interaction of polychlorobiphenyl with nucleic acide-base*", *J.Mol.Model.* DOI 10.1007/s00894-012-1580-3, 2012.

IV.4.2 Méthodologie computationnelle

L'analyse des interactions moléculaires est primordiale, car elle permet de comprendre la formation des connections dans beaucoup de composés d'intérêt biologique, comme les protéines, l'ADN ou l'ARN et d'interpréter ainsi le comportement des molécules en réaction. Ces dernières sont classées en deux catégories : celles liées et celles non-liées. Les premières peuvent être subdivisées en interactions covalentes, ioniques, métalliques, ...etc. Les secondes quant à elles sont d'une importance capitale en chimie en raison de leur implication dans la stabilisation de nombreux édifices moléculaires tels que l'ADN [14-16]. Une quantité considérable de travaux a été consacrée à l'étude de dimères qui sont principalement des bases azotées [17-25]. Parmi ces travaux, une étude a été réalisée sur les complexes non-liés en π - π stacking. Les énergies d'interactions ont été obtenues au niveau MP2/6-31G* (d=0,25) [22]. Ces études ont démontré que les interactions π - π stacking sont bien décrites par trois contributions: la répulsion d'échange à courte portée, la dispersion à longue portée, et les forces électrostatiques.

Dans cette optique, nous nous sommes intéressés donc aux interactions π - π . Pour bien comprendre la problématique liée à ce sujet, nous avons sélectionné un composé de travail qui est le PCB77, vu qu'il a une structure proche de la dioxine. Nous avons donc traité un système PCB77// bases azotées à l'état gazeux, par des moyens d'outils théoriques, le signe (//) veut dire que les deux fragments sont placés face à face (ou aryle-aryle) par "stacking" appeler aussi interaction hydrophobe. Et ceci pour faire la lumière sur les principales contributions (dispersion, transfert de charge, ...), mises en jeu lors du rapprochement de ces deux fragments. Pour des raisons de similitudes, les énergies d'interactions calculées pour les PCBs 126 et 169 sont ajoutées en annexe 1.

Ces modèles simples nous aideront à déterminer les conformations les plus favorables du PCB77 pour pouvoir s'insérer dans la double hélice de l'ADN. D'autre part, la structure des bases nucléiques est affectée par deux types d'interactions non-covalentes : liaison hydrogène et l'interaction π - π stacking [26,27]. La liaison hydrogène est gouvernée par les forces électrostatiques [28], quant aux interactions π - π stacking, elles sont gouvernées par les forces de dispersions de London, ces forces ont été étudiées par F.Guerra et coll. [29-31].

Ils ont réalisé une étude théorique sur les énergies d'interaction π - π des cinq bases de ADN/ARN, au niveau de Théorie de la Fonctionnelle de Densité (DFT), en utilisant deux nouvelles fonctionnelles KT1, KT2 et l'approximation de densité locale (LDA). Ils ont trouvé que les fonctionnelles KT1 et LDA donnent de bonne description des énergies d'interaction π - π des systèmes et les résultats obtenus sont comparables à ceux trouvés avec les méthodes *ab initio*. Dans cette présente étude, nous allons étendre l'approche de ces travaux antérieurs par l'étude du complexe PCB77//ADN, en utilisant trois niveaux de théorie : la méthode DFT pure avec l'approximation LDA, la méthode DFT-D développée par Grimme [32,33] où la fonctionnelle DFT est complétée par une correction empirique des effets de dispersion à longue distance, décrite par une énergie de dispersion D corrigée selon l'équation (2) et enfin le niveau post-HF de Møller-Plesset (MP2). Ces dernières méthodes sont considérées comme des méthodes prometteuses pour la description des complexes π -stacking. Pour les calculs au niveau LDA, la fonctionnelle d'échange de Slater a été ajoutée à la fonctionnelle de corrélation Vosko-Wilki- Nusair (SVWN) [31, 34] avec une base étendue 6-311++G (d, p). Les trois paramètres d'échange et de corrélation Becke-Lee-Yang-Parr (B3LYP) ont été utilisés avec la même base au niveau DFT-D. Les calculs ont été effectués en utilisant une version modifiée de Gaussian 03 locale. A titre de rappel, l'énergie obtenue au niveau DFT-D est calculée selon l'équation suivante :

$$E_{\text{DFT-D}} = E_{\text{KS-DFT}} + E_{\text{disp}} \quad (1)$$

avec $E_{\text{KS-DFT}}$ est l'énergie de Khon et Sham.

E_{disp} est l'énergie de dispersion corrigée, elle est calculée selon l'équation (2) :

$$E_{\text{disp}} = -S_6 \sum_{i=1}^{Nat-1} \sum_{j=i+1}^{Nat} \frac{C_6^{ij}}{R_{ij}^6} f_{damp} (R_{ij}) \quad (2)$$

Pour les calculs MP2, nous avons utilisé la base 6-31G(d) qui donne une précision acceptable [34-36].

IV.4.3 Optimisation du PCB77 par différentes méthodes de calcul et choix du modèle géométrique du complexe.

Pour cette section, nous avons effectué deux calculs, dans un premier temps nous avons optimisé le ligand à l'état gazeux sans contrainte aux mêmes niveaux de théories citées ci-dessus. Cette structure optimisée a ensuite été utilisée comme point de départ pour l'optimisation du complexe à savoir (PCB77//A, PCB77//G, PCB77//T, PCB77//C) aux mêmes niveaux de théories.

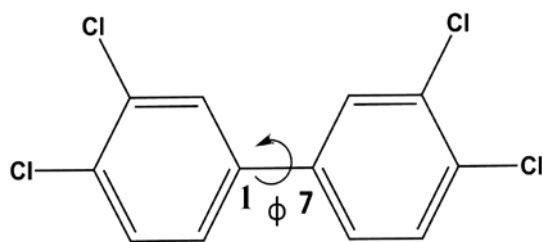


Figure IV. 8 : Modèle d'une structure de PCB77.

Lors de l'optimisation du ligand, nous avons remarqué que l'angle de torsion ϕ est fortement dépendant de la méthode utilisée, par contre la distance C_1-C_7 a été modestement affectée (voir tableau IV.1). Cette étape est importante pour la suite du travail afin d'expliquer le phénomène mis en jeu lors des interactions intermoléculaires entre fragments.

Tableau IV.1 : Paramètres géométrique angle de torsion ϕ ($^\circ$) et distance C_1-C_7 (Å) du PCB77 twist calculés à différents niveaux de théorie.

Méthode	ϕ	C_1-C_7
SVWN/6-311++G(d,p)	32,85	1,461
B3LYP/6-311+G(d,p)	35,76	1,482
MP2/6-31+G(d)	49,42	1,476
MP2/6-31G(d)	43,41	1,475

Dans un second temps, En s'appuyant sur des travaux antérieurs [38,39], le centre de masse du PCB77 et de chaque nucléobase ont été placés l'un sur l'autre avec une séparation verticale (SV) (voir fig.IV.9). Nous avons placé le ligand en position π - π stacking par rapport à un phényle et décalé par rapport au deuxième phényle du ligand.

Cette figure illustre la détermination des barycentres du fragment PCB77 et celui de la base nucléique (ici on a pris l'exemple de la cytosine), les deux fragments sont placés face à face pour un contact π - π selon l'axe xy .

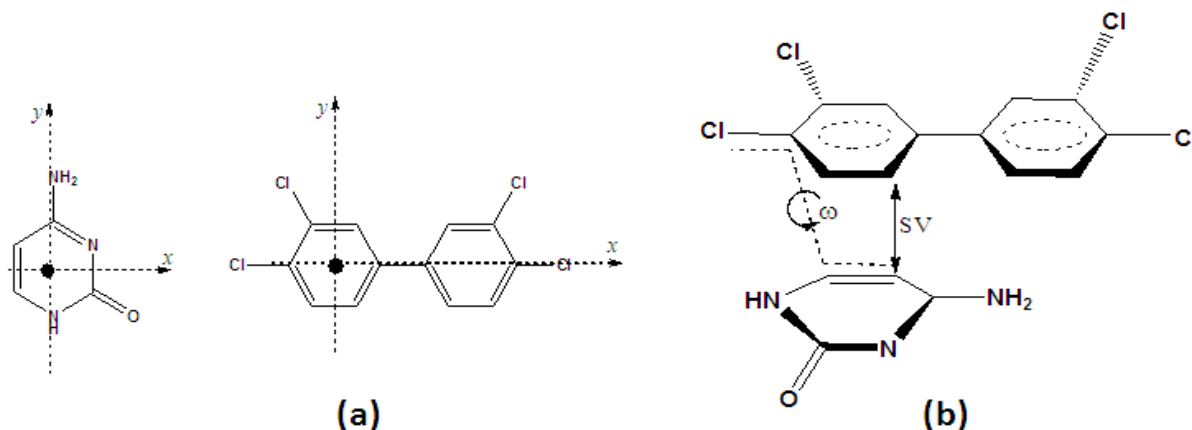


Figure IV. 9 : Orientation des fragments selon xy (a), définition de la distance de séparation (SV) et l'angle dièdre (ω) du complexe PCB77//cytosine (b).

Il s'agit de rapprocher la géométrie d'équilibre du PCB77 à une distance intermoléculaire bien déterminée environ à 3,3Å [35,36] entre les 2 plans qui forment le PCB et les bases azotées (adénine, thymine, guanine et cytosine) afin de prédire leurs comportements géométriques mutuels et les interactions intermoléculaires mises en jeu lors de l'optimisation.

IV.5 Analyse de l'énergie d'interaction des complexes PCB77// bases azotées et influence de la méthode de calcul.

IV.5.1 Optimisation du complexe en équilibre sans contrainte.

Dans les études ultérieures, le traitement des dimères par les méthodes *ab initio* et les méthodes DFT ont données des résultats satisfaisant. De ce fait, nous avons utilisé ces méthodes pour s'assurer de la fiabilité de la méthode DFT pour l'étude de notre système un peu complexe vue la flexibilité du ligand au niveau de la liaison C1-C₇.

Pour une géométrie optimisée, nous avons calculé les énergies d'interactions pour les trois niveaux de théorie différents SVWN/6-311++G (d, p), B3LYP-D/6-311++G (d, p) et MP2 /6-31G(d). Les géométries d'équilibre des complexes PCB77// bases azotées ont été optimisées sans contraintes aux mêmes niveaux de théories que le PCB77 libre.

Leur stabilité a été vérifiée par le calcul de fréquence positive. L'énergie d'interaction du complexe a été calculée selon l'équation (3) [37] et ses valeurs sont rapportées sur le tableau II.2.

$$\Delta E^{PCB77//base\ nucleique} = \underbrace{E^{PCB77//base\ nucleique}}_{\text{complexe}} - \left(\underbrace{E^{PCB77} + E^{base\ nucleique}}_{\text{fragments}} \right) \quad (3)$$

Tableau IV.2 : Énergie d'interaction (E_{int} en kcal/mol) pour chaque complexe et pour chaque niveau de théorie de la forme twist et plane du PCB77.

Méthode	PCB77//A	PCB77//T	PCB77//G	PCB77//C
SVWN/6-311++G(d,p)	-16,19 ^p	-17,16 ^p	-20,63 ^p	-18,35 ^p
	-15,31 ^t	-16,34 ^t	-20,59 ^t	-15,31 ^t
B3LYP-D/6-311++G(d,p)	-14,45 ^p	-15,16 ^p	-18,60 ^p	-15,67 ^p
	-13,37 ^t	-12,36 ^t	-17,21 ^t	-11,99 ^t
MP2 /6-31G(d)	-14,93 ^p	-13,92 ^p	-18,02 ^p	-15,17 ^p
	-14,29 ^t	-13,20 ^t	-17,78 ^t	-11,59 ^t

Plusieurs remarques se dégagent du tableau IV.2, d'une part lorsque l'on compare les valeurs de l'énergie d'interaction en valeur absolue pour chaque méthode, il apparaît que le complexe est caractérisé par des énergies d'interactions relativement proches calculées au niveau DFT-D et MP2, comparées aux énergies d'interaction calculées au niveau DFT qui surestime légèrement l'énergie, avec une variation environ de 2 à 3kcal/mol. Quant à la stabilité des complexes, les trois méthodes utilisées présentent le même classement par ordre décroissant de stabilité : PCB77//G > PCB77//C > PCB77//A > PCB77//T. Notons que le choix de la conformation du monomère PCB77 (twist ou plane) pour former le complexe n'a pas un grand effet sur l'énergie d'interaction, vu que les deux conformations qui forment le complexe tendent au même minimum local. A titre d'exemple pour le complexe PCB77//G, le PCB77 twist présente un angle de torsion de 25,6° dans le complexe alors qu'il était à 32° dans le système isolé. Cette diminution de l'angle augmente la délocalisation π et diminue par conséquent le gap d'énergie des orbitales HOMO/LUMO, afin de faciliter le transfert de charge de la base nucléique vers PCB77.

^p Le PCB77 en forme plane ($\varphi=0^\circ$) est placé en pistacking avec les bases nucléiques.

^t Le PCB77 en forme twist [(32°,35° et 43°) selon la méthode utilisée, voir tableau II.1 est placé en pistacking avec les différentes bases nucléiques.

Cet aspect sera détaillé un peu plus loin. Quant au PCB77 à l'état isolé (angle de 0°), il se retrouve avec un angle de torsion de 23° dans le complexe. Ce dernier se retrouver presque à la même position d'équilibre, avec une énergie d'interaction similaire ($-16,19$ kcal/mol) à celle trouvée avec la conformation twist ($-15,31$ kcal/mol) calculé au niveau LDA, à titre d'exemple. On peut noter aussi que le ligand twist à l'état gazeux a gardé la même géométrie dans le complexe avec des degrés moindre, qui signifie que l'énergie d'interaction n'était pas assez grande pour surmonter la barrière de rotation autour de C_1-C_7 du ligand. En conséquence, la base nucléique interagit principalement avec un seul phényle du PCB77. Ce résultat sera confirmé dans le chapitre V. Les géométries d'équilibres pour différents complexes, obtenues aux trois niveaux de théories sont pratiquement semblables. Nous rappelons que les coordonnées cartésiennes pour chaque géométrie et à chaque méthode sont répertoriées en annexe 4. Bien que les valeurs absolues des énergies des trois méthodes sont légèrement différentes, les tendances sont similaires pour les deux niveaux de théories MP2 et DFT-D, et que le niveau DFT surestime un peu l'énergie d'interaction du système. Afin de vérifier si ce résultat est valable pour d'autres géométries, nous avons varié quelques degrés de liberté, selon la distance verticale qui sépare les deux monomères et selon l'angle de torsion ω que forme le complexe (voir fig. IV.9), les résultats obtenus sont détaillés dans la section suivante.

IV.5.2 Analyse de l'énergie d'interaction à courte et longue portée des complexes PCB77//bases nucléiques

A partir de la géométrie d'équilibre du complexe initialement optimisé, nous avons varié la distance SV de $3,0\text{\AA} \leq SV_{\text{équi}} \leq 3,6\text{\AA}$, avec un pas de $0,1\text{\AA}$, le reste des paramètres géométriques ont été optimisés aux mêmes niveaux de théories que précédemment LDA, DFT-D et MP2. La figure IV.10 illustre l'évolution des énergies d'interactions associées à chaque méthode, en fonction de chaque déplacement vertical (SV). Nous constatons que les trois méthodes utilisées présentent pratiquement les mêmes profils énergétiques, pour chaque complexe et que l'énergie d'interaction calculée au niveau LDA est peu surestimée par rapport aux calculs effectués au niveau DFT-D et MP2, ceci est dû probablement au choix de la base utilisée.

En outre la distance d'équilibre calculée avec l'approximation LDA prédit un minimum proche de $3,2 \text{ \AA}$, en le comparant aux méthodes DFT-D et MP2 qui est environ de $3,3 \text{ \AA}$.

