



**HAL**  
open science

# Modèles théoriques de la réaction d'hydrolyse enzymatique de peptides par la thermolysine

Serge Antonczak

► **To cite this version:**

Serge Antonczak. Modèles théoriques de la réaction d'hydrolyse enzymatique de peptides par la thermolysine. Chimie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1995. Français. NNT : 1995NAN10319 . tel-01747540

**HAL Id: tel-01747540**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747540>**

Submitted on 29 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

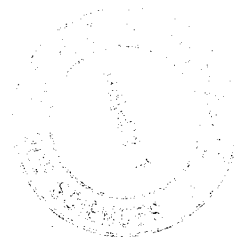
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

U.F.R. Sciences et Techniques de la Matière et des Procédés  
G.F.D. Chimie et Physico-chimie moléculaire et théorique



## Thèse

présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I

en Chimie Informatique et Théorique

par Serge ANTONCZAK

### **Modèles théoriques de la réaction d'hydrolyse enzymatique de peptides par la Thermolysine**

Soutenue le 4 décembre 1995 devant la commission d'examen:

Président, Rapporteur:

Pr A. Strich : Professeur à l'Université de Strasbourg 1

Rapporteur:

Dr. J.-P. Morizur: Directeur de Recherche à l'Université Paris 6

Examineur:

Pr. B.-P. Roques: Professeur à l'Université Paris 5

Dr. O. Jacob: Responsable du service *Modeling*, Ciba-Geigy, Bâle

Pr. J.-L. Rivail : Professeur à l'Université H. Poincaré-Nancy 1

Dr. B. Maigret: Directeur de Recherche à l'Université H. Poincaré- Nancy 1

Dr. M.F. Ruiz-López: Chargé de Recherche à l'Université H. Poincaré-Nancy 1

*Pour leur amitié et leur présence*

*à Cécile et Gilles, Véronique et  
Laurent, El Sciatico, JC, Georg,  
Ramon, Gérard, Jérôme, Nathalie,  
Alexandre, Flavie et Olivia...*

*et surtout*

*à mon père, à ma mère*

Je tiens à remercier très vivement Mr le Professeur Rivail, qui, par la confiance qu'il m'a accordée, m'a permis de mener à bien ce travail. Je le remercie également pour l'intérêt et le soutien portés à mes activités universitaires depuis mon arrivée à la faculté.

J'adresse un grand merci à Mr Manolo Ruiz-López, qui, durant ces quatre années passées sous sa direction, m'a apporté en plus de son aide, de ses conseils avisés et de son soutien constant, beaucoup plus qu'une simple relation de travail.

Je remercie Mr Maigret, qui, à l'occasion de son arrivée à Nancy, m'a proposé ce sujet et m'a fait partager son enthousiasme et son savoir faire en modélisation moléculaire.

Que Mr Morizur et Mr le Professeur Strich reçoivent ici mes remerciements pour avoir accepté la rude tâche de rapporteur. Leurs remarques critiques ont déjà contribué pour une grande part à l'élaboration de ce manuscrit.

Je voudrais associer à ces remerciements Mr Jacob, sans qui de telles études concernant les métalloprotéases à zinc ne seraient pas possibles et Mr le Professeur Roques qui m'a laissé la grande liberté de gérer mon temps entre Paris et Nancy afin de terminer ce travail.

Je remercie tous les membres du laboratoire pour leur disponibilité de tous les instants et pour leur bonne humeur quotidienne. Les citer tous serait trop long, mais j'aimerais ne pas oublier Mme Dubois pour sa gouaille matinale, Corinne pour sa disponibilité et surtout Mme Grillot pour tout et pour les (innombrables) petits riens.

Enfin, merci à Vincent pour m'avoir fait goûter à la biologie et au modèle mixte et à Gérald pour l'immense aide apportée, notamment lors de voyages dans les méandres de geomop.

# Sommaire

## Introduction

## Chapitre I

<b>Méthodologie de calcul</b> .....	1
<b>1 - Méthodes de la mécanique quantique</b> .....	1
1.1.-Calculs ab initio .....	3
1.2. Calculs semi-empiriques .....	5
1.3. Théorie de la fonctionnelle de la densité .....	6
<b>2 - Méthodes de la mécanique moléculaire</b> .....	10
2.1. Les termes énergétiques .....	10
2.2. Minimisation de l'énergie .....	11
<b>3 - La méthode mixte LSCF</b> .....	12
<b>4 - Représentation des effets du solvant : modèle du continuum</b> .....	16
<b>5 - Schéma des calculs, logiciels employés</b> .....	20
<b>Références</b> .....	22

## Chapitre II

### Etude ab initio de la réaction d'hydrolyse du

<b>formamide</b> .....	27
<b>1. Réaction non-catalysée</b> .....	30
1.1. Mécanisme non-assisté .....	30
1.2. Mécanisme neutre assisté .....	31
<b>2. Catalyse acide</b> .....	38
2.1. Mécanisme non-assisté .....	38
2.2. Mécanisme protoné assisté .....	40
<b>3. Energies des réactions</b> .....	47
3.1 Energies d'activation .....	47
3.2. Energies libres d'activation .....	49
<b>4. Effets du solvant</b> .....	52
4.1. Effets électrostatiques .....	52
4.2. Effets non-électrostatiques .....	59
<b>5. Conclusion</b> .....	62
<b>Références</b> .....	63

## Chapitre III

### Etude semi-empirique et DFT du mécanisme d'hydrolyse du formamide : comparaison avec les

<b>résultats ab initio.</b> .....	67
<b>1 - Réaction non-catalysée</b> .....	68
1.1. Mécanisme non-assisté .....	69
1.2. Mécanisme assisté .....	73
<b>2 - Réaction à catalyse acide</b> .....	75
2.1. Mécanisme non-assisté .....	75
2.2. Mécanisme assisté .....	79
<b>3 - Energies des réactions</b> .....	82
3.1. Energies d'activation .....	82
3.2. Energies libres d'activation .....	85
<b>4 - Conclusion</b> .....	86

<b>Chapitre IV</b>	
<b>Modélisation des réactions d'hydrolyse catalysées par la Thermolysine</b> .....	87
<b>1 - Modèle quantique</b> .....	90
1.1. Description du modèle .....	90
1.2. Etude de la réaction d'hydrolyse .....	95
1.3. Energies des réactions .....	98
<b>2 - Modèle mixte QM/MM</b> .....	102
2.1. Minimisation de la thermolysine et définition de la partie quantique.....	102
2.2. Complexe formamide-thermolysine .....	103
2.3. Effet catalytique sur les réactions d'hydrolyse .....	108
2.4. Energies des réactions .....	111
<b>3 - Conclusion</b> .....	114
<b>Références</b> .....	115
<b>Conclusion</b> .....	116
<b>Annexes</b> .....	118
Annexe A : Notations utilisées .....	118
Annexe B : Comparaisons Energétiques .....	119
Annexe C : Représentations des acides aminés .....	120
Annexe D : Calculs BSSE .....	122
Annexe E : Contribution enthalpiques et entropiques .....	123
<b>Liste des Figures</b> .....	125
<b>Liste des Tableaux</b> .....	128



# INTRODUCTION

L'hydrolyse d'une fonction amide est un processus d'importance fondamentale en biochimie. Elle sert de modèle à la décomposition des protéines en des unités simples avec l'intervention en général de nombreuses enzymes.

L'hydrolyse d'amides ne peut avoir lieu qu'en milieu acide ou basique, les ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  ou  $\text{OH}^-$  servant de catalyseurs au processus de rupture de la liaison amide C-N. Dans les milieux biologiques, les chaînes de polypeptides sont hydrolysées grâce à l'intervention de diverses enzymes parmi lesquelles les métallo-peptidases et notamment celles qui contiennent du Zinc jouent un rôle très important. Dans les métallo-peptidases, l'ion active le groupement carbonyle de l'amide en tant qu'acide de Lewis, contrairement aux protéases à serine qui utilisent un résidu serine du site actif pour attaquer l'atome de carbone de la liaison amide et former un complexe tétraédrique.

Malgré l'importance de cette réaction, son mécanisme est encore relativement mal connu. Nous verrons dans les chapitres qui suivent qu'il existe un certain nombre de travaux théoriques sur ce sujet mais qu'il reste néanmoins des aspects importants qui ont été peu explorés.

L'objectif de cette thèse est justement d'étudier avec le plus de détails possible le mécanisme de la réaction d'hydrolyse d'amides en incluant les effets de l'environnement moléculaire. Nous avons tout particulièrement analysé les mécanismes dits assistés. Dans ces mécanismes, nous ajoutons une molécule d'eau supplémentaire servant à l'hydrolyse. Les propriétés chimiques du dimère, acidité, basicité, sont suffisamment différentes de celles de la molécule d'eau pour qu'il y ait un effet stabilisant tout à fait remarquable des états de transition impliqués. On parlera de catalyse bifonctionnelle. Bien entendu, la diminution d'entropie défavorise les mécanismes assistés. Ce type de mécanisme a été analysé dans le cas d'autres réactions mais nous l'avons abordé pour la première fois dans le cas de l'hydrolyse d'amides.

---

Nous avons dû faire appel à des nombreuses techniques de calcul car nous avons voulu étudier ces processus dans des situations très différentes, allant de la réaction de la molécule de formamide avec une molécule d'eau à celle d'un processus d'hydrolyse catalysé par la thermolysine, une endo-peptidase à zinc. Nous avons essayé de retenir le schéma de calcul le plus poussé possible ce qui est évidemment fonction de la taille du système à étudier.

L'étude de l'hydrolyse du formamide non-catalysé ou catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$  a été abordé à l'aide des méthodes *ab initio*. En revanche, l'étude d'un processus catalysé par un modèle quantique simple de la thermolysine a été traité au niveau semi-empirique et DFT (Density Functional Theory). La qualité des calculs semi-empiriques et DFT a été discutée dans un chapitre que nous avons consacré à la comparaison de ces résultats avec ceux obtenus à un niveau *ab initio* poussé.

Nous avons enfin abordé l'étude plus complexe d'une réaction d'hydrolyse catalysée par la thermolysine. Ce système comporte quelques 5000 atomes et l'emploi d'une méthode purement quantique était bien évidemment hors de question. L'utilisation de la mécanique moléculaire s'avère extrêmement utile pour traiter ce type de molécules mais présente l'inconvénient de mal représenter les états de transition et d'être donc mal adaptée à l'étude de réactions chimiques. Notre choix s'est porté sur une méthode mixte quantique/classique (QM/MM) développée dans notre laboratoire. Cette méthode permet de diviser le système en deux sous-systèmes, l'un décrit par une méthode quantique, la méthode semiempirique AM1 dans le cas présent, l'autre par un champ de force classique. La principale difficulté de cette technique consiste à couper les liaisons à la frontière des deux sous-systèmes sans que cela produise des effets de bord trop importants. La méthode fait usage d'un ensemble d'orbitales localisées sur les atomes frontières dont certaines sont gelées.

Il n'a pas été possible naturellement d'examiner tous les mécanismes d'hydrolyse. En fait, notre travail est focalisé sur la comparaison des mécanismes assistés et non-assistés. L'étude de ces mécanismes pour l'ensemble de réactions étudiées nous a permis cependant d'aboutir à des conclusions sûres à propos de cet aspect fondamental de l'une des plus importantes réactions biochimiques.

---

# Chapitre I

## Méthodologie de calcul

<b>1 - Méthodes de la mécanique quantique</b> .....	1
1.1.-Calculs ab initio .....	3
1.1.1. Méthode Hartree-Fock .....	3
1.1.2. Energie de corrélation .....	4
1.2. Calculs semi-empiriques .....	5
1.3. Théorie de la fonctionnelle de la densité .....	6
<b>2 - Méthodes de la mécanique moléculaire</b> .....	10
2.1. Les termes énergétiques .....	10
2.2. Minimisation de l'énergie .....	11
<b>3 - La méthode mixte LSCF</b> .....	12
<b>4 - Représentation des effets du solvant : modèle du continuum</b> .....	16
<b>5 - Schéma des calculs, logiciels employés</b> .....	20
<b>Références</b> .....	22

# Méthodologie de calcul

## 1 - Méthodes de la mécanique quantique

L'étude des systèmes multiélectroniques dépend des solutions de l'équation de Schrödinger, qui, pour des états stationnaires s'écrit sous la forme :

$$H\tilde{\psi} = E\tilde{\psi} \quad (1)$$

En nous plaçant dans le cas où les électrons sont considérés comme étant non-relativistes, nous pouvons écrire l'hamiltonien  $H$  selon :

$$H = T_N + T_e + V_{eN} + V_{ee} + V_{NN}$$

où  $T_N$  et  $T_e$  représentent l'énergie cinétique des noyaux et des électrons respectivement et  $V_{eN}$ ,  $V_{ee}$  et  $V_{NN}$  sont les termes d'énergie potentielle, d'attraction électrons-noyaux, de répulsion entre les électrons et de répulsion entre les noyaux respectivement.

Nous pouvons simplifier cette expression en appliquant l'approximation de Born-Oppenheimer <sup>1</sup>. Elle est fondée sur le fait que la masse des noyaux peut être considérée comme infinie devant celle des électrons. Le mouvement de ceux-ci est alors beaucoup plus rapide que celui des noyaux. On peut alors considérer ces derniers fixes dans l'espace par rapport aux électrons. Dans cette approximation, le terme  $V_{NN}$  est considéré comme un paramètre. Nous pouvons donc définir un hamiltonien électronique :

$$H_e = T_e + V_{eN} + V_{ee}$$

ou bien, en unités atomiques, le développement des différents termes de l'hamiltonien électronique mène à l'expression suivante :

$$H_e = -\frac{1}{2} \sum_i^N \Delta_i - \sum_K^M \sum_j^N \frac{Z_K}{R_{jK}} + \sum_i^N \sum_{j \leq i, j \neq i}^N \frac{1}{r_{ij}}$$

où les indices  $i$  et  $j$  se rapportent aux  $N$  électrons du système alors que  $K$  est relatif aux  $M$  noyaux.

La fonction d'onde électronique, fonction propre de l'hamiltonien  $H_e$ , est en général construite sur la base d'un produit d'orbitales moléculaires, fonctions monoélectroniques. Ce formalisme est connu sous le nom d'approximation orbitale. Selon l'approximation LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals), ces orbitales sont développées sur une base finie d'orbitales atomiques.

En accord avec le principe de Pauli, la fonction d'onde du système peut se mettre sous la forme d'un déterminant de Slater :

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_a(1)\chi_b(1)\dots\dots\dots\chi_p(1) \\ \dots\dots\dots \\ \chi_a(i)\dots\dots\dots\chi_p(i) \\ \dots\dots\dots \\ \chi_a(n)\dots\dots\dots\chi_p(n) \end{vmatrix}$$

où  $\chi_u$  est une spinorbitale, c'est à dire une orbitale moléculaire multipliée par une fonction de spin  $\alpha$  ou  $\beta$ .

## 1.1.-Calculs *ab initio*

### 1.1.1. Méthode Hartree-Fock

Reprenons la fonction d'onde multiélectronique décrite précédemment, c'est à dire construite à partir d'un déterminant de Slater de  $n$  spinorbitales, que nous pouvons également noter  $\Psi = |\chi_a \dots \chi_k \chi_l \dots \chi_n|$ . L'hamiltonien électronique  $H_e$  nous permet de calculer l'énergie  $E$  :

$$E = \sum_k \langle \chi_k(1) | H^C(1) | \chi_k(1) \rangle + \sum_k \sum_{l>k} \left[ \langle \chi_k(1)\chi_l(2) | \frac{1}{r_{12}} | \chi_k(1)\chi_l(2) \rangle - \langle \chi_k(1)\chi_l(2) | \frac{1}{r_{12}} | \chi_k(2)\chi_l(1) \rangle \right]$$

La fonction d'onde multiélectronique qui minimise cette énergie peut-être approchée en cherchant les spinorbitales solution des équations de Hartree-Fock<sup>2</sup> :

$$F\chi_k = \epsilon_k \chi_k$$

où

$$F(1) = H^C(1) + \sum_i [J_i(1) - \mathcal{K}_i(1)]$$

$H^C(1)$  est l'hamiltonien de cœur relatif à un électron, qui comprend l'énergie cinétique et l'énergie d'attraction de l'électron par les noyaux.  $J$  et  $K$  sont respectivement les opérateurs coulombien et d'échange.

Les solutions de l'équation de Hartree-Fock seront obtenues à partir d'un calcul variationnel self-consistant (SCF). Deux formalismes sont possibles. Si l'on utilise la même fonction d'espace pour les électrons  $\alpha$  et  $\beta$ , on se place dans le cadre Hartree-Fock<sup>3</sup> restreint (RHF). Si on lève cette contrainte, nous parlerons de formalisme UHF.

Dans la pratique, il est difficile de calculer les intégrales multicentriques liés au terme de répulsion électronique sur une base d'orbitales de type Slater<sup>4</sup> (STO). on préfère utiliser un développement sur une base de fonctions gaussiennes dont la partie exponentielle est de la

forme  $e^{-\alpha r^2}$ . Ainsi, on peut ramener le calcul des intégrales de répulsion électronique à un calcul analytique d'intégrales monocentriques. Il faut noter que les fonctions gaussiennes ont la particularité de posséder une dérivée nulle pour  $r=0$ , ce qui ne permet pas de représenter correctement l'énergie potentielle électron-noyaux et la répulsion électronique au voisinage des noyaux. Cependant, les fonctions gaussiennes sont bien adaptées aux orbitales de Slater dans la région interatomique où ont lieu la plupart des phénomènes chimiques et sont donc à même de rendre compte de nombreuses propriétés moléculaires.

L'approximation orbitale a également ses limites. Elle stipule que chaque électron est décrit par une fonction qui ne contient pas les coordonnées des autres électrons, ce qui est en accord avec le fait que la probabilité de présence des électrons dans un même élément de volume est faite de deux événements indépendants. La répulsion coulombienne rend effectivement peu probable la possibilité de trouver deux électrons dans une petite région de l'espace mais l'approximation orbitale ne permet pas de prendre en compte l'existence de la corrélation qui existe entre les mouvements des différents électrons. L'énergie calculée a alors une valeur nécessairement supérieure à la valeur exacte de l'énergie. Lorsque le nombre de fonctions de base tend vers l'infini, le calcul tend vers une limite appelée limite Hartree-Fock. Celle-ci correspond à la valeur minimale de l'énergie issue du calcul variationnel pour une base complète.

La différence entre ce résultat et le résultat exact non relativiste est connue sous le nom d'énergie de corrélation. Pour dépasser cette limite, plusieurs approches théoriques sont possibles. Nous les citons brièvement ensuite.

### *1.1.2. Energie de corrélation*

L'énergie de corrélation n'est pas prise en compte dans le cas de l'approximation orbitale. Plusieurs méthodes sont susceptibles de palier à cet inconvénient.

L'interaction de configuration (CI) est la méthode qui permet la prise en compte la plus complète de la corrélation. Elle consiste à développer la fonction d'onde sur la base des configurations électroniques ayant la même

symétrie et le même spin, construites à la suite d'un calcul SCF. Le nombre de configurations croissant très rapidement avec le nombre d'électrons ou avec la taille de la base d'orbitales atomiques, on se limite assez vite dans la pratique à appliquer cette méthode à de petites molécules.

Une autre façon de procéder est de traiter la corrélation par des méthodes perturbatives appliquées sur la fonction d'onde SCF. On développe la fonction d'onde dans l'espace des configurations. L'opérateur à l'ordre 0 est alors l'hamiltonien de Fock. Cette approche connue sous le nom de Møller-Plesset et est très utilisée en pratique. Elle est en général conduite à l'ordre 2, 3 ou 4.

Il existe d'autres traitements possibles de la corrélation électronique dans le cadre des méthodes *ab initio* mais elles sont moins utilisées et nous ne les aborderons pas ici.

## 1.2. Calculs semi-empiriques

L'objectif commun de ces méthodes est de simplifier le schéma de calcul, en réduisant le nombre d'intégrales à calculer, notamment les intégrales biélectroniques multicentriques. On considère que les orbitales moléculaires sont des combinaisons linéaires d'orbitales atomiques de Slater décrivant les électrons de la couche de valence. Les électrons internes ne sont pas considérés explicitement. Leur effet est simplement représenté par l'utilisation d'une charge nucléaire effective. De plus, pour diminuer les temps de calcul, on fait les approximations suivantes : la matrice des intégrales de recouvrement est supposée être diagonale dans la résolution des équations SCF; toutes les intégrales biélectroniques, à trois ou quatre centres sont supposées nulles et certaines intégrales biélectroniques à un ou deux centres sont également négligées. D'autre part, on utilise quelques paramètres de façon à limiter le nombre d'entités à calculer.

Ces paramètres sont ajustables de façon à obtenir la meilleure concordance avec des calculs *ab initio* ou avec l'expérience. Il est, entre autre nécessaire de maintenir les principales interactions moléculaires et de compenser les insuffisances de la méthode Hartree-Fock (énergie de corrélation...)<sup>5</sup>



Selon le mode de paramétrisation, différentes méthodes sont disponibles. l'une des méthodes la plus simple, CNDO<sup>6</sup> (Complete Neglect Differential Overlap) tire son nom du fait que les recouvrements différentiels sont complètement négligés. Néanmoins, les valeurs obtenues pour les longueurs de liaison, les angles et les distributions de charges sont acceptables. Mais par contre, les valeurs de l'énergie restent éloignées des valeurs expérimentales. Les méthodes de type NDDO<sup>7</sup> (Neglect Diatomic Differential Overlap) et MNDO<sup>7</sup> (Modified Neglect Differential Overlap) sont basées sur des approximations moins poussées. Alors que le calcul des énergies de formation, des constantes de force sont acceptables, elles ne permettent pas de bien représenter les liaisons hydrogène. Les méthodes les plus employées actuellement sont les méthodes AM1<sup>8</sup> et PM3<sup>9,10</sup> qui sont basées sur l'approximation MNDO mais ont été paramétrées de telle façon à en palier les défauts.

### 1.3. Théorie de la fonctionnelle de la densité

La théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur deux théorèmes fondamentaux. Rappelons l'équation régissant l'hamiltonien :

$$H^i = -\frac{1}{2} \sum_i^N \Delta_i + \sum_i^N \sum_j^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_j^N v(r_j)$$

où  $v(r_j)$  est un potentiel externe agissant sur l'électron  $j$  (par exemple le potentiel dû aux noyaux). Le premier théorème dû à Hohenberg-Kohn<sup>11</sup> établit que le potentiel est déterminé à une constante près par la densité électronique  $\rho(r)$ . Si l'on connaît cette densité, on connaît également le nombre d'électrons du système. D'après l'équation régissant l'hamiltonien, nous pouvons déterminer la fonction d'onde de l'état fondamental et toutes les propriétés électroniques du système. Formellement, l'énergie apparaît alors comme une fonctionnelle de la densité.

$$E_v[\rho] = T[\rho] + V_{eN}[\rho] + V_{ee}[\rho]$$

Selon ces notations,  $T[\rho]$  est l'énergie cinétique,  $V_{eN}[\rho]$  et  $V_{ee}[\rho]$  sont les contributions électron-noyau et électron-électron à l'énergie potentielle.

Nous pouvons scinder en deux parties le terme d'interaction électron-électron, l'une de type non-classique, l'autre de type coulombien. Cette dernière s'écrit :

$$J(r) = \frac{1}{2} \frac{r(r)r(r')}{|r-r'|} drdr'$$

Il représente la répulsion classique entre électrons Le terme non-classique est une quantité très importante qui représente l'énergie d'échange-corrélation. Nous allons y revenir un peu plus loin.

Le deuxième théorème dû à Kohn-Sham<sup>12</sup> permet d'étendre le principe variationnel à la densité électronique : pour une densité d'essai  $\rho(r)$ , telle que  $\rho(r) \geq 0$  et  $\int \rho(r) dr = N$ ,  $E_0 \leq E_v[\rho]$  où  $E_v[\rho]$  est la fonctionnelle de l'énergie.

L'utilisation d'un schéma monoélectronique a conduit Kohn-Sham<sup>12</sup> a proposer une relation, analogue à l'équation de Hartree :

$$\left[ -\frac{1}{2} \Delta + v(r) + v_e(\rho(r)) + v_{xc}(\rho(r)) \right] \Psi_i = \varepsilon_i \Psi_i$$

où  $v(r)$  est le potentiel externe,  $v_e$  le potentiel de répulsion coulombienne et  $v_{xc}(\rho(r))$  exprime le potentiel d'échange et de corrélation. Cet élément est encore indéterminé. Il est alors nécessaire d'appliquer différentes approximations pour l'expliciter. L'approximation densité locale de spin (LDA) va nous permettre de le faire. Si  $\rho(r)$  varie suffisamment lentement, nous pouvons écrire :

$$E_{xc}[\rho] = \int \rho(r) \varepsilon_{xc}(\rho(r)) dr$$

$\varepsilon_{xc}$  exprime l'énergie d'échange et de corrélation par particule d'un gaz d'électron homogène et de densité  $\rho(r)$ . On peut alors écrire le potentiel d'échange et de corrélation :

$$v_{xc}(\rho(r)) = \frac{d[\rho(r)\varepsilon_{xc}(\rho(r))]}{d\rho(r)}$$

Une approximation équivalente peut permettre de généraliser l'approximation LDA au spin polarisé.

Pour des études qualitatives, les potentiels de type  $X\alpha$ <sup>13,14</sup> ont été souvent employés, mais ces potentiels s'avèrent insuffisant dans le cas de systèmes présentant des couches ouvertes ou des atomes métalliques. Les potentiels VWN<sup>15</sup> et PZ<sup>16</sup> représentent la limite de l'approximation locale et on considère alors que les erreurs résiduelles peuvent être attribuées aux effets non-locaux. Atteindre cette limite grâce à ces potentiels n'apparaît pas être plus coûteux que l'utilisation du simple potentiel  $X\alpha$ . Il reste pourtant à dépasser cette limite afin de tenir en compte les effets non-locaux inhérents aux systèmes étudiés.

Il faut signaler que dans un traitement LSD d'un système monoélectronique, l'énergie coulombienne n'est pas exactement annulée par l'énergie d'échange-corrélation. La fonctionnelle exacte décrivant l'énergie d'échange-corrélation annulerait les répulsions self-coulomb erronées. Afin de tenir en compte cette erreur, on a mis au point la méthode SIC dans laquelle on effectue une soustraction de l'erreur self-interaction, orbitale par orbitale pour obtenir une énergie d'échange-corrélation corrigée. Au final, cette correction améliore les énergie totales, d'échange et de corrélation.

Une voie permettant d'aller au delà de l'approximation locale décrite plus haut nous est proposée par les méthodes de correction de gradient. Afin de tenir en compte l'inhomogénéité de la distribution électronique, ces méthodes effectuent un développement sur le gradient de la densité pour les énergies d'échange et de corrélation. Plusieurs développements ont été proposé pour la correction d'énergie cinétique pour le gaz d'électrons<sup>17</sup>. D'autre part, plusieurs types de corrections pour l'échange<sup>18,19,20</sup>, ou pour la corrélation<sup>21,22</sup> ont été proposés.

Des méthodes hybrides ont aussi été développées. Elles se basent sur une combinaison de fonctionnelles d'échange non-local et l'échange Hartree-Fock<sup>23</sup>.

De nombreuses études ont été faites dans le but de comparer ces méthodes de la DFT avec des méthodes basées sur les formalismes HF ou Møller-Plesset, utilisées depuis longtemps. Une étude sur différentes réactions chimiques a été rapportée dans un article en 1990<sup>24</sup>. Depuis, un grand nombre d'études comparatives ont été faites, incluant même des comparaisons avec l'expérience<sup>25</sup>. De plus, des calculs récents ont montré que les méthodes de la DFT étaient une bonne alternative aux approches Hartree-Fock et post-HF pour des molécules contenant des métaux<sup>26, 27</sup>.

D'un point de vue pratique, les méthodes basées sur les formalismes LSD ou LDA donnaient d'assez mauvaises valeurs pour les énergies des états considérés. L'introduction des corrections de gradient dans la fonctionnelle d'échange a permis à Becke d'obtenir des résultats énergétiques en excellent accord avec l'expérience<sup>28</sup>. Une autre étude très complète, menée par Andzelm et al<sup>29</sup>, et basée sur une fonctionnelle particulière BP (Becke-Perdew)<sup>23, 30</sup>, a montré que leurs résultats quant aux calculs de structures, de fréquences, d'énergies et de moment dipolaires se comparent très bien avec les méthodes standards HF et MP2. Plus récemment, Johnson et al<sup>31</sup> se sont intéressés aux comparaisons entre la méthode BLYP et les calculs HF et post-HF. BLYP, utilise la fonctionnelle d'échange de Becke, développée en 1988, qui inclut l'échange de Slater avec des corrections impliquant le gradient de la densité<sup>32</sup> et les fonctionnelles de corrélation de Lee, Yang et Parr<sup>33</sup> qui incluent à la fois des termes locaux et des corrections de gradient. Il est connu depuis longtemps que les méthodes HF donnent fréquemment des longueurs de liaison trop courtes et que MP2, la théorie perturbative la plus simple tenant en compte la corrélation donne souvent des longueurs de liaison trop longues. Il a été montré dans cette étude que la fonctionnelle BLYP, basée sur les méthodes à correction de gradient donne régulièrement des longueurs de liaison trop longues. Pour leurs calculs, ils ont utilisé la base 6-31G\*. Les géométries obtenues sont généralement légèrement moins bonnes comparées avec l'expérience que celles données par les méthodes *ab initio*. Les calculs des moments dipolaires sont entachés d'erreurs semblables pour les deux types de calcul et ne sont donc pas satisfaisants. Par contre, les fréquences vibrationnelles et les énergies d'atomisation sont en meilleur accord avec les résultats expérimentaux que les calculs *ab initio*. D'un autre côté, il semblerait que les énergies de liaison calculées par les méthodes DFT puissent être surestimées. C'est une tendance quasi-générale qui a été

illustrée par des calculs d'énergie de dissociation<sup>34</sup>. D'autres résultats<sup>35</sup> indiquent que les affinités protoniques calculées aux niveaux MP2 et MP4, par exemple, sont très dépendantes de la taille de la base, alors que la DFT a une sensibilité moins importante. Enfin, les erreurs dues à la superposition de base (BSSE) sont plus petites en BLYP que celles trouvées pour les méthodes corrélatives courantes, mais restent tout de même importantes<sup>36</sup>.

Il semble donc assez généralement admis que la méthode BLYP donne des résultats comparables aux calculs post-HF couramment utilisés. De plus, les méthodes basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité demandent un temps de calculs restreint par comparaison avec les méthodes post-HF telles que Møller-Plesset.

## 2 - Méthodes de la mécanique moléculaire

### 2.1. Les termes énergétiques

Les molécules seront traitées de manière classique. L'hamiltonien du système ne comporte que des termes d'énergie potentielle. On écrit alors

$$E = E_C + E_{vdW} + E_S + E_H + E_{R\alpha}$$

où  $E_C$  représente l'énergie coulombienne,  $E_{vdW}$  l'énergie de Van der Waals,  $E_S$  l'énergie stérique,  $E_H$  l'énergie des liaisons hydrogène et  $E_{R\alpha}$  un terme énergétique fonction de la méthode.

L'énergie coulombienne représente les interactions qui existent entre les différentes charges réparties dans la molécule : charges atomiques partielles, ionisation de certains groupements...

Deux types d'interactions sont regroupées dans le terme correspondant à l'énergie de Van der Waals : le premier correspondant aux phénomènes de répulsion à courte distance, le second illustrant les phénomènes d'attraction à des distances plus importantes, ce qui correspond à un terme permettant

de calculer l'énergie de dispersion. Deux types de potentiels permettent d'illustrer ces interactions, le potentiel de Lennard-Jones et le potentiel de Buckingham qui utilisent un terme en  $1/d^6$  pour représenter l'énergie de dispersion. Le potentiel de Lennard-Jones prend en compte l'énergie de répulsion grâce à un terme en  $1/d^{12}$  alors que le potentiel de Buckingham utilise une exponentielle.

On utilise la loi de Hooke pour estimer la contribution énergétique des termes suivants :

$$E_S = E_{st} + E_b + E_{sb} + E_t$$

$E_{st}$  représente l'énergie d'élongation (stretching) qui tient en compte les modifications dans les longueurs de liaison.  $E_b$ , énergie de pliage (bending) correspond aux modifications apportées dans les angles de liaison.  $E_{sb}$  est un terme croisé (stretching-bending) qui traduit l'interaction entre les deux termes précédents. Enfin,  $E_t$  (torsion) correspondant aux modifications d'énergie qui sont nécessaires à apporter pour corriger les barrières de rotation.

Les interactions de Van der Waals ne tenant pas en compte les termes correspondant aux liaisons hydrogène, on peut ajouter un terme électrostatique à un potentiel de type Lennard-Jones ou Buckingham.

## 2.2. Minimisation de l'énergie

Plusieurs types de méthodes sont envisageables pour faire un calcul de minimisation de l'énergie<sup>37</sup>. La première d'entre elle consiste à faire une exploration complète de l'hypersurface d'énergie. Cette méthode nous permet alors de déceler les maxima et les minima en fonction des paramètres du système étudié. Cependant, cette méthode, de part son nombre de calcul, doit se limiter à un nombre limité de variables.

Les méthodes itératives permettent de rechercher un minimum dépendant de la conformation initiale de la molécule. Le minimum trouvé n'est pas forcément le minimum global de la molécule ni même le minimum le plus proche de l'état initial, cela dépend de la direction prise initialement.

Au bout de plusieurs essais, il est alors possible de cartographier l'hypersurface. Une des méthodes itératives la plus connues est sans doute la méthode du *Simplex*<sup>38</sup> mais les méthodes les plus répandues sont les méthodes à gradient. Comme dans le cas précédent, on part d'une conformation initiale, mais cette fois, la direction de départ est choisie de telle façon à assurer une décroissance plus grande de la fonction à minimiser. Dans la méthode du type *steepest descent*, la direction de minimisation est calculée à partir du potentiel correspondant aux coordonnées courantes. La méthode dite de gradient conjugué propose une direction de déplacement en fonction du potentiel des coordonnées courantes et en tenant également compte de la direction à l'itération précédente. Le défaut majeur de ce type de méthode réside dans le fait que la molécule tombe dans le minimum le plus proche sans pour autant qu'il s'agisse du minimum global.

### 3 - La méthode mixte LSCF

La mécanique moléculaire ne permet pas de décrire correctement un certain nombre de propriétés moléculaires, en particulier toutes celles liées à la réactivité chimique où des liaisons se créent et se coupent. Ainsi, la description du développement d'une réaction, évolution des liaisons, des charges et d'autres observables, ne peut se faire que de façon malaisée en mécanique moléculaire. Par ailleurs, il est évident qu'un très gros système ne peut être traité en mécanique quantique même au niveau semi-empirique. Les méthodes hybrides de type QM/MM se développent beaucoup actuellement. Elles permettent la description quantique d'un sous-système de taille limitée en utilisant des potentiels mixte quantique-classiques. Le principal problème pour mettre au point une telle technique de calcul consiste à traiter correctement les atomes frontières, c.à.d. ceux qui sont situés à l'interface des systèmes quantiques et classiques.

Dans ce but, la méthode LSCF (Local Self-Consistent Field)<sup>39,40</sup> a été développée au laboratoire de Nancy. Nous résumons ci-après le principe de cette méthode

Le système étudié sera séparé en deux parties : le fragment ou sous-système  $S$ , qui sera traité de manière quantique, et son environnement  $E$ , qui représente le reste de la macro-molécule. Nous allons considérer une paire d'atomes, à la frontière entre ces deux parties, reliés par une liaison simple  $X$ - $Y$ . Nous supposerons que  $X$  appartient à la partie quantique et il sera appelé l'atome frontière.

Les quatre orbitales atomiques décrivant l'atome frontière,  $|s\rangle$ ,  $|x\rangle$ ,  $|y\rangle$  et  $|z\rangle$  seront remplacées par un jeu d'orbitales hybrides.<sup>41</sup>  $|i\rangle$ ,  $|j\rangle$ ,  $|k\rangle$  et  $|l\rangle$  sur  $X$ . L'une d'entre elles pointera vers l'atome  $Y$ . Dans le modèle LSCF, trois des orbitales hybrides seront incluses dans le calcul SCF. La quatrième en sera exclue et permettra de faire la transition entre la partie quantique et la partie classique. Il ne sera pas nécessaire de séparer chimiquement les deux sous-systèmes. Cette dernière orbitale pourra également être appelée orbitale gelée.