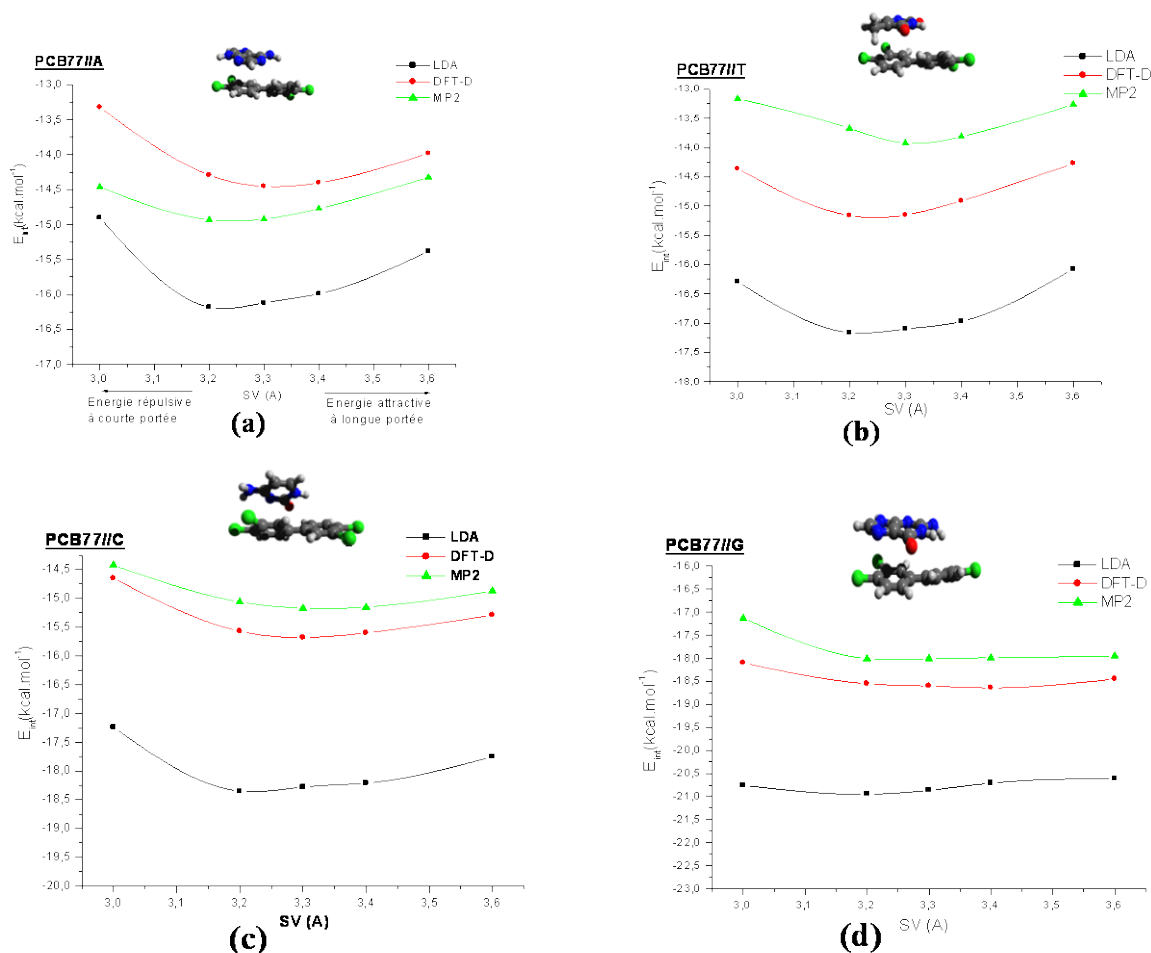


Figure IV.10: Énergie d'interaction en fonction du SV (Å) pour différents complexes obtenue pour chaque méthode.

D'autre part, deux sortes d'interactions sont mises en évidence sur ces profils, une interaction à courte portée et une autre à longue portée :

- à courte portée ($3 \leq SV \leq 3,2\text{-}3,3 \text{ \AA}$): L'approche des deux fragments constituant le système s'accompagne par une diminution brusque de l'énergie, qui se traduit par une forte répulsion exercée entre eux. Ce phénomène est dû principalement à l'effet d'exclusion de Pauli, c'est-à-dire quand les noyaux des fragments s'approchent l'un de l'autre, deux électrons de même spin ne peuvent pas occuper la même orbitale, pour cela les deux nuages électroniques s'éloignent avec un potentiel de répulsion en $1/r^{12}$.

- à longue portée ($3,3 \leq SV \leq 3,6 \text{ \AA}$) : l'éloignement de ces deux fragments, provoque une attraction ceci est dû aux forces de dispersion exercées avec un potentiel d'attraction en $1/r^6$, où l'effet d'échange et de corrélation est pris en considération.

Grace aux résultats trouvés, nous avons mis en évidence la similitude de résultats obtenus avec la fonctionnelle LDA et celles obtenues par les méthodes DFT-D et MP2, pour le traitement d'un complexe. Notons que, l'auteur F. Guerra et coll. [40-42] ont confirmés la fiabilité des fonctionnelles KT1, KT2, LDA et BHandH sur le traitement en π - π stacking des dimères de paire de bases d'ADN, en la comparant à la méthode MP2/6-31+G (d=0,25).

IV.5.3 Analyse des mouvements du complexe PCB77// bases azotées (compression /étirement).

Au vue d'apporter une explication succincte sur l'insertion du PCB-DL au niveau de la double hélice de l'ADN. Nous avons analysé le mouvement du complexe dans ses formes étirée et compressée, nous évaluons ainsi la quantité d'énergie d'interaction mise en jeu pour ces deux mouvements. Pour cela le complexe a été compressé de $0,2\text{\AA}$ d'une part et étiré de $0,4\text{\AA}$ d'autre part, par rapport à sa position d'équilibre. Tous les autres paramètres ont été optimisés par ces différentes méthodes et évaluer ainsi la quantité d'énergie nécessaire pour réaliser ces mouvements (voir fig. IV.11).

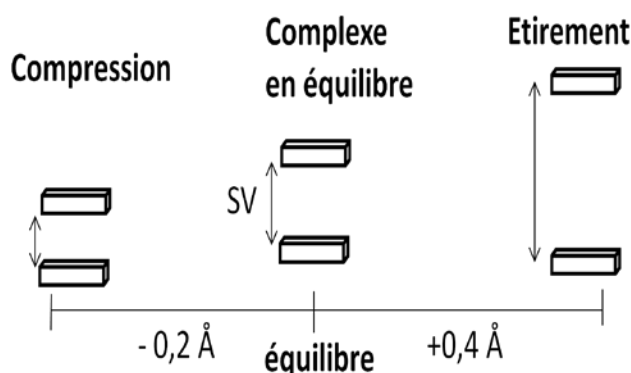


Figure IV.11 : Les mouvements de compression et d'étirement du complexe.

Un étirement de $0,4 \text{ \AA}$ des complexes, les variations de l'énergie d'interaction par rapport à la géométrie d'équilibre, sont regroupé sur le tableau II.4. On peut noter que les variations d'énergies données par la méthode LDA sont deux fois plus grandes que ceux obtenues avec la DFT-D et qui sont presque le double de ceux obtenues avec la méthode MP2. Cet écart entre la méthode DFT et la méthode de perturbation peut être expliqué par le choix de la

qualité moyenne de la base utilisée dans les calculs MP2, c'est pour cette raison que l'interaction intermoléculaire est moins bien décrite à longue distance.

Tableau IV.3 : Variation de l'énergie d'interaction* (ΔE_{int}) (en kcal/mol) pour un étirement de 0,4Å par rapport à la position d'équilibre aux trois niveaux de théories.

	PCB77//G	PCB77//C	PCB77//A	PCB77//T
SVWN/6-311++G**	0.34	0.60	0.81	1.09
MP2/6-31G*	0.07	0.19	0.61	0.41
B3LYP-D/6-311++G**	0.19	0.28	0.31	0.89

Par ailleurs, nous remarquons qu'il est plus facile d'étirer les complexes avec la guanine et la cytosine qu'avec l'adénine et thymine, ces derniers présentent une variation d'énergie plus élevée, pour les valeurs calculées au niveau LDA. Le classement est selon l'ordre décroissant de stretching : $G > C > A > T$, ce classement est en accord avec le classement de la stabilité des énergies d'interaction des complexes cités dans le paragraphe précédent. Bien que les complexes formés avec A et T soient les moins énergétiques (voir tableau IV.2), ils sont les plus solidement liés. Cela signifie que l'énergie d'interaction à courte portée de ces deux complexes varie plus fortement que ceux des complexes de G et C. Au cours du processus d'intercalation du ligand PCB77 entre les paires de bases de l'ADN, la distance intermoléculaire peut être plus ou moins courte que la distance d'équilibre présentée dans le paragraphe précédent. Par conséquent, la compression peut donner un aperçu sur la facilité d'un ligand de s'insérer dans le double brin de l'ADN. Pour cela la distance verticale SV a été raccourcie de 0,2 Å par rapport à la distance d'équilibre, puisque à plus courte distance, nous avons rencontré le mur de répulsion. Les variations d'énergies à courte portée sont regroupées dans le tableau IV.4 suivant.

* la variation de l'énergie d'interaction pour une extension est calculée selon l'équation suivante: $\Delta E_{int} = E_{int}^{geom. \acute{e}qui} - E_{int}^{geom. +0.4\text{\AA}}$

Tableau IV.4: Variation de l'énergie d'interaction (ΔE_{int}) (en kcal/mol) pour une compression de 0,2 Å par rapport à la position d'équilibre calculée aux trois niveaux de théories.

	PCB77//G	PCB77//C	PCB77//A	PCB77//T
SVWN/6-311++G**	0,25	0,56	1,29	0,87
MP2/6-31G*	0,19	0,10	0,36	0,8
B3LYP-D/6-311++G**	0,47	0,14	0,88	0,90

On peut signaler qu'à court portée, il est plus facile de compresser le système PCB77//G de 0,2 Å, avec une variation d'énergie respective de 0,25 kcal/mol calculé au niveau LDA et qui compense partiellement la répulsion qui est de l'ordre de 0,34 kcal/mol. Ces résultats suggèrent qu'une sélectivité de l'intercalation du PCB77 au sein de l'ADN a eu lieu dans le site où la guanine est présente. Nous allons les voir plus en détails dans le chapitre III.

Les tests menés sur le système PCB77//ADN démontrent la fiabilité de l'approximation LDA par rapport aux méthodes DFT-D et MP2. Dans la suite du travail, nous allons considérer l'étude du système avec la fonctionnelle LDA, puisque nous avons vu qu'elle traite d'une manière raisonnable, les effets d'échange et de corrélation du complexe par rapport aux méthodes ab-initio et elle est peu coûteuse en temps de calcul.

IV.5.4 Analyse de l'énergie d'interaction des complexes PCB77// bases nucléiques pour chaque orientation ω .

Nous avons montré, dans la section précédente, que le PCB77 peut s'insérer entre les deux paires de bases (base pyridique et pyrimidique) de la double hélice de l'ADN, sans difficulté à une distance d'environ 3,2Å. Dans cette section et pour que l'analyse soit complète, nous avons voulu savoir quelle serait la meilleure orientation qu'adopterait le ligand une fois mis en contact avec une base azotée?

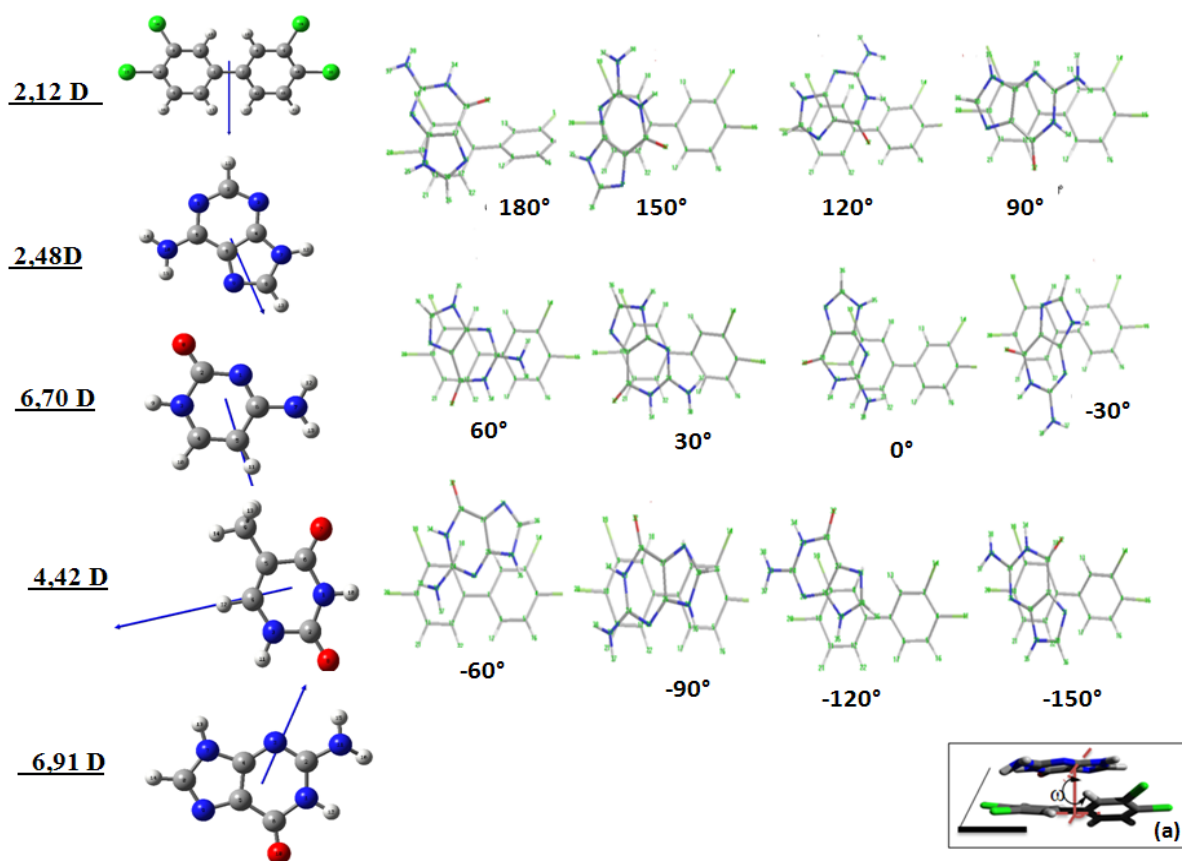


Figure IV.12 : Différentes orientations du complexe PCB77//G selon l'angle dièdre ω et leur moment dipolaire respectif des fragments avec son illustration (a).

Pour cela nous avons optimisé le complexe PCB77//G à partir de sa géométrie d'équilibre, en faisant varier l'angle dièdre ω , allant $-180 < \omega < +180$ avec un pas de 30° . Les différentes orientations sont illustrées sur la figure IV. 12. Le sens de l'orientation des fragments se fait dans le sens des aiguilles d'une montre.

Tableau II.5 : Énergie d'interaction des complexes pour différentes orientation (ω), au niveau SVWN/6-311++G (d,p)

$\omega(^{\circ})$	PCB77//T	PCB77//A	PCB77//G	PCB77//C
180	-14,51	-14,03	-16,67	-17,32
150	-13,16	-13,56	-16,39	-16,45
120	-16,38	-13,34	-19,08	-14,79
90	-15,96	-12,33	-20,12	-13,43
60	-13,15	-15,25	-17,46	-14,06
30	-14,64	-16,02	-14,62	-15,56
0	-14,66	-13,33	-9,15	-14,56
-30	-11,47	-14,16	-12,99	-15,41
-60	-14,02	-9,95	-16,24	-12,41
-90	-10,51	-12,31	-17,36	-12,10
-120	-10,49	-15,70	-14,89	-14,08
-150	-14,40	-15,31	-19,31	-17,55
-180	-14,51	-14,01	-16,69	-17,32

D'après ces résultats donnés sur le tableau IV.5, l'énergie d'interaction totale dépend fortement de l'orientation des fragments du complexe. Nous remarquons aussi que chaque complexe a une orientation d'équilibre bien déterminée, par exemple le complexe PCB77//T présente une grande stabilité quand les fragments qui le composent s'orientent avec un angle dièdre ω de 120° correspondant à une énergie de -16,38 kcal/mol. Notant que les variables géométriques (SV et ω) ont un grand effet sur les énergies d'interactions des complexes, nous résumons ainsi ces énergies les plus favorisées correspondantes au déplacement vertical SV et à l'orientation ω , des géométries en équilibre et qui sont listées sur le tableau IV.6. On peut noter aussi que le complexe ayant une énergie d'interaction la plus faible se trouve dans un espace où le moment dipolaire totale est le plus faible indiquant ainsi que les moments dipolaires du PCB et les bases nucléiques adoptent des orientations antiparallèle. Cela démontre que l'interaction dipôle-dipôle est responsable de l'orientation relative des deux fragments du complexe

Tableau IV.6 : L'énergie d'interaction des complexes en équilibre (kcal/mol) déterminée au niveau SVWN/6-311++G (d,p) en fonction des variables (SV (Å) et ω (°)).

Complexe	SV	ΔE_{int}^{sv}	ω	ΔE_{int}^{ω}
PCB77//G	3,2	-20,95	90	-20,12
PCB77//A	3,3	-16,18	30	-16,02
PCB77//T	3,2	-17,16	120	-17,38
PCB77//C	3,2	-18,35	-150	-17,55

Nous remarquons que l'énergie d'interaction calculée selon le déplacement vertical est en bon accord avec celle obtenue selon l'orientation de l'angle dièdre ω . Cela montre que le complexe a atteint la position d'équilibre. On pourra dire que d'après ces résultats, le système le plus stable (avec un déplacement antiparallèle) est observé avec la guanine à SV=3.2 Å et une énergie de -20.95 kcal/mol. L'énergie d'interaction des complexes augmente donc en valeurs absolue selon le classement suivant : A<T<C<G.

IV.5.5 Énergie de dispersion

Les calculs des énergies de dispersion calculées au niveau DFT-D pour les géométries d'équilibres sont présentés sur le tableau IV.7. Nous constatons que ces énergies de dispersion intermoléculaires sont de même grandeurs que les valeurs des énergies d'interactions totales. C'est pour cette raison que cette stabilité peut être expliquée par cette large dispersion qui est de -19.15 kcal/mol pour le complexe formé avec la guanine par exemple. En outre les interactions dipôle-dipôle sont certainement responsables de l'orientation relative des deux fragments du complexe et aussi le transfert de charge qui peut également jouer un rôle non négligeable, ces deux contributions seront détaillées dans les paragraphes suivants.

Tableau IV.7 : Énergie de dispersion intermoléculaire (en kcal/mol) calculées au niveau B3LYP-D/6-311++G (d,p) pour les quatre complexes.

	PCB77//G	PCB77//C	PCB77//A	PCB77//T
ΔE_{dis}	-19.15	-15.40	-16.96	-15.17

Ces interprétations ne sont pas suffisantes pour expliquer le phénomène de stabilité du complexe. En effet les interactions dipôle-dipôle sont certainement responsables de ces orientations relatives des fragments dans le complexe et chaque orientation présente un moment dipolaire bien déterminé. Dans la section suivante, nous allons observer comment l'énergie associée varie en fonction de la position relative des deux molécules et qui sont source de ces moments dipolaires.

IV.6 Analyse des propriétés électroniques du complexe PCB77//bases azotées en π -stacking.

IV.6.1 Étude de l'interaction dipôle-dipôle

Pour un petit rappel, en l'absence d'un champ électrique extérieur, deux dipôles interagissent entre eux. Deux dipôles linéaires s'alignent soit tête-bêche soit colinéaires, alignés de façon à maximiser les interactions attractives (maximum global ou local) (voir Fig. IV.13). Par contre un alignement parallèle côte à côte ou colinéaire opposé conduit à une forte répulsion.

Plus simplement noté : - interaction tête-bêche $\uparrow\downarrow$: interaction attractive.

- interaction colinéaire $\uparrow\uparrow$: interaction répulsive.

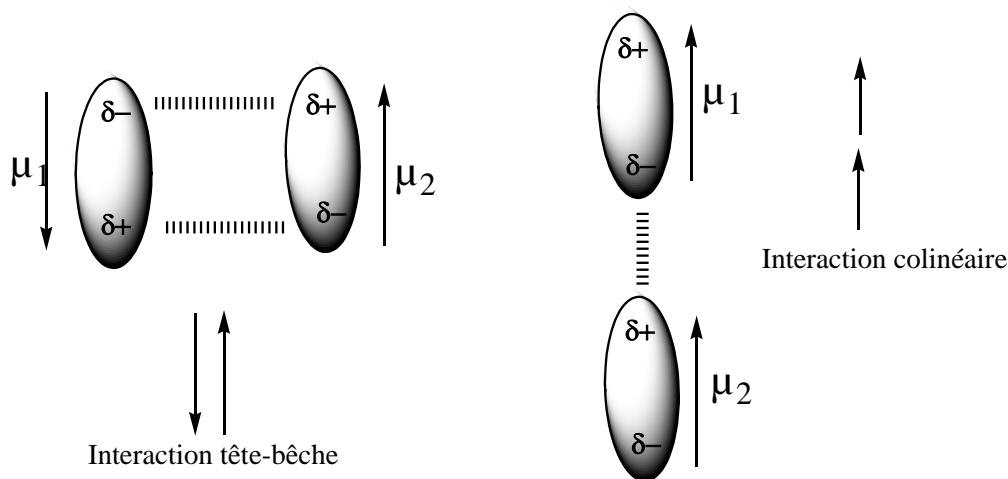


Figure IV.13 : Principe d'interaction entre deux dipôles permanent, Interaction tête-bêche (à gauche), interaction colinéaire (à droite) : interaction attractive.

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés donc à l'analyse de la variation du moment dipolaire et plus particulièrement le sens d'orientation des fragments du PCB77 et les bases nucléiques respectives. Les profils énergétiques présentés sur la figure 14, montrent la variation de l'énergie d'interaction et du moment dipolaire du complexe en fonction de l'angle dièdre ω avec un pas de 30° .

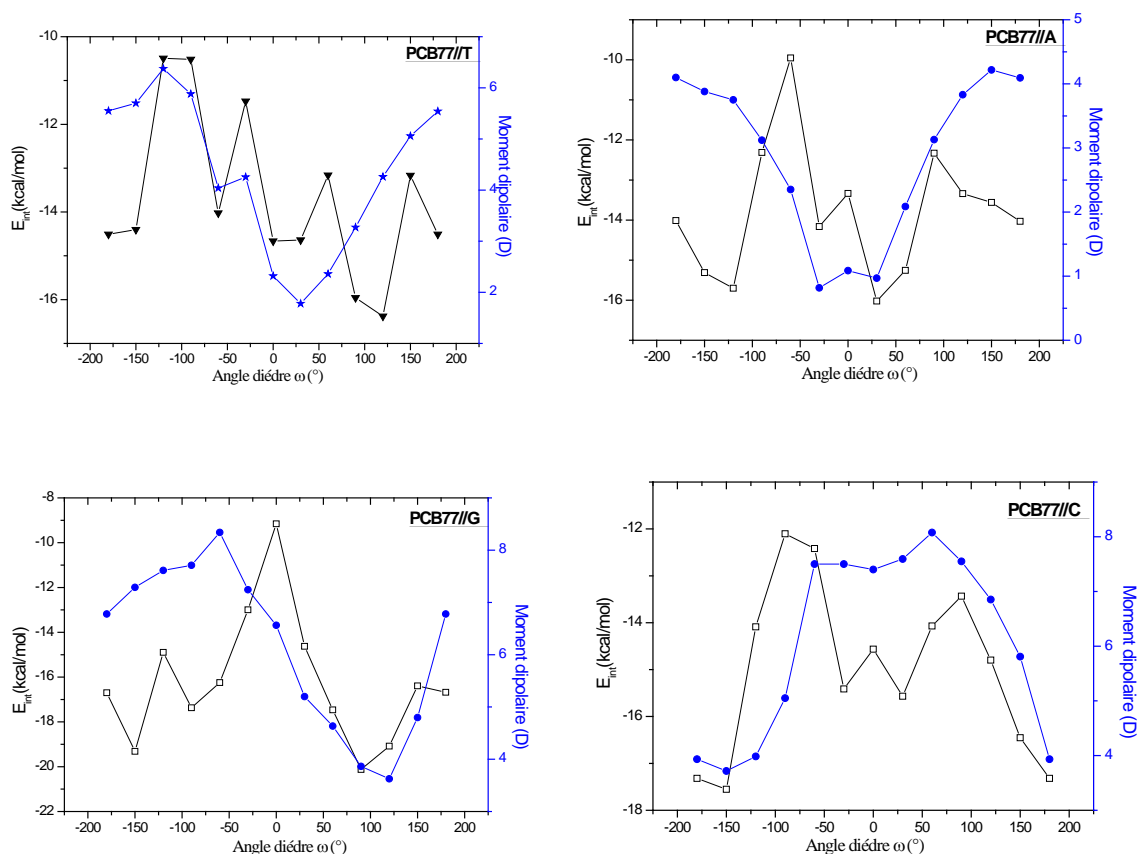


Figure IV.14 : Variation de l'énergie d'interaction (trait noir) et le moment dipolaire (trait bleu) selon l'angle dièdre du complexe PCB77// bases nucléique au niveau SVWN/6-311++G (d, p)

Nous remarquons que l'énergie d'interaction dépend fortement de l'orientation relative des molécules du complexe. Aussi la stabilité des complexes vient des interactions de dispersion attraction et des interactions électrostatiques déterminant ainsi les orientations des fragments. Le long du profil énergétique, nous remarquons que quand les deux moments dipolaires des fragments s'orientent en parallèle, l'énergie d'interaction est plus faible de $-9,15$ kcal/mol à $\omega=0^\circ$ pour le complexe PCB77//G par exemple, ce qui augmente les forces répulsives. Par contre quand ils s'orientent en tête-bêche, l'énergie d'interaction augmente et les forces attractives augmentent avec une valeur de $-20,93$ kcal/mol à $\omega = 90^\circ$.

Sur les figures IV.14, on voit bien que malgré ce léger décalage de la géométrie d'équilibre entre les énergies d'interaction et le moment dipolaire, la tendance est presque la même, ceci est dû aux autres contributions comme le transfert de charge qu'il ne faut pas perdre de vue. En raison de ce phénomène de décalage entre les deux composantes, nous avons analysé le moment dipolaire du PCB77 dans son état isolé et dans le complexe, d'une part et nous avons calculé le moment dipolaire par addition vectorielle du complexe et le comparé au moment dipolaire obtenu par le logiciel Gaussian (G03).

Tableau IV.8 : Moment dipolaire (en Debye) des monomères (PCB77 et les bases nucléiques) dans leurs géométries optimisées (μ^m) et dans la géométrie du complexe (μ^c). Le moment dipolaire total du complexe μ^T et le moment dipolaire calculé par addition vectorielle μ^{add} .

	PCB77	A	T	G	C
μ^m	2.12	2.48	4.42	6.91	6.70
μ^c	2.47	2.67	4.55	6.96	6.76
		PCB77//A	PCB77//T	PCB77//G	PCB77//C
μ^T		1.32	3.89	3.94	3.75
μ^{add}		1.35	4.12	4.44	4.41

Il est à noter, que pour chaque fragment illustré sur le tableau IV.8, le moment dipolaire est plus élevé dans la géométrie du complexe que dans le monomère. Cela montre que la déformation géométrique conduit à un moment dipolaire plus grand qui induit plus d'interaction attractive dipôle-dipôle. Ceci est en accord parfait avec le fait que le moment dipolaire total μ^T est inférieur à celui calculé avec le modèle additif que nous avons mesuré (somme vectorielle des moments dipolaires) μ^{add} , en raison des interactions inductives. De plus le moment dipolaire du complexe PCB77// bases nucléiques augmente de A<T<C<G et correspond au même classement trouvé pour les énergies d'interaction. Cette conclusion a été précédemment rapportée pour interactions π - π entre biomolécules [43,44].

IV.6.2 Analyse des propriétés électroniques des complexes.

Les orbitales moléculaires obtenues par la méthode DFT peuvent reproduire l'énergie pour décrire les propriétés électroniques des interactions en π - π stacking comme celle obtenue avec la méthode MP2 [45]. Les propriétés électroniques des fragments et ceux des complexes (dans leurs structures d'équilibres avec une séparation verticale de 3.2Å) sont étudiées au niveau SVWN/6-311++G(d,p). Comme nous avons vu dans le chapitre I, le PCB77 agit comme un électrophile et les bases nucléiques comme des nucléophiles, condition nécessaire à l'établissement d'un transfert de charge. Pour cela les propriétés du complexe peuvent être discutées en termes de niveaux d'énergie (HOMO et LUMO) et d'écart énergétique (E_g). La figure 15 illustre les niveaux énergétiques des orbitales frontières des différents complexes, nous remarquons que dans tous les cas de figures, l'orbitale HOMO est bien localisée sur la base nucléique et l'orbitale LUMO est localisée sur le PCB77. De plus la LUMO du PCB77 est très proche de la LUMO du complexe formé, avec une variation d'énergie allant de 0.11 à 0.44 eV suivant le complexe, par contre la HOMO de la base azotée est très proche en termes d'énergie avec celle du complexe, avec la même variation d'énergie (voir fig. IV.15). Ce qui conduit à des possibilités de transfert de charges et confirme notre hypothèse citée au début du paragraphe.

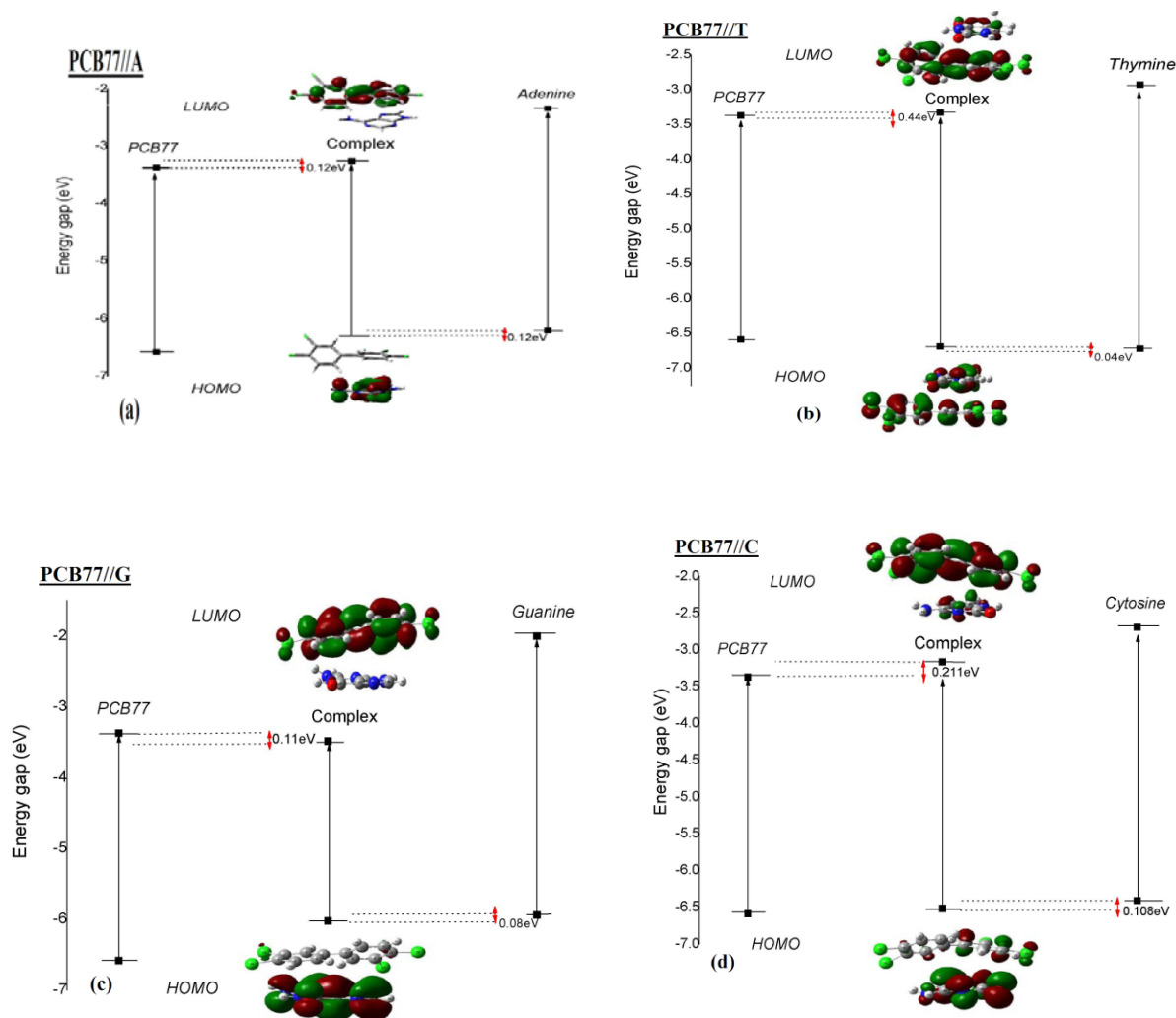


Figure IV.15 : Diagramme des niveaux énergétiques des orbitales frontières des fragments PCB77 et les bases nucléiques et du complexe à l'équilibre obtenues au niveaux SVWN/6-311++G (d,p).

Nous constatons que le gap d'énergie calculé à partir de l'orbitale occupée et l'orbitale inoccupée des différents complexes est inférieur par rapport au gap d'énergie calculé pour les fragments. Cela indique que les fragments qui constituent le complexe interagissent entre eux avec un transfert de charge, le plus petit gap d'énergie est observé avec le complexe de la guanine. Ce transfert de charge est unidirectionnel, et il est principalement de type $\pi-\pi^*$, il a conduit ainsi à la planéité du PCB77 qu'initialement avait un angle de torsion $\varphi = 32^\circ$ devient à 25° dans le cas du complexe PCB77//G par exemple. C'est la même remarque, que nous avons relevé dans le chapitre I, où le PCB77 neutre (qui avait initialement un angle de torsion de 32°) a gagné un électron sur sa LUMO, et on a observé une planéité complète de la géométrie du PCB77 avec un angle dièdre de 0° .