La liaison entre le dernier atome quantique et le premier atome classique sera construite à partir d'une combinaison linéaire de deux orbitales hybrides, avec des coefficients constants. Elles vont être définies selon le formalisme des orbitales de liaison strictement localisées (SLBO : strictly localized bond orbital). Le sous système quantique sera alors décrit à partir des orbitales moléculaires développées sur la base des orbitales atomiques à la condition restrictive suivante : ces orbitales moléculaires doivent être orthogonales aux orbitales de liaison strictement localisées. En méthode semi-empirique, cette condition est facilement réalisable si l'on définit les orbitales hybrides des SLBO telles qu'elles soient orthogonales aux orbitales moléculaires appartenant à la partie quantique.

La difficulté est maintenant de définir de telles orbitales hybrides. Si l'on considère que dans la couche de valence de l'atome frontière on ne trouve qu'une orbitale  $s$  et trois orbitales  $p$ , le problème est ramené à trouver une transformation orthogonale qui engendrerait le bon jeu d'orbitales hybrides. Cette transformation est relativement aisée si l'on note que cette orbitale hybride a une partition  $s/p$  bien définie, qu'elle doit pointer dans la direction de l'atome classique lié à notre atome quantique et que la densité doit être fixée. Nous obtenons alors une orbitale hybride pointant vers la partie classique, mais aussi et surtout, trois autres orbitales hybrides, orthogonales à cette première et appartenant à la partie quantique.



La partie de l'hamiltonien concernant l'atome frontière X dans la base d'orbitales hybrides s'écrit à partir des éléments de l'hamiltonien définis sur la bases des orbitales atomiques :

$$H_{\mu\nu} = \sum_i \sum_j A_{\mu i}^X A_{\nu j}^X H_{ij}$$

où  $A_{\mu i}^X$  représente l'élément de la matrice [A] qui transforme le jeu d'orbitales atomiques initiales en un jeu d'orbitales atomiques et hybrides qui vont être utilisées dans la définition des orbitales moléculaires. De la même façon, les intégrales bicentriques entre les orbitales atomiques d'un atome quelconque et les orbitales hybrides d'un atome frontière seront calculées comme suit :

$$(ij|kl) = \sum_i \sum_j \sum_k \sum_l A_{\mu i}^X A_{\nu j}^X A_{\lambda k}^Y A_{\eta l}^Y (ij|kl)$$

Nous pouvons alors calculer l'énergie. Dans l'expression suivante,  $\mu$  et  $\nu$  portent sur toutes les orbitales incluses dans le calcul SCF, qu'elles soient hybrides ou atomiques. L'énergie du système complet est donnée par l'équation :

$$\begin{aligned} E = & \sum_{\mu} \sum_{\nu} P_{\mu\nu} \left\{ H_{\mu\nu} + \frac{1}{2} \sum_{\lambda} \sum_{\mu} P_{\lambda\mu} \left[ (\mu\nu|\lambda\eta) - \frac{1}{2} (\mu\eta|\lambda\nu) \right] \right\} \\ & + \sum_I P_{II} \left\{ \sum_{\mu} \sum_{\nu} P_{\mu\nu} \left[ (\mu\nu|II) - \frac{1}{2} (\mu I|\nu I) \right] + \sum_I \frac{1}{2} P_{II} (II|I'I') \right. \\ & \left. + \sum_{A \in E} Q_A (II|s_A s_A) + \sum_{K \in S} Z_K (II|s_K s_K) \right\} \\ & + \frac{1}{2} \sum_{\substack{K \in S, L \in S \\ L \neq K}} Z_K Z_L f_{KL} \\ & + \sum_{A \in E} \left\{ Q_A \sum_{\mu} \sum_{\nu} P_{\mu\nu} (\mu\nu|s_A s_A) + \sum_{K \in S} Z_K [Z_A f_{KA} - P_A (s_K s_K | s_A s_A)] \right\} \\ & + V(E) + V'(E, S) \end{aligned}$$

Dans cette équation :

-  $P_{\parallel}$  correspond à l'élément diagonal de la matrice densité pour une orbitale gelée

-  $Q_A$  est la charge atomique nette de l'atome A appartenant au sous-système E

-  $Z_K$  est le nombre d'électrons des couches de valence de l'atome K appartenant au système quantique

-  $P_{\mu\nu}$  représente l'élément de la matrice densité correspondant aux orbitales atomiques  $|\mu\rangle$  et  $|\nu\rangle$  du sous système S.

-  $f_{KA}$  est la répulsion atomique de cœur, elle est proportionnelle à l'intégrale coulombienne entre les orbitales s des atomes A et K.

-  $Z_A$  est le nombre d'électrons de valence appartenant au système classique

- l'équivalent de la population électronique de valence d'un atome classique est définie par  $P_A = Z_A - Q_A$

La première ligne de l'équation correspond à l'énergie Hartree Fock des électrons appartenant à S. La seconde somme représente l'énergie potentielle de la population électronique des orbitales hybrides figées. La troisième somme est la répulsion atomique de cœur dans le sous-système S et dans la quatrième, on retrouve les interactions électrostatiques entre les sous systèmes S et E. Enfin, les deux derniers termes représentent, pour  $V(E)$ , l'énergie potentielle du sous système classique et pour  $V'(E,S)$ , toutes les interactions entre les deux systèmes à l'exception des termes électrostatiques.

La dérivation de l'équation de Hartree-Fock à partir de l'équation définissant l'énergie est alors assez simple. Le calcul des intégrales mono-et bi-électroniques ne nécessite qu'une simple transformation linéaire des intégrales standards. Le calcul est initialisé comme dans le cas d'une molécule complètement quantique. Les matrices de cœur et de Hartree-Fock sont calculées sur la base des orbitales atomiques, y compris sur les atomes frontières.

Les orbitales hybrides figées appartenant aux différents atomes frontières considérés seront alors enlevées du jeu d'orbitales atomiques traitées quantiquement. Toutes les autres orbitales appartenant à ce sous-système subiront une combinaison linéaire de façon à former les orbitales

moléculaires selon le formalisme Hartree-Fock. Notons  $[A]$ , la matrice de transformation,  $N$  le nombre totale d'orbitales de départ et  $f$  le nombre d'orbitales figées. Cette matrice correspond à une transformation orthogonale sur les  $N$  orbitales de départ, suivie d'une projection sur le sous-espace à  $(N-f)$  dimensions. Il est également possible de définir une matrice de transformation inverse, nous la noterons  $[A]^{-1}$ . Il est à noter que cette matrice ne doit transformer que les orbitales appartenant aux atomes frontières : ce qui veut dire qu'elle doit être unitaire en ce qui concerne les orbitales atomiques appartenant au "cœur" de la partie quantique.

## 4 - Représentation des effets du solvant : modèle du continuum

La plupart des processus chimiques ont lieu en solution et la nature du solvant joue un rôle très important, notamment dans le cas d'espèces chargées ou présentant une séparation de charge importante et pour lesquelles la polarité du solvant peut avoir un rôle stabilisant d'une espèce ou d'une autre. Il est donc important que son effet soit pris en compte pour analyser des résultats provenant de calculs théoriques. Les modèles théoriques *ab initio*, DFT et semi-empiriques présentés ci-dessus ne tiennent pas compte de ces effets.

Le modèle du continuum est basé sur une représentation macroscopique de l'environnement liquide. Le solvant est alors assimilé à un milieu continu et infini. On le caractérise par ses propriétés diélectriques globales (constante diélectrique statique du liquide à représenter, constante diélectrique à fréquence infinie...) Le système moléculaire à étudier est alors placé dans une cavité, située dans le liquide et qui sera caractérisée par la forme du système à étudier. Ce dernier est soumis à un potentiel électrostatique (potentiel du champ de réaction) dû à la polarisation du solvant par la distribution de charges du soluté.

Le modèle à cavité de Nancy est basé sur le modèle de Kirkwood <sup>42</sup> et le formalisme des facteurs de champ de réaction. Des modèles de cavité

sphérique ou ellipsoïdale ont été développés. Ce dernier, beaucoup plus flexible, permet une meilleure approche de la géométrie du soluté, mais il a des limitations importantes. Les derniers développements se basent sur la définition de la surface de contact par F. M. Richards. Cette dernière cavité est obtenue en faisant rouler une sphère de rayon identique à celui du solvant sur la surface de van der Waals de la molécule.

Il a été proposé, en accord avec le critère d'Onsager, que le volume du système moléculaire soit égal au volume moléculaire partiel. L'approximation de la surface par une enveloppe ellipsoïdale est considéré comme une bonne approximation en général. Les dérivées premières et secondes de l'énergie peuvent être calculées analytiquement et permettent les optimisations de géométrie et la localisation des états de transition en solution. Pour définir la cavité, on utilise la surface obtenue à partir des sphères de van der Waals en multipliant leurs rayons par un facteur 1.105, nous obtenons le volume moléculaire par la formule

$$V_{\text{mol}} = 1.480V_{\text{vdW}}^{\text{corr}} + 0.42$$

Le moyen le plus simple pour définir les axes de l'ellipsoïde est de considérer les axes principaux et les valeurs principales d'une propriété tensorielle de la molécule. Dans notre cas, on définit l'ellipsoïde à partir des valeurs et vecteurs propres du tenseur d'inertie correspondant au volume de densité uniforme défini par la surface de van der Waals corrigée.

L'effet du solvant est traité comme une perturbation du système et peut être introduit dans l'hamiltonien :

$$H_S = H^{\circ} + H_{\text{el}}$$

Le terme  $H_{\text{el}}$  représente l'interaction soluté-solvant. Dans le cadre du modèle utilisant les facteurs du champ de réaction, cet hamiltonien électrostatique prend la forme :

$$H_{\text{el}} = - \sum_{l,m} R_l^m \langle \psi | M_l^m | \psi \rangle$$

Cette approche consiste donc à utiliser un développement multipolaire pour représenter la distribution de charges du soluté. Le potentiel électrostatique

de réaction ainsi que les différentes composantes de ses dérivées s'expriment alors en fonction des composantes  $M_l^m$  des moments et des facteurs du champ de réaction  $f_{ll}^{mm'}$ , selon :

$$R_l^m = \sum_{l'=0}^{\infty} \sum_{m'=-l'}^{l'} f_{ll'}^{mm'} M_{l'}^{m'}$$

Les propriétés géométriques de la cavité et la constante diélectrique du solvant déterminent ces facteurs qui ont été développés dans le cas de surfaces sphériques et ellipsoïdales et dans le cadre de la cavité de forme générale. Les composantes du multipôle de rang  $l$  s'écrivent :

$$M_l^m = \sum_n Z_n S_l^m(\vec{r}_n) - \sum_i S_l^m(\vec{r}_i)$$

où les termes  $S_l^m$  représentent les polynômes sphériques qui sont définis à partir des harmoniques sphériques. Dans cette équation, la première partie représente les termes liés aux charges nucléaires, la deuxième, les termes liés aux charges électroniques.

La perturbation introduite par le solvant peut être incluse dans le calcul SCF. Dans ce calcul, on optimise l'énergie intrinsèque du soluté plus l'énergie libre électrostatique de solvation. Il permet l'obtention du terme d'énergie libre d'induction. Etant donné que la fonction d'onde apparaît dans l'hamiltonien du système, on aboutit à une équation non-linéaire. Cette procédure est appelée Self Consistent Reaction Field (SCRF).

On obtient l'énergie libre d'interaction électrostatique selon la relation

$$\Delta G_{el} = -\frac{1}{2} \sum_{l,m} \langle \psi | R_l^m | \psi \rangle \langle \psi | M_l^m | \psi \rangle$$

L'énergie de dispersion<sup>42, 43</sup> peut-être obtenue à l'aide de plusieurs algorithmes mais son calcul est nettement plus délicat que celui de l'énergie électrostatique. Son rôle se limite le plus souvent à modifier la stabilité relative des espèces en solution mais elle n'induit pas de modification dans la structure géométrique ou électronique du soluté.

Enfin, le terme de cavitation, lié à l'énergie dépensée pour créer la cavité dans le diélectrique peut être calculé en utilisant différents algorithmes<sup>44</sup>.

D'autres termes liés aux interactions spécifiques soluté-solvant devront être considérés. Dans nos calculs, nous avons décidé d'utiliser une méthode semi-empirique pour évaluer l'ensemble des contributions non-électrostatiques de l'énergie de solvatation. Cette méthode est décrite au chapitre II.

## 5 - Schéma des calculs, logiciels employés

Dans notre travail, nous avons abordé le mécanisme d'hydrolyse des amides à l'aide de plusieurs modèles de complexités très différentes. Nous passerons notamment d'un système moléculaire d'une quinzaine d'atomes au maximum, à un système comportant tous les atomes de la thermolysine, c'est à dire environ 5000 atomes. La description théorique de ces différents systèmes nécessite différentes méthodes de calculs. Les systèmes comportant un nombre d'atomes assez faible pourront être traités de façon quantique et notamment par des méthodes *ab initio* ou de la fonctionnelle de la densité. Les systèmes d'une trentaine d'atomes pourront être traités à l'aide des méthodes semi-empiriques. Des méthodes basées sur la mécanique moléculaire seront nécessaires pour l'étude des systèmes les plus gros.

Ici nous résumons les principales options de calculs utilisées et les programmes employés. D'autres détails seront donnés dans les chapitres concernés. Les calculs *ab initio* et DFT seront menés à l'aide du programme Gaussian92/DFT<sup>45</sup>. Dans le cas de calculs Hartree-Fock restreints, les bases 3-21G et 6-31G\*\*<sup>46</sup> seront utilisées. La corrélation sera introduite au moyen des méthodes perturbatives de type Møller-Plesset.<sup>47</sup> Quelques calculs ponctuels d'énergie seront effectués à l'aide des corrections MP3.

Les calculs DFT seront menés à l'aide du programme Gaussian92/DFT à l'aide d'une base d'orbitales gaussiennes 6-31G\*\*. Pour le Zinc, la base DZVP2<sup>48</sup> sera employée. Le potentiel utilisé, BLYP, utilise la fonctionnelle d'échange de Becke<sup>32</sup> et les fonctionnelles de corrélation de Lee, Yang et Parr<sup>33</sup>. La fonctionnelle de Becke est celle qu'il a développée en 1988, qui inclut l'échange de Slater avec des corrections impliquant le gradient de la densité. La fonctionnelle de corrélation de Lee, Yang et Parr inclut à la fois des termes locaux et des corrections de gradient.

Les calculs quantiques de systèmes moléculaire comprenant plus d'atomes seront développés en semi-empirique avec le programme GEOMOS<sup>49</sup>. La méthode AM1<sup>50</sup> sera utilisée pour tous les atomes.

Pour tous les calculs quantiques, les états de transition ont été localisés à l'aide de l'algorithme de Schlegel<sup>51</sup> et caractérisés par le calcul de la matrice du Hessien en vérifiant qu'il ne présente qu'une seule valeur propre négative, correspondant à une fréquence imaginaire.

L'effet de solvant sera examiné à l'aide du modèle de continuum décrit plus haut. Les calculs seront également menés à l'aide du programme Gaussian92/DFT pour les calculs *ab initio* et DFT et GEOMOS pour les calculs semi-empiriques en utilisant le "package" SCRFAC.<sup>52</sup>

Des calculs de minimisation de mécanique moléculaires seront menées à l'aide du programme Discover<sup>53</sup> développé par BIOSYM. Le potentiel utilisé est amber<sup>54</sup>, dans lequel seront introduits les paramètres du zinc développés par O. Jacob<sup>55</sup>.

La méthode mixte employée est LCSCF, pour laquelle nous utiliserons les résultats des minimisations précédentes à l'aide du potentiel amber et de la méthode AM1. Le programme utilisé est celui développé au laboratoire : GEOMOP<sup>56</sup>.



## Références

- 1 Born, M; Oppenheimer, J.R. *Ann. Physik*, **1927**, *84*, 457
- 2 Hartree, D.R. *Proc. Cambridge Phil. Soc.* **1928**, *24*, 89.
- 3 Fock, V. *Z. Physik* **1930**, *61*, 126.
- 4 Slater, J.C. *Phys. Rev.* **1930**, *36*, 57.
- 5 Rivail, J.-L. *Elément de chimie quantique à l'usage des chimistes*. Inter Edition/ Edition du C.N.R.S. **1989**.
- 6 Pople, J.A.; Beveridge, D.A. *Approximate Molecular Orbital Theory*. McGraw-Hill, New-York, **1970**.
- 7 Dewar, M.J.S.; Thiel, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 4899.
- 8 Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F.; Stewart, J.J.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902
- 9 Stewart, J.J.P. *J. Comp. Chem.* **1989**, *10*, 209
- 10 Stewart, J.J.P. *J. Comp. Chem.* **1989**, *10*, 221
- 11 Hohenberg, P; Kohn, W. *Phys. Rev. B.* **1964**, *136*, 864.
- 12 Kohn, W; Sham, L.J. *Phys. Rev. A* **1965**, *140*, 1133
- 13 Slater, J.C. *Adv. Quantum Chem.* **1972**, *6*, 1
- 14 Slater, J.C. in *The Self Consistent Field for Molecules and Solids*. McGraw-Hill, New-York, **1974**, vol4
- 15 Vosko, S.H.; Wilk, L.; Nusair, M. *Can. J. Phys.*, **1980**, *58*, 1200.

- 16 Perdew, J.P.; Zunger, A. *Phys. Rev. B*, **1981**, *23*, 5048.
- 17 von Weizsäcker, C.F. *Z. Phys.* **1935**, *96*, 431.
- 18 Perdew, J.P.; Wang, Y. *Phys. Rev. B*. **1986**, *33*, 8800.
- 19 Becke, A.D. *Phys. Rev. A*. **1988**, *38*, 3098.
- 20 Zhou, Z.; Chataraj, P.K.; Parr, R.G.; Lee, C. *Theor. Chim. Acta* **1992**, *84*, 237.
- 21 Langreth, D.C.; Mehl, M.J. *Phys. Rev. B*. **1983**, *28*, 1809; erratum **1984**, *29*, 2310.
- 22 Perdew, J.P. *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8822; erratum **1986**, *34*, 7406
- 23 Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 1372-1377.
- 24 Ziegler, T. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 651-667.
- 25 a) Johnson, J. G.; Gill, P.M.W.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5612.
- b) Andzelm, J.; Wimmer, E. *J. Chem. Phys.* **1992**, *96*, 1280.
- c) Becke, A. D., *J. Chem. Phys.* **1992**, *96*, 2155.
- d) Gill, P. M. W.; Johnson, J. G.; Pople, J. A.; Frisch, M. *J. Chem. Phys. Lett.* **1992**, *197*, 499.
- e) Handy, N.C.; Maslen, P. E.; Amos, R. D.; Andrews, J. S.; *Chem. Phys. Lett.* **1992**, *197*, 506
- f) Johnson, J. G.; Gill, P.M.W.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 7846
- g) Murray, C. W.; Lamming, G. J.; Handy, N. C.; Amos, R. D. *Chem. Phys. Lett.* **1992**, *199*, 551.

- h) Gill, P. M. W.; Johnson, J. G.; Pople, J. A.; Frisch, M. J. *Int. J. Quantum Chem. Symp.* **1992**, *26*, 319.
- i) Barone, V. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *226*, 973.
- j) Barone, V. *J. Phys. Chem.* **1994**, *101*, 6834.
- 26 Pullumbi, P.; Mijoule, C.; Manceron, L.; Bouteiller, Y. *Chem. Phys.* **1994**, *185*, 13; *Chem. Phys.* **1994**, *185*, 25.
- 27 Pullumbi, P.; Bouteiller, Y.; Manceron, L.; *J. Chem. Phys.* **1994**, *101*, 3610.
- 28 Becke, A.D.J. *J. Chem. Phys.* **1992**, *96*, 2155.
- 29 Andzelm, J.; Wimmer, E.J. *Chem. Phys.* **1992**, *96*, 1280.
- 30 Perdew, J. P. *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8822
- 31 Johnson, J.G.; Gill, P.M.W.; Pople, J.A. *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 7846.
- 32 Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 2547.
- 33 Lee, C.; Yang, W.; Parr, R.G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 786.
- 34 Li, J.; Schreckenbach, G.; Ziegler, T *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 4838.
- 35 Gill, P. M. W.; Johnson, B. G.; Pople, J. A. *Chem. Phys. Lett.* **1993**, *209*, 506.
- 36 Smith, B. J.; Random, L. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *231*, 345.
- 37 Pattou, D *Thèse de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg I*, **1986**.
- 38 Spendley, W.; Hext, G.R.; Himsworth, F.R. *Technometrics*, **1962**, *4*, 441.
- 39 Therey, V. *Thèse de l'Université de Nancy I*, **1993**
- 40 Therey, V.; Rinaldi, D.; Rivail, J.-L.; Maignret, B.; Ferenczy, G.G. *J. Comp. Chem.* **1994**, *15*, 269
- 41 Warshel, A., Levit, M. *J. Mol. Biol.* **1976**, *103*, 227.

- 42 Kirkwood, J.G; *J. Chem. Phys.* **1934**, 2, 351.
- 43 Rinaldi, D; Costa Cabral, B.J.; Rivail, J.-L. *Chem. Phys. Lett.* **1986**, 125, 495.
- 44 Costa Cabral, B.J.; Rinaldi, D; Rivail J.-L. *C. R. Acad. Sc. Paris* **1984**, 16, 675.
- 45 Pierotti, R.A. *J. Phys. Chem.* **1963**, 67, 1840; Pierotti, R.A.; *J. Phys. Chem.* **1965**, 69, 281; Pierotti, R.A. *Chem. Rev.* **1976**, 76, 717.
- 46 M.J. Frish, G.W. Trucks, M. Head-Gordon, P.M.W. Gill, M.W. Wrong, J.B. Foresman, B.G. Johnson, H.B. Schlegel, M.A. Robb, E.S. Reprogle, R. Gomperts, J.L. Andres, K. Raghavachari, J.S. Binkley, C. Gonzales, R.L. Martin, D.J. Fox, D.J. Defrees, J. Baker, J.J.P. Stewart, and J.A. Pople, *Gaussian 92*, Carnegie-Mellon Quantum Chemistry Publishing Unit, Pittsburgh, PA, 1992.
- 47 Les références pour les différentes bases sont: Binkley, J.S.; Pople J.A.; Hehre W.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 939 (pour 3-21G); Francl, M.M.; Pietro, W.J.; Hehre, W.J.; Binkley, J.S.; Gordon, M.S.; DeFrees, J.D.; Pople, J.A. *J. Chem. Phys.*, **1982**, 77, 3654 (pour 6-31G\*\*).
- 48 Pour l'expression des énergies Møller-Plesset, voir: Szabo, A.; Ostlund, N.S. In *Modern Quantum Chemistry : Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*; Macmillan, New York, **1986**, ch.
- 49 Godbout, N.; Salahub, D.R.; Andzelm, J.; Wimmer, E. *Can. J. Chem.* **1992**, 560.
- 50 Rinaldi, D.; Hoggan, P.E.; Cartier, A.; *GEOMOS: Semi-Empirical SCF System for Dealing with Solvent effects and Solid Surface Adsorption (Q.C.P.E. 584a)*, Q.C.P.E. Bull, **1989**, 128.
- 51 Pour les atomes O, C, H et N, voir ref. 9. Pour l'atome de Zinc: Merz Jr., K.M.; Dewar, M.J.S. *Organometallics*, **1988**, 7, 522 .
- 52 Schlegel, H.B. *J. Comput Chem.* **1982**, 3, 214.

- 53 Rinaldi, D.; Pappalardo, R. R. *SCRFPAC*; Quantum Chemistry Program Exchange: Indiana University, Bloomington, IN, 1992; Program No. 622.
- 54 Discover. Biosym Technologies, Inc. 9685 Scranton Road. San Diego, CA 92121-4778. USA.
- 55 Weiner, S.J.; Kollman, P.A.; Nguyen, D.T.; Case, D.A. *J. Comp. Chem.* **1986**, *7*, 230.
- 56 Jacob, O. Thèse de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg I, **1990**.
- 57 Rinaldi, D.; Cartier, A.; Rivail, J.-L.; Hoggan, P.E.; They, V; Ferenczy, G.G.; Loos, M.; Dillet, V.; Monard, G.; Baka, K.; Mokrane, A. programme amené à remplacer le programme *GEOMOS*

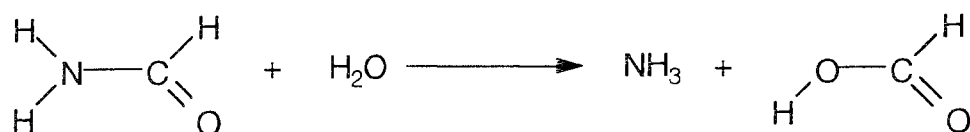
## Chapitre II

# Etude ab-initio de la réaction d'hydrolyse du formamide

<b>1. Réaction non-catalysée.....</b>	<b>30</b>
1.1. Mécanisme neutre non-assisté .....	30
1.2. Mécanisme neutre assisté .....	31
L'intermédiaire I1n:.....	34
L'état de transition TS2N.....	35
L'intermédiaire I2n:.....	37
<b>2. Catalyse acide .....</b>	<b>38</b>
2.1. Mécanisme non-assisté, catalysé par un proton .....	38
2.2. Mécanisme protoné assisté. ....	40
L'intermédiaire I1p:.....	43
L'état de transition TS2P: .....	44
L'intermédiaire I2p:.....	46
<b>3. Energies d'activation. Comparaison des différents mécanismes.....</b>	<b>47</b>
<b>4. Effets du solvant.....</b>	<b>52</b>
4.1. Effets électrostatiques.....	52
Structures des réactifs.....	53
Réaction non-catalysée.....	57
Mécanisme catalysé par $H_3O^+$ .....	58
4.2. - Effets non-électrostatiques.....	59
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>61</b>
<b>Références .....</b>	<b>62</b>

# Etude *ab initio* de la réaction d'hydrolyse du formamide

Cette partie va être consacrée à l'étude du mécanisme d'hydrolyse du formamide (Figure 1). Bien que cette réaction soit de première importance, car elle permet de modéliser la cassure d'une liaison peptidique lors de processus biochimiques, son mécanisme n'a pas encore été totalement expliqué. Son étude a été pourtant récemment reprise, notamment dans le cas de réactions catalysées par  $\text{H}_3\text{O}^+$  ou  $\text{OH}^-$ .<sup>1</sup>



**Figure 1** : Réaction schématique de l'hydrolyse du formamide

Peu de calculs théoriques ont été consacrés au mécanisme d'hydrolyse des amides. Le chemin réactionnel du formamide avec une seule molécule d'eau dans le cadre d'une réaction neutre ou catalysée par  $\text{H}_3\text{O}^+$  (à la fois dans le cas d'une protonation sur l'oxygène ou sur l'azote du formamide) ou par  $\text{OH}^-$  a été analysé<sup>2</sup>. Le processus inverse, c'est-à-dire la réaction de l'ammoniaque avec

l'acide formique en vue de créer le formamide a également été étudiée<sup>3, 4</sup>. Un mécanisme d'hydrolyse en deux étapes peut également être considéré. Lors de celui-ci, on trouve dans la première étape la création d'un dialcool et dans la deuxième, la protonation du groupement amide<sup>3, 4</sup>. D'un autre côté, plusieurs mécanismes ont été proposés pour l'hydrolyse catalysée d'un peptide, notamment par la carboxypeptidase A<sup>5, 6</sup> ou par la thermolysine<sup>6</sup>, deux peptidases au zinc assez communes. La cassure de la liaison peptidique, par la carboxypeptidase A, a été étudiée aux niveaux *ab initio* et AM1<sup>7</sup>. L'hydrolyse de  $\beta$ -lactames a été également considérée à l'aide de méthodes semi-empiriques<sup>8</sup>, incluant une étude des effets d'environnement sur la réaction<sup>9</sup>.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressé plus particulièrement aux mécanismes d'hydrolyse assistés. En effet, la présence d'une molécule d'eau additionnelle dans le mécanisme de réaction diminue souvent la hauteur de la barrière<sup>10</sup>, grâce à un mécanisme de catalyse bifonctionnelle. L'assistance par d'autres espèces moléculaires a également été démontrée<sup>11</sup>.

Mis à part ces effets spécifiques du solvant, nous pouvons aussi nous attendre à ce que les interactions à longue distance avec le liquide modifient les conclusions énergétiques des processus étudiés. Les interactions électrostatiques soluté-solvant sont bien connues pour jouer un rôle sur les cinétiques de plusieurs réactions<sup>12</sup>. Leurs effets sur l'hydrolyse des amides n'ont pas été étudiés en détail, mais ils doivent toutefois être importants car, lors d'un transfert de proton, la distribution de charges du système subit de fortes modifications le long de la coordonnée de réaction.

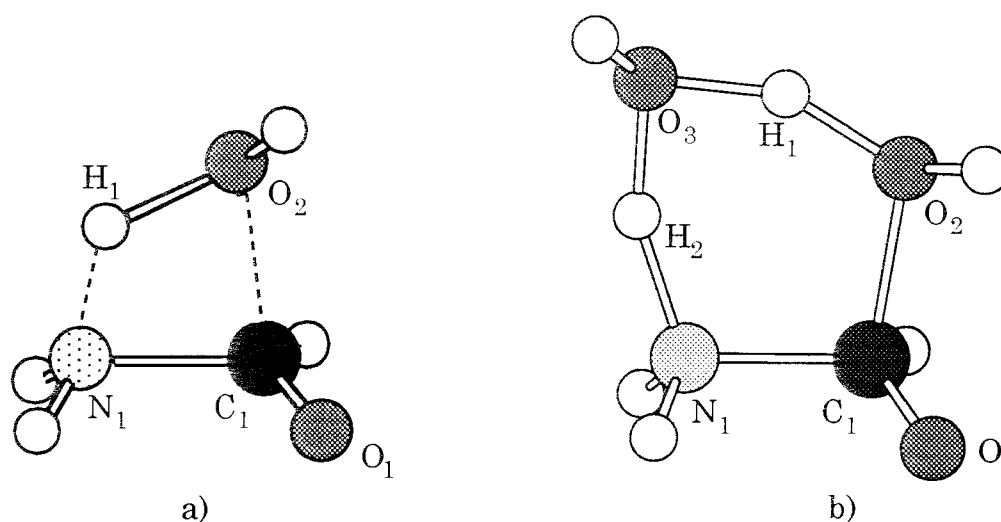
Nous allons dans un premier temps considérer l'hydrolyse du formamide neutre : sa compréhension est importante pour l'analyse ultérieure du processus catalysé par un proton ou par une enzyme. Nous n'étudierons que le mécanisme concerté, car dans le cas du mécanisme par étapes faisant intervenir un dialcool, l'introduction d'une deuxième molécule d'eau n'apportera pas de modifications substantielles dans le mécanisme d'hydrolyse. Nous passerons ensuite à l'étude des processus catalysés par un proton, à l'aide d'un modèle dans lequel le formamide sera lié au niveau du carbonyle par un groupement  $H_3O^+$ . Seule la première étape sera étudiée, c.a.d. la protonation concertée de l'atome d'azote et l'hydroxylation de l'atome de carbone. Celle-ci est l'étape limitante et les étapes suivantes sont sensiblement les mêmes que celles trouvées lors des processus non-assistés. Pour finir, les effets électrostatiques du solvant sur les structures



des réactifs, des intermédiaires et des états de transition ainsi que sur les énergies de la réaction seront considérés.

A cause de la présence de deux molécules d'eau dans les processus assistés, un nombre important d'espèces moléculaires stables comportant des liaisons hydrogène peut être trouvé. Ceci mène à une surface de potentiel relativement compliquée du fait de nombreuses basses fréquences possibles. La localisation des états de transition est alors rendue difficile. C'est pourquoi, dans un premier temps, nous allons rechercher les états stationnaires de la réaction à l'aide d'un schéma de calcul relativement simple. Ces états stationnaires seront complètement optimisés au niveau de calcul RHF/3-21G<sup>13</sup>. Dans le chapitre suivant, nous allons discuter l'influence de la base sur les géométries calculées et nous verrons que malgré quelques modifications, parfois importantes, ce rôle n'est pas crucial pour déterminer les mécanismes de réaction.

Suivant que la réaction fera intervenir une ou deux molécules d'eau dans la coordonnée de réaction, la nature de l'état de transition sera très différente. Les études de mécanismes concertés faites précédemment s'arrêtaient sur la recherche de points stationnaires autour d'une conformation cyclique à quatre membres, présentée Figure 2a.



**Figure 2** : Structures autour desquelles ont été effectuées les recherches de TS  
a) pour la réaction non-assistée. b) pour la réaction assistée par l'eau.

Afin d'étudier les mécanismes assistés, il nous a fallu inspecter en plus la surface d'énergie potentielle autour d'une conformation cyclique à six membres, présentée Figure 2b.

Nous n'avons pas formellement suivi la coordonnée de réaction pour trouver les différents points stationnaires mais le vecteur propre de la matrice du Hessien nous a permis d'interpréter les états de transition que nous avons obtenus et les mécanismes des réactions présentés ci-après.

Lors de ces études, nous avons négligé les possibles interactions avec d'autres molécules de solvant (molécules d'eau en l'occurrence) : par exemple, la possible création d'une liaison hydrogène avec l'oxygène de la fonction carbonyle. Cependant, ceci nous aurait ramené à l'étude de la catalyse acide que nous verrons dans le chapitre suivant.

## 1. Réaction non-catalysée

### 1.1. Mécanisme non-assisté

Dans le Tableau I sont regroupés les paramètres correspondant à l'état de transition calculé pour le processus d'hydrolyse non-catalysé, que nous appellerons mécanisme neutre, à une molécule d'eau, au niveau RHF/3-21G. La structure de ce TS est représentée Figure 2a.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux trouvés lors des études précédentes utilisant des niveaux de calcul comparables à celui utilisé ici et nous ne nous attarderons pas sur la discussion de ce mécanisme.

Il est à noter que, par rapport au formamide, la longueur de la liaison  $C_1N_1$  dans le TS augmente alors que  $C_1O_1$  n'évolue presque pas. L'ordre de la liaison  $C_1N_1$  baisse fortement. Le transfert de proton depuis la molécule d'eau vers le formamide est bien avancé, comme le montre l'indice de la liaison  $O_2H_1$  qui est assez faible. La structure de l'état de transition présente un cycle à quatre membres relativement plan : l'écart à la planéité, donné par l'angle dièdre  $O_2C_1N_1H_1$  est de  $-4.15^\circ$ . La pyramidalisation de l'azote est très marquée :  $H_NN_1CH_{N'}$   $-128.14^\circ$ . Nous reviendrons sur ces derniers points plus loin.