En outre, la quantité de transfert de charge NBO a été déterminé au niveau SVWN/6-311++G (d,p), par le calcul de Mulliken, les valeurs sont rassemblées dans le tableau II.9

Tableau IV.9 : Quantité de transfert de charge Q des bases nucléiques au PCB77 dans chaque complexe.

Complexe	PCB77//G	PCB77//C	PCB77// A	PCB77// T
Q (e)	0,227	0,125	0,016	0,004

Nous remarquons que la quantité de transfert de charge Q augmente en allant de T<A<C<G. Ce classement est en bonne accord avec le classement de l'énergie d'interaction pour chaque complexe trouvé précédemment. Cependant, si le transfert de charge est pratiquement négligeable pour l'adénine et thymine, on le voit plus important dans le cas de la guanine et cytosine respectivement (0,227e et 0,125e), ce qui confirme encore une fois que l'affinité du ligand envers la guanine et cytosine est importante.

IV.6.3 Prédiction de l'intercalation dans l'ADN

Le processus d'intercalation du PCB au sein de l'ADN est beaucoup plus complexe que les simples interactions PCB77//ADN, que nous venons d'étudier, il engendre la déformation de la double hélice de l'ADN, des ruptures ou affaiblissement de la liaison hydrogène qui se trouve entre les paires de bases nucléiques et la perte du caractère π - π stacking entre les bases. Dans ce travail, nous avons testé et prévu les sites d'intercalations préférentielles. À ce titre, le PCB-DL peut s'intercaler au sein de l'ADN de deux façons : soit une intercalation partielle où un phényle du PCB s'insère entre deux nucléobases appartenant à des paires de bases adjacentes (la liaison C-C du PCB est plus ou moins perpendiculaire aux liaisons hydrogènes reliant deux nucléobases). Ou bien une intercalation complète lorsque les paires de bases sont en parallèle avec le PCB (ie, la liaison C-C du PCB est à peu près parallèlement aux liaisons hydrogènes reliant les deux nucléobases). D'après les géométries optimisées obtenues du PCB77, ce dernier adopte des orientations favorables pour son intercalation au sein des paires de bases nucléiques.

Les valeurs des énergies d'interactions listées sur le tableau II.2, on peut prévoir que PCB77 va s'intercaler préférentiellement entre deux paires de bases G:C (soit G:C / G:C ou G:C / C:G). Le deuxième type préféré de site est G:C/T:A (ou G:C/A:T).

Par contre le site le site moins favorable est constitué par une paire de base T:A. Nous allons vérifiés ces résultats au moyen de la méthode hybride, la mécanique quantique / Mécanique moléculaire (QM / MM).

IV.6.4 Conclusion

L'interaction entre un PCB-DL et les quatre bases nucléiques a été étudiée grâce aux méthodes quantiques. La méthode DFT utilisée au niveau LDA a donné des prédictions qualitatives en bon accord avec celles de la DFT-D et MP2. Malgré que l'énergie de dispersion calculée au niveau DFT-D est la principale composante de l'énergie d'interaction totale du système, les autres contributions ne peuvent pas être négligées. À savoir les moments dipolaires qui sont responsables des orientations des complexes et qui induisent à des superpositions des orbitales frontières, ce qui donne des transferts de charges intermoléculaires. En conséquence, le PCB-DL adopte une géométrie coplanaire (tend à être plane) ce qui facilitera le processus d'intercalation. À partir de ces considérations géométriques et énergétiques, nous pouvons prédire que le PCB77 s'intercalera complètement et préférentiellement entre deux paires de bases G :C. Dans le prochain chapitre nous étudierons l'intercalation du PCB-DL au sein de la double hélice de l'ADN , avec un environnement explicite (milieu solvaté et présence des groupement de phosphate et sucre) par la méthode hybride QM/MM.

Bibliographie

- 1- <http://bio.m2osw.com/gcartable/membraneytoplasmique.htm>.
- 2- Cheney, B. V. Tolly, T. *Int. J. Quantum Chem*, 16, 87, **1979**.
- 3- Poland, A.; Knutson, J.; Glover, E. *Studies on the mechanism of action of halogenated*, *J.Clin, Physiol, Biochem*, 3:147-154; **1985**.
- 4- R. D. White, D. Shea, Jennifer J. Schlezinger, M. E.Hahn , J. Stegeman, *In vitro metabolism of polychlorinated biphenyl congeners by beluga whale (Delphinapterus leucas) and pilot whale (Globicephala melas) and relationship to cytochrome P450 Expression*, *J. Comp. Biochem. and Physiol. Part C* 126 267, **2000**.
- 5- Yamada, M. Kato, K.Nomizu, M. Ohkawa, K. Yamamoto, H. Nishi, N. *Environ Sci Tech*.36:949, **2002**.
- 6- Sargent, S. Roloff, B. and Meisner, L. *In vitro chromosome damage due to PCB interactions*, *J. Mutat. Res.* 224, 79-88, **1989**.
- 7- Wasson, J.S. Huff, J.E. and Loprieno, NA *review of the genetic toxicology of chlorinated dibenzo-p-dioxins*, *Mutat,Res*, 47,141-160, **1978**.
- 8- X. D. Liu, Y. Murayama, M. Yamada, M. Nomizu, M. Matsunaga, N.Nishi, *DNA aqueous solution used for dialytical removal and enrichment of dioxin derivatives*, *J. Bioll Macromol*, 32, 121–127, **2003**.
- 9- X. D. Liu, H. Yan Diao and N. Nishi, *Applied chemistry of natural DNA*, *J. Chem. Soc. Rev.*, 37, 2745–2757, 2008.
- 10- Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Molecular structure of nucleic acids, A structure for deoxyribose nucleic acid*, *Nature*, 171, 737-738, **1953**.
- 11- Wilkins, M. H. F. Randall, J. T. *Cristallinity in sperm heads: molecular structure of nucleoprotein in vivo*, *J. Biochim, Biophys, Acta*, 10, 192-193, **1953**.
- 12- Franklin, R. E. Gosling, R. G. *Molecular configuration in sodium thymonucleate*, *Nature*, 171, 740-741, **1953**.
- 13- B.M. Alberts, D. Bray, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter, *Essential Cell Biology*, Garland Publishing, Inc, New York **1998**.
- 14- Don W, Fawcett: *A Textbook of Histology*, by, 12th ed, 964 pp, **1995**.
- 15- Calladine, C. R. and H. R. Drew, *Principles of sequence-dependent flexure of DNA*, *J. Mol. Biol.*192:907-918, **1986**.
- 16- Hunter, C, A, *Sequence-dependent DNA structure, The role of base stacking interactions*, *J, Mol, Bio*, 230:1025-1054,**1993**.
- 17- Sponer, J., and P. Hobza, *Nonplanar geometries of DNA bases,Second order Moller-Plesset study*, *J, Phys, Chem*, 98:3161-3164,**1994**.
- 18- Hobza P. Sponer *J. Chem Rev* 99 :3247-3276, **1999**.

- 19- J. Sponer, J. Florian, H. L. Ng, J. E. Sponer, N. Spackova, *Nucleic Acids Res*, 28,4893-4902, **2000**.
- 20- P. Mignon, S. Loverix, J. Steyaert, P. Geerlings, *base-intercalator complexes*, *Nucleic Acids Res*, 33,1779 -1789, **2005**.
- 21- D. A. Bondarev, W. J. Skawinski, C. A. Venanzi, *J. Phys. Chem. B*. 104,815-822, **2000**.
- 22- D. Reha, M. Kabelac, F. Ryjacek, J. Sponer, J. E. Sponer, J. E. Sponer, M. Elstner, S. Suhai, P. Hobza, *J. Am.Chem.Soc.* 124, 3366 -3376, **2002**.
- 23- J. Sponer, J. Leszczynski, P. Hobza, *J. Pys. Chem.* 100, 5590 - 5596, **1996**.
- 24- Yoshimura, H. Yoshihara, S. Ozawa, N. and Miki, M. *Possible correlation between induction modes of hepatic enzymes by PCBs and their toxicity in rats*, *Ann, N, Y, Acad, Sci*,320, 179-192, **1979**.
- 25- Hobza, P. Sponer J. *Chem. Rev.* 99 :3247-3276, **1999**.
- 26- Cerny, J. Hobza, P. *Phys. Chem. Phys.* 9:5291-5303, **2007**.
- 27- Dabkowska, I. Gonzalez H.V. Jurecka, P. Hobza P. *J. Chem. Phys.* 122:204322-204329, **2005**.
- 28- Saenger, W. *Principales Acid Structure*, Springer-Verlag, Berlin, **1988**.
- 29- Van der Waal, B,W, *Computed structure of small benzene clusters*, *Chem, Phys, Lett*, 123, 69-72, **1986**.
- 30- Tsuzuki,S. Honda, K. and Azumi, R. *Model chemistry calculations of thiophene dimer interactions: origin of p-stacking*, *J. Am. Chem. Soc.* 124,12200-12209, **2002**.
- 31- M. Swart, T. V. Wijst, C. F. Guerra, F. M. Bickelhaupt, *J. Mol. Model.* 13:1245-1257, 2007.
- 32- Vosko SH, Wilk L, Nusair M. *Can J. Phys.* 58:1200-1211, **1980**.
- 33- Zimmerli U. Parrinello M. Koumoustsakos P. *J. Chem. Phys.* 120:2693, **2004**.
- 34- Grimme S. *J Comput. Chem.* 25:1463. **2004**.
- 35- J. Sponer, J. Leszczynski, P. Hobza, *J. Pys. Chem.* 100, 5590-5596, **1996**.
- 36- J. Sponer, J. Florian, H. L. Ng. J.E. Sponer, N, Spackova, *Nucleic Acids Res*,28, 4893 - 4902, **2000**.
- 37- P. Mignon, S. Loverix, J. Steyaert, P. Geerlings, *base-intercalator complexes*, *Nucleic Acids Res*, 33,1779-1789, **2005**.
- 38- Cassandra D. M. Churchill and Stacey D. Wetmore *J. Phys. Chem.B.* 113, 16046-16058, **2009**.
- 39- Rutledge, L.R. Wheaton, C.A. Wetmore, S.D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9, 497-509, **2007**.
- 40- Tsuzuki,S. Honda, K. and Azumi, R. *Model chemistry calculations of thiophene dimer interactions: origin of p-stacking*, *J.Am.Chem.Soc.*124, 12200-12209, **2002**.

- 41- Boys SF, Bernardi F. *The calculation of small molecular interactions*, Mol Phys 10:553-566, **1970**.
- 42- S.Tsuzuki, K. Honda, and R. Azumi, J. Am. Chem. SOC,124, 12200-12209, **2002**.
- 43- M. Swart, T. v.d. Wijst, C.F.Guerra, and F. M. Bickelhaupt. J Mol Model. 13(12): 1245–1257, **2007**.
- 44- Cassandra D.M. Churchill and Stacey D. Wetmore J. Phys. Chem. B.113, 16046-16058, **2009**.
- 45- Rutledge, L. R.; Wheaton, C. A.; Wetmore, S. D. Phys. Chem. Chem. Phys.,9 ,497-509, **2007**.
- 46- N.Kurita, M.Araki, K.Nakao, K. Kobayashi ; Efficiency of the MO method using a Slater-type basis set and non-local density functional *formalism for describing DNA base stacking energy*. J.Chem.Phys.Lett. 313, 693–700, **1999**.

CHAPITRE V

Étude des systèmes complexes par la Méthode hybride QM/MM

V.1 Introduction

Les chapitres précédents nous ont permis de connaître d'une part le comportement structural du ligand PCB77 et sa réactivité dans sa conformation twist et plane issue de sa flexibilité autour de son angle dièdre φ à l'état gaz. D'autre part ces études nous ont permis de connaître les différentes contributions mises en jeu dans les interactions intermoléculaires entre ce ligand et les bases nucléiques. Les interactions inductives et de transfert de charge entre les entités nucléophiles (bases azotées) et électrophile (PCB-DL) du complexe ont permis de prédire les affinités du ligand envers les bases nucléiques. Compte tenu de l'importance des interactions entre l'ADN et les ligands PCB-DL, il est incontournable de les étudier d'une manière réaliste, afin d'obtenir des informations sur le comportement de ces systèmes l'un par rapport à l'autre. Pour cela nous avons élargi notre étude à des systèmes d'importance biologique. Les calculs quantiques que nous avons utilisés précédemment, ne peuvent être mis en œuvre à cause de la taille du système étudié (plus de 20000 atomes). Il est alors possible pour de tels systèmes de procéder à l'étude théorique des processus chimiques, traités localement par mécanique quantique (QM), alors que le reste des interactions est traité "physiquement" par mécanique moléculaire (MM) (appeler aussi champ de forces), on obtient alors une méthode mixte ou hybride appelée QM/MM. La prise en compte du solvant est en effet indispensable pour recréer au mieux le milieu dans lequel baigne le système : un bain de solvant, d'ions, de métabolites ... etc. Les résultats expérimentaux et théoriques cités dans le chapitre IV, conduisent à la conclusion que l'interaction entre les PCB-DL (à savoir le PCB77, PCB126 et le PCB169) et l'ADN est principalement due à l'intercalation [1,2]. Notre étude s'est focalisée alors sur l'insertion des PCB-DL entre les paires de bases d'ADN dans un milieu solvato explicitement. Une autre prémisses de la simulation moléculaire est de chercher les propriétés physico-chimiques du ligand dans sa conformation d'équilibre au sein du milieu biologique. Dans ce contexte, quatre questions importantes se posent:

- ✓ quel est le meilleur site d'intercalation du ligand dans l'ADN ?
- ✓ Peut-on facilement insérer le PCB entre des paires de base ?
- ✓ Quelle conformation prend le ligand une fois dans l'ADN ?
- ✓ Est-ce que le transfert de charges influe sur l'activité du PCB et de l'ADN ?

Ces facteurs seront discutés dans ce présent chapitre pour donner des informations microscopiques pertinentes.

V.2 Etude du système au niveau mécanique moléculaire MM.

La détermination du mode d'interaction des xénobiotiques en générale avec l'ADN peut permettre la compréhension de leurs activités biologiques. Le but recherché est de savoir si nos molécules interagissent de façon spécifique avec l'ADN et ainsi d'avoir un site d'interaction préférentiel. Le seul environnement hydrophobe étant situé à l'intérieur de la double hélice, l'existence d'interaction PCB-ADN est ici probable. Les interactions PCB-ADN peuvent sommairement être regroupées selon deux grands modes:

- Association dans le petit et grand sillon.
- Intercalation entre paires de bases adjacentes. C'est ce dernier cas que nous allons le détailler dans ce chapitre.

V.2.1 Détails computationnels et optimisation du complexe

Les calculs de mécanique moléculaire (MM) et de méthode hybride (QM/MM) ont été effectués sur un ADN de forme B avec les oligonucleotides auto-complémentaires d(AGGCCTCTGGTCTCC) et d(GGAGACCAGAGGCCT), tiré du génome du bovin (voir figure V.3). Nous avons tout d'abord optimisé à l'état gazeux le système comprenant la double hélice de l'ADN avec insertion du ligand qui reste figé, au niveau MM, afin de créer une cavité d'accueil adaptable au ligand. Après cette minimisation préliminaire, le système obtenu a été mis dans une boîte d'eau assez grande de forme parallélépipédique, de dimension $80 \times 50 \times 50 \text{ \AA}^3$ avec le champ de force TIP3P¹ [3] contenant environ 21074 atomes au total. En raison de 948 atomes formant la séquence d'ADN (15 paires de bases azotées), 6692 molécules d'eau et 22 atomes du ligand PCB77 (voir f.i.v.). Afin de préserver la neutralité électrique totale, des contres-ions de sodium (Na^+) (28 ions au total) ont été ajoutés pour compenser les charges des groupements phosphates de l'ADN. En effet ces ions positifs se condensent auprès de l'ADN et réduisent ainsi la répulsion électrostatique entre les groupements phosphates chargés négativement de l'ADN. Les optimisations ont été effectuées avec les conditions périodiques aux frontières pour masquer les effets de bord² [4,5].

¹ Le modèle TIP3P (Transferable Intermolecular Potential with Three parameters) développé par JØRGENSEN, à trois sites d'interaction correspondant aux trois atomes de la molécule d'eau, chaque atome portant une charge ponctuelle dans le champ de forces AMBER.

² Un soluté entouré par un cube de solvant est répliqué périodiquement dans 3 dimensions pour bien représenter l'environnement. Les conditions périodiques aux limites (Periodic Boundary Conditions notées PBC) permettent de simuler l'aspect infini d'une solution, l'influence d'un solvant ou un environnement cristallin et d'éliminer les problèmes de bords de boîte.



Cette étude a pour but principal est de connaître le meilleur site d'intercalation du ligand au sein de l'ADN (son affinité pour un site par rapport à un autre, et savoir quelle sera la conformation que peut prendre le PCB77 vis-à-vis des bases nucléiques ? Avec le champ de force AMBER parm99, appelé parm99SB (Assisted Molecular Building and Energy Refinement) [5], nous avons optimisé au niveau MM l'intercalation du PCB77 dans différentes loges de l'ADN. Cet ADN est riche en guanine et cytosine, le ligand PCB77 est placé dans les 14 sites présents dans la double hélice (voir figure V.1), tout en respectant d'une part la distance qui sépare les deux paires de bases qui est de l'ordre de 3,2 Å et d'autre part respecter le rayon de Van der Waals.

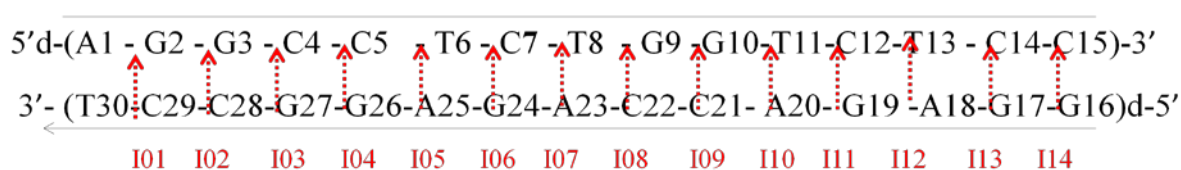


Figure V.1 : Les différents sites d'intercalation du PCB77 dans le pentadécamère de l'ADN-B.

Lors de la simulation, nous avons choisi un critère de convergence RMS (*Root Mean Square*) de $0.1 \text{ kcal.mol}^{-1}.\text{Å}^{-1}$, afin d'éviter de trop fortes répulsions pouvant entraîner une dislocation du système. Les énergies potentielles résultantes en fonction de chaque site d'intercalation sont regroupées dans le tableau V.1, elles ne prennent en compte que les interactions classiques pour chaque loge. L'énergie potentielle correspondante du site x E_p^{site} est définie par $E_{p_{moy}} = \sum E_p / (\text{nbr sites}(14)) = -91218,4818 \text{ kcal/mol}$ et $E_p^{site} = E_{p_{moy}} - E_p (\text{I11P77})$ (où E_p^{site} est l'énergie potentielle du site par rapport au site 11). L'énergie relative ΔE est calculée selon cette équation : $\Delta E = E_p - E_p (\text{à l'équilibre})$.

Les énergies sont purement indicatives. Pour plus de précision il faudrait conduire une dynamique moléculaire, ce qui dépasse le cadre de ces travaux. Une analyse plus fine sera donnée plus loin dans ce chapitre.

Tableau V.1: L'énergie potentielle et l'énergie de stabilisation (kcal/mol) pour chaque site d'intercalation calculée au niveau MM.

Site* d'intercalation	E_p	ΔE	E_p^{site}
I01P77	-91256,4452	158,65	-37,96
I02P77	-91286,1215	128,98	-67,63
I03P77	-91224,9874	190,11	-6,50
I04P77	-90925,2276	489,87	293,25
I05P77	-91137,6033	277,50	80,87
I06P77	-91390,8946	24,20	-172,41
I07P77	-91238,0304	177,07	-19,54
I08P77	-91221,6446	193,45	-3,16
I09P77	-91069,6636	345,43	148,81
I10P77	-91331,8391	83,26	-113,35
I11P77	-91415,1034	0	-196,62
I12P77	-91140,6449	274,45	77,83
I13P77	-91050,6245	364,47	167,85
I14P77	-91369,9150	45,18	-151,43

*ISP77 est une notation choisie de (Intercalation, Site allant de 01 à 14 du PCB77)

Après cette minimisation, nous constatons que les conformations obtenues n'ont pas eu une déformation majeure suite à l'arrivée du ligand. En outre des déformations mineurs ont été observées avec des faibles distorsions, comme on peut le voir sur les figures V.2.a et V.2.b, qui donnent les deux pentadecanucléotides avec et sans l'intercalation du ligand respectivement. Les changements les plus importantes siègent au niveau même de l'insertion du ligand où la distance qui sépare les paires de base passe de 3,5 à 6,8Å. Cette insertion a entraîné un allongement de la double hélice environ de 5 Å. Comme l'espace entre les paires de bases a augmenté de 3Å, une cascade de décalage dans la double hélice vient compléter l'élongation de 2 Å pour atteindre les 5 Å totaux. L'absence de modifications importantes de la forme d'hélice. Dans cette étude nous avons pu repérer les meilleurs sites d'intercalation du ligand.

Face aux 14 tétranucléotides contenus dans la séquence minimisés au niveau MM, le PCB77 a plus d'affinité pour la séquence d(TCGA) que pour tout autre site, le classement est selon cet ordre décroissant suivant: TCGA > GATC > CATG > CGCG >>> GGCC (voir figure III.3).

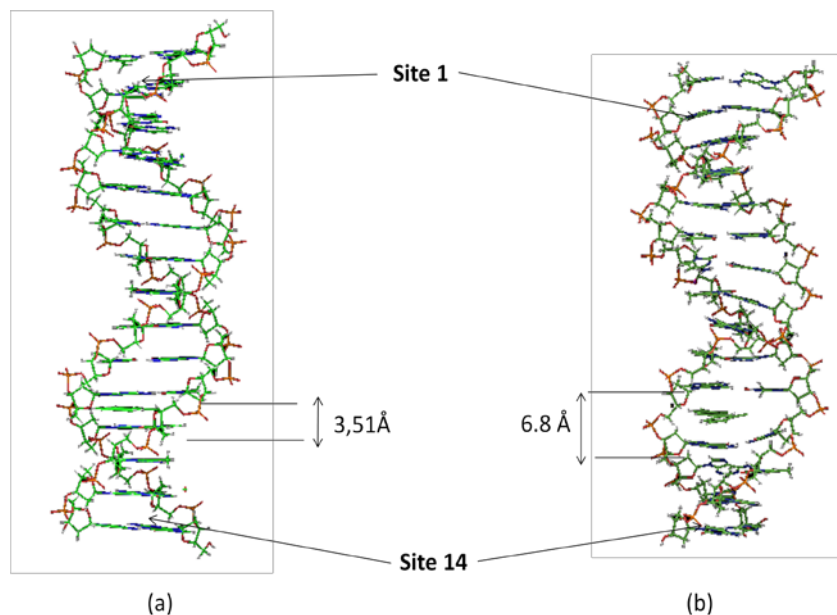


Figure V.2 : Vue de d(AGGCCTCTGGTCTCC).d(GGAGACCAGAGGCCT) + ligand PCB77 avant (a) et après minimisation (b) et illustration des sites d'intercalation.

Nous avons constaté que les sites I06P77 et I11P77 contenant le ligand sont les loges les plus énergétiques avec une énergie potentielle respective de -172,41 et -196,62 kcal/mol, par contre le site I14P77 qui est lui aussi plus énergétique avec une énergie potentielle de -151,43 kcal/mol (voir tableau V.1) n'est pas pris en considération, parce que c'est un site qui se trouve à l'extrémité de la double hélice de l'ADN, où il ya plus de degrés de liberté et qui ne va pas nous donner des informations utiles pour la suite du travail.

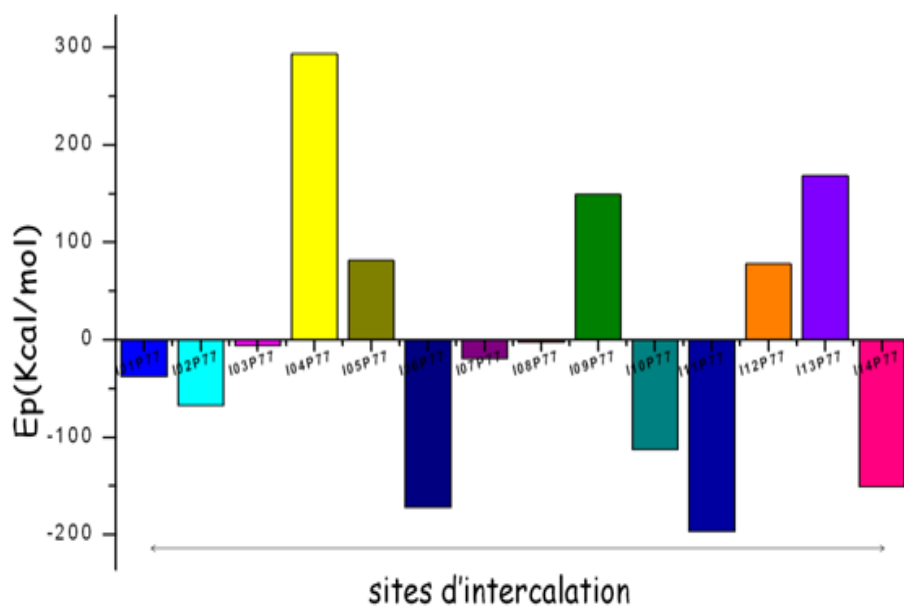


Figure V.3 : Energie potentielle pour chaque site d'intercalation dans l'ADN-B.

Le résultat de ce calcul énergétique est à considérer avec circonspection pour une étude plus approfondie du système avec la méthode QM/MM doit être réalisée. Pour cette étude les trois PCB-DL : PCB77, PCB126 et PCB169 ont été pris pour les mêmes sites préférentiels, c'est ce qu'on verra dans la section suivante.

V.3 Etude des systèmes complexes par QM/MM

V.3.1 Le principe et les méthodes utilisées en QM/MM

Dans cette section, nous allons nous pencher sur la théorie des méthodes QM/MM à travers une étude des effets d'intercalation des PCB-DL sur l'ADN. Le couplage des méthodes de mécanique quantique / mécanique moléculaire (QM/MM) utilise les diverses descriptions pour les régions différentes du système étudié : il est alors possible pour des systèmes de taille conséquente de procéder à l'étude théorique des processus chimiques traités localement par QM, alors que le reste des interactions est traité "physiquement" par MM.

Le système réel étudié est représenté sur la figure V.4, avec la prise en compte des facteurs environnementaux explicites, tels que le solvant (eau) et les contre ions.

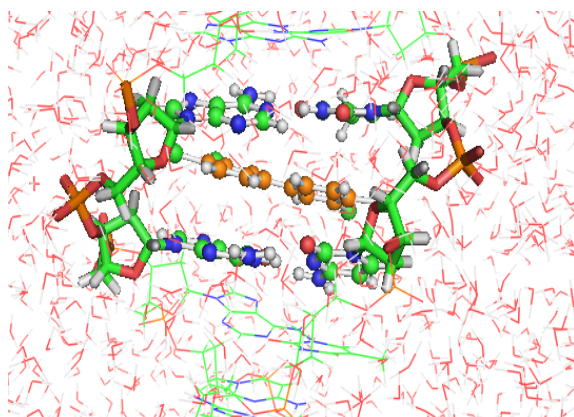


Figure V.4: Système réel étudié au niveau QM/MM : partie QM de PCB77 et les deux paires de bases (GCAT) en boule et tige, partie MM en bâton.

Les deux sous systèmes considérés sont :

Une partie QM (PCB77 + deux paires de bases) a été calculée au niveau SVWN/6-311++ G (d, p) (où nous avons déjà vu, que cette méthode a bien traité le complexe à l'état gazeux (voir chapitre III)), tandis que les groupements phosphate et sucre ont été traités par MM, par contre le reste du système sera gelé. La connexion entre les deux sous-systèmes QM et MM a été traitée avec l'approche SLBO situé entre les atomes C-N appartenant respectivement à la partie QM et à la partie MM. Cette approche utilise une orbitale hybride gelée comme illustre la figure V.5.

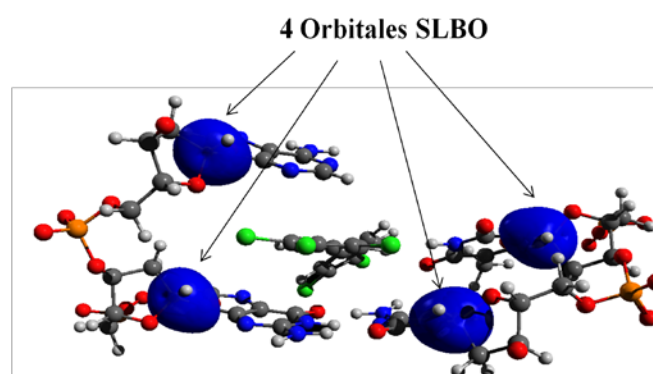


Figure V.5 : Les orbitales SLBO pour chaque liaison C-N des parties QM et MM.

V.3.2 Différents modes d'intercalations du PCB-DL au sein de l'ADN

Après l'étude préliminaire du système au niveau MM, nous avons choisis donc deux sites d'importance énergétique, les sites I06P77 et I11P77 pour un calcul ponctuel au niveau QM/MM, les différents sites sont illustrés sur la figure V.2. Comme nous avons vu dans le chapitre II, le ligand PCB77 présente deux conformations : une forme twist et une forme plane. La forme twist est plus stable que la forme plane bien que la différence d'énergie entre les deux conformations soit très faible : la barrière de rotation a été évalué à 2kcal/mol. Dans cette section, nous avons utilisé ces deux modèles pour des simulations au niveau QM/MM et leurs intercalations dans les sites privilégiés de l'ADN (site 6 et 11) et voir leur comportement structural une fois qu'ils sont rentrés en réaction avec le milieu biologique (à savoir les paires de bases, les sucres, les groupements phosphatés et l'eau,... etc.). Lors du processus d'intercalation, nous avons relevé quelques hypothèses : (1) Les paires de bases considérées s'écartent pour accueillir le ligand, avec une distance deux fois plus grande qu'à l'état initial. (2) Un réarrangement des contre ions se produit au sein du milieu. (3) Un changement conformationnel du ligand se fait remarquer, particulièrement l'angle dièdre ϕ qui augmente, ou baisse selon la conformation utilisée. (4) La géométrie de la double hélice de l'ADN-B peut être modifié pour s'adapter à la forme du ligand. (5) Cassures de quelques liaisons hydrogènes. (6) Les molécules d'eau s'écartent de la partie hydrophobe du ligand.

a) Procédure

Dans cette étude qui est particulièrement délicate en termes de positionnement du ligand entre les paires de bases. Nous avons donc testés plusieurs positions du ligand dans ces conformations (twist et plan) dans chaque site privilégié (six positions pour chaque ligand) pour s'assurer de la meilleure position du ligand au sein de l'ADN. Deux sortes d'intercalations sont envisageables, soit le ligand s'insère entre deux paires de bases (cas du ligand plan), ou bien le ligand s'intercale entre une paire de base adjacente (cas du ligand twist) voir figure II.8. Ce choix est pris pour éviter tous contact entre les atomes voisins (le rayon de van der Waals). À titre de rappel, la distance entre deux hydrogènes en position ortho du ligand twist est de l'ordre de 2,32Å (voir figure V.6), alors que la distance qui sépare les paires de bases est de l'ordre de 3,4Å. C'est pour cette raison que nous avons choisi d'intercaler le ligand avec un seul phényle entre deux bases adjacentes des motifs puriques AG ou les motifs pyrimidiques. Pour le cas du PCB77et PCB169 ayant une structure

symétrique, le site 11 d'intercalation est nommé $A_{20}G_{19}$ et $T_{11}C_{12}$ (pour le site 6, on le nomme $A_{25}G_{24}$ et T_7C_6 , (voir figure V.7).

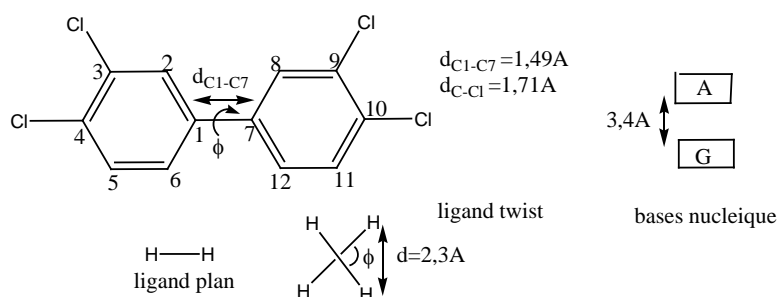


Figure V.6 : Illustration des paramètres géométriques du ligand (twist et plan) et des bases nucléiques.

Le ligand plan optimisé a été inséré dans le site 11, selon l'axe de la liaison C_1-C_7 qui est perpendiculaire aux liaisons hydrogènes présentes entre les deux paires bases correspondantes, on le nomme donc S11, par contre pour le site 6 il est nommé S6. Quant au ligand twist, il est placé selon l'axe parallèle de la liaison C_1-C_7 et les liaisons hydrogènes des bases nucléiques. Dans le cas du ligand PCB126 ayant une structure asymétrique, nous avons pris les deux positions distinctes, une position avec le phényle à deux chlores qui s'intercale entre deux bases adjacentes et une autre fois avec le phényle ayant trois chlores qui s'y intercale.