**Tableau I** : Paramètres géométriques (distances en Å, angles en degrés), calculés au

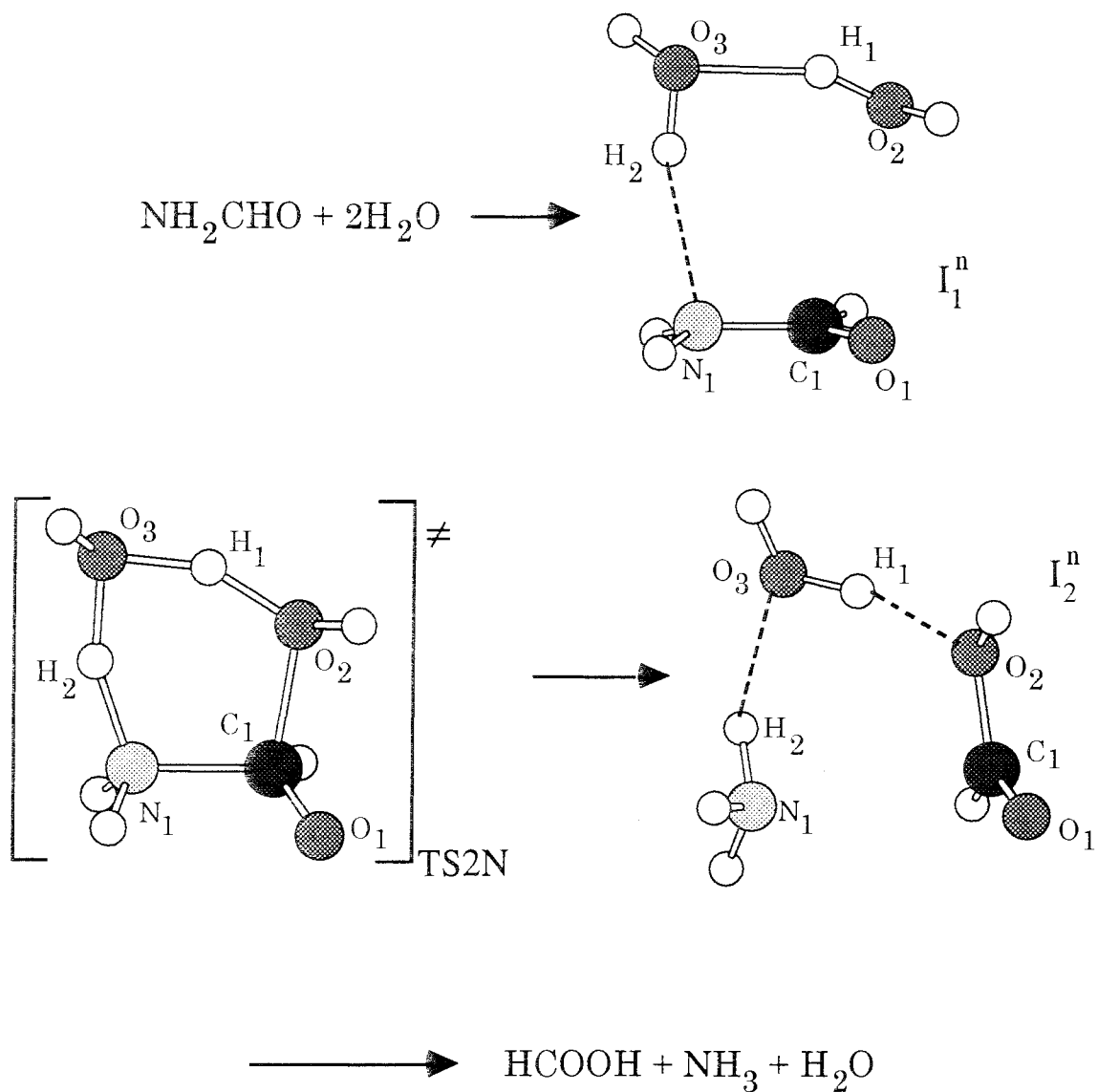
niveau RHF/3-21G : charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer, calculés au niveau 6-31G\*\*//3-21G ; et énergies totales à différents niveaux de calculs (en u.a.) pour l'état de transition du mécanisme neutre non-assisté (valeurs pour le formamide données entre parenthèses).

TS1N			
Paramètres Géométriques		Charges atomiques nettes de Mulliken	
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.217 (1.212)	O <sub>1</sub>	-0.626
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.598 (1.353)	C <sub>1</sub>	0.653
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	1.748	N <sub>1</sub>	-0.809
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.269	O <sub>2</sub>	-0.828
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.219	H <sub>1</sub>	0.447
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		Indices de liaison de Mayer	
82.18 (125.32)		C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.739
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>		C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	0.659
72.90		C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	0.400
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	0.339
-4.15		H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	0.465
Energie			
-243.505545			

## 1.2. Mécanisme neutre assisté

La Figure 3 rassemble les différentes étapes de la réaction. Les calculs prédisent la formation d'un complexe pré-réactif comportant une liaison faible entre l'un des hydrogène du dimère de l'eau et l'atome d'azote du formamide. Cet intermédiaire sera noté I<sub>1</sub><sup>n</sup>. Après le passage par l'état de transition, que nous noterons TS2N, la réaction passe par un deuxième intermédiaire comportant également des liaisons faibles entre les deux produits et la molécule d'eau additionnelle.

Les Tableaux II et III rassemblent les principaux résultats obtenus pour les structures stationnaires de la Figure 3. Nous décrirons ci-dessous les principales caractéristiques des espèces obtenues.



**Figure 3** : Hydrolyse du formamide : réactions neutre et assistée par l'eau. Les structures présentées ont été calculées au niveau RHF/3-21G.

**Tableau II :** Paramètres géométriques (distances de liaison, angle de valence et angles dièdres en Å et en degrés) obtenus au niveau de calcul RHF/3-21G pour la réaction d'hydrolyse neutre et assistée par une molécule d'eau du formamide. Energies totales (en u.a.) pour plusieurs niveaux de calcul.

	Formamide	Dimère de l'eau	I1	TS2N	I2
Paramètres Géométriques					
CN	1.353		1.382	1.572	2.839
CO <sub>1</sub>	1.212		1.209	1.239	1.195
CO <sub>2</sub>			2.749	1.674	1.375
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.973	0.975	1.205	1.883
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		1.825	1.796	1.190	0.973
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>		0.967	0.973	1.190	1.981
NH <sub>2</sub>			2.109	1.298	1.008
O <sub>1</sub> CN	125.32		123.36	115.18	111.48
O <sub>2</sub> CN			107.98	98.85	89.95
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C			85.26	113.31	119.48
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		175.92	156.48	153.58	163.80
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		110.03	91.04	86.72	83.23
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N			165.13	158.34	158.05
H <sub>2</sub> NC			100.18	109.16	93.03
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> CN			25.42	0.16	-32.65
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C			-16.59	-1.70	57.75
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		-59.91	6.50	2.20	-24.01
NH <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>			4.69	-2.95	-4.59
H <sub>2</sub> NCO <sub>2</sub>			-19.36	-0.25	24.66
H <sub>N</sub> NCH <sub>N</sub> '	180.0		151.16	117.79	127.58
Energies Totales					
3-21G	-167.984900	-151.189404	-319.186604	-319.137385	-319.188038
6-31G**	-168.939675	-152.052455	-320.995999	-320.901323	-320.993914
//3-21G					
MP2/6-31G**	-169.420470	-152.449180	-321.879504	-321.817900	-321.876375
//3-21G					
MP3/6-31G**	-169.429344			-321.828043	
//3-21G					

**Tableau III :** Indices de liaison de Mayer et charges atomiques nettes de Mulliken obtenus au niveau de calcul RHF/6-31G\*\*//3-21G.

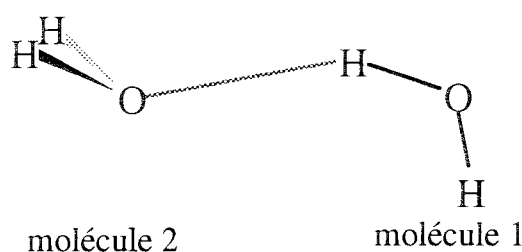
	Formamide	Dimère de l'eau	I1	TS2N	I2
Indices de Liaison de Mayer					
CN	1.069		0.987	0.689	0.015
CO <sub>1</sub>	1.823		1.824	1.646	1.895
CO <sub>2</sub>			0.026	0.429	0.906
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.801	0.793	0.366	0.043
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		0.064	0.075	0.395	0.804
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>		0.863	0.810	0.410	0.063
NH <sub>2</sub>			0.044	0.356	0.843
Charges Atomiques Nettes de Mulliken					
C	0.567		0.584	0.704	0.672
N	-0.733		-0.786	-0.848	-0.880
O <sub>1</sub>	-0.575		-0.576	-0.694	-0.537
O <sub>2</sub>		-0.747	-0.755	-0.811	-0.657
O <sub>3</sub>		-0.687	-0.719	-0.832	-0.726
H <sub>1</sub>		0.388	0.390	0.515	0.397
H <sub>2</sub>		0.361	0.386	0.507	0.327

### L'intermédiaire $I_1^n$

Comme on peut le remarquer dans le Tableau II, cet intermédiaire de réaction correspond à un complexe à liaison faible. Il existe une liaison hydrogène entre le formamide et le dimère de l'eau. Cette interaction entraîne l'élongation de la liaison C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> de 0.029 Å. Les indices de liaison de Mayer pour les liaisons N<sub>1</sub>H<sub>2</sub> et C<sub>1</sub>O<sub>2</sub> qui se forment sont respectivement de 0.044 et 0.026. On peut également remarquer que la liaison carbonyle est plus faible dans notre complexe que dans le formamide. Ceci est dû au fait que l'approche des molécules d'eau perturbe le système  $\pi$  délocalisé qui existe dans le formamide entre les atomes O<sub>1</sub>, C<sub>1</sub> et N<sub>1</sub>. Ce résultat est en accord avec les travaux effectués précédemment<sup>2</sup>.

Cette perte de délocalisation se traduit également par une modification importante de l'angle H<sub>NN<sub>1</sub>C<sub>1</sub>H<sub>N'</sub></sub>. Alors que sa valeur est de 180.0° pour le formamide, pour l'intermédiaire  $I_1^n$ , on trouve un angle de 151.16°. Il est

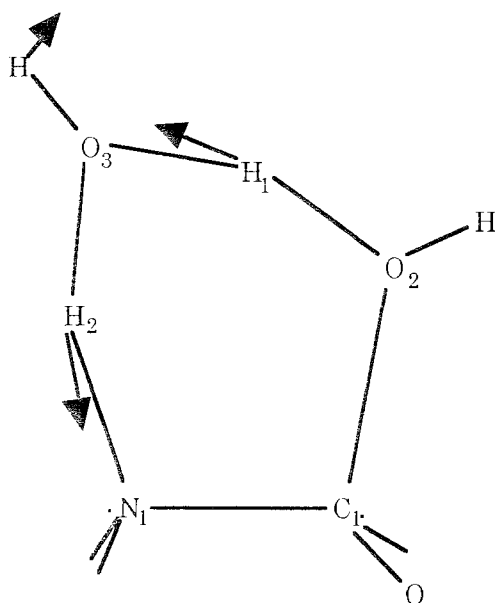
intéressant de souligner que , dans le mécanisme non-assisté, la présence d'un tel intermédiaire à liaison faible n'a pas été mise en avant. En effet, nous avons effectué une série de calculs pour vérifier si la formation d'un tel complexe à liaison faible entre le formamide et le monomère de l'eau était possible au niveau de calcul utilisé, RHF/3-21G, mais aucun minimum n'a été trouvé. En fait, le complexe n'est stable que si le caractère donneur de l'espèce protique est assez important : l'énergie apportée par la liaison hydrogène doit compenser l'énergie dépensée pour modifier l'hybridation de l'azote. Dans le dimère de l'eau (Figure 4), grâce à un effet coopératif, les atomes d'hydrogène de la molécule d'eau accepteur, molécule 2, sont plus acides que dans le monomère. Ils ont une plus grande tendance à créer des liaisons hydrogène que ceux appartenant à un monomère <sup>14</sup>. Ceci explique, au moins partiellement, les différences qui peuvent exister entre les interactions [*dimère de l'eau-formamide*] et [*monomère de l'eau-formamide*].



**Figure 4 :** Représentation schématique du dimère de l'eau

### *L'état de transition TS2N*

La structure de l'état de transition (que l'on notera par la suite TS2N) peut être représenté par un cycle à six membres proche de la planéité. Ce cycle comporte un transfert concerté de protons, comme représenté dans la Figure 5, où est schématisé le vecteur propre correspondant à la valeur propre négative de la matrice du Hessien. On remarque la déprotonation de la molécule d'eau dont l'atome d'oxygène interagit avec l'atome de carbone du formamide. Le transfert se fait vers la deuxième molécule d'eau et, de façon simultanée, celle-ci perd également un proton, qui est transféré vers l'atome d'azote du formamide.



**Figure 5** : Représentation schématique du vecteur propre de la matrice du Hessien correspondant à la valeur propre négative pour la géométrie de l'état de transition pour la réaction neutre et assistée par l'eau.

Les valeurs de ces trois liaisons OH impliquées dans les transferts de protons sont très proches. Toutefois, la liaison  $O_3H_1$  qui se forme est plus courte et plus énergétique que la liaison  $O_2H_1$  qui se casse. Dans l'état de transition, le transfert de proton est donc plus proche de l'état final que de l'état initial. De son côté, le proton noté  $H_2$  est relativement proche de l'atome d'azote et l'indice de liaison  $N_1H_2$  a une valeur relativement grande.

Nous pouvons aussi remarquer que la liaison  $C_1N_1$  est fragilisée, comme le montre la nette augmentation de sa longueur (+0.190 Å par rapport à l'intermédiaire  $I_1^n$  et 0.219 Å par rapport au formamide) et la diminution de son indice de liaison (de 0.298 par rapport à  $I_1^n$  et de 0.380 par rapport au formamide). Par comparaison avec le TS obtenu pour la réaction non-assistée, nous pouvons remarquer qu'ici, la liaison  $C_1N_1$  est plus courte :  $d_{CN} = 1.572$  Å pour TS2N contre  $d_{CN} = 1.598$  Å pour TS1N. La comparaison des autres longueurs de liaison nous donne :  $d_{NH} = 1.298$  Å et 1.220 Å et  $d_{CO} = 1.671$  Å et 1.749 Å pour TS2N et TS1N respectivement. Il apparaît que la cassure de la liaison amidique et la création de la liaison NH sont retardées en dépit du fort caractère donneur du dimère de l'eau. Par contre, la création de la liaison  $C_1O_2$  est favorisée par la présence de la molécule supplémentaire.



La pyramidalisation de l'azote est plus importante dans le cas où l'on fait intervenir la deuxième molécule d'eau. Nous retrouvons ce résultat à travers la valeur de l'angle dièdre  $H_N N_1 C_1 H_N'$  qui est de  $128.1^\circ$  dans le cas de la réaction non-assistée et de  $117.8^\circ$  quand on introduit la deuxième molécule d'eau. Pour finir, la liaison carbonyle est plus grande dans le cas du mécanisme assisté (1.239 Å) que dans le cas du mécanisme non-assisté (1.217 Å). Nous pouvons nous attendre à ces résultats d'après les longueurs  $C_1O_2$ .

Ces valeurs montrent que les modifications sur la structure de l'état de transition produites par la présence de la molécule d'eau additionnelle sont complexes et ne peuvent pas être expliquées par des facteurs simples, comme les contraintes géométriques (qui existent entre un cycle à quatre membres et un cycle à six membres) ou par le caractère donneur des atomes d'hydrogène. Toutefois, le changement d'hybridation de l'atome d'azote apparaît comme étant un point clef de cette réaction. Il a en effet été montré<sup>15</sup> que la pyramidalisation de l'azote est accompagnée d'une augmentation de la susceptibilité du carbone amidique pour les attaques nucléophiles. Ceci est observé dans les deux réactions considérées. Dans le cas du mécanisme non-assisté, la pyramidalisation de l'atome d'azote est défavorisée et la stabilisation de l'état de transition nécessite une plus grande approche de la molécule d'eau. Dans ce cas, l'attaque nucléophile au niveau du carbone est rendue plus difficile que dans le cas de la réaction assistée par la deuxième molécule d'eau.

### *L'intermédiaire $I_2^n$*

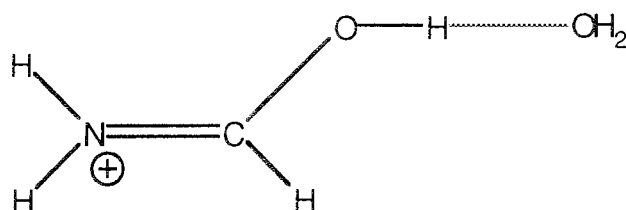
Intéressons nous à l'intermédiaire réactionnel qui suit l'état de transition TS2N. Dans cet intermédiaire, la liaison  $C_1N_1$  est déjà cassée. L'indice de liaison correspondant est de 0.015 et la longueur de la liaison  $C_1N_1$ , 2.839 Å.

Structurellement, les produits restent liés par l'entremise de liaisons hydrogène avec la molécule d'eau additionnelle. Mise à part la présence de cette dernière, qui n'a qu'un rôle de solvatation du système, la structure de cet intermédiaire est très proche de celle trouvée pour le mécanisme non assisté. Les étapes réactionnelles qui en découlent seront également proches de celles trouvées précédemment<sup>3</sup> et ne seront pas traitées ici.

## 2. Catalyse acide

Nous allons nous efforcer d'analyser le rôle que la catalyse acide peut avoir sur l'hydrolyse des amides. Comme énoncé précédemment, nous ne discuterons que du cas où le formamide est O-protoné. Ce complexe apparaît comme étant le plus stable<sup>2</sup> et l'on considère que sa formation est la première étape pour le mécanisme couramment utilisé de l'hydrolyse d'amides dans le cas de catalyse acide par  $\text{H}_3\text{O}^+$ <sup>16, 17</sup>. Nous considérerons que l'atome d'oxygène du groupement carbonyle du formamide est lié à un  $\text{H}_3\text{O}^+$  tout au long du chemin de réaction.

Il est intéressant d'analyser en premier lieu le changement de réactivité de la molécule de formamide sous l'influence de la catalyse acide. En premier lieu, nous pouvons noter les différences au niveau de la géométrie des deux réactifs. Ici, la longueur de liaison  $\text{C}_1\text{O}_1$  augmente de façon substantielle (+0.056 Å) alors que la liaison  $\text{C}_1\text{N}_1$  diminue (-0.060 Å). Ceci peut être schématiquement interprété par le fait que la conformation de la Figure 6 est stabilisée par la O-protonation.

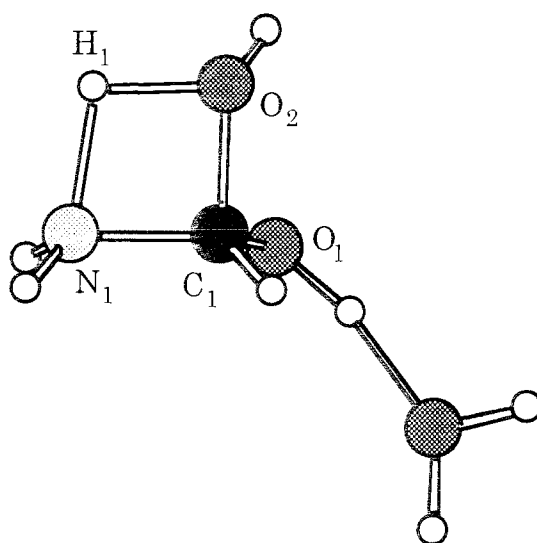


**Figure 6** : Représentation schématique de la forme mésomère du formamide sous l'action de la O-catalyse par  $\text{H}_3\text{O}^+$ .

Les valeurs des indices des liaisons  $\text{C}_1\text{N}_1$  et  $\text{C}_1\text{O}_1$  (1.381 et 1.332 respectivement) ainsi que les valeurs des charges atomiques nettes sur chacun des ces atomes confirment cette analyse.

### 2.1. Mécanisme non-assisté

Les paramètres correspondant à l'état de transition du mécanisme catalysé non-assisté, recalculé au niveau RHF/3-21G, d'après les paramètres de la littérature sont regroupés dans le Tableau IV, le TS est représenté Figure 7.



**Figure 7 :** Représentation de la structure de l'état de transition correspondant aux mécanismes protoné et non assisté.

**Tableau IV :** Paramètres géométriques (distances de liaison, angles de valence et angles dièdres en Å et en degrés) obtenus au niveau de calcul RHF/3-21G pour la réaction d'hydrolyse acide et non-assistée du formamide. Energies totales (en u.a.) pour plusieurs niveaux de calcul (valeurs pour le formamide protoné entre parenthèses)

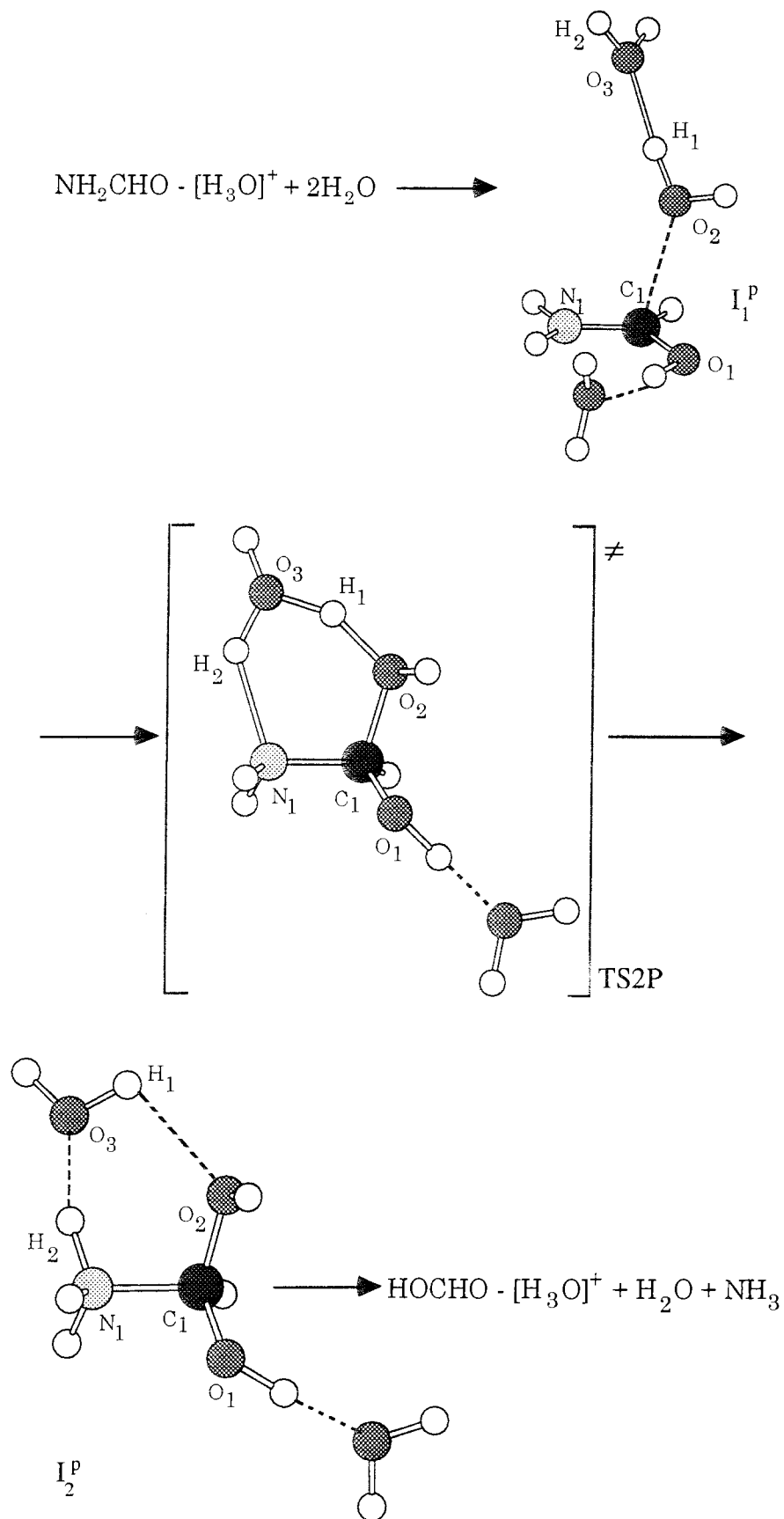
TS1P			
Paramètres Géométriques		Charges atomiques nettes de Mulliken	
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.330 (1.268)	O <sub>1</sub>	-0.681
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.483 (1.293)	C <sub>1</sub>	0.709
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	1.536	N <sub>1</sub>	-0.800
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.186	O <sub>2</sub>	-0.686
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.376	H <sub>1</sub>	0.518
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		Indices de liaison de Mayer	
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>		C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.107
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	0.861
Energie		C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	0.639
-319.526844		O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	0.416
		H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	0.344

Les perturbations de la molécule de formamide présentent des changements importants pour les géométries des espèces réactionnelles. En effet, nous pouvons noter en premier lieu que la longueur de la liaison  $C_1O_1$  est plus longue que celle obtenue lors du TS1N. Corrélativement, la liaison  $C_1N_1$  est plus courte. Les ordres de liaison nous donnent une valeur de 0.810 pour  $C_1N_1$  et 1.085 pour  $C_1O_1$ . Nous trouvons, ici, une attaque nucléophile sur l'atome de carbone plus forte que dans le cas du processus non assisté : la liaison  $C_1O_2$  est plus courte et  $N_1H_1$  est plus longue que pour la structure TS1N. Les indices de liaison de Mayer confirment les tendances signalées avec les paramètres géométriques. Enfin, le cycle à quatre membres reste également proche de la planéité :  $O_2C_1N_1H_1$   $3.61^\circ$ . La pyramidalisation de l'atome d'azote est de  $H_NN_1C_1H_N'$   $130.63^\circ$ .

## 2.2. Mécanisme protoné assisté

Comme pour l'étude précédente, nous avons choisi d'inspecter la surface de potentiel autour d'une conformation cyclique à six membres, à laquelle a été ajouté le groupement  $H_3O^+$ . La Figure 8 rassemble les différentes étapes de la réaction. Les paramètres géométriques calculés au niveau RHF/3-21G des différentes structures correspondant au mécanisme protoné assisté (Figure 8), ainsi que les énergies totales sont présentés dans le Tableau V. Les indices de liaison de Mayer et les charges atomiques nettes (obtenues par l'analyse de population de Mulliken) calculées au niveau RHF/6-31G\*\*//RHF/3-21G sont présentés dans le Tableau VI.

La Figure 8 présente la molécule  $NH_3$  comme produit de la réaction. En milieu acide, nous obtiendrons plus certainement  $NH_4^+$ , molécule amenée à remplacer  $H_3O^+$ .



**Figure 8** : Hydrolyse du formamide, catalysée par  $\text{H}_3\text{O}^+$  et assistée par l'eau.  
 Les structures présentées ont été calculées au niveau RHF/3-21G.

**Tableau V** : Paramètres géométriques (distances de liaison, angles de valence et angles dièdres en Å et en degrés) obtenus au niveau de calcul RHF/3-21G pour la réaction d'hydrolyse acide et assistée par une molécule d'eau du formamide. Energies totales (en u.a.) pour plusieurs niveaux de calcul.

	FoP	I <sub>1</sub> <sup>P</sup>	TSP	I <sub>2</sub> <sup>P</sup>
Paramètres Géométriques				
CN	1.293	1.302	1.459	1.538
CO <sub>1</sub>	1.268	1.290	1.368	1.362
CO <sub>2</sub>		2.254	1.485	1.402
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.986	1.277	2.323
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		1.667	1.123	0.967
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>		0.965	1.0	1.539
NH <sub>2</sub>		5.191	1.8	1.064
O <sub>1</sub> CN	121.01	122.76	112.75	105.54
O <sub>2</sub> CN		103.30	106.98	105.28
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C		135.11	113.98	108.85
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		175.18	153.13	109.76
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		125.55	101.41	109.50
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N		52.95	133.48	162.71
H <sub>2</sub> NC		84.88	107.17	107.12
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> CN		-40.16	-20.53	-40.91
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C		-151.52	11.24	22.36
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		-105.60	-1.36	3.94
NH <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		-35.88	4.30	7.27
H <sub>2</sub> NCO <sub>2</sub>		8.85	20.56	40.14
H <sub>N</sub> NCH <sub>N</sub>	180.0	172.97	122.33	118.35
Energies Totales				
3-21G	-243.975524	-395.202111	-395.190013	-395.210586
6-31G** //3-21G	-245.338638	-397.413896	-397.370858	-397.409737
MP2/6-31G** //3-21G	-246.017757	-398.491336	-398.465232	-398.496632
MP3/6-31G** //3-21G	-246.036096	-398.521567	-398.493370	-398.527104

**Tableau VI** : Indices de liaison de Mayer et charges atomiques nettes de Mulliken obtenues au niveau de calcul RHF/6-31G\*\*//RHF/3-21G.

	FoP	I <sub>1</sub> <sup>P</sup>	TSP	I <sub>2</sub> <sup>P</sup>
Indices de Mayer				
CN	1.381	1.327	0.923	0.776
CO <sub>1</sub>	1.332	1.223	1.023	1.030
CO <sub>2</sub>		0.055	0.687	0.916
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.743	0.268	0.017
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		0.070	0.446	0.824
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>		0.850	0.698	0.113
NH <sub>2</sub>		0.000	0.119	0.674
Charges atomiques nettes de Mulliken				
C	0.606	0.687	0.721	0.667
N	-0.643	-0.678	-0.826	-0.689
O <sub>1</sub>	-0.615	-0.597	-0.710	-0.709
O <sub>2</sub>		-0.718	-0.745	-0.661
O <sub>3</sub>		-0.733	-0.666	-0.736
H <sub>1</sub>		0.446	0.555	0.400
H <sub>2</sub>		0.378	0.455	0.481

Les calculs prédisent également la formation d'un intermédiaire pré-réactif (que l'on notera I<sub>1</sub><sup>P</sup>) et d'un intermédiaire réactionnel après le TS. Nous analysons ensuite les différences avec le cas du mécanisme neutre.

### *L'intermédiaire I<sub>1</sub><sup>P</sup>*

La liaison hydrogène faible N<sub>1</sub>H<sub>2</sub> entre le formamide et la molécule d'eau additionnelle prédite dans le cas de la réaction neutre n'a pas été trouvée dans le cas de la réaction à catalyse acide. Par contre, l'intermédiaire I<sub>1</sub><sup>P</sup> présente une liaison C<sub>1</sub>O<sub>2</sub> partiellement formée. Nous pouvons retrouver dans la structure de cet intermédiaire les remarques faites précédemment pour le formamide protoné : la liaison C<sub>1</sub>O<sub>1</sub> est plus longue que pour l'intermédiaire I<sub>1</sub><sup>N</sup> (1.290 Å contre 1.209 Å), alors que la liaison C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> reste plus courte (1.302 Å contre 1.382 Å).

Un autre changement important est à noter. Comme il n'existe pas d'interaction entre les hydrogène du dimère de l'eau et l'atome d'azote du formamide, ce dernier est très peu pyramidalisé. Ici, la valeur de l'angle H<sub>NN<sub>1</sub>C<sub>1</sub>H<sub>N</sub>'</sub> est de 172.97° contre 151.16° pour l'intermédiaire non catalysé. Si

la pyramidalisation est déjà commencée, c'est que l'interaction de l'atome de carbone avec l'atome d'oxygène de la molécule d'eau du dimère est suffisante pour perturber la délocalisation électronique existant entre les atomes C<sub>1</sub>, N<sub>1</sub> et O<sub>1</sub> du formamide.

### *L'état de transition TS2P*

La structure de cet état de transition, telle qu'elle est schématisée dans la Figure 8 ressemble à celle obtenue dans le cadre de la réaction non catalysée. On retrouve ici la création d'une liaison faible entre l'un des hydrogènes du dimère de l'eau et l'atome d'azote du formamide. Ce qui n'était pas prévisible d'après la structure de l'intermédiaire réactionnel pré-réactif.

Ici encore, la structure du TS2P présente des différences importantes avec celle trouvée dans le cas de la réaction non-catalysée. On peut notamment citer les changements importants dans les valeurs des longueurs des liaisons C<sub>1</sub>O<sub>1</sub>, C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> et N<sub>1</sub>H<sub>2</sub>. Comme nous pouvions le prévoir après l'analyse des résultats obtenus pour la protonation du formamide, C<sub>1</sub>O<sub>1</sub> et C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> restent respectivement plus longue et plus courte que dans l'état de transition trouvé dans le cadre du mécanisme neutre.

La longueur de la liaison carbonyle augmente de 0.078 Å par rapport à l'intermédiaire I<sub>1</sub><sup>P</sup> et de 0.100 Å par rapport au formamide protoné et son indice de liaison diminue de 0.200 par rapport à l'intermédiaire et de 0.309 par rapport au formamide proton.

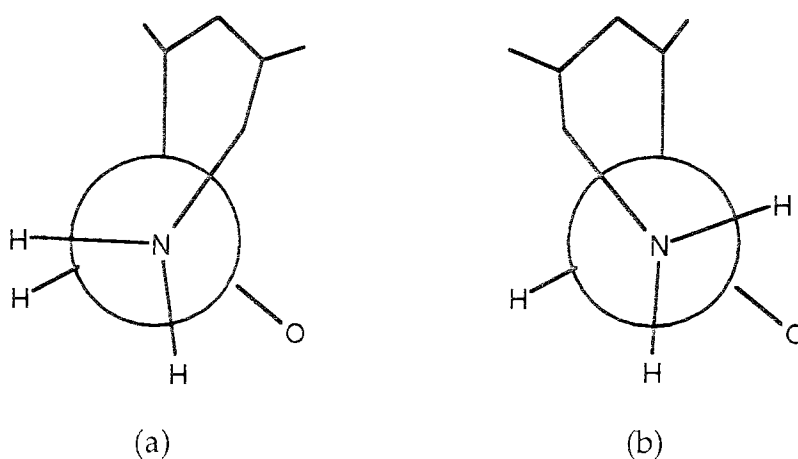
De son côté, la liaison amidique augmente de 0.157 Å par rapport à l'intermédiaire et de 0.166 Å par rapport au formamide protoné. La diminution correspondante des indices de liaison est de 0.404 par rapport à l'intermédiaire et de 0.458 par rapport au formamide protoné.

Nous pouvons également noter que la liaison N<sub>1</sub>H<sub>2</sub>, qui n'existait pas dans l'intermédiaire pré-réactif, commence à être formée. Sa longueur reste importante (1.800 Å) et la valeur de son indice faible (0.119) mais l'interaction azote-hydrogène qui en découle est suffisante pour que la pyramidalisation de l'azote soit effective ( $H_N N_1 C_1 H_N'$  : 122.33°).

Le transfert de proton entre les deux molécules d'eau est presque



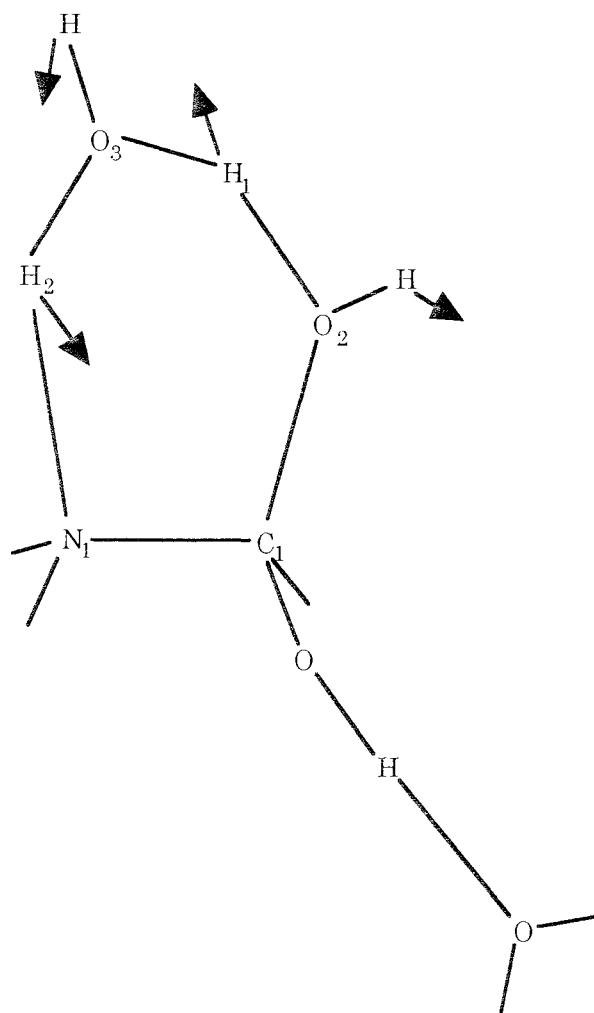
totallement effectué :  $d_{O_2H_1} = 1.277 \text{ \AA}$  et  $d_{O_3H_1} = 1.123 \text{ \AA}$ . Par contre, comme présenté ci-dessus, le transfert du proton vers l'azote est à peine commencé. Nous pouvons donc considérer que l'atome d'oxygène  $O_3$  est entouré de trois protons et forme une espèce  $H_3O^+$ , où est localisée la majorité de la charge positive du système.



**Figure 9 :** Rotation du groupe amino autour de la liaison  $C_1N_1$ .

Une autre différence importante entre les structures des états de transition provient du fait que le cycle à six membres n'est pas plan dans le cas du mécanisme catalysé. Cet écart à la planéité peut être rapporté par la valeur de l'angle  $H_2N_1C_1O_2$ . Alors qu'il ne valait seulement que  $-0.25^\circ$  dans le cas du mécanisme neutre, sa valeur est ici de  $20.56^\circ$ . En fait, dans cette réaction, le groupe amino effectue une rotation par rapport au plan  $C_1N_1O_1$  comme schématisé Figure 9a. Cette rotation est préférée à 9b. Tout comme la pyramidalisation de l'azote<sup>18</sup>, il a été montré que la rotation autour de la liaison  $C_1N_1$  augmente la susceptibilité des amides à une attaque nucléophile au niveau de l'atome de carbone.