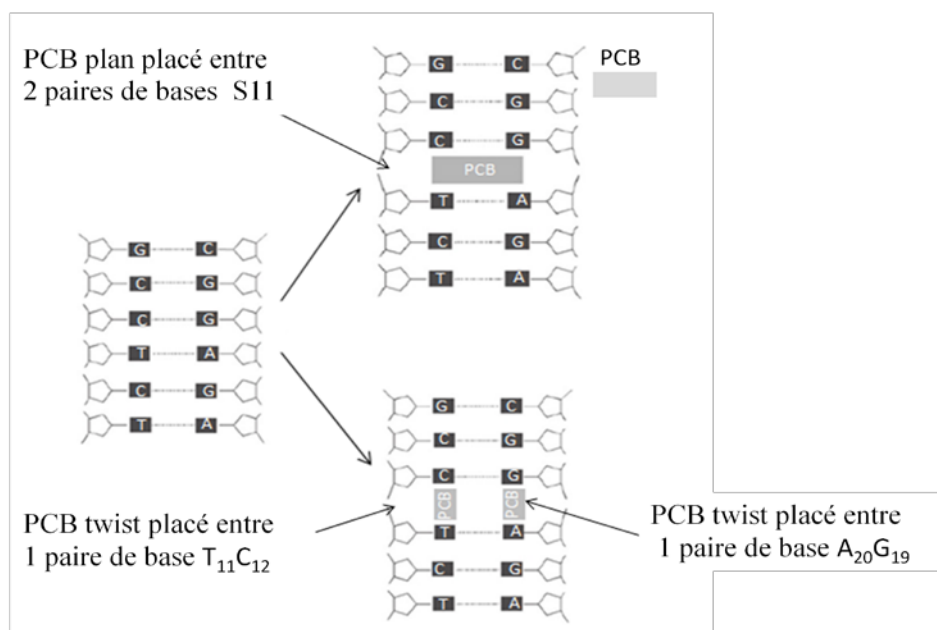


Figure V.7 : Schémas de différentes possibilités d'intercalation du ligand entre les paires de bases et la définition du site 11.

V.4 Etude physico-chimique du ligand dans les sites préférentiels de l'ADN.

Le but principal de cette section est de trouver la conformation du complexe ayant une énergie minimale la plus stable, d'une part et calculer les énergies d'interaction mise en jeu qui prédisent la stabilité du système avec et sans effet de l'environnement d'autre part. Les différentes géométries résultantes de cette minimisation ont été calculées au niveau SVWN/6-311++G (d,p)//AMBSb99, avec un critère de convergence de 0,01kcal/mol.

IV.4.1 Analyse des paramètres géométriques du PCB-DL intercalé entre les paires de bases.

De manière générale, la structure du ligand (PCB77, PCB126 ou PCB169) a subi des modifications structurales et énergétiques (voir figure V.8) lors de son insertion au sein des bases puriques ou pyrimidiques. Les longueurs de liaisons et les angles de torsions sont donnés dans le tableau V.2. Le ligand prend des conformations différentes selon le site, il semble que l'angle dièdre ϕ varie selon le site et selon la nature de la paire de base où il est intercalé.

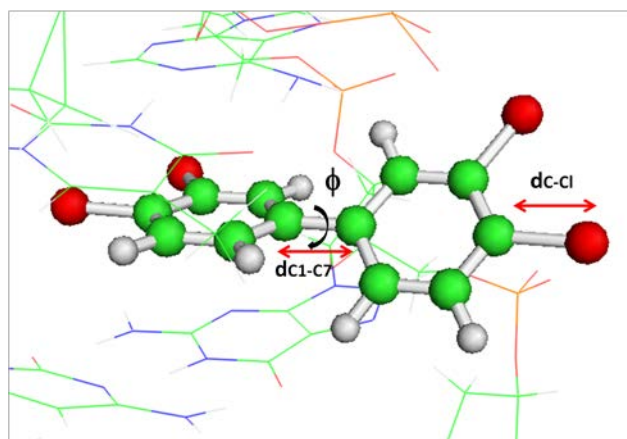


Figure V.8 : Paramètres géométriques du PCB77 lors de son intercalation dans l'ADN-B

Conformément à la configuration initiale du ligand dans sa position d'équilibre à l'état gazeux, la tendance la plus marquée est le raccourcissement de la liaison C_1-C_7 reliant les deux phényles du ligand avec une diminution de 0,8%, une fois que le ligand est rentré en contact avec les bases nucléiques voir le tableau V.2.

Ceci a conduit à un abaissement de l'angle dièdre du ligand twist d'environ de 10° dans le cas du site 6 et 11, des séquences T_6C_7 et $A_{20}G_{19}$. Mais dans d'autre cas l'angle dièdre a augmenté de plus de 10° .

En revanche, le ligand plan intercalé dans les séquences S6 et S11 a subit une augmentation de son angle dièdre φ entre 2° à 10° selon le PCB. Cette variation de l'angle est due en effet aux contributions électrostatiques mises en jeu entre les atomes d'hydrogènes en ortho du ligand et les hétéroatomes des bases voisines.

Tableau V.2: Les paramètres géométriques des PCB-DL optimisés au niveau SVWN/6-31G//ambSB99 des sites S6 et S11 de l'ADN.

		S6	S11	$A_{25}G_{24}$	T_7C_6	$A_{20}G_{19}$	$T_{11}C_1$ 2
CB77	d_{C1-C7}^1	1.4633	1.4648	1.467	1,467	1.466	1.461
	φ	35.57	39.38	43.54	29,56	23.12	24.88
	d_{C-Cl}^2	1.77	1.77	1.77	1.78	1.77	1.77
CB126	d_{C1-C7}^1	1.4609	1.463	1.4609	1.465	1.469	1.462
	2Cl φ	41.07	27.23	38.04	24.14	21.52	35.81
	d_{C-Cl}^2	1.76	1.78	1.77	1.78	1.77	1.77
	d_{C1-C7}^1			1.463	1.465	1.469	1.469
	3Cl φ			25.9	33.54	32.09	32.68
	d_{C-Cl}			1.77	1.78	1.77	1.77
PCB169	d_{C1-C7}^1	1.452	1.461	1.464	1.465	1.463	1.468
	φ	29.30	27.62	39.67	33.68	33.08	54.56
	d_{C-Cl}^2	1.77	1.76	1.77	1.77	1.77	1.77

Par ailleurs, nous constatons aussi un changement de la distance C-Cl avec une augmentation de $0,06\text{\AA}$, cette élongation peut induire à la libération de l'atome de chlore si les conditions environnementales le permettent (nous a avons vu dans chapitre III que l'énergie de dissociation de la liaison C-Cl à l'état gazeux est de l'ordre de $88,51\text{ kcal/mol}$) et qui peut former probablement une liaison covalente entre le ligand et l'une des bases dans une éventuelle réaction en adduit ou bien cette élongation peut aider à la dégradation de ce ligand.

Notons que la distance d_{C1-C7}^1 et d_{C-Cl}^2 avant l'intercalation à l'état gaz est égale respectivement à $1,49\text{\AA}$ et $1,71\text{\AA}$. L'angle dièdre φ pour le ligand plan est à 0° et twist à $32,4^\circ$ avant l'intercalation à l'état gazeux.

V.4.2 Analyse des paramètres énergétiques et électroniques des complexes.

Du point de vue structural, les géométries du ligand PCB77 optimisées au niveau QM/MM pour les différents sites préférentiels sont illustrées sur la figure V.9, par contre les structures optimisées des ligands PCB126 et PCB169 sont présentées dans l'annexe 4.

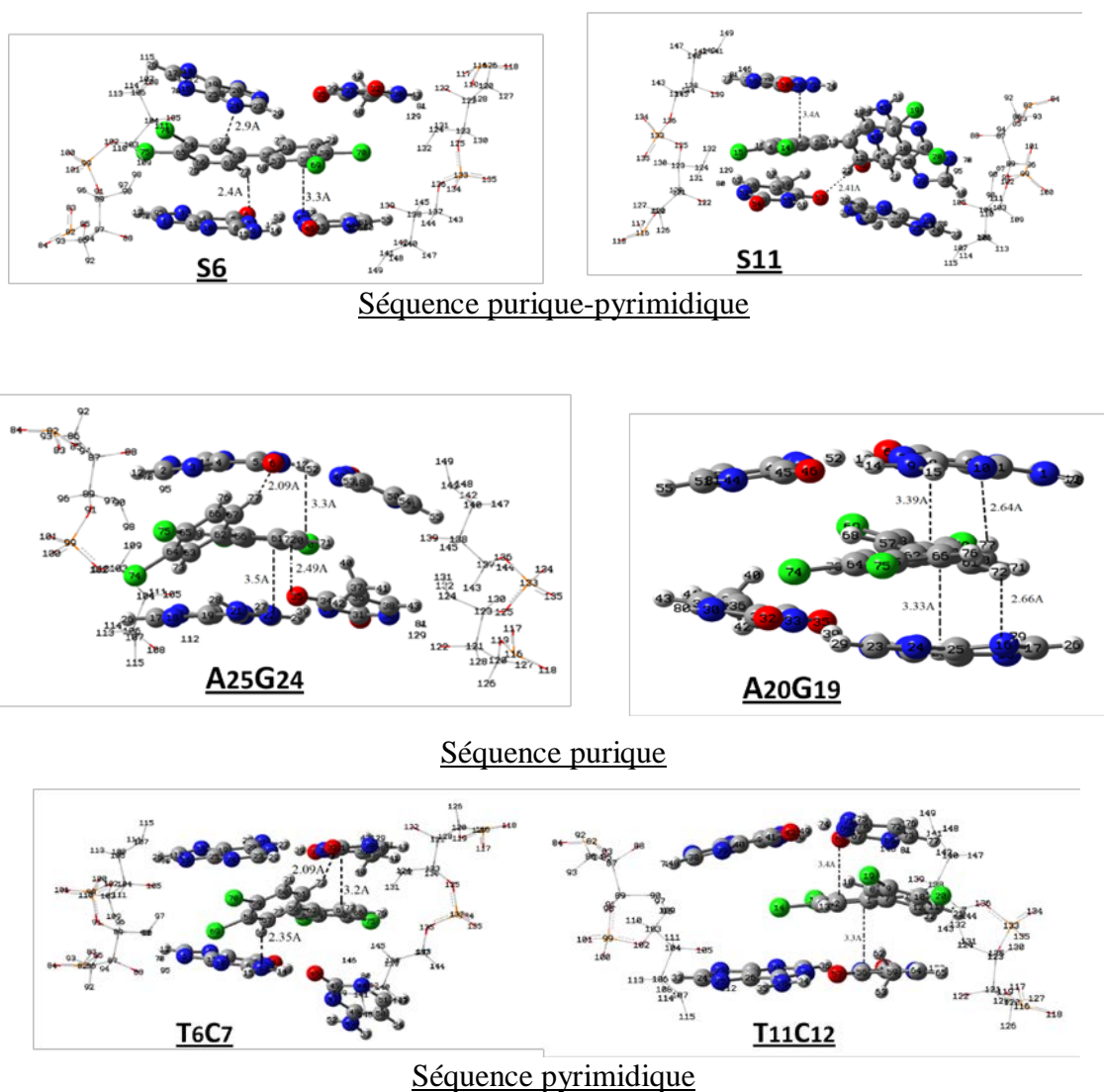


Figure V.9 : Représentation des sites actifs de séquence d(TGCA) des sites 6 et 11 de l'ADN-B pour le PCB77.

La figure ci-dessus illustre bien des remarques importants qui sont à noter, les paires de bases peuvent certes interagir avec le ligand, mais ils sont également susceptibles d'adopter des structures secondaires indésirables dans le cas du site S11 et S6. De telles structures ont été mises en évidence pour la séquence S11 du PCB77 où celui-ci a perdu partiellement

π -stacking avec les bases azotées d'une part et il y a eu des cassures des liaisons hydrogène entre les bases d'autre part, le même cas a été observé pour le ligand 126 pour le site 6. Dans les autres cas, nous observons une parfaite intercalation du ligand twist dans les différentes positions des sites 6 et 11 où le π -stacking a été conservé. De point de vue énergétique, le PCB77 et PCB169 intercalés présentent une stabilité énergétique pour le site 6 composé par un espace hydrophobique entre une paire de base adjacente pyrimidique T₆C₇ (voir tableau V.3), bien que géométriquement, le PCB77 intercalé présente une perte de liaison hydrogène entre C et G. Par contre pour le PCB126, le site le plus énergétique est observé avec la séquence purique A₂₀G₁₉ du site 11. Cette insertion du ligand twist au sein de l'ADN n'a pas causé de perte du π -stacking entre les paires de bases, les liaisons hydrogènes sont maintenues pour les sites A₂₀G₁₉, T₁₁C₁₂, A₂₅G₂₄ et le complexe T₆C₇, ce dernier a perdu une liaison hydrogène entre cytosine et guanine mais le système est stabilisé par d'autres contribution électrostatiques entre les hydrogènes en ortho du ligand et les atomes d'azote et d'oxygène des bases nucléiques voisines, entre autre le transfert de charges de l'entité nucléophile à l'entité électrophile. L'énergie relative calculée au niveau QM/MM, révèle que l'énergie totale diffère d'un site à un autre et d'une séquence à une autre, le ligand intercalé dans la double hélice d'ADN a produit beaucoup de contributions électroniques (voir tableau V.3). Nous ne constatons qu'un changement géométrique du ligand, une fois inséré entre les bases purique et pyrimidique (le ligand plan une fois intercalé devient twist avec une augmentation de l'angle dièdre ϕ , quant au ligand twist intercalé il y a eu tantôt une diminution de l'angle dièdre et tantôt une augmentation de l'angle).

Tableau V.3: Les énergies totales, relatives et les paramètres électroniques des PCB-DL optimisés calculées au niveau SVWN/6-31G//ambSB99 des sites S6 et S11 de l'ADN.

PCB77	S6	S11	A ₂₅ G ₂₄	A ₂₀ G ₁₉	T ₆ C ₇	T ₁₁ C ₁₂
E _T	-4289,0734397	-4288,9332111	-4288,9603447	-4288,9094821	-4289,2840649	-4288,9193483
E _r	120,31	194,34	185,95	225,96	0	213,33
q	-0,0438	-0,02899	-0,06145	-0,03014	-0,0404	-0,01632
μ	12,23	5,80	10,43	8,56	6,08	8,14
Gap E	1,91	2,47	3,52	2,57	1,74	2,16

PCB126	S6	S11	A ₂₅ G ₂₄	A ₂₀ G ₁₉	T ₆ C ₇	T ₁₁ C ₁₂
E _T	-4747,328048	-4747,280439	-4747,485549 ^(2Cl) -4747,411981 ^(3Cl)	-4747,621229 ^(2Cl) -4747,367119 ^(3Cl)	-4747,601269 ^(2Cl) -4747,175587 ^(3Cl)	-4747,393032 ^(2Cl) -4747,270570 ^(3Cl)
E _r	178,04	200	80,90 ^(2Cl) 12,52 ^(3Cl)	0 ^(2Cl) 159,45 ^(3Cl)	273 ^(2Cl) 8,31 ^(3Cl)	133 ^(2Cl) 220,04 ^(3Cl)
q	-0,00768	0,00243	-0,0809 ^(2Cl) -0,0809 ^(3Cl)	-0,06434 ^(2Cl) -0,00766 ^(3Cl)	-0,06335 ^(2Cl) -0,01915 ^(3Cl)	-0,04847 ^(2Cl) -0,00772 ^(3Cl)
μ	10,09	7,3943	9,19 ^(2Cl) 10,91 ^(3Cl)	7,1886 ^(2Cl) 7,18 ^(3Cl)	6,67 ^(2Cl) 9,42 ^(3Cl)	6,65 ^(2Cl) 7,10 ^(3Cl)
Gap E	1,13	2,87	2,30 ^(2Cl) 2,01 ^(3Cl)	2,09 ^(2Cl) 2,21 ^(3Cl)	1,95 ^(2Cl) 2,57 ^(3Cl)	2,24 ^(2Cl) 1,82 ^(3Cl)

PCB169	S6	S11	A ₂₅ G ₂₄	A ₂₀ G ₁₉	T ₆ C ₇	T ₁₁ C ₁₂
E _T	-5205,8060913	-5205,8972709	-5205,5809842	-5205,7502952	-5206,0043234	-5205,848532
E _r	113,48	65,53	256,90	115,62	0	92,38
q	-0,0370	-0,00192	-0,06076	-0,03779	-0,03172	-0,04718
μ	9,29	9,08	10,52	8,675	6,45	6,08
Gap E	2,06	2,06	2,30	2,31	2,24	2,81

Au chapitre IV, nous avons vu que le PCB-DL se comporte comme un électrophile par rapport aux bases nucléiques qui sont des nucléophiles. Durant la simulation, le ligand a gagné une quantité de charge (NBO) de la séquence d(AGCT) des sites 6 et 11 privilégiés, pour le PCB126 twist intercalé avec un phényle de deux chlores, nous remarquons qu'il a gagné deux fois plus d'électrons par rapport au PCB77 et PCB169 (environ de 2/3). Ce résultat est à mettre en relation avec celui décrivant la toxicité du PCB 126 ayant un facteur de toxicité le plus élevé de 0.1 par rapport aux PCB77 et PCB 169 (ayant respectivement 0.001 et 0.01). En termes de sélectivité, nous constatons que le xénobiotique a une préférence pour la séquence purine que pour la séquence pyrimidine 5'-d(TC)-3'.