Nous avons également schématisé le vecteur propre correspondant à la valeur propre négative de la matrice du Hessien dans la Figure 10. On peut noter qu'il existe des différences importantes entre celui-ci et celui obtenu dans le cadre de la réaction non-catalysée (Figure 5).



**Figure 10** : Représentation schématique du vecteur propre de la matrice du Hessien correspondant à la valeur propre négative de l'état de transition.

Des études précédentes<sup>2</sup>, sur les mécanismes n'incluant qu'une molécule d'eau dans la coordonnée de réaction, ont montré que les structures des états de transition neutre et protoné sont similaires. Il existe néanmoins une asymétrie plus grande dans le cas du processus catalysé. Cette augmentation de l'asymétrie se retrouve dans le cas des processus assistés de façon encore plus marquée.

### *L'intermédiaire $I_2^P$*

On peut considérer que cet intermédiaire est un complexe tétraédrique solvaté par une molécule d'eau. Contrairement à l'intermédiaire final que nous avons trouvé lors de la réaction neutre, ici, la liaison  $C_1N_1$  n'est pas cassée. Ceci est dû au fait que les interactions entre les espèces nucléophiles ( $NH_3$  et le

carbone activé) sont plus importantes. Un allongement supplémentaire de la liaison C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> est nécessaire pour obtenir les produits de la réaction. Mais une fois encore, nous retrouverions là le même mécanisme que pour la réaction non assistée.

### 3. Energies des réactions

#### 3.1 Energies d'activation

Dans le Tableau VII, nous avons regroupé les énergies relatives des différentes espèces calculées par rapport aux réactifs séparés pour les quatre mécanismes considérés pour la réaction d'hydrolyse.

**Tableau VII** : Energies relatives (en kcal.mol<sup>-1</sup>) des états des réactions assistées par l'eau calculées par rapport aux réactifs séparés (formamide ou formamide-[H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] et l'eau) <sup>a</sup>

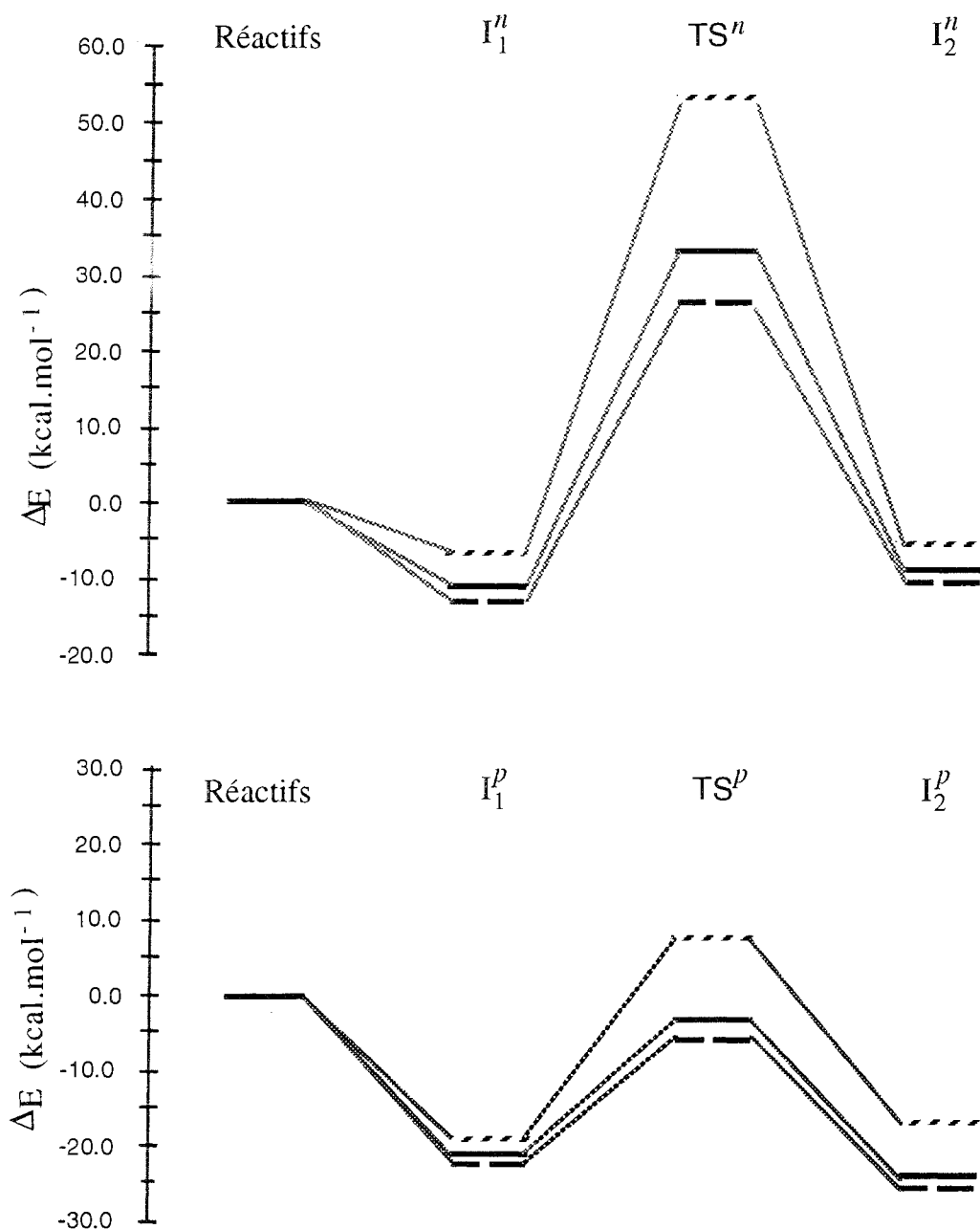
	6-31G**//3-21G	MP2/6-31G**//3-21G	MP3/6-31G**//3-21G
Mécanisme neutre			
I1	-7.39	-12.84	
TS	+52.02 (+63.3) <sup>b</sup>	+25.82 (+42.0) <sup>b</sup>	32.95 (+48.3) <sup>b</sup>
I2	-6.08	-10.87	-9.58
Mécanisme catalysé par H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>			
I1	-19.27	-21.94	
TS	+7.72 (+38.57) <sup>c</sup>	-5.56 (+23.75) <sup>c</sup>	-3.81 (+26.43) <sup>c</sup>
I2	-16.88	-25.26	-24.97

<sup>a</sup> Les valeurs entre parenthèses correspondent aux réactions non-assistées. <sup>b</sup> Référence 4.

<sup>c</sup> D'après les structures recalculées ici. La référence 6 donne les structures optimisées des états de transition au niveau RHF/4-31G.

La comparaison des énergies relatives des processus assistés ou non-assistés nous montre bien que l'assistance par une molécule d'eau additionnelle stabilise de façon importante les états de transition par rapport aux réactifs. Cet

effet est très dépendant du niveau de calcul utilisé. Il peut atteindre 10-16 kcal.mol<sup>-1</sup> dans le cas de la réaction neutre et environ 30 kcal.mol<sup>-1</sup> dans le cas de la réaction catalysée par H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>.



**Figure 11** : Profil énergétique correspondant à l'hydrolyse du formamide assistée par l'eau, non-catalysée (en haut) et catalysée (en bas) : RHF/6-31G\*\*//RHF/3-21G (-----), MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G (— — —) et MP3/6-31G\*\*//3-21G (———).

Il est à noter que l'introduction de la corrélation dans le calcul des énergies modifie de façon importante les énergies SCF relatives : elle stabilise les intermédiaires et surtout les états de transition par rapport aux réactifs. La différence entre les énergies obtenues par MP2 et par MP3 pour l'état de transition de la réaction neutre ( $\approx 7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ) est comparable avec celle obtenue dans le cas de la réaction non-assistée ( $\approx 6 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ). Cette différence est moins marquée dans le cas des processus catalysés ( $\approx 2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ).

La Figure 11 montre une schématisation des surfaces d'énergie potentielle pour les mécanismes assistés. Nous pouvons remarquer qu'il existe de grandes différences entre les réactions neutre et catalysée par  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Les énergies relatives des intermédiaires et de l'état de transition par rapport aux réactifs diminuent très fortement dans le cas de la réaction catalysée. De plus, la barrière énergétique qui sépare les différents intermédiaires est relativement plus petite dans ce dernier cas.

### 3.2. Energies libres d'activation

Afin d'obtenir les variations d'énergie libre le long du chemin réactionnel, nous avons calculé les quantités thermodynamiques à  $298^\circ\text{C}$  et 1 atm en utilisant les procédures standards et en utilisant les fréquences vibrationnelles calculées au niveau RHF/3-21G. Nous pouvons retrouver ces résultats dans le Tableau VIII.

Les effets d'entropie sont bien connus pour avoir un rôle déterminant sur la réactivité des complexes à liaisons faibles<sup>19</sup>. En effet, les faibles fréquences vibrationnelles que l'on retrouve dans de tels complexes au niveau de leurs coordonnées intermoléculaires entraînent de fortes valeurs négatives du  $\Delta S$  qui défavorisent fortement la formation du complexe. Dans nos mécanismes assistés, nous pouvons nous attendre à une destabilisation importante des intermédiaires réactionnels et des états de transition par rapport aux réactifs séparés. En effet, la contribution entropique au  $\Delta G$  (Tableau VIII) est très importante mais peut être aisément comparée avec des calculs effectués pour d'autres mécanismes assistés<sup>10f,11a</sup>. Leur valeur est sensiblement le double de celle obtenue dans le cas des processus non-assistés. Ceci n'est pas surprenant car le nombre de coordonnées intermoléculaires et le nombre de fréquences

faibles est beaucoup plus grand pour les espèces de la réaction assistée. On peut également noter que, dans le cas des processus catalysés, l'entropie d'activation est plus faible que dans les réactions neutres correspondantes.

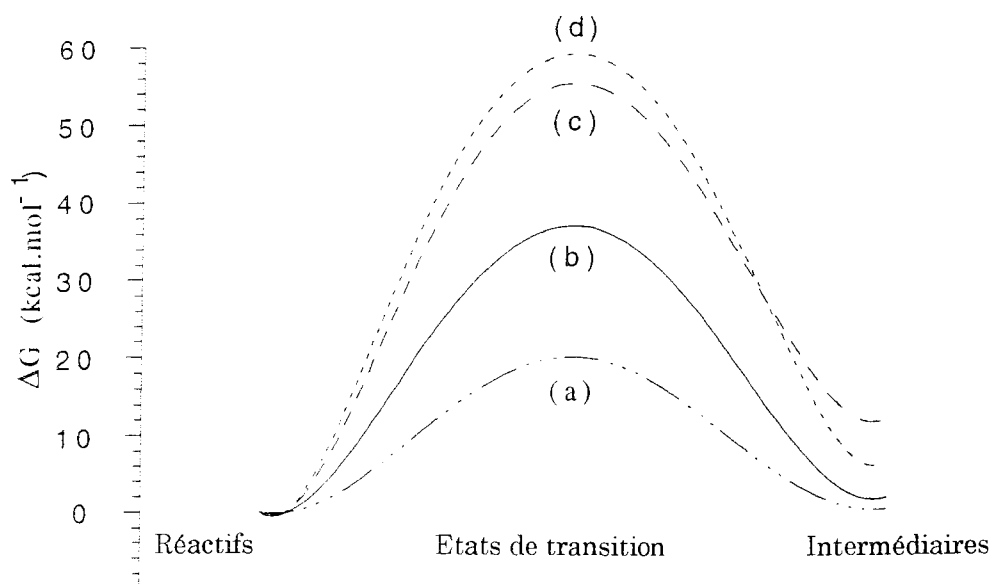
**Tableau VIII** : Bilan énergétique pour l'hydrolyse du formamide assistée par l'eau. (kcal.mol<sup>-1</sup>)<sup>(a)</sup> Valeurs relatives aux réactifs séparés.

	$\Delta(H-E)$	$-T \Delta S$	$\Delta G^{(b)}$		
			RHF	MP2	MP3
Mécanisme neutre					
$I_1^n$	5.40	17.61	15.62	10.17	11.30
$TS^n$	2.01	21.74	75.77	49.57	56.70
	(-0.4) <sup>(c)</sup>	(11.4) <sup>(c)</sup>	(74.1) <sup>(c)</sup>	(53.0) <sup>(c)</sup>	(59.3) <sup>(c)</sup>
$I_2^n$	5.60	17.40	16.92	12.13	13.42
Mécanisme catalysé par H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>					
$I_1^p$	6.21	17.47	4.41	1.74	2.18
$TS^p$	4.15	20.94	32.81	19.53	21.28
	(-0.39) <sup>(d)</sup>	(11.17) <sup>(d)</sup>	(49.25) <sup>(d)</sup>	(34.53) <sup>(d)</sup>	(37.21) <sup>(d)</sup>
$I_2^p$	7.20	19.55	9.87	1.49	1.78

(a) Les valeurs entre parenthèses correspondent aux processus non-assistés. Les contributions enthalpiques et entropiques sont calculées, à 298 K et 1 atm. (b) RHF, MP2 et MP3 signifient RHF/6-31G\*\*//RHF/3-21G, MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G et MP3/6-31G\*\*//RHF/3-21G respectivement. (c) voir référence 4. (d) D'après les structures recalculées dans ce travail.

Toutes les espèces évoquées précédemment ont des valeurs de  $\Delta G$  positives, ce qui contraste avec le calcul des différences énergétiques du Tableau VII. Nous pouvons remarquer que les intermédiaires  $I_1^n$  et  $I_1^p$  deviennent instables dans des conditions normales de température et de pression, tout spécialement l'intermédiaire pré-réactif de la réaction neutre. Ce résultat est en bon accord avec ceux obtenus pour la réaction, assistée par l'eau, d'addition de l'eau sur le formaldéhyde<sup>10f</sup>. Les valeurs des  $\Delta G^\ddagger$  pour la réaction neutre de l'hydrolyse assistée par l'eau du formamide au niveau de calcul MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G (48.39 kcal.mol<sup>-1</sup>) est proche de celle déduite des résultats obtenus pour la réaction neutre, assistée par l'ammoniaque au même niveau de calcul<sup>11a</sup> (50.7 kcal.mol<sup>-1</sup>). Les  $\Delta G$  pour une espèce donnée restent plus petits dans le cas de la réaction catalysée par H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>. La catalyse acide diminue la barrière d'activation de façon importante (jusqu'à 35 kcal.mol<sup>-1</sup> au plus haut niveau de calcul effectué dans cette partie : MP3/6-31G\*\*//RHF/3-21G).

Ces résultats peuvent être comparés avec ceux obtenus dans le cas des mécanismes non-assistés. Les chemins réactionnels pour les mécanismes assistés ou non sont schématisés Figure 12. Seuls les résultats obtenus au niveau de calcul MP3/6-31G\*\*//RHF/3-21G y sont représentés, pour plus de simplicité.



**Figure 12** : Chemin réactionnel schématisé pour les réactions d'hydrolyse du formamide a) catalysée par  $\text{H}_3\text{O}^+$  et assistée par l'eau, b) catalysée par  $\text{H}_3\text{O}^+$ , non-assistée, c) neutre et assistée par l'eau, d) neutre et non-assistée au niveau de calcul MP3/6-31G\*\*//RHF/3-21G.

Au plus haut niveau de calcul utilisé dans ce travail, l'assistance par une molécule d'eau supplémentaire diminue de façon considérable la barrière d'énergie libre dans le cas de la réaction catalysée (d'environ 50%) alors qu'elle ne produit qu'une faible baisse dans le cas des processus neutres. Les conclusions que l'on peut tirer des différents niveaux de calculs RHF, MP2 et MP3 sont essentiellement les mêmes. La seule différence majeure vient du fait que la méthode RHF ne prédit pas la catalyse bifonctionnelle dans le cas du processus neutre.

En résumé, il apparaît que deux composantes principales doivent être considérées pour expliquer la catalyse bifonctionnelle. D'un côté, la molécule d'eau additionnelle stabilise de façon importante l'état de transition. Ceci résulte de plusieurs facteurs tels que, par exemple, l'aspect géométrique et l'acidité relative du dimère de l'eau. D'un autre côté, les effets entropiques défavorisent les mécanismes assistés, mais il n'existe pas de différences importantes au niveau de ce facteur entre les processus neutre et catalysé. Les diminutions dans les barrières d'énergie libre du fait de la catalyse bifonctionnelle nous sont données par la somme des termes d'énergie et d'entropie : une stabilisation importante apparaît alors dans le cas des processus catalysés alors que seulement de faibles effets sont prédits dans le cas des réactions neutres.

Nous pourrions considérer plus de molécules d'eau dans les mécanismes d'hydrolyse. Toutefois, on pourrait s'attendre à une faible stabilisation électronique parce que la participation de ces molécules d'eau dans la coordonnée de réaction est improbable. D'un autre côté, le terme entropique continuerait d'augmenter systématiquement (d'environ 10 kcal.mol<sup>-1</sup> par molécule d'eau supplémentaire à 298K et 1 atm). Nous pouvons donc raisonnablement penser que ces processus multi-moléculaires ne sont pas envisageables dans le cas de l'hydrolyse du formamide, tout spécialement dans le cas de la réaction neutre.

## 4. Effets du solvant

### 4.1. Effets électrostatiques

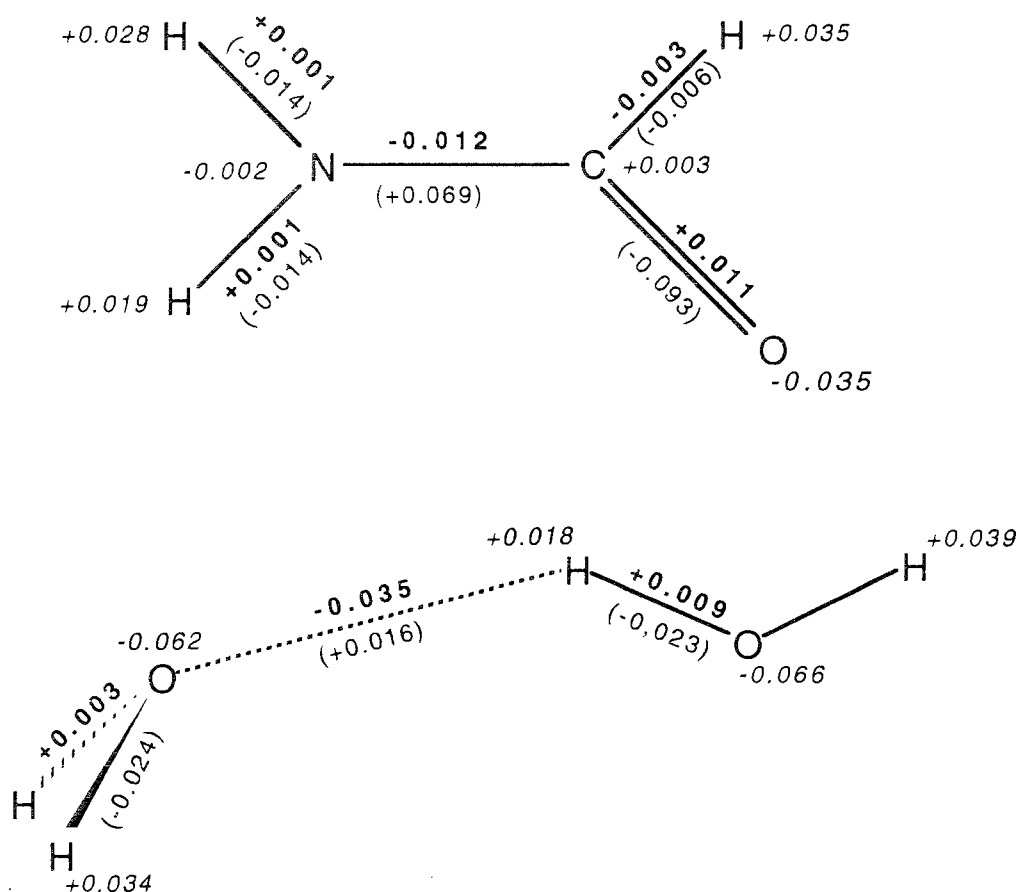
Nous allons maintenant examiner le rôle des interactions électrostatiques avec le solvant sur les réactions décrites précédemment, en utilisant le modèle à cavité. Nous nous limiterons aux processus assistés en regardant les modifications apportées par le solvant sur la structure des réactifs et des T.S. ainsi que sur la barrière d'activation. Nous utiliserons la constante diélectrique de l'eau pour représenter notre liquide ( $\epsilon = 78.4$ ). Les énergies de solvation ont été calculées au niveau MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G (les calculs MP3 auraient été trop coûteux dans le cas de systèmes solvatés et n'auraient eu que peu de conséquences sur les conclusions qui vont être présentées). Il ne faut pas oublier



que les autres termes qui contribuent à l'énergie libre de solvation peuvent modifier les barrières énergétique de la phase gazeuse. L'énergie de solvation totale doit inclure en particulier les corrections dues aux termes d'énergies de cavitation et de dispersion, qui sont des quantités importantes dans l'évaluation des énergies d'activation. Leur contribution sera brièvement examinée à la fin de ce chapitre. Toutefois, nous ne nous attendons pas à ce que ces termes influencent de façon importante les géométries des points stationnaires de la surface d'énergie libre.

### Structures des réactifs

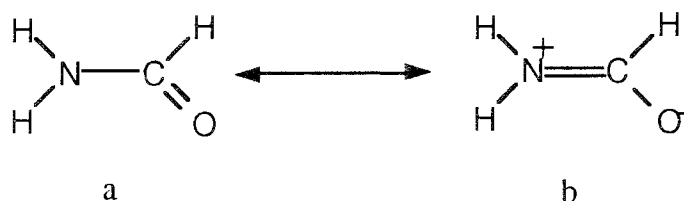
En premier lieu, il est intéressant de considérer comment les interactions électrostatiques modifient les distributions électroniques et les géométries des réactifs, *i.e.* le formamide et l'eau (ou le dimère de l'eau). Des études sur les effets électrostatiques du solvant à l'aide du modèle de continuum sur des amides (planes ou non)<sup>20,21,22,23</sup> et sur l'eau et son dimère<sup>14</sup> ont été effectuées.



**Figure 13 :** Incréments pour les coordonnées internes (en gras), pour les indices de liaison (entre parenthèses) et pour les charges atomiques nettes (en italique) pour les molécules de formamide et du dimère de l'eau par passage du vide en solution dans l'eau, calculés au niveau 6-31G\*\*//3-21G.

Figure 13, nous avons regroupé les effets des interactions électrostatiques sur certaines quantités moléculaires. La géométrie du formamide est sensiblement modifiée : la liaison  $C_1N_1$  diminue alors que la liaison  $C_1O_1$  augmente. Nous pouvons remarquer ce même changement dans les indices de liaison de Mayer : la liaison  $C_1N_1$  est renforcée alors que la liaison  $C_1O_1$  est fragilisée. De plus, nous pouvons noter une forte polarisation des charges électroniques : les valeurs absolues de la charge négative localisée sur l'atome d'oxygène et des charges positives localisées sur les hydrogène liés à l'atome d'azote augmentent. Par contre, les densités électroniques des atomes d'azote et de carbone ne sont pas sensiblement modifiées.

Ces effets peuvent être aisément compris en utilisant une représentation conventionnelle sous forme de mésomères. On peut alors considérer que la structure électronique du formamide que nous allons utiliser est intermédiaire entre les deux représentations de la Figure 14. Les interactions électrostatiques, qui favorisent généralement la séparation de charges, stabilisent la forme représentée en b). Nous devons néanmoins utiliser cette interprétation avec prudence car le transfert de charge suggéré n'est pas complètement satisfaisant<sup>24</sup>.



**Figure 14** : Représentation schématique des formes mésomères du formamide en solution.

De ces considérations, il découle que la solvatation du formamide risque de défavoriser la pyramidalisation de l'atome d'azote car le caractère de double liaison de  $C_1N_1$  augmente en solution. De plus, le moment dipolaire du formamide est plus grand pour une conformation plane (voir plus loin) et d'après la théorie d'Onsager<sup>25</sup>, on s'attend à ce que les interactions entre le soluté et le solvant favorisent la planéité. Des calculs ont donc été effectués en solution pour

deux structures différentes du formamide. La première correspond à une structure plane, la seconde à une structure pyramidalisée du formamide. Ceci va nous permettre de constater que le raisonnement énoncé ci-dessus n'est pas totalement correct. Comme nous pouvons le constater dans le Tableau IX, la conformation pyramidale est plus solvatée que la forme plane, donc l'énergie de pyramidalisation diminue en solution (nous supposons que la cavitation et la dispersion restent constantes lors du processus de pyramidalisation). Les développements multipolaires, présentés dans le Tableau IX, mettent en évidence une très forte contribution des moments quadrupolaires à l'énergie de solvation qui est plus importante dans le cas de la molécule non-plane. De plus, en dépit du fait que le moment dipolaire de la structure plane soit légèrement plus important, sa contribution à l'énergie de solvation est légèrement plus faible. Ceci est dû à un changement dans l'orientation relative du dipôle par rapport aux axes de la cavité. Ceci permet de montrer les limitations du modèle traditionnel d'Onsager. Pour être complet, nous devons également noter que de récents calculs ont montré que la rotation autour de la liaison CN est défavorisée par les effets électrostatiques dus au solvant <sup>20b,21</sup>.

**Tableau IX :** Energie électrostatique de solvation (kcal.mol<sup>-1</sup>) dans l'eau pour deux conformations du formamide : plane et pyramidalisée.

		Axes de la cavité (Å)			$\mu$ (D)	$E_{\text{solv}}^c$			
						électrostatique			total
		A	B	C		l=1	l=2	l=3	
Plan	(a)	2.018	2.674	3.442	4.114	-4.7	-1.1	-0.3	-7.5
	(b)				4.233	-5.0	-1.1	-0.3	-8.1
Pyramidal	(a)	2.057	2.622	3.443	4.109	-5.2	-1.8	-0.2	-8.8
	(b)				4.141	-5.2	-1.6	-0.2	-8.7

(a) RHF/3-21G//3-21G (b) MP2/6-31G\*\*//3-21G (c) Contributions à l'énergie de solvation purement électrostatique dues au dipole (l=1), quadrupole (l=2), etc.

Les effets du solvant sur le dimère de l'eau ont été analysés dans un précédent travail<sup>14</sup>. Les conclusions les plus importantes sont que les interactions augmentent les charges positives portées par les hydrogène externes. Ceux-ci deviennent plus disponibles pour créer des liaisons hydrogène avec d'autres molécules. De plus, la liaison hydrogène du dimère est renforcée

par l'effet coopératif du solvant et facilite le transfert de proton entre les deux molécules d'eau.

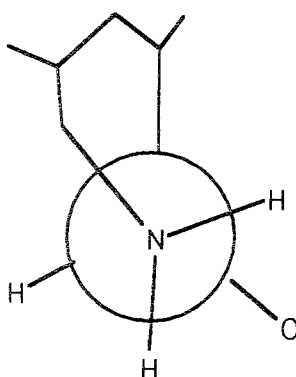
En résumé, les effets du solvant sur les molécules de formamide et du dimère de l'eau suggèrent que la réactivité de ces systèmes augmenterait en solution, menant vers une réaction d'hydrolyse plus facile.

**Tableau X :** Quantités moléculaires correspondant à l'état de transition du mécanisme neutre assisté calculées à l'aide du modèle du continuum pour deux constantes diélectriques ( $\epsilon = 2.0$  et  $\epsilon = 78.4$ ).

	$\epsilon = 2.0$	$\epsilon = 78.4$		$\epsilon = 2.0$	$\epsilon = 78.4$
Paramètres géométriques			Ordres de liaison de Mayer		
CN	1.545	1.530	CN	0.739	0.796
CO <sub>1</sub>	1.244	1.273	CO <sub>1</sub>	1.599	1.440
CO <sub>2</sub>	1.671	1.595	CO <sub>2</sub>	0.452	0.549
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.239	1.293	O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	0.340	0.279
H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>	1.165	1.120	H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>	0.426	0.483
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	1.168	1.098	O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	0.347	0.527
H <sub>2</sub> N	1.333	1.460	H <sub>2</sub> N	0.333	0.259
O <sub>1</sub> CN			Charges atomiques nettes de Mulliken		
O <sub>2</sub> CN	115.55	115.26	C	0.675	0.719
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C	96.40	97.77	N	-0.833	-0.855
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	107.03	109.69	O <sub>1</sub>	-0.734	-0.883
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>	152.99	150.11	O <sub>2</sub>	-0.814	-0.816
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N	87.46	91.26	O <sub>3</sub>	-0.816	-0.775
H <sub>2</sub> NC	154.98	150.69	H <sub>1</sub>	0.511	0.511
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> CN	104.64	104.69	H <sub>2</sub>	0.504	0.490
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C	38.15	38.76	Moments dipolaires		
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	-22.98	-28.31	3.479                      6.176		
NH <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>	-0.63	5.22			
H <sub>2</sub> NCO <sub>2</sub>	-2.20	-4.78			
H <sub>N</sub> NCH <sub>N</sub> '	-37.06	-35.77			
	121.60	120.95			
Energies totales					
3-21G	-319.147902	-319.170041			
6-31G**//3-21G	-320.912988	-320.935922			
MP2/6-31G**//3-21G	-321.844996	-321.859181			

## Réaction non-catalysée

Nous présentons la structure de l'état de transition en solution dans le Tableau X. Nous pouvons la comparer avec la géométrie obtenue pour le système isolé, présentée dans le Tableau II. Les effets dûs au solvant sont importants : les liaisons  $C_1N_1$  et  $C_1O_2$  sont plus courtes en solution. Ce qui signifie que la cassure de la liaison est retardée bien que l'attaque nucléophile sur l'atome de carbone soit favorisée. A l'inverse, la liaison  $N_1H_2$  est plus longue. On peut remarquer que les effets électrostatiques présentent les mêmes caractéristiques que celles décrites par la catalyse acide. Toutefois, la différence la plus importante est la rotation du groupe amino. Cette fois-ci, la rotation se fait en sens inverse de celle obtenue lors de la réaction développée dans le cadre de la catalyse acide telle que schématisée Figure 15.



**Figure 15** : Schématisation de la rotation du groupement amino autour de la liaison  $C_1N_1$  dans le cas de la réaction effectuée dans le solvant.

Les énergies de solvation calculées au niveau RHF/6-31G\*\*//RHF/3-21G sont regroupées dans le Tableau XI. Deux composantes sont données pour chaque espèce : l'énergie électrostatique pure de solvation,  $E_{elec}$ , définie comme l'énergie libre d'interaction pour les espèces utilisant les géométries et les distributions électroniques de la phase gazeuse, et l'énergie de polarisation,  $E_{pol}$ , qui représente l'énergie de stabilisation due aux phénomènes de relaxation électronique et géométrique. Dans ce Tableau, nous donnons également les valeurs des moments dipolaires pour la phase gazeuse. Nous pouvons remarquer que le terme électrostatique est sensiblement plus important pour les réactifs. Ceci est dû en grande partie aux fortes contributions dipolaires du

formamide et de l'eau à l'énergie de solvation. Toutefois, la contribution quadrupolaire de l'état de transition est très élevée et les effets de polarisation sont plus importants. Dans ce Tableau, les énergies de polarisation incluent la stabilisation due à la relaxation de géométrie et nos calculs montrent que ce terme est important pour l'état de transition. L'énergie totale de solvation (électrostatique + polarisation) prédite pour les réactifs et celle prédite pour le TS sont proches. Cependant, une augmentation de l'énergie d'activation de 1.8 kcal.mol<sup>-1</sup> est prévue.

**Tableau XI** : Energie électrostatique, de polarisation et énergie totale de solvation (kcal.mol<sup>-1</sup>) pour les réactifs et les TS dans le cas du mécanisme neutre assisté en solution dans l'eau, au niveau MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G.

	$\mu$ (D)	$\Delta E_{\text{solv}}$						
		électrostatique					pol.	solv.
		l=1	l=2	l=3	l=4	Tot.		
Réactifs								
Formamide	4.233	-6.4	-1.3	-0.3	-0.3	-8.6	+0.6	-8.0
H <sub>2</sub> O	2.137	-3.7	-1.4	-0.1	-0.1	-5.3	-0.4	-5.7
Total						-19.1	-0.3	-19.4
TS	3.854	-2.7	-7.7	-1.9	-1.6	-15.5	-6.3	-21.7

On pourrait se demander quel serait l'effet d'un milieu à constante diélectrique moyenne ou faible. Dans ce cas, les composantes électrostatiques devraient rester plus forte pour les réactifs que pour le TS. D'un autre côté, les effets de polarisation devraient être moins prononcés et leurs effets sur la barrière ne pourraient pas être aussi facilement prédits. Toutefois, quand les calculs sont effectués dans un milieu de permittivité  $\epsilon=2.0$ , une légère augmentation de la barrière d'environ 0.1 kcal.mol<sup>-1</sup> est trouvée.

#### *Mécanisme catalysé par H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>*

Qualitativement, les mêmes conclusions ont été obtenues pour la réaction à catalyse acide une fois les structures recalculées en tenant compte des interactions avec un solvant de constante diélectrique  $\epsilon=2.0$ . Nous avons tenté d'effectuer ces calculs avec  $\epsilon=78.4$ , mais ils ont échoué car les perturbations géométriques menaient à une structure ouverte qui ne pouvait pas être traitée

par le formalisme de la cavité ellipsoïdale. Dans le cas  $\epsilon=2.0$ , les réactifs sont plus stabilisés que le TS2P de  $1.2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ , ce qui entraîne une augmentation plus prononcée de la barrière que dans le cas du processus neutre effectué dans le même milieu. L'effet électrostatique augmente la rotation du groupe amino observée dans la phase gazeuse : l'angle  $\text{H}_2\text{N}_1\text{C}_1\text{O}_2$  passe de  $20.56^\circ$  dans le vide à  $40.90^\circ$  dans un solvant peu polaire ( $\epsilon=2.0$ ).

## 4.2. - Effets non-électrostatiques

Les termes non-électrostatiques de solvation (essentiellement les termes énergétiques de cavitation, de dispersion et les possibilités de liaisons hydrogène) peuvent jouer un rôle important au niveau des énergies des différents états stationnaires. Nous avons calculé les termes non-électrostatiques, en utilisant un modèle de continuum paramétrisé <sup>26</sup>. L'énergie de solvation non-électrostatique est définie comme la différence entre l'énergie libre électrostatique et de polarisation et l'énergie libre totale. Elle est estimée ici en utilisant une fonctionnelle des surfaces atomiques :

$$\Delta G_{\text{solv}}^{\text{NE}} = \sum_i \gamma_i S_i$$

$S_i$  est la surface accessible de l'atome  $i$  de la molécule de soluté et  $\gamma_i$  représente les paramètres dépendant du type d'atome considéré. Dans la paramétrisation de cette méthode, on utilise les valeurs de l'énergie électrostatique de solvation  $\Delta G_{\text{solv}}^{\text{E}}$  issue d'un calcul théorique de sorte que l'on minimise la quantité  $(\Delta G_{\text{solv}}^{\text{exp}} - \Delta G_{\text{solv}}^{\text{E}} - \Delta G_{\text{solv}}^{\text{NE}})$  où  $\Delta G_{\text{solv}}^{\text{exp}}$  est l'énergie libre de solvation expérimentale. En principe, on peut considérer un seul paramètre  $\gamma_i$  par type d'atome H, C, N et O. Mais on constate rapidement qu'il est indispensable de tenir compte de l'environnement de l'atome. En particulier, la distinction des atomes d'hydrogène liés au C, N et O est nécessaire. C'est l'hypothèse que nous avons retenue. Cependant, dans le cas des états de transition, où un proton est transféré de la molécule d'eau à l'atome d'azote du formamide ou à une autre molécule d'eau, la définition du paramètre atomique des atomes d'hydrogène impliqués dans ces transferts n'est pas simple. Nous avons choisi ce paramètre en fonction de l'atome lourd le plus proche. Mais la surface accessible de cet atome d'hydrogène étant relativement petite, l'erreur commise par cette approximation est certainement faible. Les surfaces accessibles sont calculées en ajoutant le rayon du solvant ( $1.4 \text{ \AA}$  pour l'eau) aux

rayons de van der Waals. Les calculs des surfaces pour chaque atome des molécules de solutés ont été menés à l'aide de l'algorithme ASA.