Au-delà de ces grandeurs obtenues par les méthodes de chimie théorique, il peut s'avérer nécessaire de rechercher une description plus précise du système pour expliquer les différentes activités biologiques du PCB-DL.

V.4.3 Calcul de l'énergie de déformation

L'intercalation du ligand au sein de l'ADN a conduit à plusieurs analyses, entre autre l'analyse structurale du ligand au sein de la double hélice, dont les effets stériques et électrostatiques de l'environnement contribuent à sa déformation et la déformation de l'ADN. Pour cela, nous avons examiné les énergies de déformations correspondantes à chaque séquence la plus stable et pour chaque ligand. Les résultats sont regroupés sur le tableau V.4 suivant.

Tableau V.4 : Énergie totale des complexes après optimisation QM/MM, énergie single point de l'ADN et eau, ligand, et ADN après optimisation (u.a) et énergie d'interaction (E_{int}) et l'énergie de déformation du ligand ($E_{défor}^{PCB}$) et de l'ADN $E_{défor}^{ADN}$ en (kcal/mol).

Complexes	PCB77	PCB126	PCB169
ADN+eau +ligand SVWN /6-31+*G/MM ^a	-4289,2840649	-4747,6212297	-5206,0043234
ADN + eau SVWN/6-31+G*/MM// SVWN/6-31+G*/MM	-1994,7550055	-1994,480066	-1994,57241298
Ligand SVWN /6-31+G*/MM//SVWN/6-31+G*/MM	-2294,4525514	-2752,8990731	-3211,3468056
DNA + H2O SVWN/6-31+G*/MM	-1994.4225224	-1994,4798288	-1994,4225224
Ligand SVWN/6-31+G*	-2294,4599321	-2752,9096269	-3211,3468056
E_{int}^b	-48,01	-50,65	-53,40
$E_{défor}^{PCB}$	4,63	6,62	7,66
$E_{défor}^{ADN}$	208,63	101,36	94,04

L'énergie de déformation de l'ADN ($E_{défor}^{ADN}$) est calculée par la variation entre la séquence où le ligand a été retiré et la séquence optimisée sans contrainte. Par contre la déformation du ligand ($E_{défor}^{PCB}$) est calculé par l'énergie du ligand après insertion par la méthode QM/MM et son optimisation par la méthode QM.

^a Le double slash // avant et après, indique que la méthode utilise un calcul d'énergie et la méthode utilisé pour obtenir la géométrie respectivement ; i.e MM//SVWN/6-31+G*/MM indique que l'énergie est calculée en utilisant MM de la géométrie obtenue avec la méthode SVWN/6-31+G*/MM..

^b Énergie d'interaction est calculé à partir de la différence entre l'énergie totale du système (1^{ère} ligne) et la somme des énergies 'ADN+eau et le ligand (2^{ème} et 3^{ème} ligne).

D'après les résultats trouvés, nous remarquons que l'intercalation du ligand (PCB77, PCB126 et PCB169) a subi des perturbations au sein de la double hélice de l'ADN, une énergie de déformation de l'ADN est de 208,63 kcal/mol pour le ligand PCB77 intercalé qui deux fois plus grande que celle trouvée avec le PCB126 et PCB169 qui est de l'ordre de 101,36 et 94,04 kcal/mol respectivement. En revanche le ligand a subi quant à lui des déformations mineures de l'ordre de 4 à 7 kcal/mol, du PCB77 au PCB169. Cette variation d'énergie contribue à la stabilité du complexe où les effets électrostatiques y participe. L'ordre de classement l'énergie d'interaction calculée pour chaque système le plus stable suit l'ordre de classement de l'énergie de déformation du ligand, par contre cet ordre est de sens inverse avec l'ordre de classement de l'énergie de déformation de l'ADN. En d'autre terme plus l'énergie de déformation de l'ADN est petite plus son énergie d'interaction est grande donc plus stable avec une mineur déformation du ligand.

V.4.4 Effet électrostatique de l'environnement sur l'énergie d'interaction pour chaque site d'intercalation.

Après ces analyses structurales et électroniques du système, nous passons maintenant à l'étude des énergies d'interactions mises en jeu entre le ligand et les bases nucléiques par le mode d'intercalation. Nous rappelons que ΔE_{int} est calculée au niveau QM/MM selon la relation suivante :

$$\Delta E_{int} = E_{QM/MM}^{comp} - E_{QM/MM}^{ADN} - E_{QM/MM}^{ligand}$$

Les résultats sont listés sur le tableau V.3 suivant.

Tableau V.5 : Énergie d'interaction (kcal/mol) pour chaque séquence calculées au niveau SVWN/6-31G (d)//MM avec et sans effets électrostatiques MM (respc. Chg. MM et schg. MM)

Ligand	S6	S11	A ₂₅ G ₂₄	T ₇ C ₆	A ₂₀ G ₁₉	T ₁₁ C ₁₂
PCB77 ^{chgMM}	-40,47	-39,19	-40,47	-48,01	-43,68	-35,81
PCB77 ^{schgMM}	-40,68	-41,24	-40,92	-46,19	-41,97	-33,98
PCB126 ^{CgMM}	-33,08	-46,55	-48,55 ^(2Cl) -44,80 ^(3Cl)	-47,44 ^(2Cl) -42,11 ^(3Cl)	-50,65 ^(2Cl) -42,47 ^(3Cl)	-44,57 ^(2Cl) -32,76 ^(3Cl)
PCB126 ^{SCgMM}	-32,12	-45,68	-43,73 ^(2Cl) -43,24 ^(3Cl)	-47,22 ^(2Cl) -40,02 ^(3Cl)	-45,40 ^(2Cl) -37,91 ^(3Cl)	-41,56 ^(2Cl) -31,11 ^(3Cl)
PCB169 ^{CgMM}	-50,60	-48,19	-51,61	-53,42	-44,31	-52,08
PCB169 ^{SCgMM}	-47,33	-51,34	-49,99	-50,21	-43,36	-51,22

Les énergies d'interactions calculées pour chaque intercalation avec la prise en compte des charges MM, présentent une stabilité importante pour la séquence T₇C₆ du site 6 correspondante pour le ligand PCB77 et PCB169 d'une valeur respective de -48,01 et -53,42 kcal/mol par contre pour le PCB126, la séquence A₂₀G₁₉ présente une énergie d'interaction de l'ordre de -50,65 kcal/mol. Ces énergies de stabilisations ont subi une légère variation quand les charges MM ne sont pas prises en compte, elle est de l'ordre environ de 2kcal/mol. Nous pouvons dire que le système QM a été peu polarisé avec la présence des charges QM, où les effets de polarisation comportent une petite part dans l'énergie d'interaction, la plus grande part est certainement attribué aux interactions de dispersion, de transfert de charge et de π -stacking.

Conclusion

- Dans le présent travail, nous avons discuté la stabilité des différentes conformations des complexes ligand /ADN, notre principal intérêt a été sur les effets que peut produire le xénobiotique sur la double hélice d'ADN. L'étude a montré que la stabilité du complexe est notamment liée à aux interactions électrostatiques, au transfert de charge et aux interactions π - π stacking.
- Les études de modélisation moléculaire QM/MM, ab initio sont avérées importantes pour clarifier les aspects géométriques et énergétiques dans différentes séquences de l'ADN.
- A la suite de notre étude les interactions intermoléculaires dans un environnement explicite peuvent être utiles pour orienter la conception de nouvelles interactions d'un xénobiotique à l'ADN ayant des applications biologiques et comprendre son effet toxique.
- Sur la base de plusieurs sources de données expérimentales, nous suggérons que l'intercalation d'une entité étrangère au corps humain dans la double hélice de l'ADN est omniprésente. Si le double brin de l'ADN est avéré être un objectif pour la découverte de nouvelles molécules à usages pharmaceutiques, l'intercalation d'un xénobiotique est aussi un moyen de comprendre sa toxicité et son comportement destructible au sein d'ADN et ce que peut engendrer comme effet néfaste sur la santé humaine.

Bibliographie

- 1- X. D. Liu, Y. Murayama, M. Yamada, M. Nomizu, M. Matsunaga, N.Nishi, *DNA aqueous solution used for dialytical removal and enrichment of dioxin derivatives*, *J. Bioll Macromol*, 32, 121–127, **2003**.
- 2- X. D. Liu, H. Yan Diao and N. Nishi, *Applied chemistry of natural DNA*, *J. Chem. Soc. Rev.*, 37, 2745–2757, **2008**.
- 3- Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. *J. Chem. Phys.* 79, 926, **1983**.
- 4- K.E. Koenig, G.M. Lein, P. Stuckler, T. Kaneda, D.J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 3553, **1979**.
- 5- ADAMS, D. J., , *Chem. Phys. Lett.*, **62**, 329, **1979**.
- 6- Weiner, P.K. ; *Comput. Chem.* 2, 287, **1981**.

CONCLUSION GENERALE

Les PCBs font l'objet d'un intérêt croissant en tant que xénobiotiques de l'environnement. Parmi ces PCBs, on trouve les PCB dioxine-like qui sont capables sous l'action de leur lipophilie de pénétrer au sein de la cellule et générer spécifiquement une intercalation au sein de la double hélice de l'ADN.

Dans ce travail, nous avons abordé par deux voies fondamentalement différentes l'étude par modélisation moléculaire de l'affinité des PCBs à viser une cible biologique qui est l'ADN. La première se base sur des approches quantiques sur un petit système à savoir le PCB seul. La deuxième voie concerne l'étude des interactions ligand/ADN par QM/MM.

Nous avons cherché toutes les conformations possibles que peut adopter le xénobiotique à l'état isolé par la théorie de DFT. Des résultats obtenus, nous avons fait ressortir deux formes, twist et plane qui sont deux configurations importantes pour la suite de l'étude. Aux PCB-DL (PCB77, PCB126, PCB169) présentent une faible barrière d'énergie correspondant au passage de la forme twist à la forme plane, par conséquent une grande flexibilité autour de la liaison C₁-C₇ à l'état gazeux. Cette barrière de rotation a diminué de moitié à l'état solvaté et le ligand tend vers la planéité. D'autre part, plus le nombre de chlore augmente, plus l'énergie d'hydratation est grande. La flexibilité de ces ligands rend possible leur interaction avec les biomolécules ce qui leur permet de former avec l'ADN des complexes stables. Cette interaction est à notre avis, est une des causes principales de la toxicité de ces composés.

L'étude spécifique des propriétés électroniques et de la réactivité de ces ligands, bien que longue, est d'un grand intérêt pour les expérimentateurs. Les profils de dureté chimique, d'indice d'électrophilie et la polarisabilité fournissent des informations importantes concernant la toxicité des PCB et sa relation avec la flexibilité observée. Le calcul de leurs descripteurs physico-chimiques ont conduit globalement à une forte réactivité et stabilité de la conformation plane et twist.

L'interaction intermoléculaire entre un PCB-DL et les quatre bases nucléiques a été étudiée grâce aux méthodes quantiques. Pour notre part, afin d'obtenir un résultat prédictif optimum et moins coûteux, nous avons comparés les résultats trouvés par la méthode DFT à celles de des méthodes, DFT-D et MP2, nous avons ainsi obtenu un écart moyen acceptable d'environ 2 kcal/mol. La méthode utilisée au niveau LDA a donné des prédictions qualitatives en bon accord avec celles de la DFT-D et MP2. Malgré que l'énergie de dispersion calculée au niveau DFT-D est la principale composante de l'énergie d'interaction totale du système, les

autres contributions ne peuvent pas être négligées. À savoir les interactions dipôle-dipôle qui sont responsables des orientations des complexes et qui induisent à des superpositions des orbitales frontières, ce qui donne des transferts de charges intermoléculaires. En conséquence, le PCB-DL adopte une géométrie coplanaire (tend à la planéité) ce qui facilitera le processus d'intercalation. À partir de ces considérations géométriques et énergétiques, nous pouvons prédire que le PCB77 s'intercalera complètement et préférentiellement entre deux paires de bases G : C.

Notre principal intérêt a été sur les effets que peut produire le xénobiotique sur la double hélice d'ADN, nous avons discuté la stabilité des différentes conformations des complexes ligand/ADN. L'étude a montré que la stabilité du complexe est notamment liée aux interactions π - π stacking, aux effets de dispersion, aux interactions électrostatiques et au transfert de charge.

L'étude des interactions intermoléculaires dans un environnement explicite par l'approche par mécanique moléculaire et la méthode mixte QM/MM des complexes ligand/ADN est utile pour orienter la conception de nouvelles interactions d'un xénobiotique avec l'ADN ayant des applications biologiques et comprendre son effet toxique. Dans cette étude, nous avons détecté deux sites d'intercalation importants parmi les quatorze sites présents dans la double hélice de l'ADN-B et qui sont le site 6 et le site 11. D'après les résultats trouvés, nous remarquons que l'intercalation du ligand (PCB77, PCB126 et PCB169) a subi des perturbations au sein de la double hélice de l'ADN, une énergie de déformation de l'ADN est de 208,63 kcal/mol pour le ligand PCB77 intercalé qui est deux fois plus grande que celle trouvée avec le PCB126 et PCB169 qui est de l'ordre de 101,36 et 94,04 kcal/mol respectivement. D'autres contributions néanmoins électrostatiques ont été mises en jeu sont multiples pour garder sa forme initiale avec un xénobiotique intercalé.

Il existe des séquences préférentielles du ligand dans les sites 6 et 11. Parmi celles-là existe nous obtenons un complexe très stable avec la séquence T₆C₇ valable pour le PCB77 et PCB169 qui possède chacun une structure symétrique. Par contre pour le PCB126 il présente une affinité dans la séquence A₁₁G₁₂ avec seulement deux chlorures intercalés en π -stacking avec les bases adjacentes de la guanine et adénine. Ces complexes ont une grande stabilité énergétique et un transfert de charge NBO de l'ordre de 0,04e⁻ pour PCB77, 0,03e⁻ pour PCB169 et enfin 0,06e⁻ pour le PCB126. Ce résultat peut être comparé avec le facteur de toxicité TEF qui prédit que le PCB126 est le plus toxique par rapport aux autres PCB-DL.

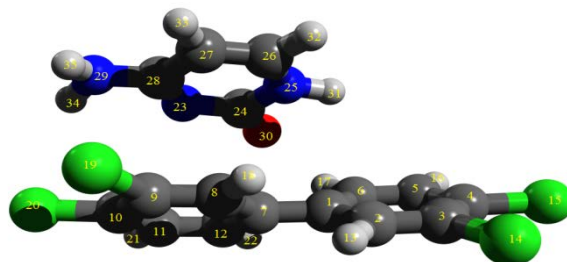
Sur la base de plusieurs sources de données expérimentales, nous suggérons que l'intercalation d'une entité étrangère au corps humain dans la double hélice de l'ADN est

omniprésente. Si le double brin de l'ADN est avéré être un objectif pour la découverte de nouvelles molécules à usages pharmaceutiques, l'intercalation d'un xénobiotique est aussi un moyen de comprendre sa toxicité et son comportement destructible au sein de l'ADN et par conséquent, ce qui peut engendrer des effets néfastes sur la santé humaine.

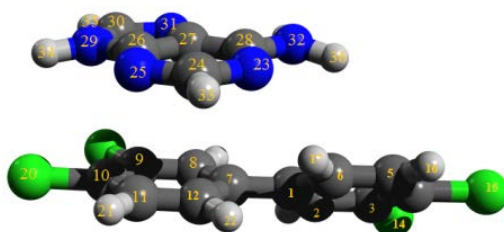
Ce travail ouvre des perspectives évidentes dans l'approfondissement de l'étude par la dynamique moléculaire des complexes ligand/récepteur et de l'introduction de ses résultats dans une approche QSAR. Cela devrait conduire à un meilleur pouvoir prédictif.

Les coordonnées cartésiennes (Å) des complexes PCB77//bases nucléiques calculés aux différents niveaux de théories dans un centre de masse du système (sans les atomes d'hydrogènes).