Ce schéma théorique est basé sur la proportionnalité entre la surface du soluté et le nombre de molécules de solvant appartenant à la première couche de solvation. Il a été montré que les énergies libres de cavitation sont linéairement corrélées à la surface du soluté, de même que les énergies de répulsion-dispersion. En outre, on s'attend à ce que les autres termes énergétiques soient également proportionnels au nombre de molécules de solvant appartenant à la première couche de solvation.

Compte tenu du fait que nous n'avons pas pu localiser le TS du processus assisté, catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$ , nous étudierons ici uniquement le processus non-catalysé afin d'estimer la différence en énergie libre non-électrostatique entre les mécanismes assisté et non-assisté.

Les résultats sont présentés dans le Tableau XII. Il est à noter que les termes non-électrostatiques correspondant aux différents réactifs et états de transition sont tous stabilisants. On peut comprendre ce résultat compte tenu du caractère polaire des espèces considérées et de leur capacité à former des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau du solvant. On constate que les réactifs sont plus stabilisés que les états de transition. En effet, nous obtenons une contribution non-électrostatique de  $4.3 \text{ kcal.mol}^{-1}$  à l'énergie de la barrière d'activation du processus neutre assisté et de  $2.2 \text{ kcal.mol}^{-1}$  dans le cas du processus neutre non-assisté.

**Tableau XII** : Contribution non-électrostatique à l'énergie de solvation ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) pour les réactifs et les états de transition des réactions neutres assistée et non-assistée.

	Contribution non-électrostatique à l'énergie de solvation	$\delta\Delta G$
Formamide	-1.708	
$\text{H}_2\text{O}$	-4.226	
TS1N	-3.769	+2.165
TS2N	-5.850	+4.310



Il est intéressant de rajouter que le terme de cavitation seul conduirait à une diminution de la barrière de potentiel car en passant des réactifs aux TS, il y a toujours une diminution du volume moléculaire. La variation du terme de dispersion est plus difficile à prévoir. Mais les valeurs obtenues pour les  $\delta\Delta G$  suggèrent que le facteur le plus important dans la diminution de la barrière a comme origine une diminution de la capacité à former des liaisons hydrogène et donc une augmentation de l'hydrophobicité des réactifs aux TS.

En résumé, les termes non-électrostatiques favorisent le processus non-assisté qui de ce fait devient compétitif avec le processus assisté. D'après les résultats énergétiques précédents, on peut en déduire que ces deux réactions seront certainement compétitives dans le solvant.

## 5. Conclusion

L'hydrolyse du formamide par une molécule d'eau additionnelle rend l'hydrolyse du formamide énergétiquement plus favorable dans les deux mécanismes étudiés dans cette partie, *c.à.d.* le mécanisme neutre et le mécanisme O-catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$ , toutefois, les effets sont beaucoup plus importants dans ce dernier cas.

Dans le cas des processus assistés, nous avons trouvé des intermédiaires réactionnels qui n'étaient pas présents dans les réactions non-assistées. Ceci peut s'expliquer grâce à un effet coopératif du dimère, qui est un meilleur donneur de proton que le monomère de l'eau. Malgré tout, à cause des termes entropiques, ces intermédiaires deviennent instables dans les conditions normales de température et pression.

Les processus assistés ne peuvent pas être décrits en ne considérant simplement que la deuxième molécule d'eau solvate le système. En effet, les deux molécules d'eau participent à la coordonnée de réaction. Un facteur important à considérer dans ces réactions est le caractère donneur de proton très important de la deuxième molécule d'eau, par rapport au monomère. En effet, ce facteur facilite grandement la pyramidalisation de l'azote, ce qui est un point clef dans l'activation de l'attaque nucléophile sur le carbone.

Quand les interactions électrostatiques avec le solvant sont prises en compte en utilisant le modèle de continuum pour le liquide, les perturbations obtenues changent les barrières d'activation. Toutefois, ces changements restent limités par comparaison avec ceux apportés par l'introduction de la molécule d'eau supplémentaire. D'un autre côté, à ce niveau de calcul, les interactions électrostatiques modifient de façon très importante les structures des points stationnaires de la surface d'énergie potentielle.

## Références

- 1 Brown, R.S.; Bennet, A.J.; Slebocka-Tilk, H. *Acc Chem Res.*, **1992**, *25*, 481.
- 2 Krug, J.P.; Popelier, P.L.A.; Bader, R.F.W. *J. Phys. Chem.*, **1992**, *96*, 7604.
- 3 Oie, T.; Loew, G. H.; Burt, S.K.; Binkley, J.S.; MacElroy, R.D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 6169.
- 4 Jensen, J.H.; Baldrige K.K.; Gordon, M.S. *J. Phys. Chem.*, **1992**, *96*, 8340
- 5 Valle, B.L.; Galdes, A.; Auld, D.S.; Riordan, J.F. In *Metal Ions in Biology*; Spiro, T.G., Ed.; Wiley: New York, 1983, vol. 5, p. 25. Rutter, W.J.; Gardell, S.J.; Rocznik, S.; Hilvert, D.; Sprang, S.; Fletterick, R.J.; Craik, C.S. *Protein Eng.*, 1987, 257. Christianson, D.W.; Lipscomb, W.N. *Acc. Chem. Res.*, **1989**, *22*, 62. Breslow, R.; Wernick, D.L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1977**, *74*, 1303. Breslow, R.; Chin, J.; Hilvert, D.; Trainor, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1983**, *80*, 4385.
- 6 Matthews, B.W. *Acc. Chem. Res.*, **1988**, *21*, 333.
- 7 A. Alex, and T. Clark, *J. Comp. Chem*, **13**, 704 (1992).
- 8 Petrongolo, C.; Ranghino, G.; Scordamaglia, R; *Chem. Phys.*, **1980**, *45*, 279. Petrongolo, C.; Ranghino, G. *Theoret. Chim. Acta*, **1980**, *54*, 239. Petrongolo, C.; Pescatori, E.; Ranghino, G.; Scordamaglia, R. *Chem. Phys.*, **1980**, *45*, 291. Frau, J.; Donoso, J.; Muñoz, F.; García Blanco, F. *J. Comp. Chem.*, **1991**, *13*, 681.

- 9 Rivail, J.-L.; Loos, M.; Théry, V. In *Trends in Ecological Physical Chemistry*; Bonati, L.; Cosentino, U.; Lasagni, M.; Moro, G.; Pitea, D.; Schiraldi, A., Eds.; Elsevier: Amsterdam 1993, p. 17-26. Frau, J.; Donoso, J.; Muñoz, F.; García Blanco, F. *J. Comp. Chem.*, **1993**, *14*, 1545.
- 10 a) Williams, I.H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 6299. Williams, I.H.; Spangler, D.; Femec, D.A.; Maggiora, G.M.; Schowen, R.L.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 31.  
b) Lledós, A.; Bertrán, J. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 775; Lledós, A.; Bertrán, J.; Ventura, O.N. *Int. J. Quantum Chem.*, **1986**, *30*, 467. Ventura, O.N.; Lledós, A.; Bonaccorsi, R.; Bertrán, J.; Tomasi, J. *Theoret. Chim. Acta*, **1987**, *72*, 175. Clavero, C.; Duran, M.; Lledós, A.; Ventura, O.N.; Bertrán, J. *J. Comp. Chem.*, **1986**, *8*, 81.  
c) Nguyen, M.T.; Hegarty, A.F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 3811. Nguyen, M.T.; Hegarty, A.F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 1552. Nguyen, M.T.; Ha, T.-K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 599.  
d) Ruelle, P.; Kesslerling, U.W.; Ho, N.-T.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 371. Ruelle, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 1722.  
e) Buckingham, A.D.; Handy, N.C.; Rice, J.E.; Somasundram, K.; Dijkgraaf, C. *J. Comp. Chem.*, **1986**, *7*, 283.  
f) Ventura, O.N.; Coitiño, E.L.; Lledós, A.; Bertran, J. *J. Comp. Chem.*, **1992**, *13*, 1037.
- 11 a) Oie, T.; Loew, G. H.; Burt, S.K.; MacElroy, R.D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 2221.  
b) Ruelle, P. *J. Comp. Chem.*, **1987**, *8*, 158. Clavero, C.; Duran, M.; Lledós, A.; Ventura, O.N.; Bertrán, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 998. Clavero, C.; Duran, M.; Lledós, A.; Ventura, O.N.; Bertrán, J. *J. Comp. Chem.*, **1986**, *8*, 81. Nguyen, K.A.; Gordon, M.S.; Truhlar, D.G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1596

- 12 Reichardt, C. *Solvent and solvent effects in Organic Chemistry*, V.C.H., Weinheim, 1988.
- 13 Les références pour les différentes bases utilisées dans ce chapitre sont:  
Binkley, J.S.; Pople J.A.; Hehre W.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 939 (pour 3-21G); Hehre W.J.; Ditchfield R.; Pople J.A. *J. Chem. Phys.* **1972**, *56*, 2257 (pour 4-31G and 6-31G); Hariharan, P.C.; Pople J.A. *Theoret. Chim. Acta* **1973**, *28*, 213 and Francl, M.M.; Pietro, W.J.; Hehre, W.J.; Binkley, J.S.; Gordon, M.S.; DeFrees, J.D.; Pople, J.A. *J. Chem. Phys.*, **1982**, *77*, 3654 (pour 6-31G\* et 6-31G\*\*). Pour l'expression des énergies Møller-Plesset, voir: Szabo, A.; Ostlund, N.S. In *Modern Quantum Chemistry : Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*; Macmillan, New York, **1986**, ch.
- 14 Bertran, J.; Ruiz-López, M.F.; Rinaldi, D.; Rivail, J.-L. *Theoret. Chim. Acta*, **1992**, *84*, 181
- 15 Wang, Q.-P.; Bennet, A.J.; Brown, R.S. *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 1732; Bennet, A.J.; Wang, Q.-P.; Slebocka-Tilk, H; Somayaji, V.; Brown, R.S.; Santasiero, B.D.; *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6383. Wang, Q.-P.; Bennet, A.J.; Brown, R.S.; Santasiero, B.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5757.
- 16 Williams, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 5645
- 17 Bennet, A.J.; Slebocka-Tilk, H.; Brown, R.S.; Guthrie, J.P.; Jodhan, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8497.
- 18 Laidig, K.E.; Bader, R.F.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6312.
- 19 Hobza, P; Zahradnik, R. *Top. Curr. Chem.* **1980**, *93*, 53.
- 20 a) Rivail, J.-L.; Rinaldi, D. In *Intermolecular Forces*; Pullman, B, Ed.; Reidel: Dortrecht, 1981; pp 343-360. b) Dillet, V.; Rinaldi, D.; Rivail, J.-L. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 5034

- 21 Burton, N.A.; Chiu, S.S.L.; Davidson, M.M.; Green, D.V.S.; Hillier, I.H.; McDouall, J.J.W.; Vincent, M.A. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1993**, *89*, 2631.
- 22 Luque, F.J.; Orozco, M. *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. 2* **1993**, 683
- 23 Duben, A.J.; Miertus, S. *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *88*, 395.
- 24 Wiberg, K.B.; Breneman, C.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 831.
- 25 Onsager, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1486.
- 26 Tuñon, I.; Bertrán, J.; Ruiz-López, M.F.; Rinaldi, D. *J. Comp. Chem.* sous presse.

## Chapitre III

### Etude semi-empirique et DFT du mécanisme d'hydrolyse du formamide: comparaison avec les résultats ab initio

<b>1 - Réaction non-catalysée</b> .....	68
1.1. Mécanisme non-assisté .....	69
1.2. Mécanisme assisté.....	73
<b>2 - Réaction à catalyse acide</b> .....	75
2.1. Mécanisme non-assisté .....	75
2.2. Mécanisme assisté.....	79
<b>3 - Energies des réactions</b> .....	82
3.1. Energies d'activation.....	82
3.2. Energies libres d'activation .....	85
<b>4 - Conclusion</b> .....	86

## Etude semi-empirique et DFT du mécanisme d'hydrolyse du formamide : comparaison avec les résultats *ab initio*.

Dans le chapitre précédent, nous avons étudié différents mécanismes d'hydrolyse du formamide au niveau *ab initio*. Cette étude nous a permis d'étudier en détail certains aspects des processus, notamment l'importance de la catalyse bifonctionnelle. Afin de vérifier la validité des conclusions tirées lors de l'étude de l'hydrolyse du formamide dans le cas des processus d'hydrolyse des peptides catalysés par la thermolysine, on doit choisir soigneusement une stratégie de calcul. En effet, l'utilisation des méthodes *ab initio* est limitée au cas de systèmes de taille relativement petite et avec les moyens actuels, on ne peut pas aborder à l'aide de ces méthodes des problèmes liés à la catalyse enzymatique. Les méthodes semi-empiriques ou DFT et les méthodes mixtes (semi-empiriques/MM ou DFT/MM) sont de bonnes alternatives à ce problème



de taille du système. Toutefois, les approximations implicites à ces méthodes théoriques sont à considérer et les comparaisons avec des niveaux de calculs plus poussés sont donc nécessaires.

Nous allons reprendre dans cette partie l'étude des mécanismes considérés ci-dessus par des calculs semi-empiriques et DFT que nous comparerons avec des résultats *ab initio*. Pour ces derniers, nous avons choisi d'utiliser un niveau de calcul MP2/6-31G\*\*. Par rapport aux calculs présentés lors du chapitre précédent, ce niveau de calcul nous permettra en outre d'étudier l'influence de la base et de la corrélation sur la géométrie des systèmes. Compte tenu du nombre de systèmes à étudier et de leur taille, il était difficile d'employer un niveau de calcul plus poussé. Cependant, de nombreuses études théoriques en réactivité chimique ont été effectuées à ce niveau avec des résultats que l'on peut considérer satisfaisants.

Pour les calculs semi-empiriques, nous utiliserons la méthode AM1 qui est celle qui a été employée par d'autres auteurs dans des études de catalyse enzymatique proche de la nôtre.

En ce qui concerne les calculs DFT, les résultats dans différents travaux de la littérature nous ont menés à choisir préférentiellement les fonctionnelles d'échange de Becke et de corrélation définies par Lee, Yang et Parr (voir Chapitre I: paragraphe 1.3 et 5). Cette méthode à correction de gradient, assez communément employée, est notée BLYP. La base d'orbitales moléculaires est la même que celle employée dans les calculs *ab initio*.

Pour simplifier le texte, nous utiliserons les notations suivantes: MP2 correspond à des calculs effectués au niveau MP2/6-31G\*\*, BLYP correspond à des calculs effectués au niveau BLYP/6-31G\*\*, AM1 à des résultats obtenus par la méthode semi-empirique AM1.

## 1 - Réaction non-catalysée

Nous allons considérer en premier lieu les résultats des calculs pour la molécule de formamide qui sont rassemblés dans le Tableau XIII. On peut constater que:

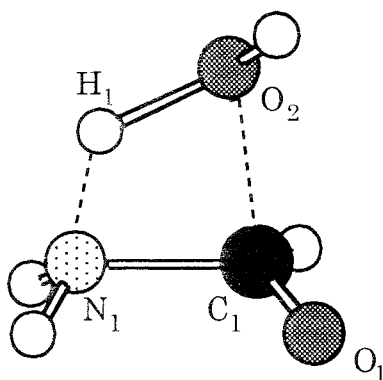
- Toutes les valeurs absolues des charges atomiques calculées en DFT sont plus faibles que celles obtenues par les méthodes *ab initio*. Toutefois, l'ordre relatif de cette distribution de charges est conservé.

- En AM1, la longueur de la liaison  $C_1N_1$  est comparable à celles obtenues en *ab initio* ou en DFT mais la longueur de la liaison  $C_1O_1$  est sensiblement plus grande. La distribution des charges garde le même ordre relatif avec des valeurs absolues plus faibles.

- Les résultats obtenus par la méthodes MP2 sont en bon accord avec ceux obtenus en RHF/3-21G (voir chapitre précédent). Les longueurs et les ordres de liaisons MP2 et DFT ainsi que les charges ont des valeurs comparables. Les longueurs de liaison DFT sont légèrement plus longues bien que les ordres correspondant à ces liaisons soient plus grands.

### 1.1. Mécanisme non-assisté

Dans le Tableau XIV, sont regroupés les paramètres relatifs à l'état de transition du processus neutre à une molécule d'eau, en fonction des différentes méthodes utilisées. La Figure 16 rappelle la numérotation des atomes dans cet état de transition.



**Figure 16 :** Structures autour de laquelle a été effectuée la recherche de TS pour la réaction neutre non-assistée.

Si l'on compare les calculs DFT avec les résultats *ab initio* MP2, on constate que l'augmentation de la longueur de la liaison  $C_1N_1$  est plus importante en DFT, ou en d'autres termes, en DFT la réaction est plus avancée.

Les valeurs obtenues au niveau MP2 montrent quelques différences qu'il convient de signaler. On peut préciser que le transfert de proton depuis la molécule d'eau vers l'atome d'azote du formamide est renforcé par l'augmentation de la base et l'introduction de la corrélation dans les calculs, comme on peut le constater en comparant les résultats MP2 ou DFT avec ceux obtenus au niveau RHF/3-21G du chapitre précédent. En revanche, l'attaque nucléophile de l'atome d'oxygène de la molécule d'eau vers le formamide est très légèrement défavorisée. Le processus est donc plus asymétrique.

En revanche, dans les calculs semi-empiriques l'augmentation de la liaison C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> est beaucoup plus faible. On peut conclure que l'état de transition se trouve plus près des réactifs que pour les autres méthodes. Les liaisons N<sub>1</sub>H<sub>1</sub> et C<sub>1</sub>O<sub>2</sub> étant respectivement plus longue et plus courte que pour les autres méthodes, la méthode AM1 prévoit une attaque plus concertée que les autres méthodes.

**Tableau XIII** : Paramètres géométriques (longueurs de liaisons en Å et angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calculs (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\* et AM1).

FORMAMIDE			
	AM1	MP2/6-31G**	BLYP/6-31G**
Paramètres Géométriques			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.243	1.223	1.229
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.367	1.360	1.373
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	121.87	124.78	124.93
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> H <sub>C</sub>	180.00	180.00	180.00
Charges Atomiques Nettes de Mulliken			
O <sub>1</sub>	-0.371	-0.581	-0.423
C <sub>1</sub>	+0.258	+0.567	+0.376
N <sub>1</sub>	-0.449	-0.735	-0.511
Ordres de liaison de Mayer			
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		1.070	1.149
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>		1.812	1.892
Energies Totales			
	-25.620217	-169.432582	-169.851422

**Tableau XIV** : Paramètres géométriques (longueurs de liaisons en Å et angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calculs (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\* et AM1) pour l'état de transition du mécanisme neutre, non-assisté. L'évolution par rapport aux paramètres du formamide est présentée entre parenthèses.

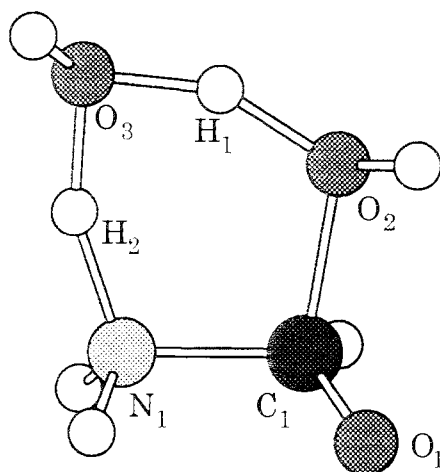
TS1N			
	AM1	MP2/6-31G**	BLYP/6-31G**
Paramètres Géométriques			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.265 (+0.022)	1.221 (-0.002)	1.220 (-0.009)
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.521 (+0.154)	1.586 (+0.226)	1.664 (+0.291)
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	1.582	1.788	1.854
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.294	1.322	1.359
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.219	1.181	1.190
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	87.17	83.10	81.59
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	81.58	68.89	68.93
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	-2.01	-6.00	-4.67
Charges Atomiques Nettes de Mulliken			
O <sub>1</sub>	-0.538	-0.622	-0.422
C <sub>1</sub>	+0.298	+0.624	+0.371
N <sub>1</sub>	-0.389	-0.783	-0.589
O <sub>2</sub>	-0.443	-0.833	-0.604
H <sub>1</sub>	+0.233	+0.471	+0.339
Ordres de liaison de Mayer			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>		1.764 (-0.048)	1.860 (-0.032)
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		0.663 (-0.407)	0.663 (-0.486)
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		0.424	0.489
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.311	0.406
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		0.502	0.500
Energies Totales			
	-38.337167	-245.589898	-246.198272

**Tableau XV :** Paramètres géométriques (longueurs de liaisons en Å et angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calculs (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\* et AM1) pour l'état de transition du mécanisme neutre, assisté par une molécule d'eau. L'évolution par rapport aux paramètres du formamide est présentée entre parenthèses.

TS2N			
	AM1	MP2/6-31G**	BLYP/6-31G**
Paramètres Géométriques			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.277 (+0.034)	1.238 (+0.015)	1.230 (+0.001)
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.512 (+0.145)	1.527 (+0.167)	1.587 (+0.214)
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	1.558	1.747	1.862
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.300	1.295	1.295
H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>	1.141	1.174	1.174
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	1.167	1.192	1.297
H <sub>2</sub> N <sub>1</sub>	1.403	1.312	1.245
O <sub>1</sub> C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	113.96		
O <sub>2</sub> C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	106.55	93.33	115.17
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	117.46	93.94	97.09
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	140.19	156.37	158.78
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>	97.02	84.22	83.27
N <sub>1</sub> H <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	152.78	155.23	157.99
HNC <sub>1</sub> N <sub>1</sub> HN <sup>-</sup>			
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.65	-56.47	-46.98
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub> H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>	-12.80	30.37	33.03
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	14.21	7.11	-3.27
H <sub>1</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N <sub>1</sub>	-10.08	-15.47	-2.72
Charges Atomiques Nettes de Mulliken			
O <sub>1</sub>	-0.580	-0.681	-0.454
O <sub>2</sub>	-0.473	-0.823	-0.606
O <sub>3</sub>	-0.411	-0.779	-0.625
C <sub>1</sub>	+0.303	0.597	0.363
N <sub>1</sub>	-0.404	-0.790	-0.583
H <sub>1</sub>	+0.234	0.498	0.356
H <sub>2</sub>	+0.220	0.505	0.361
Ordres de liaison de Mayer			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>		1.614 (-0.198)	1.801 (-0.091)
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		0.760 (-0.310)	0.697 (-0.452)
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		0.445	0.475
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.305	0.393
H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>		0.481	0.503
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>		0.433	0.430
H <sub>2</sub> N <sub>1</sub>		0.340	0.456
Energies Totales			
	-51.152029	-321.826978	-322.628804

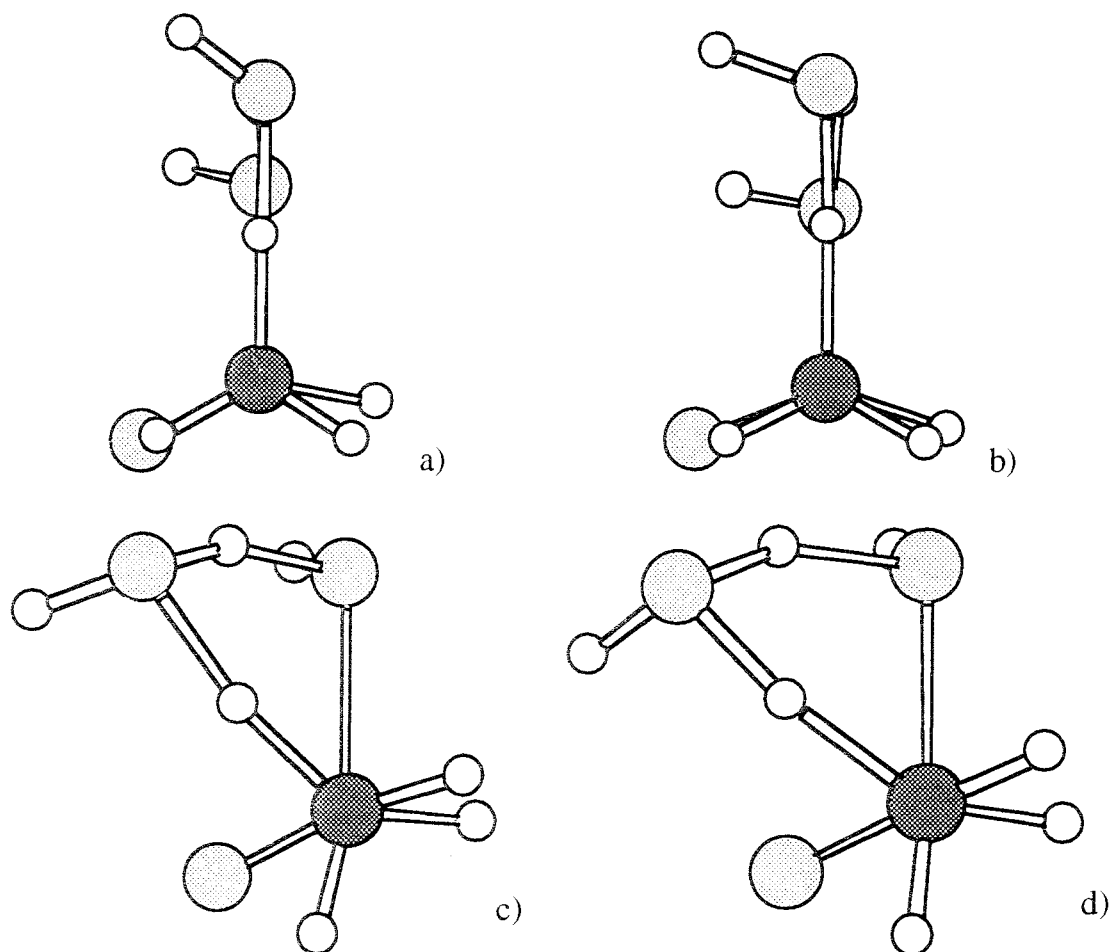
## 1.2. Mécanisme assisté

L'ensemble des résultats pour ce mécanisme est présenté dans le Tableau XV. La Figure 17 rappelle la numérotation des atomes dans notre structure. La Figure 18 présente une comparaison des structures du TS à différents niveaux de calcul. Comme on peut les constater dans cette Figure, la principale différence entre ces résultats réside dans le fait que les calculs MP2 et DFT ne gardent pas la planéité du cycle à six membres (Figure 18). On obtient une rotation du groupe amino autour de la liaison  $C_1N_1$  qui peut être mesuré par l'angle  $H_2N_1C_1O_1$ , qui est ici de  $54.02^\circ$  en MP2 et  $46.98^\circ$  en DFT. Nous avons effectué la recherche de cet état de transition au niveau RHF/6-31G\*\* pour savoir si cette rotation provenait d'un effet de la base ou d'un effet de la corrélation. L'état de transition TS2N, au niveau de calcul RHF/6-31G\*\* présente un écart à la planéité de  $50.75^\circ$ . Donc l'effet le plus important semble provenir de la base d'orbitales atomiques.



**Figure 17 :** Structure autour de laquelle a été effectuée la recherche de TS pour la réaction assistée par l'eau.

En comparant les calculs MP2 et BLYP, utilisant la même base d'orbitales gaussiennes, on constate qu'ils donnent sensiblement les mêmes résultats mis à part le fait que le transfert du proton depuis le dimère de l'eau vers la molécule de formamide semble plus avancé en DFT qu'au niveau MP2.



**Figure 18** : Etats de transition du mécanisme neutre assisté par une molécule d'eau en projection de Newman, aux niveaux de calculs a) RHF/3-21G, b) AM1, c) BLYP/6-31G\*\*, d) MP2/6-31G\*\*.

Dans le cas des résultats AM1, l'évolution des liaisons  $C_1O_1$  et  $C_1N_1$  depuis le formamide vers l'état de transition se fait de la même façon que pour les méthodes RHF et MP2. Les résultats obtenus pour le transfert de proton d'une molécule d'eau à la seconde sont également comparables à ceux obtenus par les deux méthodes précédentes. Le transfert du proton vers le formamide est sensiblement moins avancé que ce qui est prévu par les méthodes MP2 ou DFT.

## 2 - Réaction à catalyse acide

Nous allons analyser pour commencer les résultats obtenus pour la structure du formamide protoné qui sont regroupés dans le Tableau XVI.

Par rapport aux résultats présentés dans le chapitre précédent au niveau 3-21G, les longueurs de liaisons sont légèrement modifiées au niveau MP2/6-31G\*\*. Cependant, si l'on compare les paramètres du formamide protoné avec ceux du formamide neutre, optimisés en MP2/6-31G\*\*, on retrouve sensiblement les mêmes modifications que lors des calculs RHF/3-21G.

Les calculs DFT montrent en général le même type d'évolution entre le formamide et le formamide protoné. Quelques différences apparaissent toutefois entre les résultats MP2 et DFT, concernant notamment la distribution de charge et les indices de liaison.

D'un autre côté, l'évolution des charges AM1 depuis le formamide est qualitativement bonne en comparaison avec MP2. Il faut remarquer que l'allongement de la distance  $C_1O_1$  par suite de la protonation semble être un peu exagéré dans le cas du calcul AM1.

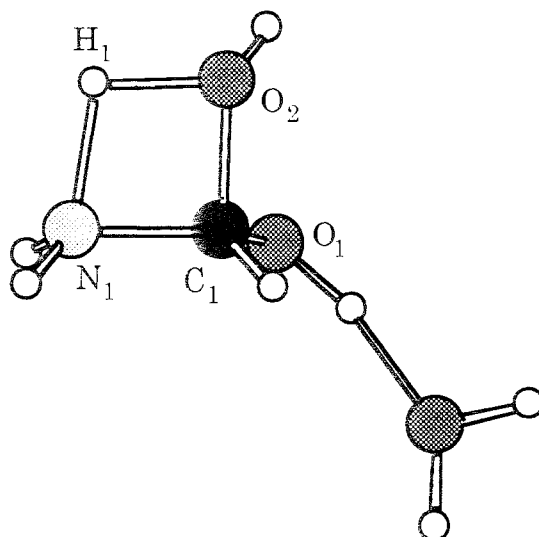
### 2.1. Mécanisme non-assisté

Les résultats relatifs à la structure de l'état de transition du mécanisme de catalyse acide non-assistée sont regroupés dans le Tableau XVII. La Figure 19 présente la structure de cet état de transition.

Ici encore, les calculs MP2 sont en accord avec les résultats obtenus au chapitre précédent. En particulier, nous trouvons ici une attaque nucléophile de l'atome d'oxygène de la molécule d'eau sur le carbone du formamide plus marquée que dans le cas de la réaction non-catalysée.

La méthode BLYP prévoit un transfert de proton vers le formamide plus avancé que ce qui est prévu dans les calculs MP2, alors qu'en AM1 on prévoit le contraire. Pour les autres paramètres, on prévoit des modifications comparables.





**Figure 19** : Représentation de l'état de transition concernant le processus protoné et non-assisté.

**Tableau XVI** : Paramètres géométriques (longueurs de liaisons en Å et angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calculs (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\* et AM1) pour le formamide protoné. L'évolution par rapport aux paramètres du formamide est présentée entre parenthèses.

FORMAMIDE PROTONE			
	AM1	MP2/6-31G**	BLYP/6-31G**
Paramètres Géométriques			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.337 (+0.094)	1.278 (+0.055)	1.287 (+0.058)
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.320 (-0.047)	1.304 (-0.056)	1.319 (-0.054)
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	116.13	120.35	120.82
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> H <sub>C</sub>	180.00	180.00	180.00
Charges atomiques nettes de Mulliken			
O <sub>1</sub>	-0.203	-0.574	-0.394
C <sub>1</sub>	+0.268	+0.596	+0.411
N <sub>1</sub>	-0.248	-0.647	-0.447
Ordres de liaison de Mayer			
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		1.391 (+0.321)	1.438 (+0.289)
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>		1.309 (-0.503)	1.423 (-0.449)
Energies Totales			
	-38.689849	-246.035907	-246.633131

**Tableau XVII :** Paramètres géométriques (longueurs de liaisons en Å et angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calculs (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\* et AM1) pour l'état de transition du mécanisme protoné, non-assisté. L'évolution par rapport aux paramètres du formamide protoné est présentée entre parenthèses.

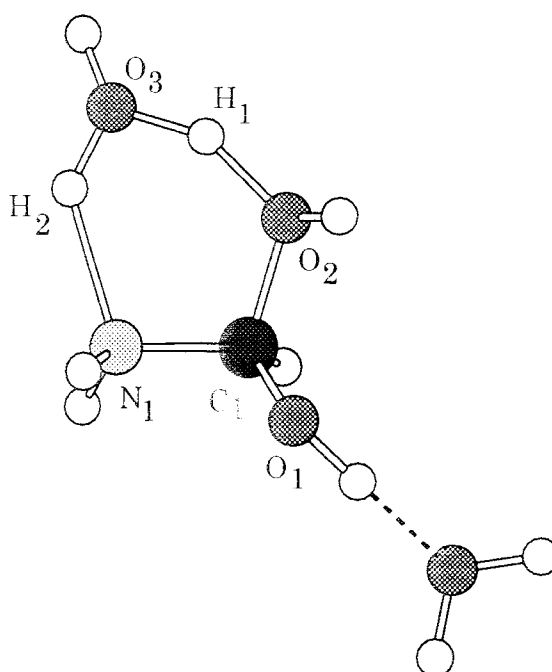
TS1P			
	AM1	MP2/6-31G**	BLYP/6-31G**
Paramètres Géométriques			
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.382 (+0.045)	1.331 (+0.053)	1.326 (+0.039)
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.468 (+0.148)	1.468 (+0.144)	1.495 (+0.176)
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	1.468	1.545	1.617
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	1.286	1.180	1.321
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.443	1.359	1.347
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>	91.74	91.23	89.83
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	86.34	77.32	75.66
N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	-0.89	-6.45	-5.09
Charges atomiques nettes de Mulliken			
O <sub>1</sub>	-0.330	-0.651	-0.451
C <sub>1</sub>	+0.211	+0.663	+0.409
N <sub>1</sub>	-0.331	-0.789	-0.573
O <sub>2</sub>	-0.283	-0.661	-0.473
H <sub>1</sub>	+0.303	+0.511	+0.389
Indices de liaison de Mayer			
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		0.869 (-0.522)	0.894 (-0.544)
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>		1.095 (-0.214)	1.261 (-0.162)
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		0.661	0.700
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.431	0.458
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		0.340	0.410
Energies			
	-51.452073	-322.215817	-322.992519

**Tableau XVIII :** Paramètres géométriques (longueurs de liaisons en Å et angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calculs (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\* et AM1) pour l'état de transition du mécanisme protoné, assisté par une molécule d'eau. L'évolution par rapport aux paramètres du formamide protoné est présentée entre parenthèses.

TS2P			
	AM1	MP2/6-31G**	BLYP/6-31G**
Paramètres Géométriques			
C1O1	1.398 (+0.061)	1.358 (+0.080)	1.355 (+0.068)
C1N1	1.447 (+0.127)	1.444 (+0.140)	1.465 (+0.146)
C1O2	1.460	1.501	1.567
O2H1	1.405	1.258	1.261
H1O3	1.095	1.153	1.192
O3H2	0.998	0.996	1.027
H2N1	2.144	1.881	1.777
O1C1N1	112.20	114.79	112.79
O2C1N1	108.54	112.54	106.50
H1O2C1	115.42	110.71	109.66
O3H1O2	154.41	162.22	160.14
H2O3H1	106.11	95.84	92.49
N1H2O3	121.74	132.52	139.65
HNC1N1HN		-115.12	-116.15
N1C1O2H1	17.68	18.53	17.08
C1O2H1O3	16.62	-12.97	-14.79
O2H1O3H2	-30.47	8.94	10.43
H1O3H2N1	8.55	-12.30	-12.58
Charges Atomiques Nettes de Mulliken			
O1	-0.352	-0.671	-0.477
O2	-0.393	-0.735	-0.519
O3	-0.211	-0.652	-0.518
C1	0.219	+0.674	+0.424
N1	-0.430	-0.804	-0.606
H1	0.367	+0.557	+0.414
H2	0.327	+0.444	+0.356
Ordres de liaison de Mayer			
C1O1		1.034 (-0.275)	1.183 (-0.240)
C1N1		0.946 (-0.445)	0.980 (-0.458)
C1O2		0.671	0.713
O2H1		0.296	0.382
H1O3		0.422	0.464
O3H2		0.730	0.712
H2N1		0.096	0.192
Energies Totales			
	-64.297076	-398.473531	-399.439970

## 2.2. Mécanisme assisté

Le Tableau XVIII regroupe les différents paramètres géométriques, ordres de liaison et charges de cet état de transition aux différents niveaux de calcul considérés. La Figure 20 rappelle la numérotation des atomes dans cette structure. Comme nous l'avons vu au niveau de calcul RHF/3-21G, l'interaction du formamide protoné avec les molécules d'eau entraîne les élongations des liaisons  $C_1N_1$  et  $C_1O_1$ . Celles-ci sont comparables dans les trois méthodes, à la fois au niveau géométrique et au niveau des ordres de liaison.



**Figure 20 :** Structure autour de laquelle les recherches d'état de transition selon les méthodes ont été effectuées dans le cas du processus protoné et assisté.

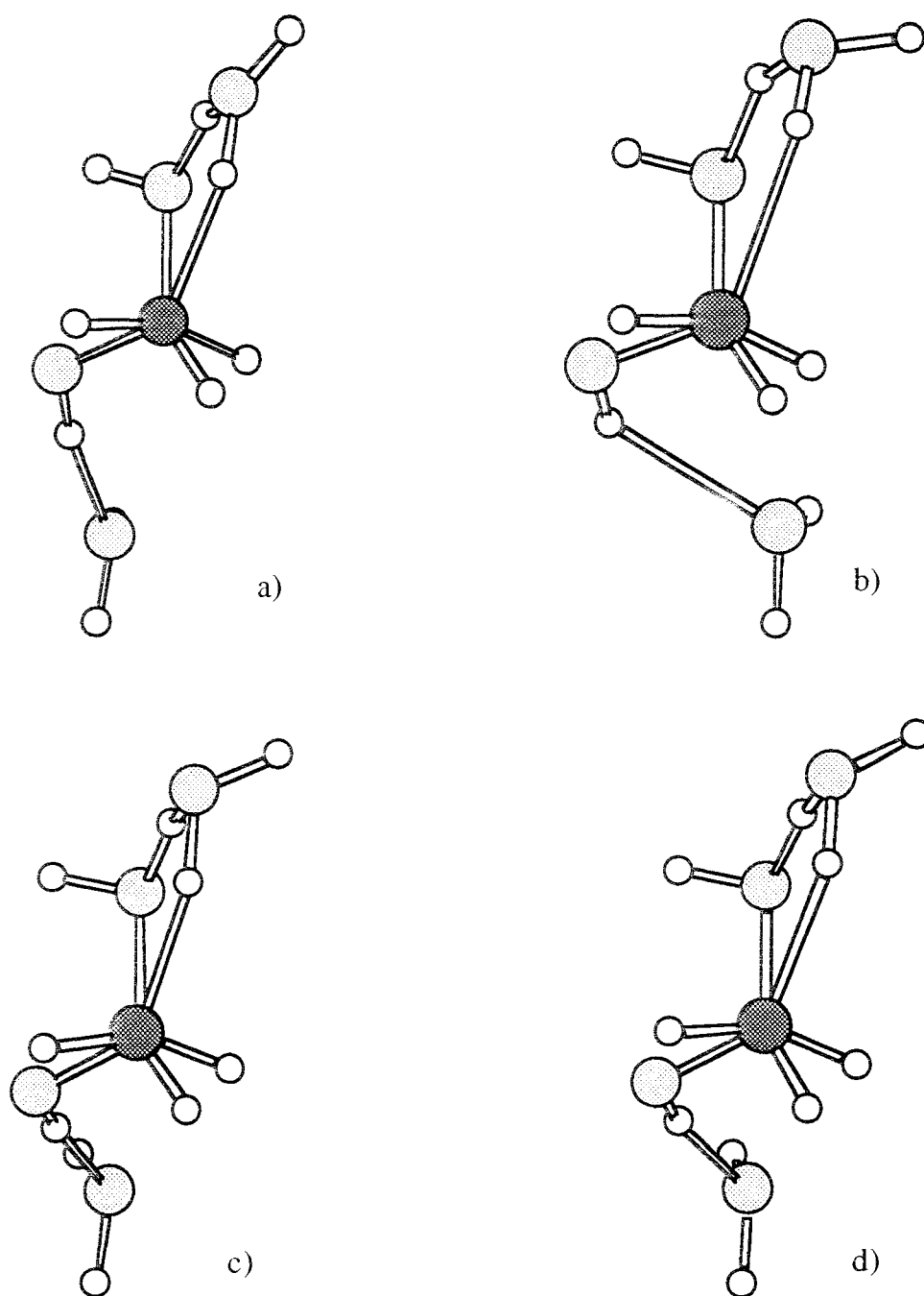
Les calculs MP2 nous montrent des liaisons  $C_1N_1$  et  $C_1O_1$  légèrement plus courtes et plus fortes qu'en RHF/3-21G. Parmi les deux liaisons qui se forment,  $C_1O_2$  est la plus forte, tout comme au chapitre précédent. Une petite différence réside dans le transfert de proton depuis les molécules d'eau vers le formamide. Cette liaison est plus longue et plus faible. Par contre le transfert de proton entre les deux molécules d'eau est plus important. La création de l'espèce  $H_3O^+$

que l'on a vu précédemment est favorisée. L'écart à la planéité du cycle est de  $18.85^\circ$  (voir Figure 21). Cette rotation se fait dans le sens inverse de celle notée pour le processus neutre. Elle est également plus faible. La pyramidalisation de l'azote ( $116.8^\circ$ ) est par contre plus forte que celle relevée dans le mécanisme neutre et surtout plus importante que celle obtenue au niveau RHF/3-21G.

En général, il existe moins de différences entre les méthodes MP2 et DFT pour cette réaction protonée que dans le cas de la réaction neutre. La comparaison de ces deux processus au niveau de calcul BLYP va nous conduire sensiblement à la même analyse que celle obtenue lors du chapitre précédent. La O-protonation du formamide augmente la réactivité de l'atome de carbone. L'interaction entre le dimère de l'eau et le formamide protoné va donc passer préférentiellement par une attaque nucléophile d'un atome d'oxygène du dimère sur le carbone du formamide. Nous retrouvons également la tendance qu'a la deuxième molécule d'eau à former une espèce  $H_3O^+$  grâce au transfert du proton de la première molécule d'eau.

Les calculs AM1 pour cette réaction assistée et protonée montrent une structure de l'état de transition qui présente un écart à la planéité au niveau du cycle à six membres. Qualitativement, les résultats obtenus avec la méthode semi-empirique AM1 sont en bon accord avec ceux obtenus par des méthodes plus précises. Les différences sont en tous les cas moins importantes que dans le cas de la réaction non-catalysée.

Les méthodes semi-empiriques permettant des calculs rapides, il nous a paru intéressant de chercher si la rotation du groupe amino pouvait se faire dans le sens opposé à celui que nous avons trouvé. Nous avons donc inspecté la surface de potentiel autour d'une structure basée sur la géométrie de l'état de transition trouvé en AM1 mais pour laquelle nous avons inversé le sens de rotation du groupe amino. Aucun état de transition de même type que ceux que nous recherchons pour représenter l'hydrolyse de la liaison amidique n'a été trouvé. Le sens de rotation du groupe amino, et donc le sens vers lequel se fait l'écart à la planéité du cycle, semble être un facteur important. Ce point pourra être essentiel dans le cas d'encombrement stérique dans une molécule comportant plus d'atomes.



**Figure 21** : Etats de transition du mécanisme protoné assisté par une molécule d'eau en projection de Newman, aux niveaux de calculs <sup>a)</sup> RHF/3-21G, <sup>b)</sup> AM1, <sup>c)</sup> BLYP/6-31G\*\*, <sup>d)</sup> MP2/6-31G\*\*.

L'analyse des différences entre les réactions non-assistées et la réaction assistée, étudiées au niveau de calcul BLYP ou MP2, mène globalement aux mêmes conclusions que dans le cas RHF. Toutefois, la méthode BLYP mène à une réaction d'hydrolyse plus concertée que les autres méthodes.

## 3 - Energies des réactions

### 3.1. Energies d'activation

Le Tableau XIX regroupe les énergies d'activation pour les deux processus assisté et non-assisté. Des calculs ponctuels de l'énergie à un niveau donné ont été effectués en utilisant les géométries optimisées aux autres niveaux. Ces calculs ponctuels vont nous permettre de discuter la possibilité de réaliser une étude DFT ou *ab initio* sur un système complexe pour lequel l'optimisation de géométrie ne peut pas être faite à ces niveaux de calcul, en utilisant les géométries obtenues par des calculs semi-empiriques. Pour simplifier le texte, nous utiliserons la notation suivante : A/B qui signifie qu'un calcul ponctuel d'énergie est mené au niveau A en utilisant la géométrie de l'état considérée optimisée au niveau de calcul B.

Nous avons vu dans le chapitre précédent qu'il existait des intermédiaires réactionnels. Nous n'avons pas cherché à localiser ces intermédiaires avec les méthodes utilisées lors de cette partie de notre travail car nous avons vu précédemment que ces intermédiaires ne sont pas stables dans la surface d'énergie libre. Pour cette raison, les énergies des états de transition sont données ici par rapport aux réactifs et certaines peuvent être négatives.

Nous pouvons remarquer que toutes les méthodes présentées dans ce Tableauau montrent une diminution d'énergie d'activation entre les processus non-assistés et les processus assistés. Dans le cas des processus neutres, cet écart atteint jusqu'à 20 kcal.mol<sup>-1</sup> pour les calculs BLYP alors qu'il n'est que de 9 kcal.mol<sup>-1</sup> en MP2 et de 3 kcal.mol<sup>-1</sup> en AM1. Pour mémoire, cet écart atteignait environ 16 kcal.mol<sup>-1</sup> lors des calculs MP3/6-31G\*\*//RHF/3-21G présentés dans le chapitre II. Dans le cas des processus protonés, cet écart est plus important. Il est sensiblement le même dans le cas des méthodes BLYP et MP2 (32-33 kcal.mol<sup>-1</sup>) et un peu plus faible dans le cas de la méthode AM1 (22 kcal.mol<sup>-1</sup>).

**Tableau XIX :** Energies relatives ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) des états de transitions des différentes réactions (neutres ou protonées, assistées ou non) par rapport aux réactifs, à différents niveaux de calcul (BLYP/6-31G\*\*, MP2/6-31G\*\*, AM1), les énergies calculées avec la même méthode et le même niveau de calcul qui ont servi à l'optimisation de géométrie sont présentées en caractères gras.

	BLYP/6-31G**	MP2/6-31G**	AM1
Géométries optimisées au niveau BLYP/6-31G**			
TS1N	<b>+32.65</b>	+41.96	
TS2N	<b>+12.59</b>	+22.24	
TS1P	<b>+24.78</b>	+27.56	
TS2P	<b>-7.90</b>		
Géométries optimisées au niveau MP2/6-31G**			
TS1N	+33.49	<b>+40.87</b>	
TS2N	+13.80	<b>+31.69</b>	
TS1P	+25.49	<b>+26.69</b>	
TS2P	-7.22	<b>-7.86</b>	
Géométries optimisées au niveau RHF/3-21G			
TS1N	+34.81	+42.00	
TS2N	+17.50	+25.82	
TS1P	+26.43	+23.75	
TS2P	-5.13	-5.56	
Géométries optimisées au niveau AM1			
TS1N	+48.08	+53.89	<b>+58.46</b>
TS2N	+29.90	+37.36	<b>+55.48</b>
TS1P	+32.47	+33.50	<b>+30.05</b>
TS2P	-2.07	-3.21	<b>+8.16</b>

L'influence de la catalyse acide est importante dans tous les cas. Cependant lorsque l'on compare les barrières des processus neutres (assisté ou non) avec celles des processus catalysés par  $\text{H}_3\text{O}^+$ , on observe des différences importantes entre les trois méthodes. En général, on prévoit un effet catalytique qui suit l'ordre  $\text{AM1} > \text{MP2} > \text{BLYP}$ .

Il peut être intéressant de remarquer que seule la méthode BLYP prévoit un effet de catalyse bifonctionnelle (barrière de l'état TS2N) plus important que l'effet dû à la catalyse acide (barrière TS1P). Dans les cas *ab initio* et semi-empirique, cette différence est en faveur du processus protoné d'environ 5  $\text{kcal.mol}^{-1}$  en MP2 et de plus de 25  $\text{kcal.mol}^{-1}$  en AM1.



Si nous comparons maintenant les calculs BLYP et MP2, on constate que les énergies d'activation obtenues en MP2 pour les réactions neutres (assistée et non-assistée) sont supérieures de 10 à 20 kcal.mol<sup>-1</sup> aux énergies correspondantes obtenues par la méthode BLYP. Mais les énergies obtenues dans le cas des réactions protonées restent très proches. Quant à la méthode AM1, elle prévoit des états de transition beaucoup moins stables par rapport aux réactifs que les autres méthodes, en particulier dans le cas des réactions assistées.

Les calculs ponctuels d'énergie pour différentes géométries vont nous permettre de discuter le rôle de celles-ci sur les différentes valeurs des énergies d'activation que nous venons de voir. Pour des calculs énergétiques BLYP//MP2, on peut remarquer que nous obtenons des énergies sensiblement égales à celles obtenues dans le cas de calculs BLYP. A l'inverse, la différence entre les énergies obtenues en MP2//BLYP et MP2 n'est importante que dans le cas TS2N. Ces résultats ne sont pas très étonnants compte tenu du fait que les géométries MP2 et BLYP ne présentent que de faibles différences comme nous l'avons vu plus haut.

Si nous comparons maintenant les résultats BLYP/AM1 et MP2/AM1 avec ceux obtenus à l'aide des méthodes BLYP et MP2, on constate que les énergies relatives sont très surestimées dans le cas des processus neutres. En revanche, dans le cas des processus protonés, les erreurs dues à l'utilisation d'AM1 semblent être nettement moins importantes. Ceci peut s'expliquer par le fait que les géométries AM1 pour les processus neutres sont relativement mauvaises (voir par exemple la Figure 18).

Qualitativement donc, les géométries AM1 peuvent être utilisées dans des calculs ponctuels d'énergie pour un système comportant un nombre d'atomes important. Mais on doit s'attendre à des barrières énergétiques surestimées, en particulier si le processus n'est pas catalysé.

### 3.2. Energies libres d'activation

Nous avons effectué les calculs des quantités thermodynamiques correspondantes, à 298K et 1 atm, dans le but d'obtenir l'énergie libre des états considérés. Nous nous sommes limité à la méthode BLYP car le calcul des fréquences MP2 s'averait trop coûteux. Les résultats sont présentés dans le Tableau XX.

**Tableau XX** : Energies ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) des différentes réactions d'hydrolyse du formamide au niveau de calcul BLYP/6-31G\*\*. <sup>(a)</sup> valeurs tirées de le Tableau VIII. pour le niveau de calcul MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G

	$\Delta(\text{H-E})$	$-\text{T}\Delta\text{S}$	$\Delta\text{G}$	$\Delta\text{G}^{\text{(a)}}$
Mécanisme Neutre				
TS1N	-0.46	12.45	44.64	53.00
TS2N	1.10	23.14	36.50	49.57
Mécanisme Protoné				
TS1P	-0.07	10.78	35.49	34.53
TS2P	2.69	21.08	15.87	19.53

Bien que les termes entropiques soient plus élevés dans le cas des réactions assistées, les énergies d'activation de ces processus restent plus faibles que celles des processus non-assistés (de  $10 \text{ kcal.mol}^{-1}$  pour la réaction neutre à  $20 \text{ kcal.mol}^{-1}$  pour la réaction catalysée). La molécule d'eau additionnelle a donc un rôle important dans le mécanisme de la réaction, notamment dans le cas du processus catalysé.

En résumé, la méthode BLYP conduit à des résultats proches de ceux obtenus avec les calculs MP2/6-31G\*\*//RHF/3-21G du chapitre précédent. La principale différence est l'intensité de l'effet stabilisateur de la catalyse bifonctionnelle qui est un peu plus important dans le cas de la méthode BLYP.

## 4 - Conclusion

Qualitativement, les méthodes semi-empiriques, DFT et *ab initio* montrent que l'hydrolyse du formamide est favorisée par la catalyse bifonctionnelle et par la catalyse acide. Nous retrouvons les résultats qualitatifs de l'étude réalisée dans le chapitre précédent.

Il apparaît que les mécanismes réactionnels obtenus au niveau de calcul BLYP/6-31G\*\* sont plus symétriques qu'au niveau MP2 ou qu'en semi-empirique. Contrairement à la géométrie RHF/3-21G, l'état de transition du processus neutre assisté n'est pas plan aux niveaux de calculs BLYP et MP2. Cette rotation du groupement amino est susceptible d'abaisser la barrière d'activation de façon non négligeable. En semi-empirique, par contre, nous retrouvons la planéité du cycle à six membres. Pour le processus catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$  et assisté, en revanche, toutes les méthodes prévoient une structure non plane.

Quantitativement, toutes les méthodes prévoient l'effet dû à la catalyse acide et à la catalyse bifonctionnelle. Cependant, il existe des différences importantes entre les résultats en fonction de la stratégie de calcul adoptée. En général, l'utilisation des géométries AM1 semble être une approximation raisonnable surtout pour les processus catalysés. Signalons enfin que l'effet de la catalyse acide semble renforcée par l'emploi de la méthode BLYP. Les calculs d'énergies libres montrent que les mécanismes assistés restent plus favorables que les mécanismes non-assistés

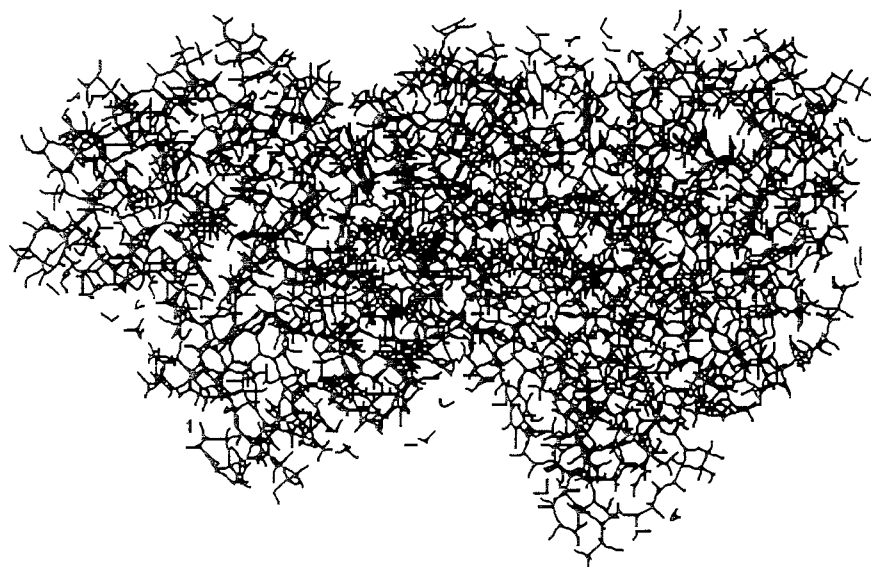
## Chapitre IV

# Modélisation des réactions d'hydrolyse catalysées par la Thermolysine

<b>1 - Modèle quantique</b> .....	90
1.1. Description du modèle .....	90
1.1.1. Description du site actif .....	90
1.1.2. Complexe formamide-catalyseur .....	92
1.2. Etude de la réaction d'hydrolyse .....	95
1.2.1 Mécanisme non-assisté .....	95
1.2.2. Mécanisme assisté .....	97
1.3. Energies des réactions .....	98
<b>2 - Modèle mixte QM/MM</b> .....	102
2.1. Minimisation de la thermolysine et définition de la partie quantique .....	102
2.2. Complexe formamide-thermolysine .....	103
2.3. Effet catalytique sur les réactions d'hydrolyse .....	108
2.3.1. Mécanisme non-assisté. ....	108
2.3.2. Mécanisme assisté. ....	109
2.4. Energies des réactions .....	111
<b>3 - Conclusion</b> .....	114
<b>Références</b> .....	115

## Modélisation des réactions d'hydrolyse catalysées par la Thermolysine

La thermolysine<sup>1</sup> (voir Figure 22) est une endopeptidase à zinc. L'ion métallique présent dans le site actif est le dication  $Zn^{2+}$ . En biologie, le zinc est le métal le plus abondant après le fer. Il exerce son activité biologique à travers son association avec différentes protéines et son rôle catalytique est très important<sup>2</sup>. La première enzyme à zinc découverte fut l'anhydrase carbonique<sup>3</sup> qui permet l'hydratation de dioxyde de carbone et la déshydratation du bicarbonate. Depuis, plus de 200 enzymes contenant du zinc ont été caractérisées. Dans ces enzymes, le zinc a en général un rôle de catalyseur<sup>4,5</sup> mais il peut également avoir une fonction conformationnelle, en permettant à l'enzyme de garder une certaine stabilité, ou une fonction régulatrice, en activant ou inhibant l'activité catalytique de l'enzyme. En outre, il existe encore des enzymes pour lesquelles l'activité du zinc n'a pas encore été déterminée.



**Figure 22 :** Thermolysine donnée par le fichier PDB, après minimisation.

Il existe de quelques études théoriques portant sur des mécanismes réactionnels impliquant des enzymes au zinc, telles que la carboxypeptidase A<sup>6</sup> ou l'alcool deshydrogénase du foie<sup>7</sup>. Les interactions entre le zinc et le glutamate ou l'histidine et leurs influences sur les structures et les fonctions d'une protéine ont également été étudiées<sup>8</sup>. Pardo et *al*<sup>9</sup> ont examiné des modèles de transfert de proton dans les systèmes biologiques. Merz et *al*<sup>10</sup>, les premiers, ont montré que, en utilisant des méthodes semi-empiriques telles que AM1, on est capable d'aborder aujourd'hui l'étude de modèles d'enzymes. Le bon accord des calculs AM1 avec les résultats expérimentaux et les calculs *ab initio* a été montré par Merz et *al*<sup>11</sup>. Dans une étude *ab initio* sur le mécanisme de l'anhydrase carbonique, Jacob et *al*<sup>12</sup> comparent leurs résultats avec ceux obtenus par Merz et *al* et ont également noté que la méthode AM1 donne de bons résultats pour les structures des états de transition mais que les barrières d'activation obtenues sont surestimées.

De nombreuses études théoriques ont également porté sur les différents complexes du type  $Zn^{2+}(H_2O)_n$ .<sup>13.14.15.16</sup> Enfin, une étude complète sur le zinc, sa paramétrisation et son rôle dans les différents mécanismes catalytiques, a été effectuée<sup>16</sup>.

Contrairement aux exo-peptidases, telle que la carboxypeptidase A<sup>1</sup>, la thermolysine présente une large cavité qui permet l'arrivée du peptide

très près du site actif. Ces peptidases au zinc ont un intérêt fondamental car elles catalysent plusieurs types de réactions, notamment l'hydrolyse de la liaison peptidique. La différence qui existe entre ces deux types de peptidases provient du fait que la large cavité de la thermolysine rend possible la rupture d'une liaison peptidique ailleurs qu'en bout de chaîne enzymatique. Il sera alors possible d'envisager la coupure d'un peptide en deux parties importantes.

Le rôle catalytique d'une métallo-enzyme au zinc peut mener aux différents mécanismes suivants : le mécanisme anhydre, le mécanisme zinc-carbonyle et le mécanisme zinc-hydroxyle<sup>17,18</sup>. Le mécanisme anhydre semble être rejeté par la plupart des études effectuées précédemment. Dans le mécanisme zinc-hydroxyle, le substrat ne se fixe pas sur l'atome de zinc, mais la molécule d'eau liée au métal se déprotone et permet une attaque nucléophile de l'hydroxyle sur la fonction carbonyle du substrat. Enfin, le mécanisme zinc-carbonyle<sup>19,20</sup> voit la molécule d'eau liée au métal céder sa place au substrat. Le rôle du zinc devient alors celui d'un acide de Lewis et le métal active la fonction carbonyle, la rendant favorable à une attaque nucléophile au niveau de l'atome de carbone. Nous nous sommes basé sur un tel mécanisme pour l'étude de l'hydrolyse de la fonction amide de notre substrat.

Dans ce chapitre nous avons abordé l'étude du mécanisme d'hydrolyse catalysé par la thermolysine en utilisant deux modèles de nature assez différente. D'une part nous avons considéré un modèle quantique dans lequel seul le site actif est considéré. Pour cela, nous pouvons étudier la réaction d'hydrolyse du formamide complexé avec un système à  $Zn^{2+}$  comportant un nombre relativement limité d'atomes. Le second correspond à l'utilisation d'une méthode mixte QM/MM qui permet de traiter les interactions de l'enzyme avec le site actif au moyen de potentiels classiques.

# 1 - Modèle quantique

## 1.1. Description du modèle

Une description précise du site actif de la thermolysine nécessite de prendre en compte le métal et son environnement. Cet “environnement” joue un rôle important sur les propriétés catalytiques du système mais sa définition n’est pas sans poser de problèmes. Si nous introduisons un nombre d’atomes élevé dans notre système, le temps de calcul deviendrait trop important. En revanche, on ne saurait modéliser l’environnement par un simple cation  $Zn^{2+}$  car les effets dus aux ligands ne seraient pas tenus en compte.

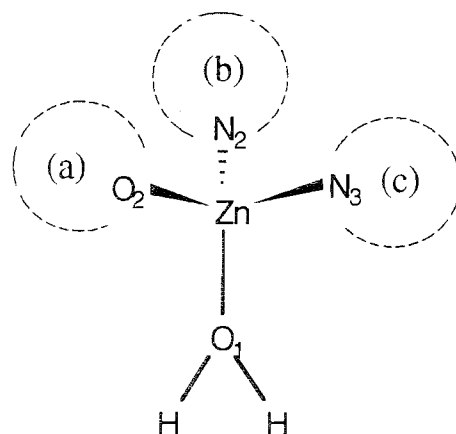
Le modèle que nous avons choisi (voir ci-dessous) comporte environ 25 atomes autour du métal. Pour un système de cette taille, les calculs *ab initio* sont déjà assez coûteux, c’est pourquoi nous avons décidé d’utiliser un schéma de calcul hybride, basé sur l’optimisation des géométries au niveau semi-empirique AM1, suivie par des calculs ponctuels effectués par des méthodes DFT. Le chapitre précédent nous a permis de constater que ce schéma de calcul est satisfaisant, notamment dans le cas de réactions catalysées.

### 1.1.1. Description du site actif

Pour commencer, nous avons utilisé les données cristallographiques du fichier PDB de la thermolysine pour créer notre modèle. La structure que nous avons utilisée est donnée pour une résolution de 1.6 Å avec une erreur cristallographique résiduelle de 0.213 Å (R-value). A cause de la valeur assez importante de cette erreur et à cause de la nécessité de tenir compte de la relaxation du système lorsque les interactions avec le formamide sont considérées, le modèle décrit ci-après a été complètement optimisé au niveau de calcul AM1.

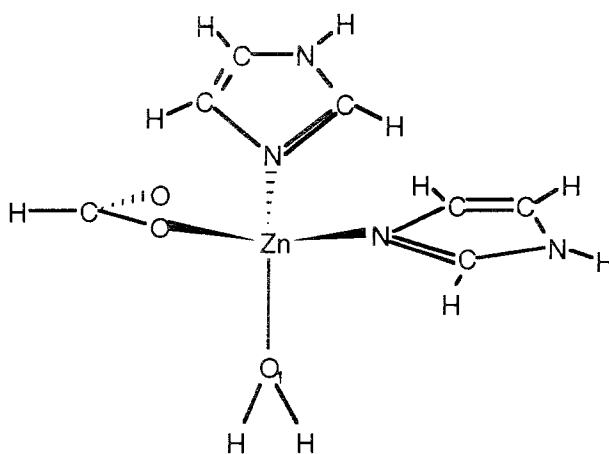
Les ligands présents autour du zinc sont un glutamate (GLU166, en a), et deux histidines (HIS142 et HIS146, en b et en c) plus une molécule d’eau de solvation (392HOH).





**Figure 23** : Représentation schématique du site actif de la thermolysine

Pour introduire les atomes d'hydrogène, ceux-ci n'étant pas présents dans les données cristallographiques, deux possibilités s'offrent à nous pour modéliser le ligand GLU166 : un anion  $\text{HCOO}^-$ , qui modélisera l'anion glutamate ou une molécule  $\text{HCOOH}$ , qui remplacera l'acide glutamique. Le  $\text{pK}_a$  correspondant à ce proton dans l'acide glutamique est de 4.07. Le pH d'étude de la thermolysine pour le fichier PDB que nous avons utilisé est de 7.2 et l'intervalle de pH pour une activité maximale de la thermolysine est de 7-8. Pour ces raisons, nous avons décidé de représenter le ligand GLU166 par un anion  $\text{HCOO}^-$ . Deux molécules d'imidazole remplaceront les ligands HIS142 et HIS146. Nous garderons la molécule d'eau qui nous permettra de solvater le cation métallique (voir Figure 24).

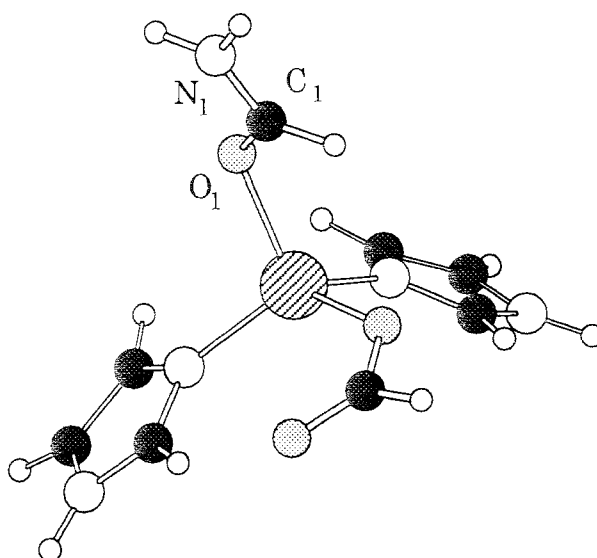


**Figure 24** : Modèle quantique du site actif de la thermolysine. Le groupement carboxylate est remplacé par un formate alors que les histidines sont remplacées par des groupements imidazoles.

La structure obtenue après optimisation reste proche de celle donnée par le fichier PDB.

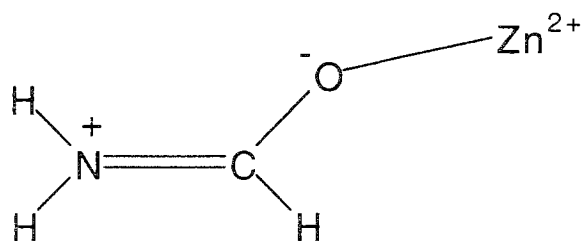
### 1.1.2. Complexe formamide-catalyseur

Le complexe formamide-catalyseur considéré est un formamide lié au métal par la liaison carbonyle, qui, comme dans le cas des réactions protonées, correspond à un complexe plus stable que celui N-liganté (Figure 25). Les paramètres correspondants à cette structure sont regroupés dans le Tableau XXI.



**Figure 25** : Formamide-Environnement : structure calculée au niveau AM1

Les paramètres géométriques obtenus pour le modèle du catalyseur sont peu modifiés par la complexation avec le formamide. Le formamide, en revanche reste plan mais présente une diminution de la liaison  $C_1N_1$  (de  $0.027 \text{ \AA}$ ) et une augmentation de la liaison  $C_1O_1$  (de  $0.037 \text{ \AA}$ ) par rapport aux paramètres optimisés pour le formamide seul (voir chapitre précédent). Ceci, comme lors de la catalyse acide, peut s'interpréter schématiquement en considérant la structure de la Figure 26.



**Figure 26** : Représentation schématique du complexe formamide-dication  $Zn^{2+}$

Par rapport au formamide protoné (FoP), on remarque qu'ici, la liaison  $C_1N_1$  est plus longue (de  $0.023 \text{ \AA}$ ) et la liaison  $C_1O_1$  plus courte (de  $0.057 \text{ \AA}$ ). La structure obtenue pour notre complexe est donc intermédiaire entre celle du formamide et celle du formamide protoné. Ceci se comprend aisément si l'on considère que l'effet catalytique est ici moins intense, dû à une acidité moins forte au niveau du catalyseur.

**Tableau XXI** : Paramètres géométriques du complexe et des états de transition, obtenus au niveau AM1. (distances en  $\text{\AA}$ , angles en degrés).

	Complexe	TS1E	TS2E
Longueurs de liaison			
ZnO1	2.163	2.124	2.098
CO1	1.280	1.323	1.342
CN	1.343	1.493	1.474
CO2		1.506	1.488
O2H1		1.278	1.388
NH1		1.404	
H1O3			1.102
O3H2			1.034
NH2			1.765
Angles de Valence			
O1CN	119.55	115.20	114.21
O2CN		89.63	107.01
H1O2C		85.08	118.95
O3H1O2			141.08
H2O3H1			102.417
Angles Dièdres			
H1O2CN		-1.11	13.02
O3H1O2C			15.04
H2O3H1O2			-25.08

**Tableau XXII** : Répartition des charges de Mulliken, obtenues au niveau AM1 pour notre modèle de thermolysine, pour le complexe et pour les deux états de transition.

	Modèle	Complexe	TS1E	TS2E
Site Catalytique				
Imidazole 1	+0.341	+0.325	+0.316	+0.306
Imidazole 2	+0.329	+0.311	+0.306	+0.299
Formate	-0.550	-0.591	-0.611	-0.624
Zn	+0.735	+0.711	+0.704	+0.700
<b>Total</b>	<b>+0.855</b>	<b>+0.756</b>	<b>+0.715</b>	<b>+0.681</b>
Partie réactive				
H <sub>2</sub> O dans la Thermolysine				
O	-0.408			
H	+0.282			
H	+0.273			
	<b>+0.147</b>			
Formamide				
O1		-0.396	-0.547	-0.578
C		+0.293	+0.273	+0.279
He		+0.185	+0.178	+0.135
N		-0.357	-0.360	-0.444
Hn		+0.254	+0.214	+0.187
Hn'		+0.255	+0.214	+0.190
		<b>+0.334</b>	<b>-0.028</b>	<b>-0.231</b>
H <sub>2</sub> O dans les TS				
O2			-0.331	-0.429
H1			+0.372	+0.355
Ho2			+0.271	+0.265
O3				-0.255
H2				+0.332
Ho3				+0.279
			<b>+0.312</b>	<b>+0.547</b>
<b>Total</b>	<b>+0.147</b>	<b>+0.234</b>	<b>+0.284</b>	<b>+0.316</b>

Intéressons nous maintenant à la distribution de charge (voir Tableau XXII). Nous pouvons remarquer que la charge portée par la molécule d'eau présente dans le modèle de thermolysine est globalement positive : +0.147. Dans notre complexe thermolysine-formamide, la charge portée par le formamide est aussi positive mais sa valeur est plus importante que celle portée par la molécule d'eau : +0.234. Ceci n'est pas étonnant compte tenu du caractère donneur d'électron plus important du formamide par rapport à la molécule d'eau.

Le zinc, mais aussi les ligands, voient leur densité électronique augmenter lorsque la molécule d'eau est remplacée par le formamide. Le site catalytique entier agit comme un réservoir qui permet la délocalisation des électrons. Au niveau du formamide, le transfert implique une augmentation assez nette des valeurs absolues des charges portées par les atomes  $N_1$ ,  $C_1$  et  $O_1$  par rapport aux charges obtenues dans le cas du formamide protoné.

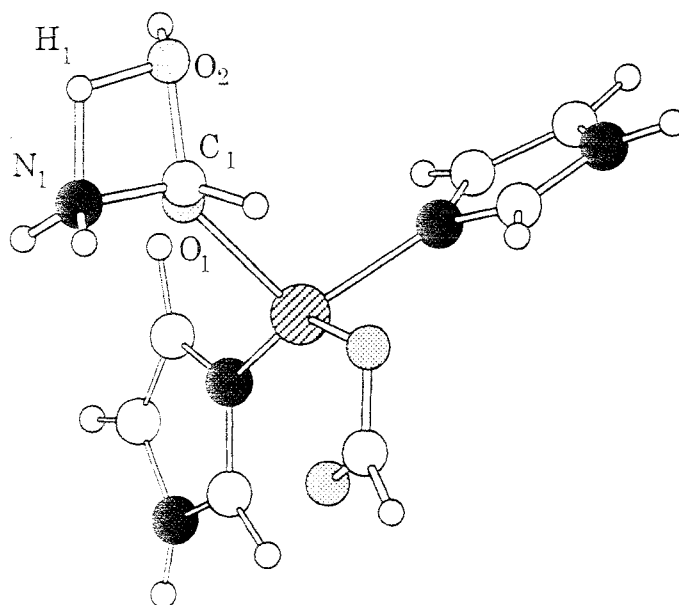
## 1.2. Etude de la réaction d'hydrolyse

Nous allons examiner l'influence du catalyseur, modèle de la thermolysine, sur les réactions d'hydrolyse du formamide étudiées précédemment. Les processus non-assisté (dont l'état de transition sera noté TS1E) et assisté (noté TS2E) seront étudiés. Le Tableau XXI regroupe les différents paramètres géométriques de ces structures qui sont représentées sur les Figures 27 et 28 respectivement. La distribution de charge du système est présentée dans le Tableau XXII.