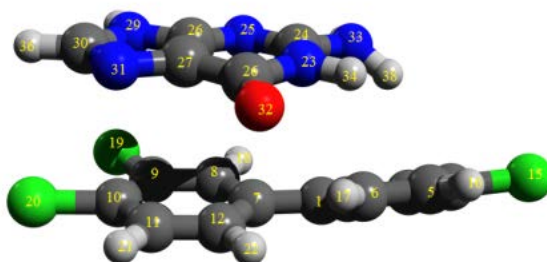
I. PCB77//C



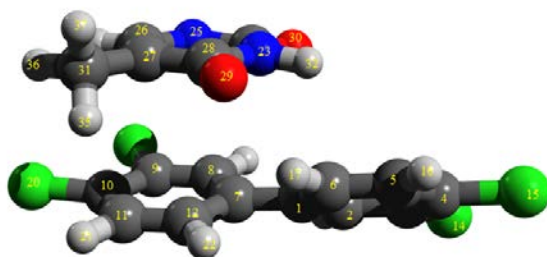
Atome	x_1 ^{LDA}	(x_2) ^{DFT-D}	(x_3) ^{MP2}	y_1 ^{LDA}	(y_2) ^{DFT-D}	(y_3) ^{MP2}	z_1 ^{LDA}	(z_2) ^{DFT-D}	(z_3) ^{MP2}
C1	1,318441	1,322255	1,378681	-,185177	-,224559	-0,214990	,738462	,764097	-0,642389
C2	2,124990	2,129758	2,208395	-1,176154	-1,197060	-1,193267	,188085	,165273	-0,080101
C3	3,479231	3,492464	3,573688	,252006	,221335	0,259142	,006294	,029053	0,091246
C4	1,900571	1,917306	1,943009	1,244735	1,193328	1,234020	,352347	,382979	-0,315004
C5	-,117283	-,131221	-0,064447	1,034215	,977098	1,005852	-,900431	-,987963	-0,883742
C6	-,828837	-,843478	-0,780934	-,400635	-,447043	-0,473903	-1,094596	-1,177899	-1,050252
C7	-2,194850	-2,216024	-2,140363	-1,185864	-1,204924	-1,141701	-,913607	-,930869	-0,808886
C8	-2,874278	-2,905207	-2,805648	-1,355673	-1,389402	-1,411845	-,010742	,004099	0,192773
C9	-2,173573	-2,203377	-2,098877	-,744026	-,810944	-1,008049	-,141558	-,119484	0,037158
C10	-,811746	-,834097	-0,741602	-,036771	-,055768	-0,326482	-1,189039	-1,187822	-1,126276
C11	-2,190331	-2,206854	-2,355609	,206845	,121988	-0,066289	-2,093918	-2,125171	-2,119956
C12	-,893310	-,904250	-1,046112	2,062058	2,140884	2,118833	-1,959333	-2,000531	-1,969164
N23	-,031027	-,007299	-0,232662	2,416684	2,517936	2,525555	,294720	,285635	0,002255
C24	-,433146	-,385309	-0,669163	2,022833	2,135355	2,305478	,172331	,133402	-0,096344
N25	-1,729924	-1,678306	-1,960814	1,295078	1,408903	1,709375	1,215645	1,167490	1,036907
C26	-2,591499	-2,575077	-2,779252	,917834	1,025662	1,293261	2,271083	2,247843	2,177567
C27	-3,890659	-3,884094	-4,103082	1,335953	1,429440	1,532245	2,374119	2,384387	2,262980
C28	-,408619	-,455978	-0,544917	,983930	1,074108	1,195141	1,318514	1,333776	1,108363
N29	1,318441	1,322255	1,378681	3,023111	3,131494	3,044200	1,349912	1,420369	1,160170
O30	2,124990	2,129758	2,208395	-,185177	-,224559	-0,214990	-,775390	-,824018	-1,097489

II. PCB77//A

Atome	x_1 ^{LDA}	(x_2) ^{DFT-D}		y_1 ^{LDA}	(y_2) ^{DFT-D}		z_1 ^{LDA}	(z_2) ^{DFT-D}	
	(x_3) ^{MP2}			(y_3) ^{MP2}			(z_3) ^{MP2}		
C1	-1,512982	-1,525870	-1,602256	-0,236038	-,258957	-0,187752	-0,668833	-,690825	-0,555120
C2	-2,380744	-2,396481	-2,505000	-1,213899	-1,226354	-1,186489	-0,194362	,179328	-0,168498
C3	-3,726778	-3,750549	-3,861205	-0,946943	-,954405	-0,901625	-0,013546	,003022	-0,003577
C4	-4,231836	-4,261669	-4,338107	0,315937	,303409	0,394091	-0,313787	-,335342	-0,244323
C5	-3,371836	-3,399706	-3,441014	1,296873	1,272319	1,391498	-0,787392	-,852689	-0,638943
C6	-2,028759	-2,050630	-2,087390	1,027906	,997289	1,108676	-0,963334	-1,028742	-0,798518
C7	-0,088753	-,084924	-0,172515	-0,517554	-,550768	-0,508330	-0,840650	-,858200	-0,726802
C8	0,566952	,570254	0,472567	-1,426061	-1,441431	-1,381818	-0,014053	-,001051	0,158932
C9	1,918758	1,925935	,810133	-1,677034	-1,715694	-1,732859	-0,168358	-,151737	-0,029793
C10	2,641629	2,657420	2,530127	-1,007405	-1,079797	-1,184237	-1,151631	-1,158996	-1,099188
C11	1,997841	2,015001	1,899096	-0,103469	-,188202	-0,293596	-1,981659	-2,015820	-1,972509
C12	0,647722	,660226	0,559962	0,135181	,067771	0,036566	-1,829098	-1,870525	-1,793568
N23	0,449402	,463359	0,607041	2,882066	2,949684	2,935963	-0,102790	-,130807	-0,144621
C24	1,582819	1,607638	1,689132	3,040488	3,093949	3,057755	-0,791308	-,820578	-0,950786
N25	2,769211	2,797125	2,901154	2,487946	2,540757	2,504702	-0,568328	-,585854	-0,822030
C26	2,745114	2,767517	2,960093	1,691507	1,755074	1,735351	0,494061	,495106	0,278003
C27	1,652951	1,666818	1,936779	1,448162	1,520841	1,518794	1,324069	1,320424	1,208406
C28	0,459247	,471299	0,713587	2,093286	2,168003	2,165134	0,977378	,961647	0,951009
N29	3,743318	3,773204	4,013436	0,919070	,991544	0,989907	1,017997	1,038453	0,755221
C30	3,214938	3,232822	3,576788	0,256394	,339895	0,363347	2,090428	2,126196	1,893992
N31	1,959269	1,974893	2,322029	0,556590	,635022	0,658221	2,310282	2,333608	2,212658
N32	-0,656717	-,659412	-0,330231	1,927944	2,027134	2,086039	1,699758	1,693707	1,824114

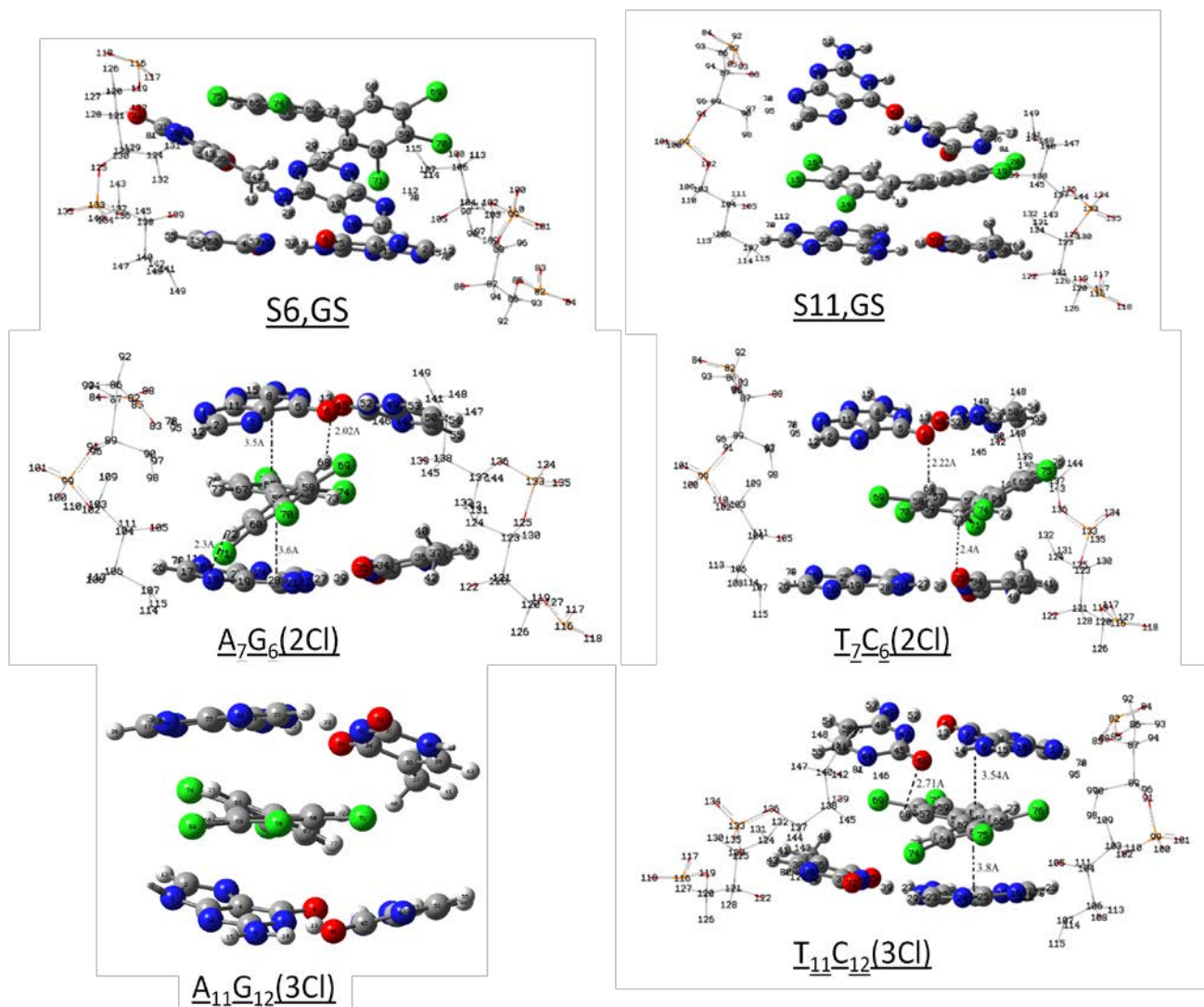
III. PCB77//G

Atome	x_1 ^{LDA}	(x_2) ^{DFT-D}	(x_3) ^{MP2}	ψ_1 ^{LDA}	(ψ_2) ^{DFT-D}	(ψ_3) ^{MP2}	z_1 ^{LDA}	(z_2) ^{DFT-D}	(z_3) ^{MP2}
C1	-0,504775	-,534293	-1,461000	-1,062344	-,922592	-0,316386	0,836994	-,965205	-0,823371
C2	-1,270057	-1,296331	-2,317157	-1,541668	-1,579541	-1,246081	0,224872	,008281	-0,216516
C3	-2,646898	-2,683501	-3,679406	-1,433767	-1,494296	-0,978543	0,199190	,004852	-0,065754
C4	-3,285641	-3,338571	-4,213802	-0,833237	-,741476	0,225420	-0,883710	-,976305	-0,545277
C5	-2,531823	-2,588475	-3,366037	-0,375088	-,106070	1,148393	-1,952365	-,963724	-1,166689
C6	-1,156955	-1,204295	-2,006257	-0,494848	-,197607	0,886247	-1,930208	-1,958175	-1,308001
C7	0,953935	,942898	-0,017969	-1,097797	-,960180	-0,601410	-0,777951	-,919783	-0,941048
C8	1,600996	1,607995	0,641050	-0,939758	-1,062976	-1,316285	0,442774	,305098	0,068468
C9	2,979840	2,996196	2,000319	-0,887667	-1,035267	-1,609900	0,506472	,368529	-0,035589
C10	3,744960	3,753972	2,727286	-1,022462	-,919948	-1,181203	-0,647536	-,800134	-1,153611
C11	3,105106	3,097513	2,080928	-1,203125	-,836023	-0,445438	-1,864906	-2,028290	-2,150765
C12	1,726846	1,711425	0,722890	-1,229828	-,851291	-0,161270	-1,930791	-2,086527	-2,050495
N23	-2,019773	-2,008466	-0,117825	1,774228	1,827631	2,102882	0,450333	,633670	0,827610
C24	-1,482707	-1,517460	0,117126	1,361016	1,223895	1,291995	1,628582	1,760316	1,909015
N25	-0,196734	-,240119	1,301563	1,404618	1,175459	0,829269	1,879982	2,053904	2,232418
C26	0,520736	,534777	2,254246	1,879041	1,783245	1,227712	0,851083	1,123705	1,341942
C27	0,086273	,157920	2,112005	2,240501	2,365304	1,967425	-0,423896	-,084729	0,166094
C28	-1,313396	-1,238581	0,809054	2,217722	2,436024	2,458672	-0,696204	-,409495	-0,189454
N29	1,872897	1,897502	3,584270	2,015161	1,881224	0,903760	0,808940	1,154534	1,388150
C30	2,195152	2,280835	4,169602	2,395820	2,472016	1,446148	-0,468275	-,035320	0,270597
N31	1,144328	1,265276	3,309698	2,548079	2,780605	2,100958	-1,228172	-,795629	-0,497457
O32	-1,933875	-1,808544	0,430919	2,492125	2,894684	3,090769	-1,707952	-,381341	-1,176346
N33	-2,341277	-2,439454	-0,984555	0,924838	,693801	1,034069	2,584278	2,624539	2,709838

IV. PCB77//T

Atome	x_1 ^{LDA}	(x_2) ^{DFT-D}	(x_3) ^{MP2}	ψ_1 ^{LDA}	(ψ_2) ^{DFT-D}	(ψ_3) ^{MP2}	(z_1) ^{LDA} (z_3) ^{MP2}	(z_2) ^{DFT-D}	
C1	-1,266575	-1,292119	-1,627016	-0,087290	-,166740	-0,072838	-0,872046	-,880364	-0,612224
C2	-2,119453	-2,154852	-2,601966	-1,111786	-1,162283	-1,054304	-0,475168	-,413026	-0,397313
C3	-3,469860	-3,512495	-3,930484	-0,879531	-,911106	-0,698622	-0,286335	-,234615	-0,163882
C4	-3,989800	-4,030559	-4,299289	0,397824	,357120	0,654170	-0,486950	-,522428	-0,143986
C5	-3,142368	-3,174058	-3,326797	1,426625	1,356329	1,634939	-0,870946	-,987014	-0,356903
C6	-1,795119	-1,821292	-2,000038	1,190957	1,100085	1,281891	-1,065743	-1,167502	-0,588267
C7	0,164075	,154882	-0,220719	-0,329570	-,430437	-0,451690	-1,042998	-1,032172	-0,844280
C8	0,824346	,813512	0,385931	-1,259109	-1,302211	-1,432943	-0,243521	-,158689	-0,049306
C9	2,192702	2,186905	1,737190	-1,428560	-1,501120	-1,741903	-0,345832	-,251040	-0,212822
C10	2,926960	2,929921	2,493902	-0,686061	-,839241	-1,077506	-1,266339	-1,233062	-1,187596
C11	2,268392	2,275116	1,884788	0,204380	,005902	-0,114250	-2,100133	-2,127652	-1,996753
C12	0,906652	,908291	0,537265	0,391824	,215835	0,191370	-1,979220	-2,022080	-1,835119
N23	0,056197	,088357	1,017914	1,488473	1,692702	1,497200	1,504762	1,400965	1,341346
C24	0,382761	,391806	1,608016	0,376594	,644035	0,497221	2,242833	2,253039	2,099830
N25	1,742823	1,753988	2,978769	0,172367	,410077	0,439876	2,322690	2,353595	1,918269
C26	2,652756	2,692241	3,669191	0,872209	1,038735	1,220823	1,589461	1,564656	1,016768
C27	2,300574	2,370875	3,053288	1,899452	2,002498	2,147413	0,787360	,677265	0,241099
C28	0,898412	,963078	1,606418	2,242757	2,373151	2,290628	0,694183	,538475	0,352515
O29	0,439112	,528275	0,917817	3,108141	3,191857	3,044325	-0,038964	-,256258	-0,342817

1- Représentation des sites actifs de séquence d(TGCA) des sites 6 et 11 de l'ADN-B pour le PCB126.



2- Représentation des sites actifs de séquence d(TGCA) des sites 6 et 11 de l'ADN-B pour le PCB169.