L'optimisation complète du système a été envisagée mais nous avons constaté que le modèle de catalyseur change de structure de façon importante s'éloignant trop de la géométrie de la thermolysine. Nous avons donc été contraint de fixer la géométrie du catalyseur à celle que nous avons obtenue dans le cas du complexe avec le formamide. La recherche de l'état de transition est donc faite en optimisant uniquement les paramètres du formamide, de l'eau ainsi que ceux définissant la position des réactifs par rapport à l'atome de zinc.

### 1.2.1 Mécanisme non-assisté

Nous pouvons remarquer que les liaisons  $C_1O_1$  et  $C_1N_1$  augmentent, tout comme dans les états de transition TS1P ou TS1N décrits au chapitre précédent. Cependant l'augmentation de la liaison  $C_1O_1$  (0.043 Å) est plus proche de celle prédite pour la réaction protonée que de celle prédite pour le processus neutre. L'augmentation pour  $C_1N_1$  est sensiblement équivalente lors des trois mécanismes.



**Figure 27 :** Représentation de l'état de transition de la réaction d'hydrolyse du formamide catalysé, à l'aide d'une molécule d'eau. Structure obtenue au niveau AM1.

Les longueurs des liaisons  $C_1O_2$  et  $N_1H_1$  sont aussi intermédiaires entre les valeurs des paramètres géométriques obtenues pour TS1N et TS1P. Rappelons que pour le processus TS1N, il a été montré que l'approche de la molécule d'eau sur le formamide se faisait préférentiellement sur l'atome d'azote alors que pour le processus protoné, elle se faisait préférentiellement sur l'atome de carbone.

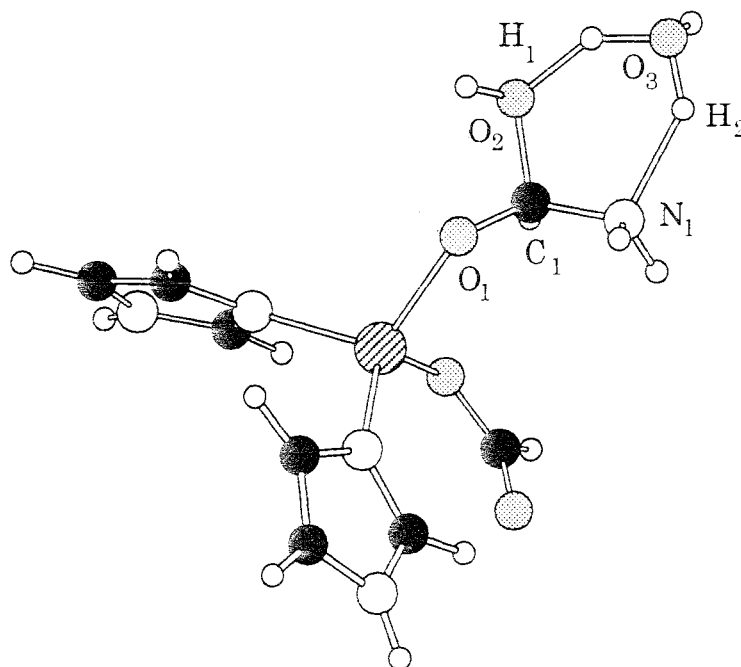
Nous pouvons comparer les charges atomiques de cet état de transition avec celles obtenues pour le complexe formamide-catalyseur. Pour la structure TS1E, la charge portée par le site catalytique complet est moins positive de 0.041. La répartition de cette évolution se fait selon : [Zn] -0.007 et [ligands] -0.034. Si l'on considère la partie réactive du système, on remarque que les charges atomiques se développent suivant : [formamide] -0.028 et  $[H_2O]$  +0.312. C'est donc essentiellement la molécule d'eau de l'hydrolyse qui donne des électrons, en premier lieu au formamide, puis à l'environnement. Ce transfert électronique permet la création d'une liaison  $C_1O_2$  plus forte que dans TS1N. Par contre, la charge portée par le

catalyseur est ici moins localisée que pour un groupement  $\text{H}_3\text{O}^+$ , ce qui entraîne un transfert moins important.

### *1.2.2. Mécanisme assisté*

A nouveau, les longueurs de liaison sont plus proches de celles obtenues pour le mécanisme protoné que pour le mécanisme neutre. Le transfert de proton entre les deux molécules d'eau, l'attaque nucléophile de l'atome d'oxygène  $\text{O}_2$  des molécules d'eau sur le carbone et le transfert de proton vers l'azote sont comparables aux grandeurs obtenues lors du processus catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$  menant à TS2P.

Nous retrouvons un transfert de charge important depuis les molécules de la partie réactive vers le métal et les ligands (de 0.075 par rapport au complexe du formamide et 0.034 par rapport à l'état de transition du processus non-assisté). Une fois de plus la charge du métal varie peu. Ce sont les ligands qui reçoivent la majeure partie du transfert électronique. Du côté de la partie réactive, la séparation de charge est beaucoup plus marquée. La charge portée par le formamide est maintenant de -0.231, alors que la charge portée par le dimère de l'eau est de +0.547. Le transfert électronique se fait essentiellement depuis les molécules d'eau vers le formamide puis vers le catalyseur. Dans le dimère de l'eau, c'est l'atome d'oxygène accepteur de proton qui donne la plus grande charge. En comparant ces valeurs avec celles obtenues pour les mécanismes assistés, neutre ou protoné, nous remarquons qu'elles sont plus proches de celles portées par les atomes de l'état de transition TS2P.



**Figure 28** : Représentation de l'état de transition de la réaction d'hydrolyse du formamide catalysé, à l'aide de deux molécules d'eau. Structure obtenue au niveau AM1.

## 1.2. - Energies des réactions

Pour le calcul de l'énergie, nous avons utilisé, comme nous l'avons décrit en introduction de ce chapitre, une méthode DFT utilisant le potentiel BLYP et une base de type double-zéta. Les géométries des systèmes sont celles obtenues avec la méthode AM1. Les résultats obtenus par la distribution de charge et les indices de liaison sont rassemblés dans les Tableaux XXIII et XXIV respectivement.

Il n'existe pas de bases standards satisfaisantes dans le programme Gaussian pour le zinc. Pour effectuer ces calculs, nous avons utilisé la base DZVP2<sup>21</sup> (63321/5211\*/41+) d'orbitales gaussiennes du programme DeMon<sup>22</sup>.



**Tableau XXIII** : Distribution des charges pour le complexe et les deux états de transition calculées au niveau BLYP/DZVP2//AM1.

	Complexe	TS1E	TS2E
Environnement			
Imidazole 1	+0.318	+0.304	+0.296
Imidazole 2	+0.333	+0.324	+0.313
Formate	-0.486	-0.499	-0.508
Zn	+0.579	+0.563	+0.562
<b>Total</b>	<b>+0.744</b>	<b>+0.692</b>	<b>+0.663</b>
Partie réactive			
Formamide			
O1	-0.413	-0.525	-0.556
C	+0.373	+0.457	+0.463
Hc	+0.150	+0.140	+0.100
N	-0.449	-0.564	-0.595
Hn	+0.299	+0.295	+0.267
Hn'	+0.96	+0.291	+0.272
	<b>+0.256</b>	<b>+0.094</b>	<b>-0.049</b>
H <sub>2</sub> O dans les TS			
O2		-0.469	-0.545
H1		+0.327	+0.380
Ho2		+0.356	+0.315
O3			-0.459
H2			+0.340
Ho3			+0.354
		<b>+0.214</b>	<b>+0.385</b>
<b>Total</b>	<b>+0.256</b>	<b>+0.308</b>	<b>+0.336</b>

**Tableau XXIV** : Indices de liaisons de Mayer, calculés au niveau BLYP/DZVP2//AM1

Indices de liaison de Mayer			
	Complexe	TS1E	TS2E
ZnO <sub>1</sub>	0.427	0.501	0.535
C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	1.552	1.352	1.265
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.337	0.827	0.916
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		0.705	0.744
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		0.450	0.329
H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		0.440	
H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>			0.555
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>			0.678
H <sub>2</sub> N <sub>1</sub>			0.257
ZnN <sub>2</sub>	0.565	0.548	
ZnN <sub>3</sub>	0.529	0.515	
ZnO <sub>4</sub>	0.553	0.535	

Les énergies correspondant aux processus d'hydrolyse sont regroupées dans le Tableau XXV, où nous comparerons les énergies obtenues au niveau AM1 et au niveau BLYP//AM1.

Les barrières obtenues dans le cas des réactions au niveau AM1 ont une valeur moyenne entre celles calculées pour les processus neutre et catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$  :  $58.46 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et  $30.05 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivement pour les processus non-assistés et  $55.48 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et  $8.16 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivement pour les processus assistés. Ce qui est conforme aux résultats déjà présentés pour les paramètres géométriques et les charges présentées plus haut.

**Tableau XXV** : Energies relatives des réactions d'hydrolyse du formamide assistée et non assistée, par rapport aux réactifs. Niveaux de calculs AM1 et BLYP/DZVP2//AM1.

Mécanisme Catalytique		
	AM1	BLYP/DZVP2
TS1E	<b>49.95</b>	39.88
TS2E	<b>36.27</b>	18.45

De même, les résultats obtenus au niveau BLYP//AM1 conduisent à des barrières intermédiaires entre celles obtenues pour les processus neutres et les processus catalysés par  $\text{H}_3\text{O}^+$  correspondants présentés au chapitre précédent en utilisant les géométries AM1. Dans le cas présent, l'effet de la catalyse bifonctionnelle est estimée à un peu plus de  $20 \text{ kcal.mol}^{-1}$  (différence des barrières pour TS2E et TS1E, voir Tableau XXV). Cet effet est tout à fait comparable à celui obtenu lors de réaction d'hydrolyse non-catalysée et est sensiblement inférieur à l'effet obtenu dans les réactions catalysées par  $\text{H}_3\text{O}^+$  (Tableau XIX).

Compte tenu de la complexité de ce système, nous n'avons pas pu évaluer les contributions enthalpiques et entropiques à l'énergie libre. Rappelons en outre que l'optimisation du système au niveau BLYP n'a pas

été possible. Par conséquent, nous avons estimé ces contributions à partir des résultats obtenus pour les réactions neutres et catalysées par  $\text{H}_3\text{O}^+$  des chapitres II et III. Nous avons vu que de façon assez générale, lorsque l'on tient compte des contributions du point zéro thermiques et entropiques, la barrière d'énergie d'activation augmente très grossièrement de  $20 \text{ kcal.mol}^{-1}$  dans le cas du processus assisté et de  $10 \text{ kcal.mol}^{-1}$  dans le cas du processus non-assisté. On peut donc estimer les barrières des processus catalysés par le modèle quantique de la thermolysine utilisé ici à  $50 \text{ kcal.mol}^{-1}$  et  $40 \text{ kcal.mol}^{-1}$  pour les mécanismes non-assisté et assisté respectivement. On prévoit donc un effet de catalyse bifonctionnelle assez important. Il est un peu supérieur à celui calculé pour le processus neutre mais sensiblement plus faible que celui calculé pour le processus catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$  (voir Tableau XX).

La force de l'effet catalytique a une influence directe sur l'importance de l'attaque nucléophile. Dans le cas du mécanisme assisté, cette attaque est largement favorisée par les possibilités de pyramidalisation de l'azote et surtout par la rotation du groupement amide. Ici, l'effet catalytique étant plus faible que dans le cas de la catalyse acide, le mécanisme assisté est plus défavorisé que le mécanisme non-assisté. La différence entre les barrières d'activation, si elle est toujours en faveur du processus assisté, diminue nettement.

En résumé, il apparaît que l'effet catalytique prévu avec le modèle de thermolysine considéré ici est moins important que celui du groupement  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Cependant, les mécanismes réactionnels sont similaires, avec, en particulier un bilan énergétique plus favorable dans les deux cas en faveur du mécanisme assisté.

## 2 - Modèle mixte QM/MM

### 2.1. Minimisation de la thermolysine et définition de la partie quantique

Dans un premier temps, nous avons procédé à une minimisation de l'énergie de la thermolysine en utilisant un potentiel classique. Pour se faire, nous avons utilisé le fichier PDB de la thermolysine décrit précédemment et le logiciel Discover, développé par BIOSYM. Le champ de force utilisé est AMBER auquel on aura ajouté les paramètres pour le zinc, développés par O. Jacob.

Le fichier PDB inclut les atomes d'oxygène des molécules d'eau de cristallisation. Une fois les atomes d'hydrogène ajoutés au système à l'aide du logiciel InsightII, nous avons gardé les molécules d'eau pour leur rôle de solvatation. La minimisation a été effectuée sans contraintes.

Nous avons ensuite procédé à une optimisation de la géométrie des atomes définissant le site actif à l'aide de la méthode mixte AM1/MM, implantée dans le logiciel GEOMOP<sup>23</sup>. Le sous-système quantique comprend une grande partie des atomes des ligands glutamate 166 (noté GLU166), histidine 142 et 146 (notés HIS142 et HIS146), l'atome métallique de zinc (noté 5H) et la molécule d'eau numérotée 392 (392HOH) qui joue le rôle de quatrième ligand du dication. Les acides-aminés ont été coupés au niveau de leur carbone  $\alpha$  (Figure 29).

Dans la Figure 29, on retrouve la géométrie du site actif après optimisation du sous-système quantique. On constate que le site actif présente peu de différence par rapport à la géométrie obtenue après la phase de minimisation classique.

La configuration de la molécule d'eau est dépendante des acides aminés environnants. L'analyse des résultats montre qu'un des atomes d'hydrogène de la molécule d'eau interagit avec un atome d'oxygène de la fonction carboxylique de l'acide-aminé glutamate 143 (la distance de la liaison est de 2.25 Å) et que l'atome d'oxygène de la molécule d'eau interagit avec un hydrogène de l'histidine 231 (2.56 Å). Ces liaisons sont relativement

longues, mais elles nous permettent de comprendre la configuration prise par la molécule d'eau, qui est très différente de celle obtenue dans les modèles plus simplifiés de la thermolysine.

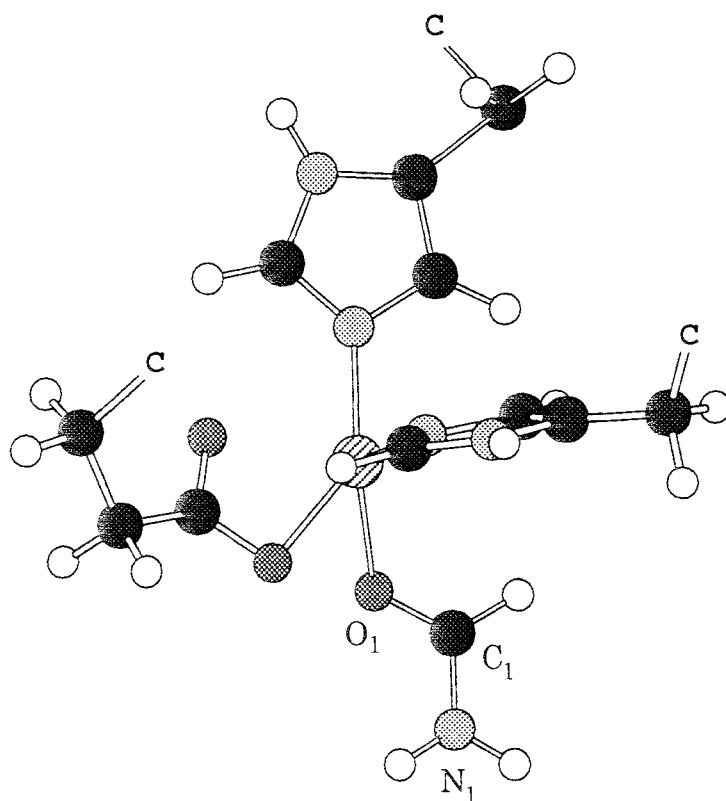


**Figure 29** : Représentation de la partie quantique correspondant au site actif après optimisation par la méthode mixte. Les atomes frontières sont représentés par un C.

## 2.2. Complexe formamide-thermolysine

La molécule d'eau fixée sur l'atome de zinc a été ensuite remplacée par une molécule de formamide et l'ensemble formamide-site-actif a été optimisé avec le logiciel GEOMOP.

Les paramètres géométriques, les charges atomiques nettes de Mulliken et l'énergie du complexe sont regroupés dans la Tableau XXVI. La structure du complexe est présentée Figure 30.



**Figure 30** : Représentation de la partie quantique du complexe formamide-thermolysine. Les atomes frontières sont représentés par un C.

L'optimisation de géométrie au niveau quantique ne modifie que très légèrement la structure des ligands entourant le métal. Par rapport à l'étude quantique du paragraphe précédent, nous pouvons remarquer que la liaison entre l'oxygène du formamide et le zinc est plus longue. Cela s'accompagne d'une diminution assez importante du transfert de charge (0.334 dans le modèle quantique contre 0.188 dans le cas présent).

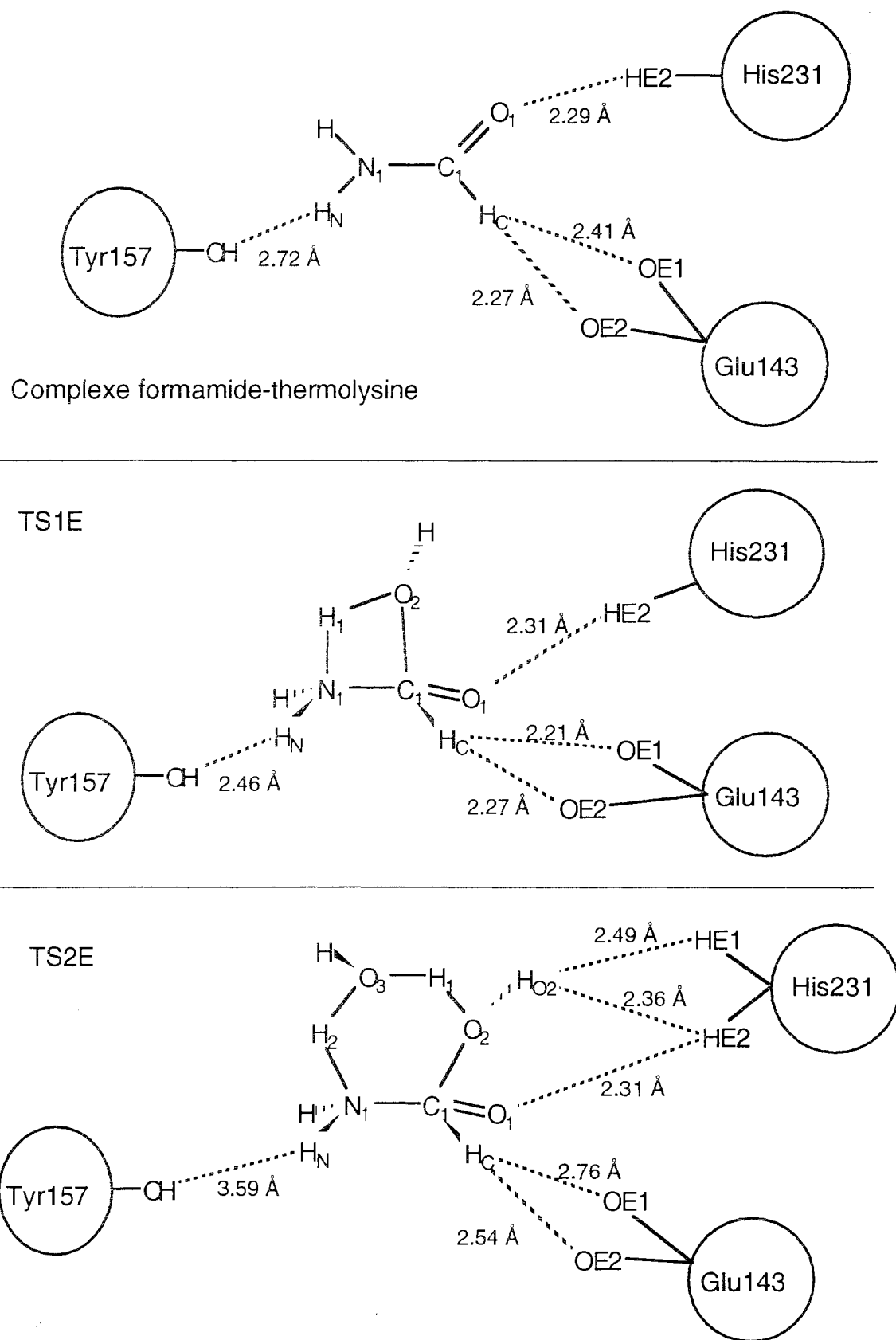
**Tableau XXVI** : Paramètres géométriques (distances en Å, angles en degrés), charges atomiques nettes de Mulliken et énergies totales (en u.a.) pour le complexe formamide-thermolysine et les deux états de transition.

	FoC	TS1C	TS2C
Paramètres Géométriques			
ZnO <sub>1</sub>	2.212	2.155	2.130
O <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	1.273	1.306	1.329
C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	1.357	1.503	1.484
C <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		1.548	1.525
O <sub>2</sub> H <sub>1</sub>		1.264	1.325
N <sub>1</sub> H <sub>1</sub>		1.382	-
H <sub>1</sub> O <sub>3</sub>		-	1.130
O <sub>3</sub> H <sub>2</sub>		-	1.102
H <sub>2</sub> N <sub>1</sub>		-	1.535
ZnO <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	122.93	114.28	123.70
O <sub>1</sub> C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	117.57	116.66	115.50
O <sub>2</sub> C <sub>1</sub> N <sub>1</sub>		87.90	106.31
H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>		83.87	117.85
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		-	141.73
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		-	98.86
O <sub>2</sub> C <sub>1</sub> N <sub>1</sub> H <sub>1</sub>		2.52	-
O <sub>2</sub> C <sub>1</sub> N <sub>1</sub> H <sub>2</sub>		-	6.97
O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> C <sub>1</sub>		-	13.400
H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub> O <sub>2</sub>		-	-4.96
N <sub>1</sub> H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>1</sub>		-	-3.21
H <sub>N</sub> N <sub>1</sub> C <sub>1</sub> H <sub>N'</sub>		130.02	123.15
Charges nettes de Mulliken			
O1	-0.429	-0.508	-0.579
C1	0.309	0.284	0.299
N1	-0.415	-0.384	-0.427
O2		-0.379	-0.435
H1		0.353	0.341
O3			-0.357
H2			0.336
Energies totales			
	-138.216780	-150.938119	-163.765198

La principale remarque à faire sur ce calcul concerne la structure de la liaison formamide-Zn. En effet, il apparait que le formamide, tout comme la molécule d'eau dans la thermolysine, se place dans une configuration assez différente de celle obtenue dans le modèle quantique (voir paragraphe précédent). L'encombrement stérique ne peut pas être la seule explication, la molécule de formamide est suffisamment petite pour prendre d'autres configurations au niveau du site actif. Une explication peut venir notamment des interactions existant entre le formamide et les acides aminés environnants, comme présenté Figure 31. On peut remarquer que le proton lié au carbone dans le formamide (notons le HC<sub>FOR</sub>) et les atomes d'oxygène de la fonction carboxylique du glutamate 143 sont proches : HC<sub>FOR</sub>OE2<sub>GLU143</sub> 2.27 Å et HC<sub>FOR</sub>OE1<sub>GLU143</sub> 2.41 Å. Plus encore, l'atome d'oxygène de la fonction carbonyle du formamide (noté O1<sub>FOR</sub>) interagit avec un atome d'hydrogène de l'histidine 231 : O1<sub>FOR</sub>HE2<sub>HIS231</sub> 2.29 Å et se place dans le plan formé par les atomes : C1<sub>FOR</sub>O1<sub>FOR</sub>Zn<sub>5H</sub>HE2<sub>HIS231</sub> -179.09°. Une dernière interaction, de moindre importance, est également à relever entre un hydrogène lié à l'azote du formamide (noté HN<sub>FOR</sub>) et l'oxygène de la fonction alcool de la tyrosine 157 : HN<sub>FOR</sub>OH<sub>TYR157</sub> 2.72 Å.

Ces interactions entre le formamide et les acides aminés entourant le site actif peuvent suffire à expliquer l'allongement de la liaison O<sub>1</sub>Zn énoncé précédemment.



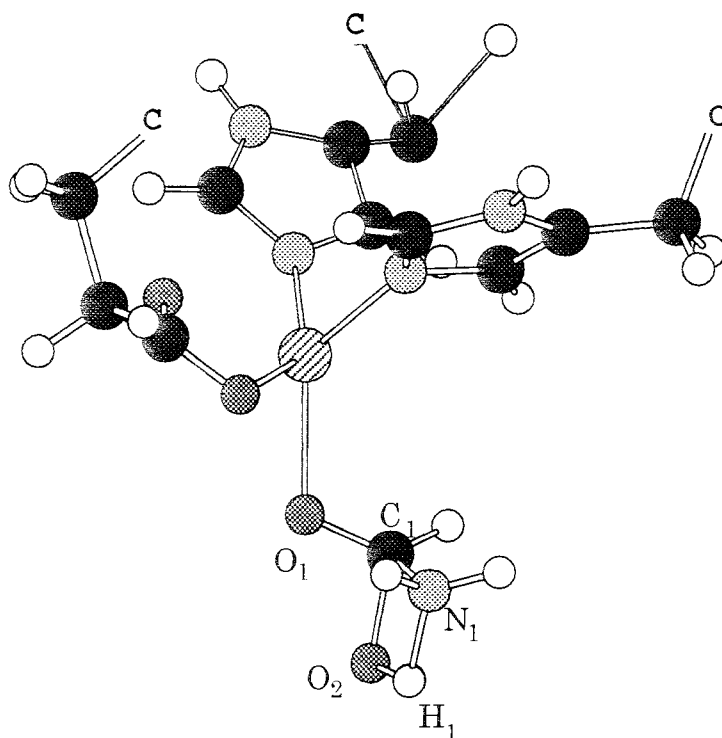


**Figure 31 :** Représentations des interactions des différents systèmes quantiques (complexe formamide-thermolysine, TS1E et TS2E) avec les atomes de la partie classique.

## 2.3. Effet catalytique sur les réactions d'hydrolyse

Les paramètres géométriques, les charges atomiques nettes de Mulliken et l'énergie des états de transition sont regroupés dans le Tableau XXVI. La structure de l'état de transition non assisté est présentée Figure 32, celle du processus assisté est présentée en Figure 33.

### 2.3.1. Mécanisme non-assisté.



**Figure 32** : Représentation de la partie quantique de l'état de transition du processus non-assisté. Les atomes frontières sont représentés par un C.

Nous retrouvons des interactions entre l'hydrogène HC du formamide et les oxygènes de la fonction carboxylique du glutamate 143 :  $HC_{FOR}OE2_{GLU143}$  2.27 Å et  $HC_{FOR}OE1_{GLU143}$  2.21 Å (Figure 31). L'interaction entre l'oxygène O1 du formamide et un hydrogène de l'histidine 231 existe toujours :  $O1_{FOR}HE2_{HIS231}$  2.31 Å. Ici, l'atome d'oxygène sort

toutefois un peu du plan formé par les trois atomes auxquels il est lié :  $C1_{FOR}O1_{FOR}Zn_{5H}HE2_{HIS231}$   $171.33^\circ$ . Enfin, la liaison  $HN_{FOR}OH_{TYR157}$  est plus courte que précédemment : 2.46 Å.

Il est à noter qu'aucune interaction notable n'est à relever en ce qui concerne les atomes de la molécule d'eau d'hydrolyse avec les acides aminés environnants.

Comme nous l'avons vu pour le complexe formamide-thermolysine, la distance Zn-O est plus longue que dans le cas des calculs quantiques. Ainsi, nous pouvons nous attendre à une attaque nucléophile moins facile de la molécule d'eau sur le carbone  $C_1$ . Par rapport aux résultats obtenus dans le modèle quantique, la liaison  $C_1O_2$  est effectivement plus longue et la liaison  $N_1H_1$  est légèrement plus courte. Le transfert de proton est moins avancé. De plus, la pyramidalisation de l'azote est un peu moins prononcée. Ces différences sont relativement faibles et donc, la structure géométrique de l'état de transition semble ne pas être trop influencée par la présence des acides aminés environnants. La principale différence entre les deux modèles quantique et mixte concerne l'orientation du système formamide -eau par rapport à la thermolysine.

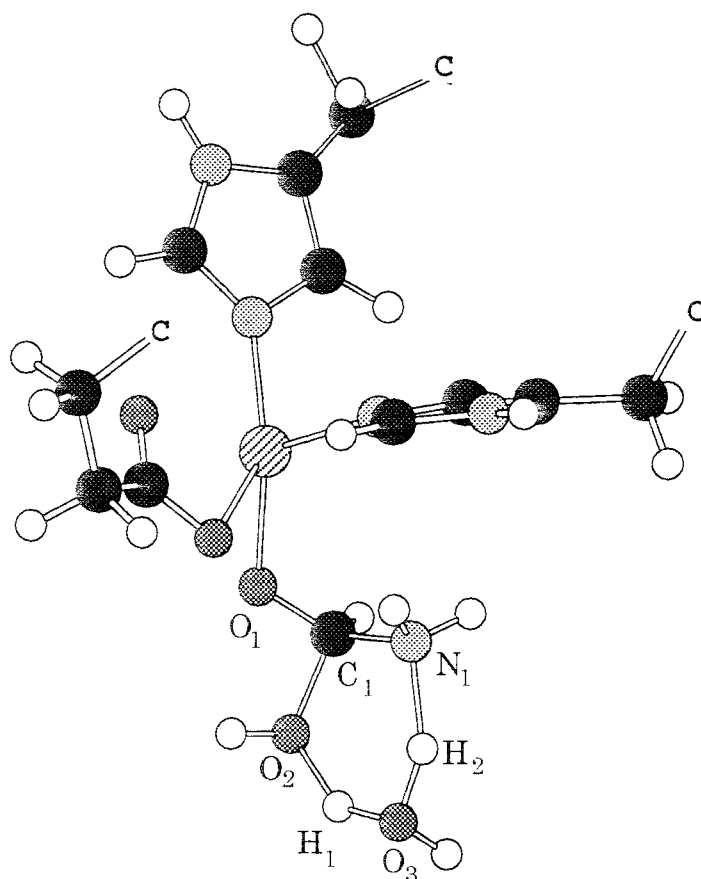
Compte tenu des perturbations introduites par les acides aminés non considérés dans le modèle quantique, à la fois sur le système formamide-catalyseur et sur le TS1E, on peut s'attendre à une augmentation de la barrière d'activation. Nous allons examiner cet aspect plus loin.

La conformation des acides aminés entourant le site actif et notre partie réactive influe sur la position spatiale de notre structure entraînant un effet catalytique moins important. On peut donc s'attendre à une énergie d'activation supérieure pour TS1C que celle calculée pour TS1E.

### **2.3.2. Mécanisme assisté.**

Les interactions entre l'hydrogène HC du formamide et les oxygène de la fonction carboxylique sont présentes, mais de façon moins marquée :  $HC_{FOR}OE2_{GLU143}$  2.54 Å et  $HC_{FOR}OE1_{GLU143}$  2.76 Å (Figure 31).

L'interaction entre l'oxygène O1 du formamide et l'hydrogène de l'histidine 231 reste de force comparable :  $O1_{\text{FOR}}H_{\text{E2}}_{\text{HIS231}}$  2.38 Å et sa configuration reste sensiblement la même :  $C1_{\text{FOR}}O1_{\text{FOR}}Zn_{\text{5H}}H_{\text{E2}}_{\text{HIS231}}$  177.83°. Par contre, nous pouvons considérer l'interaction entre un des hydrogènes de l'azote du formamide, HN, et l'oxygène de la fonction alcool de la tyrosine 157 comme étant négligeable dans le cas présent :  $HN_{\text{FOR}}OH_{\text{TYR157}}$  3.59 Å.



**Figure 33** : Représentation de la partie quantique de l'état de transition du processus assisté. Les atomes frontières sont représentés par un C.

Cet état de transition a également une liaison ligand plus longue que celle trouvée dans la structure TS1E. On peut s'attendre à un effet catalytique un peu moins important que celui prévu par le modèle quantique. La liaison  $C_1O_2$  est plus longue alors que dans le même temps  $N_1H_2$  est plus courte. Le transfert de proton entre les deux molécules d'eau est légèrement moins marqué.

Il est intéressant de signaler que la pyramidalisation de l'azote est importante et que la rotation du groupement amino est très faible :  $6.97^\circ$ . Ce résultat peut surprendre si l'on se souvient que pour les réactions catalysées toutes les méthodes de calcul utilisées dans notre travail (voir chapitre précédent) prévoient un écart à la planéité du cycle à six atomes. L'origine de cette différence n'est pas évidente. On doit d'abord rappeler que les optimisations de géométrie effectuées au niveau AM1 ont tendance à donner des états de transition plans dans le cas du processus neutre. On peut donc se demander si la différence d'action catalytique entre le modèle quantique et le modèle mixte de la thermolysine permettrait d'expliquer ce résultat. ceci semble peu probable car si l'on compare la valeur obtenue pour l'angle de rotation dans le modèle quantique de la thermolysine ( $\approx 18^\circ$ ) avec celle pour le processus catalysée par  $H_3O^+$  ( $\approx 21^\circ$ ), on constate que ces valeurs sont assez proches malgré les différences dans les propriétés du catalyseur.

Une autre explication possible provient de contraintes géométriques. En effet, l'analyse des résultats montre que le deuxième atome d'hydrogène lié à l'atome d'oxygène  $O_2$  de la partie réactive (notons le  $HO_{2FOR}$ ) est assez proche de deux hydrogène de l'histidine 231 :  $HO_{2FOR}HE_{1HIS231}$  2.49 Å et  $HO_{2FOR}HE_{2HIS231}$  2.36 Å. Ces contraintes stériques peuvent suffire à empêcher la rotation. Ce faible écart à la planéité va nécessairement rendre plus difficile la réaction d'hydrolyse.

## 2.4. Energies des réactions

Les énergies d'activation obtenues pour les processus non-assisté et assisté sont données dans le Tableau XXVII. L'ordre relatif ces énergies est toujours en faveur du processus assisté d'environ 10 kcal.mol<sup>-1</sup>. Les barrières d'activation sont plus importantes ici de 6 à 8 kcal.mol<sup>-1</sup> que celles obtenues lors de l'étude du système quantique. La différence entre les barrières est un peu moins grande que dans le cas du modèle quantique du site actif (13.5 kcal.mol<sup>-1</sup>). L'augmentation des barrières est liée sans doute aux contraintes stériques dues aux acides aminés environnants. Ces mêmes contraintes stériques, plus fortes dans le cas de la structure TS2C, tendent

à diminuer l'écart entre les valeurs des énergies d'activation des deux processus.

On peut aussi comparer ces valeurs avec celles obtenues au niveau AM1 pour les processus neutre et catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$  qui sont présentées dans le Tableau XIX. On constate l'effet catalytique de la thermolysine. Il est relativement faible pour le processus non-assisté, la différence entre les barrières d'activation correspondant à TS1N et TS1C était de  $2.7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ . Il est nettement plus important dans le cas du processus assisté, la différence entre les barrières correspondant à TS2N et TS2C était de  $10.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ . Comme pour la catalyse acide, on remarque que la catalyse enzymatique est plus intense dans le cas de processus assistés.

**Tableau XXVII** : Energies relatives des états de transition correspondant à l'hydrolyse du formamide non-assistée (TS1C) et assistée (TS2C).

	TS1C	TS2C
total	55.75	44.95

Afin d'examiner l'effet des acides aminés plus en détail, nous avons calculé les interactions électrostatiques et les interactions de van der Waals entre la partie classique et la partie quantique. Le terme électrostatique  $\Delta E_{\text{elec}}$  s'obtient par différence des énergies données par un calcul normal et un calcul dans lequel toutes les charges de la partie classique ont été mises à zéro. Il contient donc également la contribution d'induction. L'énergie totale de stabilisation  $\Delta E_{\text{totale}}$  par l'environnement s'obtient en effectuant un calcul supplémentaire dans lequel les charges et les paramètres de Lennard-Jones sont mis à zéro. La différence entre cette énergie et le terme électrostatique permet de calculer le terme de van der Waals.

Les résultats obtenus pour le complexe thermolysine-formamide et les deux états de transitions sont présentés dans le Tableau XXVIII. On constate que le terme de van der Waals change relativement peu d'une espèce à l'autre, le complexe formamide-thermolysine étant un peu plus destabilisé par ces interactions que les états de transition. Les principales différences apparaissent pour le terme électrostatique. Ce terme est plus

stabilisant pour l'état de transition TS1E. L'état de transition TS2E est en revanche défavorisé par rapport au complexe formamide-thermolysine. Ces tendances peuvent être interprétées à partir des interactions à courtes distances présentées Figure 31.

Comme nous l'avons déjà mentionné, il n'a pas été possible d'évaluer l'énergie libre de la réaction d'hydrolyse à l'aide du modèle mixte. On peut néanmoins faire une estimation en tenant les mêmes hypothèses que dans le cas du modèle quantique de thermolysine. Ainsi, on peut estimer grossièrement la somme des contributions du point zéro, thermiques et entropiques à environ 10 kcal.mol<sup>-1</sup> pour le processus non-assisté et 20 kcal.mol<sup>-1</sup> pour le processus assisté. Si on ajoute ces quantités aux barrière d'activation présentées dans le Tableau XXVII, on aboutit à des barrières d'énergie libre qui sont sensiblement les mêmes (environ 65 kcal.mol<sup>-1</sup>). pour les réaction assistée et non-assistée. Cependant, nous avons vu au chapitre précédent que la méthode AM1 sous-estime l'effet de la catalyse bifonctionnelle. On peut le constater en comparant les résultats AM1 avec les résultats *ab initio* et DFT, en utilisant les mêmes géométries (voir Tableau XIX dans le chapitre précédent et Tableau XXV dans ce chapitre). En général, l'effet lié à la catalyse bifonctionnelle est sous-estimé de 8-16 kcal.mol<sup>-1</sup> suivant le type de réaction (neutre, catalysé par H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, catalysé par le modèle quantique de thermolysine). En résumé, on peut prévoir un effet de catalyse bifonctionnelle pour la réaction d'hydrolyse catalysée par la thermolysine. Cet effet est beaucoup moins intense que celui prédit par les réactions d'hydrolyse en milieu acide mais est suffisamment important.

**Tableau XXVIII :** Contributions énergétiques (en kcal.mol<sup>-1</sup>) de la partie classique à l'énergie de la partie quantique.

	FoC	TS1C	TS2C
$\Delta E_{\text{elec.}}$	-212.8	-215.3	-208.9
$\Delta E_{\text{vdW}}$	25.8	24.6	24.1
$\Delta E_{\text{totale}}$	-187.0	-190.7	-184.8

### 3 - Conclusion

Dans ce chapitre, les deux modèles étudiés pour représenter le site actif de la thermolysine nous ont permis de montrer que l'enzyme a une influence importante sur le mécanisme de la réaction d'hydrolyse du formamide.

La représentation du site catalytique de la thermolysine par un modèle quantique relativement simple nous a permis de mettre en avant le rôle joué par les ligands du zinc, notamment pour délocaliser la densité électronique transférée vers le catalyseur. L'effet catalytique est nettement plus faible que dans le cas des mécanismes à catalyse acide étudiés dans les chapitres précédents mais nos résultats montrent que les géométries et les énergies calculées sont assez proches des processus catalysés par un proton.

L'utilisation du modèle mixte nous a permis d'étudier l'influence des acides aminés environnants le site actif sur les mécanismes réactionnels. En premier lieu, il apparaît que les acides aminés proches du site actif jouent un rôle important dans la configuration géométrique du système substrat-enzyme. En particulier, la géométrie de l'état de transition du mécanisme assisté, qui présente un écart à la planéité assez important dans les réactions d'hydrolyse catalysées, est contraint à rester presque plan. En outre, les acides aminés proches des réactants présentent une forte interaction électrostatique qui modifie sensiblement les énergies relatives des différentes espèces.

Nous avons pu confirmer à l'aide de ces modèles que la catalyse bifonctionnelle joue un rôle important dans l'abaissement de la barrière d'activation et semble être le mécanisme le plus favorable de la réaction d'hydrolyse. Il est important de signaler, enfin, que les résultats obtenus avec le modèle le plus complet (modèle mixte) montrent que l'effet catalytique de l'enzyme n'est mis en évidence que dans le cas d'un processus assisté par l'eau.



## Références

- 1 A. Fersht, *Enzyme Structure and Mechanism*, Ed. W.H. Freeman and Co., New-York, **1985**
- 2 Vallé, B.L.; Wacker, W.E.C. in *The Proteins*, H. Neurath Ed, Academic, New-York, **1970**, 5.
- 3 Keilin D., Mann, T. *Biochem. J.*, **1940**, *34*, 33.
- 4 Vallé, B.L. in *Zinc Enzymes*, Bertini, I; Luchinat, C.; Maret, W. Zeppezauer, M. Eds **1986**, 5.
- 5 Formicka-Kozłowska G.; Maret, W. Zeppezauer, M. in *Zinc Enzymes*, Bertini, I; Luchinat, C.; Maret, W. Zeppezauer, M. Eds **1986**, 5.
- 6 Alex, A; Clark, T. *J. Comp. Chem.* **1992**, *13*, 704.
- 7 Riter von Onciul, A; Clark, T. *J. Comp. Chem.* **1993**, *14*, 392
- 8 Christianson, D.W.; Alexander, R.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6412.
- 9 Pardo, L.; Mazurek, A.P.; Osman, R. *Int. J. Quant. Chem.* **1990**, *37*, 701.
- 10 Merz Jr., K.M.; Hoffmann, R.; Dewar, M.J.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5636.
- 11 Merz Jr, K.M.; Dewar, M.J.S. *Organometallics* **1988**, *7*, 522.
- 12 Jacob, O; Cardenas, R; Tapia, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8692.
- 13 Pullman, A.; Demoulin, D. *Int. J; Quant. Chem.* **1978**, *14*, 779.
- 14 Bertran, J. NATO ASI *Computational Advances in Organic Chemistry Edremit, Turkey*, **1989**.

- 15 Tossel, J.A. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *169*, 145.
- 16 Jacob O. Thèse de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg I, 1990.
- 17 Valle, B.L.; Galdes, A; Auld, D.S.; Riordan, J.F. in *Metal Ions in Biology*, Spiro, T.G. Ed, Wiley, New-York, **1983**, *vol 5*, 25.
- 18 Rutter, W.J.; Gardell, S.J.; Roczniak, S.; Hilvert, D.; Sprang, S.; Fletterick, R.J.; Craik, C.S. *Protein Eng.* **1987**, 257.
- 19 Wooley, P. *Nature* **1975**, *317*, 551.
- 20 Fife, T.H.; Przystas, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4631.
- 21 Godbout, N.; Salahub, D.R.; Andzelm, J.; Wimmer, E. *Can. J. Chem.* **1992**, 560.
- 22 St. Amand, A.; Salahub, D.R. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *169*, 387
- 23 a) Rinaldi, D.; Cartier, A.; Rivail, J.-L.; Hoggan, P.E.; Thery, V; Ferenczy, G.G.; Loos, M.; Dillet, V.; Monard, G.; Baka, K.; Mokrane, A. programme ammené à remplacer le programme *GEOMOS*: Rinaldi, D.; Hoggan, P.E.; Cartier, A.; *GEOMOS: Semi-Empirical SCF System for Dealing with Solvent effects and Solid Surface Adsorption* (Q.C.P.E. 584a), Q.C.P.E. Bull, **1989**, 128.  
b) Thery, V. *Thèse de l'Université de Nancy I*, **1993**; Thery, V.; Rinaldi, D.; Rivail, J.-L.; Maigret, B.; *J. Comp. Chem.* **1994**, *15*, 269

## CONCLUSIONS

Dans ce travail nous avons abordé différents aspects de la réaction d'hydrolyse d'amides. Bien que la méthodologie employée soit forcément très différente pour les systèmes le plus simples (environ 10 atomes) ou pour les systèmes les plus complexes (environ 5000 atomes), quelques conclusions générales se dégagent de nos calculs :

Les mécanismes d'hydrolyse assistés sont généralement préférés aux mécanismes non-assistés, ce qui est dû à un effet de catalyse bifonctionnelle. On peut nuancer ce résultat en rappelant que pour le processus d'hydrolyse neutre, la catalyse bifonctionnelle semble modifier peu les barrières d'énergie libre d'activation alors que dans le cas du processus catalysé par  $\text{H}_3\text{O}^+$ , le rôle de la catalyse bifonctionnelle est renforcé. Il y a en quelque sorte un effet coopératif entre le catalyseur  $\text{H}_3\text{O}^+$  et le dimère de l'eau. Dans le cas d'un processus catalysé par un acide de Lewis, et en tout cas pour la réaction catalysée par la thermolysine, la catalyse bifonctionnelle rend toujours favorable les mécanismes d'hydrolyse assistés mais à un degré moindre que dans le cas de la catalyse acide.

Lorsque nous comparons les résultats obtenus pour la réaction d'hydrolyse du formamide neutre et le processus catalysé par la thermolysine on constate que le rôle de catalyseur de la thermolysine est relativement faible si l'on considère uniquement les réactions non-assistées. Ce rôle est cependant beaucoup plus important lorsque l'on compare les mécanismes assistés.

Nos calculs prévoient l'existence de quelques intermédiaires de réaction dans la surface d'énergie potentiel, mais ces espèces s'avèrent être instables lorsque l'on calcule leur énergie libre.

Les états de transition pour les mécanismes assistés consistent essentiellement en un cycle à six membres. Ce cycle est plan pour la réaction neutre mais il y a un écartement à la planéité considérable dans le cas d'un processus assisté par  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Dans le cas de la réaction catalysée par la

thermolysine on trouve un cycle presque plan. Ce dernier résultat ne semble pas être relié à la nature du catalyseur mais aux interactions des réactifs avec les acides aminés proches. On peut donc penser que l'effet catalytique intrinsèque au site actif de la thermolysine est diminué par la contrainte géométrique qui imposent certains acides aminés sur la géométrie de l'état de transition.

Nous avons cherché à comprendre le rôle des acides aminés sur les barrières d'activation. L'analyse des interactions avec les acides aminés a mis en évidence que le terme électrostatique est celui qui change le plus en passant des réactifs aux états de transition ou bien en comparant les états de transition assisté et non-assisté.

Le rôle des interactions avec le solvant a également été examiné. Pour cela nous avons employé un modèle à cavité. Les résultats indiquent que les effets électrostatiques sont faibles mais ont tendance à augmenter légèrement les barrières. Les effets non-électrostatiques favorisent un peu les mécanismes non-assistés.

D'un point de vue méthodologique, les méthodes *ab initio*, AM1 et DFT utilisées ici, conduisent à des résultats concordants en ce qui concerne le mécanisme. Les calculs *ab initio* au niveau MP2 et les calculs DFT avec correction de gradient prédisent des valeurs assez proches pour la plupart des grandeurs : géométries, énergies, charges, bien qu'il y ait quelques différences importantes dans certains cas. En revanche, les calculs AM1 présentent quelques déficiences, notamment dans le cas des processus non-catalysés. Les erreurs sont moins importantes dans le cas des réactions catalysées, bien qu'une correction systématique des énergies d'activation soit nécessaire.

L'utilisation d'une méthode mixte, limitée pour le moment aux méthodes semi-empiriques, permet d'accéder à des informations essentielles, notamment le rôle des acides aminés sur la stabilisation des états de transition. Cette méthode s'avère donc très bien adaptée à l'étude des réactions enzymatiques. Son extension aux potentiels DFT/MM devrait permettre d'étudier ce type de problème avec un peu plus de précision. Cet objectif semble être tout à fait abordable maintenant.

# A - Notations utilisées

## Réactifs

Fo	Molécule de formamide
FoP	Molécule de formamide protoné par $H_3O^+$ sur O
FoE	Molécule de formamide catalysé par le modèle quantique du site actif sur O
FoC	Molécule de formamide catalysé par la thermolysine sur O (modèle mixte)

## Etats de transition

### Processus non-assisté

TS1N	Etat de transition pour le mécanisme neutre
TS1P	Etat de transition pour le mécanisme protoné
TS1E	Etat de transition pour le mécanisme utilisant le modèle quantique de thermolysine
TS1C	Etat de transition pour le mécanisme utilisant la thermolysine (modèle mixte)

### Processus assisté

TS2N	Etat de transition pour le mécanisme neutre
TS2P	Etat de transition pour le mécanisme protoné
TS2E	Etat de transition pour le mécanisme utilisant le modèle quantique de thermolysine
TS2C	Etat de transition pour le mécanisme utilisant la thermolysine (modèle mixte)

## B - Comparaisons Energétiques

Nous nous proposons de comparer nos résultats avec ceux trouvés dans la littérature. Il est à noter en premier lieu que la majorité des articles traitant de réactions de cassure ou création (réaction inverse) de liaisons amide ou peptide ne donnent pas de grandeurs énergétiques. Les grandeurs abordées ont trait aux cinétiques de réactions en fonction de la température, de la pression ou du milieu dans lequel les équipes ont travaillé. Leur but consistant essentiellement à optimiser le rendement et la vitesse des réactions considérées. Toutefois, Slebocka-Tilk, Bennet et *al* ont estimé ces énergies dans le cas de l'hydrolyse d'une fonction amide lors de catalyse acide<sup>1</sup> ou basique<sup>2</sup>.

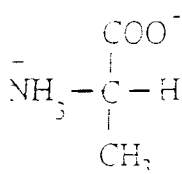
Dans le tableau ci-dessous, nous avons réunis différentes valeurs théoriques et expérimentales correspondant à l'hydrolyse du formamide ou d'autres amides lors de processus neutre, à catalyse acide ou basique pour des mécanismes non-assistés. Certaines valeurs ont été recalculées en considérant le mécanisme inverse de celui présenté dans les publications, c'est à dire la création de la liaison amide ou peptide. Les grandeurs énergétiques tirées de travaux théoriques ont été choisies en fonction des analogies des méthodes et niveaux de calcul avec nos résultats. Les valeurs théoriques correspondent à des études effectuées sur le formamide.

		AM1	HF	MP2	Exp.	
neutre	par étapes <sup>3</sup>	49.4	53.7 <sup>a</sup>	55.4 <sup>b</sup>		
	par étapes <sup>4</sup>			40.4 <sup>c</sup>		
				40.3 <sup>d</sup>		
	concerté <sup>3</sup>		58.6	61.4 <sup>a</sup>	13.8 <sup>e</sup>	
					44.7 <sup>b</sup>	
					40.2 <sup>c</sup>	
concerté <sup>4</sup>				50.7 <sup>d</sup>		
				25.0 <sup>e</sup>		
concerté <sup>5</sup>				44.3 <sup>f</sup>		
catalyse acide	concerté <sup>5</sup>			24.0 <sup>f</sup>		
				5.8 <sup>f</sup>		
	exp. 1, g				22.7	
catalyse basique	concerté <sup>5</sup>			19.1 <sup>f</sup>		
	exp. 2, g				27.1 - 29.6	

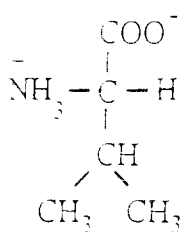
<sup>a</sup> 6/31G\*; <sup>b</sup> MP2/STO-3G//STO-3G; <sup>c</sup> MP2/6-31G\*\*//MP2/6-31G\*; <sup>d</sup> MP2/6-31G\*\*//3-21G; <sup>e</sup> calcul d'énergie libre, niveau MP2/6-31G\*\*//3-21G; <sup>f</sup> MP2/6-31G\*\*//4-31G; <sup>g</sup> hydrolyse d'anilides, voir ref. 1 et 2 pour les détails de calcul.

# C - Liste des Acides Aminés

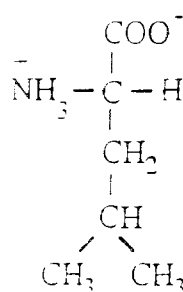
## Aliphatiques



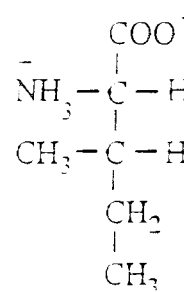
Alanine / ALA / A



Valine / VAL / V

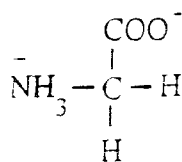


Leucine / LEU / L

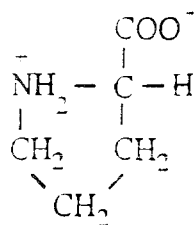


Isoleucine / ILE / I

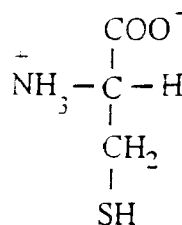
## Apolaires



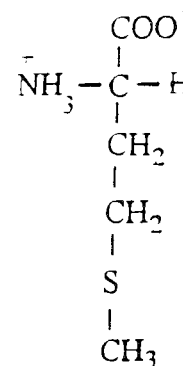
Glycine / GLY / G



Proline / PRO / P

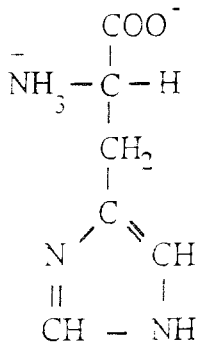


Cystéine / CYS / C

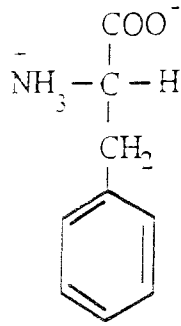


Méthionine / MET / M

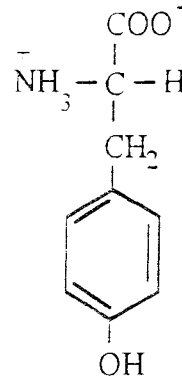
## Aromatiques



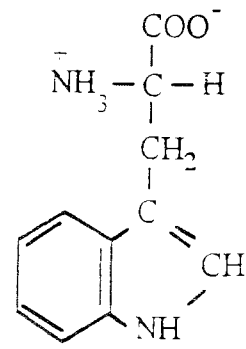
Histidine / HIS / H



Phénylalanine / PHE / F

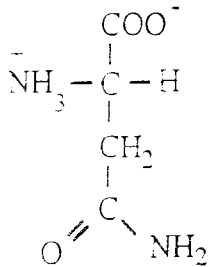


Tyrosine / TYR / Y

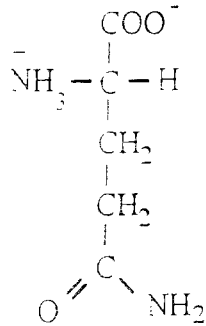


Triptophane / TRP / W

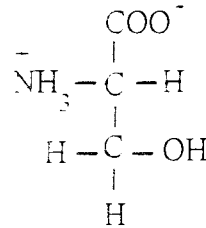
## Polaires



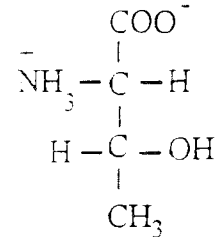
Asparagine / ASN / N



Glutamine / GLN / Q

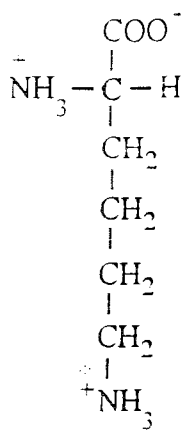


Sérine / SER / S

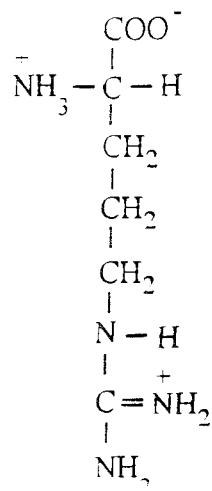


Thréonine / THR / T

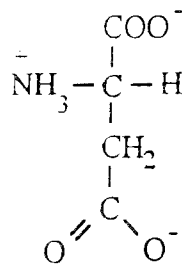
## Chargés



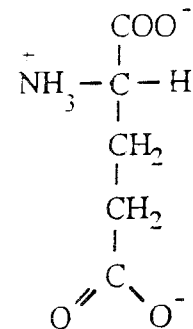
Lysine / LYS / K



Arginine / ARG / R



Aspartate / ASP / D



Glutamate / GLU / E



## D - Calculs d'erreur de superposition de base

Un des aspects importants des calculs *ab initio* tenant en compte des interactions moléculaires est l'erreur de superposition de base (BSSE)<sup>6</sup> qui existe lorsque les orbitales d'une molécule entraînent un abaissement de l'énergie de la molécule qui lui est associée dans le système. La solution la plus généralement employée pour corriger ce type d'erreur utilise le schéma de calcul proposé par Boys-Bernardi<sup>7</sup>, où les énergies des molécules séparées sont calculées dans la base d'orbitales du système complet. Toutefois, il a été remarqué que cette procédure surestime parfois l'erreur exacte de superposition de base. Les résultats obtenus par la méthode de Boys-Bernardi doivent donc être considérés comme étant la limite supérieure de cette erreur.<sup>8</sup>

Nous avons estimé l'erreur de superposition de base commise lors du calcul des énergies des processus d'hydrolyse du formamide neutre ou protoné, dans le cas des processus assisté et non-assisté. Ces calculs ont été effectués au niveau RHF/6-31G\*\* et sont regroupés dans le tableau ci-dessous. Nous pouvons constater que les processus à catalyse bifonctionnelle présente une erreur plus importante que les mécanismes non-assistés. Nous pouvons nous attendre à ce résultats dès lors que nous effectuons le calcul des barrières d'activation à partir des réactifs séparés.

Toutefois, les résultats nous montrent que l'effet de la catalyse acide n'est pas à remettre en question. Dans le cas des mécanismes neutre, la correction de cette erreur contribue à la diminution de la différences entre les barrières, rendant de ce fait les deux mécanismes compétitifs lorsque les contributions entropiques sont tenues en compte. Par contre, le mécanisme protoné assisté reste nettement favorable par rapport au processus protoné non-assisté.

Calcul de l'erreur due à la superposition de base	
TS1N	3.9
TS2N	6.4
TS1P	4.2
TS2P	6.0

## E - Calculs des contributions entropiques et enthalpiques <sup>9</sup>

Le calcul des fréquences peut être employé pour accéder aux propriétés thermodynamiques des systèmes considérés. Les entropies des différents points stationnaires de réactions chimiques font notamment partie des plus importantes propriétés qu'il est possible de calculer.

L'entropie absolue est obtenue d'après les relations de la mécanique statistique:

$$S = S_{tr} + S_{rot} + S_{vib} + S_{el} - nR[\ln(nN\theta) - 1]$$

les différents termes correspondants aux différentes fréquences de translation, rotation et vibration sont également obtenues d'après les relations communes de la mécanique statistiques<sup>10</sup>.

$$S_{el} = nR \ln(\omega_{el})$$

où  $n$  est le nombre de mole de molécules  
et  $\omega_{el}$  est la dégénérescence de l'état fondamental

Les corrections de température et d'énergie du point zéro ne nécessitent de la même façon que le jeu des fréquences des modes normaux de vibration. Elles sont également calculées à partir de la mécanique statistique, en supposant un gaz idéal. On a la relation:

$$\Delta H(T) = H_{tr}(T) + H_{rot}(T) + \Delta H_{vib}(T) + RT$$

$$\text{avec } \Delta H_{vib}(T) = H_{vib}(T) - H_{vib}(0) = Nh \sum_i^{\text{modes normaux}} \frac{\nu_i}{(e^{h\nu_i/kT} - 1)}$$

$$\text{l'énergie du point zéro étant donnée par: } H_{vib}(0) = \frac{1}{2}h \sum_i^{\text{modes normaux}} \nu_i$$

## Références

- 1 Bennet, A.J.; Slebocka-Tilk, H.; Brown, R.S.; Peter Guthrie, J.; Jodhan, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8497;
- 2 Slebocka-Tilk, H.; Bennet, A.J.; Hogg, H.J.; Brown, R.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1288.
- 3 Jensen, J.H.; Baldrige, K.K.; Gordon, M.S. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 8340
- 4 Oie, T. Loew, G.H., Burt, S.K.; Binkley, J.S.; MacElroy, R.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6169
- 5 Krug, J.P.; Popelier, P.L.A.; Bader, R.F.W. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 7604
- 6 Schwenke, D.W.; Truhlar, D.G. *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 2418
- 7 Boys, S.F.; Bernardi, F. *Mol. Phys.* **1970**, *19*, 553.
- 8 Johansson, A.; Kollman, P.; Rotherburg, S. *Theoret. Chim. Acta*, **1973**, *29*, 167
- 9 Hehre, W.J.; Radom, L.; v.R.Schleyer, P.; Pople, J.A. in *Ab Initio Molecular Orbital Theory*; Wiley, J & sons, New-York, **1986**, p.226-261
- 10 McQuarrie, D. *Statistical Mechanics*, Harper and Row, New York, **1976**

## Liste des figures

### Chapitre II:

<b>Figure 1:</b> Réaction schématique de l'hydrolyse du formamide .....	27
<b>Figure 2:</b> Structures autour desquelles ont été effectuées les recherches de TS .....	29
<b>Figure 3:</b> Hydrolyse du formamide: réaction neutre et assistée par l'eau. ....	32
<b>Figure 4:</b> Représentation schématique du dimère de l'eau.....	35
<b>Figure 5:</b> Représentation schématique du vecteur propre pour la géométrie de l'état de transition pour la réaction neutre et assistée par l'eau. ....	36
<b>Figure 6:</b> Représentation de la structure de l'état de transition correspondant au mécanisme protoné et non assisté. ....	38
<b>Figure 7:</b> Représentation schématique de la forme mésomère du formamide sous l'action de la O-catalyse par $\text{H}_3\text{O}^+$ . ....	39
<b>Figure 8:</b> Hydrolyse du formamide, catalysée par $\text{H}_3\text{O}^+$ et assistée par l'eau. ....	41
<b>Figure 9:</b> Rotation du groupe amino autour de la liaison $\text{C}_1\text{N}_1$ . ....	45
<b>Figure 10:</b> Représentation schématique du vecteur propre pour la géométrie du mécanisme protoné et assisté.....	46
<b>Figure 11:</b> Surfaces d'énergie potentielle pour l'hydrolyse du formamide assistée par l'eau. ....	48
<b>Figure 12:</b> Chemin réactionnel schématique pour les réactions d'hydrolyse du formamide .....	51
<b>Figure 13:</b> Incréments des paramètres pour les molécules de formamide et du dimère de l'eau par passage du vide en solution dans l'eau. ....	53

**Figure 14:** Représentation schématique des formes mésomères du formamide en solution..... 54

**Figure 15:** Schématisation de la rotation du groupement amino autour de la liaison C<sub>1</sub>N<sub>1</sub> dans le cas de la réaction effectuée dans le solvant. .... 57

### Chapitre III:

**Figure 16:** Structures autour de laquelle a été effectuée la recherche de TS pour la réaction neutre non-assistée..... 69

**Figure 17:** Structures autour desquelles sont été effectuées la recherche de TS pour la réaction assistée par l'eau. .... 73

**Figure 18 :** Etats de transition du mécanisme neutre assisté par une molécule d'eau en projection de Newman. .... 74

**Figure 19:** Représentation de l'état de transition concernant le processus protoné et non-assisté. .... 76

**Figure 20:** Structure autour de laquelle les recherches d'état de transition selon les méthodes ont été effectuées dans le cas du processus protoné et assisté..... 79

**Figure 21 :** Etats de transition du mécanisme protoné assisté par une molécule d'eau en projection de Newman. .... 81

### Chapitre IV:

**Figure 22:** Thermolysine donnée par le fichier PDB, après minimisation. .... 88

**Figure 23:** Représentation schématique du site actif de la Thermolysine ..... 91

**Figure 24:** Modèle du site actif de la Thermolysine. .... 91

**Figure 25:** Structure Formamide-Environnement..... 92

<b>Figure 26:</b> Représentation schématique du complexe formamide-dication $Zn^{2+}$ .....	93
<b>Figure 27:</b> Représentation de l'état de transition de la réaction d'hydrolyse du formamide catalysé, non assisté. ....	96
<b>Figure 28:</b> Représentation de l'état de transition de la réaction d'hydrolyse du formamide catalysé et assistée. ....	98
<b>Figure 29:</b> Représentation de la partie quantique correspondant au site actif apres optimisation par la méthode mixte. ....	103
<b>Figure 30:</b> Représentation de la partie quantique du complexe formamide-Thermolysine. ....	104
<b>Figure 31:</b> Représentation des interactions des différents systèmes quantiques (complexe formamide-thermolysine, TS1E et TS2E) avec les atomes de la partie classique. ....	107
<b>Figure 32:</b> Représentation de la partie quantique de l'état de transition du processus non-assisté. ....	108
<b>Figure 33:</b> Représentation de la partie quantique de l'état de transition du processus assisté. ....	110

## Liste des Tableaux

### Chapitre II:

<b>Tableau I:</b> Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Muliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales pour l'état de transition du mécanisme neutre non-assisté. ....	31
<b>Tableau II:</b> Paramètres géométriques obtenus pour la réaction d'hydrolyse neutre et assistée par une molécule d'eau du formamide. Energies totales pour plusieurs niveaux de calcul. ....	33
<b>Tableau III:</b> Indices de liaison de Mayer et charges atomiques nettes de Mulliken obtenus pour le processus neutre et assisté. ....	34
<b>Tableau IV:</b> Paramètres géométriques obtenus pour la réaction d'hydrolyse acide et non-assistée du formamide. Energies totales pour plusieurs niveaux de calcul. ....	39
<b>Tableau V:</b> Paramètres géométriques obtenus pour la réaction d'hydrolyse acide et assistée par une molécule d'eau du formamide. Energies totales pour plusieurs niveaux de calcul. ....	42
<b>Tableau VI:</b> Indices de liaison de Mayer et charges atomiques nettes de Mulliken obtenues pour le mécanisme acide et assisté. ....	43
<b>Tableau VII:</b> Energies relatives des états des réactions assistées par l'eau calculées par rapport aux réactifs séparés. ....	47
<b>Tableau VIII:</b> Bilan énergétique pour l'hydrolyse du formamide assistée par l'eau. Valeurs relatives aux réactifs séparés. ....	50
<b>Tableau IX:</b> Energie électrostatique de solvation dans l'eau pour deux conformations du formamide: plane et pyramidalisée. ....	55
<b>Tableau X:</b> Quantités Moléculaires correspondant à l'état de transition du mécanisme neutre assisté calculé à l'aide du modèle du continuum pour deux	

constantes diélectriques ( $\epsilon = 2.0$ et $\epsilon = 78.4$ ).....	56
<b>Tableau XI:</b> Energie électrostatique, de polarisation et énergie totale de solvation pour les réactifs et les TS dans le cas du mécanisme neutre assistée en solution dans l'eau .....	58
<b>Tableau XII :</b> Contributions non-électrostatiques à l'énergie de solvation pour les réactifs et les états de transition des réactions neutres assistée et non-assistée.....	60
 <b>Chapitre III:</b>	
<b>Tableau XIII:</b> Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales (en u.a.) à différents niveaux de calcul pour le formamide .....	70
<b>Tableau XIV:</b> Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales à différents niveaux de calcul pour l'état de transition du mécanisme neutre, non-assisté. ....	71
<b>Tableau XV:</b> Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales à différents niveaux de calcul pour l'état de transition du mécanisme neutre, assisté par une molécule d'eau. ....	72
<b>Tableau XVI:</b> Paramètres géométriques , charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales à différents niveaux de calculs pour le formamide protoné. ....	76
<b>Tableau XVII:</b> Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales à différents niveaux de calcul pour l'état de transition du mécanisme protoné, non-assisté.....	77
<b>Tableau XVIII:</b> Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Mulliken, ordres de liaison de Mayer et énergies totales à différents niveaux de calcul pour l'état de transition du mécanisme protoné, assisté par une molécule d'eau. ....	78



**Tableau XIX:** Energies relatives des états de transitions des différentes réactions (neutres ou protonées, assistées ou non) par rapport aux réactifs, à différents niveaux de calcul ..... 83

**Tableau XX:** Energies des différentes réactions d'hydrolyse du formamide au niveau de calcul BLYP/6-31G\*\* ..... 85

#### Chapitre IV:

**Tableau XXI:** Paramètres géométriques du complexe et des états de transition en présence du modèle du site catalytique ..... 93

**Tableau XXII:** Répartition des charges de Mulliken pour notre modèle de Thermolysine, pour le complexe et les deux états de transition ..... 94

**Tableau XXIII:** Distribution des charges pour le complexe et les deux états de transition calculées au niveau BLYP//AM1 ..... 99

**Tableau XXIV:** Indices de liaisons de Mayer pour le complexe et les deux états de transition calculés au niveau BLYP//AM1 ..... 99

**Tableau XXV:** Energies relatives des réactions d'hydrolyse du formamide assistée et non-assistée, par rapport aux réactifs ..... 100

**Tableau XXVI:** Paramètres géométriques, charges atomiques nettes de Mulliken et énergies totales pour le complexe formamide-thermolysine et les deux états de transition dans le cadre de la méthode mixte ..... 105

**Tableau XXVII:** Energies relatives des états de transition correspondant à l'hydrolyse du formamide non-assistée et assistée ..... 112

**Tableau XXVIII:** Contributions énergétiques de la partie classique à l'énergie de la partie quantique ..... 113

Nom : ANTONCZAK

Prénom : Serge

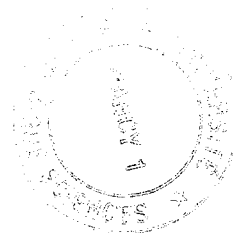
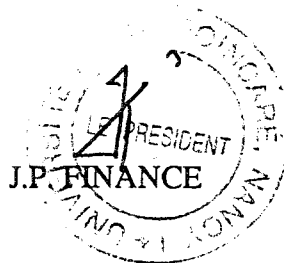
DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY-I

en CHIMIE & PHYSICO-CHIMIE MOLÉCULAIRES

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 18 DEC. 1995 n° 495

Le Président de l'Université



## RÉSUMÉ

Nous avons abordé l'étude de la réaction d'hydrolyse de peptides par la thermolysine en utilisant différents modèles quantiques et mixtes (classique/quantique) de l'enzyme et du substrat. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à un modèle très simple pour lequel des méthodes *ab initio* poussées ont été utilisées. L'hydrolyse du formamide a été analysée et nous avons examiné l'effet de la catalyse acide ainsi que celui dû à l'introduction d'une deuxième molécule d'eau dans le mécanisme réactionnel (c.à.d. catalyse bifonctionnelle ou mécanisme assisté). Nous avons également étudié les effets électrostatiques du solvant. Les mécanismes d'hydrolyse assistés sont généralement préférés aux mécanismes non-assistés. Ce fait est renforcé dans le cas des processus catalysés par  $H_3O^+$ .

Nous avons repris ces différentes réactions d'hydrolyse en utilisant un modèle relativement simple du site catalytique de la thermolysine. Cette étude a été réalisée à l'aide de méthodes semi-empiriques et DFT. Le rôle joué par les ligands du zinc pour délocaliser la charge électronique vers le catalyseur a été mis en avant. Les résultats énergétiques et géométriques obtenus sont assez proches des valeurs de la catalyse acide.

Enfin, l'utilisation d'une méthode mixte QM/MM, nous a permis d'aborder le processus enzymatique en tenant compte de l'ensemble de la structure de la thermolysine. Nous avons pu clarifier le double rôle géométrique et énergétique joué par les acides-aminés environnants. L'effet catalytique de la thermolysine est relativement faible dans le cas des mécanismes non-assistés et beaucoup plus important lors des processus assistés.

## MOTS CLES

thermolysine  
hydrolyse d'amide  
catalyse bifonctionnelle  
catalyse enzymatique

méthode mixte QM/MM  
méthode *ab initio*  
méthode DFT