

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des Sciences de la Matière

Mémoire de fin d'études
Master



M/40.180

Spécialité : Chimie physique

Présenté par : MENASRIA Salih

Intitulé :

**Aspect théorique de la réactivité chimique de méthylation
d'ADN**

Sous la Direction de :

Dr. LAFIFI Ismahane

Juin 2018

Remerciements

Je tiens à présenter mes remerciements et mon profonde gratitude avant tous à (dieu) le tout puissant qui m'a donné le courage et la force pour mener à bien ce travail.

Mes remerciements à mon encadreur madame **LAFIFI Ismahane** de m'avoir guidé à travers ces discussions et ces précieux conseils, je lui exprimé tous respect et reconnaissance.

Mes sincères remerciements sont adressés aux membres de jury qui ont acceptés de jury ce travail.

Mes vifs remerciements sont adressés à madame **NOUAR Leila**, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire **LCCN** au sein du quelle j'ai réalisé mon travail.

Je tiens à remercier aussi Monsieur **ZANAT kamel** pour ces encouragements et son soutien.

Je remercie également mes amis avec lesquels j'ai passé d'agréables moments. Et à qu'ils j'exprime toute mon amitié.

*Parfois, on fixe le ciel en regardant une étoile et on pense à
une personne, avec les larmes aux yeux ...*

C'est ça le manque.

*10 ans ont passé, 10 ans sans toi, sans ta voix, tes mots de
réconfort. Je ne m'y ferai sans doute jamais, dès qu'arrive
la date de ton départ, je ne suis plus la même...*

*Les souvenirs envahissent mon esprit et je me sens
tourmenté.*

*La vie continue avec ses joies et ses peines,
malheureusement tu n'es plus là. Mais tu es dans mon
cœur à tout jamais ma petite maman.*

Je t'aime maman

Résumé

La méthylation de l'ADN est une modification épigénétique pouvant être transmise lors des divisions cellulaires et n'impliquant pas de modification de la séquence d'ADN, cette modification catalysée par les résidus cystéine et acide glutamique de l'enzyme DNMT qui catalysent le transfert de méthyle de S-adénosylméthionine vers la position C5 de la base pyrimidine de l'ADN (cytosine) pour former 5-méthylcytosine.

Dans cette étude, la méthode de DFT/B3LYP à base 3-21+G* a été appliquée pour étudier le processus de méthylation de la cytosine, trois réactions ont été étudiées : attaque nucléophile suivie par un transfert de proton pour stabiliser la charge négative sur l'anneau pyrimidine de la cytosine puis une substitution nucléophile. On a rencontré de difficultés de calcul et on n'a pas pu accéder à une étape importante de β -élimination par le logiciel.

L'étude de la réactivité chimique de la réaction de méthylation de l'ADN a été effectuée par la localisation des états de transition par QST2 suivie par un calcul IRC pour la validation du chemin réactionnel de différentes étapes de méthylation, les propriétés thermodynamiques ont été montrées que la réaction est spontanée et favorable. Les énergies des orbitales frontières HOMO et LUMO ont confirmé les résultats thermodynamiques.

Mots clés : DFT, 3-21+G*, cytosine, réactivité, état de transition, épigénétique, attaque nucléophile méthylation ADN.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : APPROCHE THEORIQUE DE LA REACTIVITE CHIMIQUE	
1. INTRODUCTION	2
2. STRUCTURE DE L'ADN	2
3. LA METHYLATION DE L'ADN	3
3.1. Découvert de méthylation d'ADN	4
3.2. Les sites de méthylation de l'ADN (cytosine)	5
4. LES METHYLTRANSFERASES DE L'ADN (DNMT) :	6
5. MAINTIEN DE LA METHYLATION DE L'ADN	7
a. Comment la cellule assure-t-elle l'hérédité précise des étiquettes de méthylcytosine ?	7
b. Comment DNMT1 reconnaît-il l'ADN hémiméthylé ?	8
Références	9
CHAPITRE II : METHODES DE CALCULS QUANTO-CHIMIQUES	
1.1. Equation de Schrödinger	11
1.2. Approximation de Born-Oppenheimer	12
1.3. L'approximation orbitalaire et déterminant de Slater	13
1.4. Méthode de Hartree-Fock	14
1.5. L'approximation LCAO et les équations de Hartree-Fock Roothaan	17
2. METHODES DE LA FONCTIONNELLE DE LA DENSITE	18
Fondement de la théorie DFT :	18
2.1. Théorème de Hohenberg et Kohn	18
2.1.1. Première méthode :	18
2.1.2. Deuxième méthode	20
2.2. La méthodologie de Kohn-Sham	20
2.3. Les fonctionnelles d'échange-corrélation	21
2.4. Approximation locale de la densité (LDA)	22
2.5. Approximation du gradient généralisé (GGA)	23
2.6. Les fonctionnels hybrides	23
Références:	24

CHAPITRE III : APPROCHE THEORIQUE DE LA REACTIVITE CHIMIQUE

1. INTRODUCTION	26
2. SURFACE D'ENERGIE POTENTIELLE SEP	27
2.1. L'Exploitation de la surface d'énergie potentielle	28
2.2. Théorie de l'état de transition	28
2.2.1. Difficultés dans l'application de la TST	30
2.2.2. Recherche d'état de transition	31
3. CHEMIN DE REACTION (COORDONNEE DE REACTION)	31
3.1. Coordonnées intrinsèques de réaction	32
3.2. IRC (Intrinsic Coordinate Reaction).....	32
4. DETERMINATION DES GRANDEURS THERMODYNAMIQUES.....	34
5. LA THEORIE DES ORBITALES FRONTIERES (FMO)	35
5.1. Approximations des orbitales frontières.....	36
Références:.....	37

CHAPITRE IV : APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSION

1. INTRODUCTION	39
2. METHODOLOGIE DE CALCUL.....	40
2.1. Recherche de l'état de transition	40
2.2. Calcule IRC	41
3. DISCUSSION DES RESULTATS	41
3.1. Optimisation des géométries initiales.....	41
3.2. Les états de transitions.....	44
3.3. Chemin réactionnel (IRC)	47
a) Réaction de l'attaque nucléophile de Cys-S ⁻	47
b) Stabilise la charge négative sur la cystéine par Glu.....	48
c) L'activation de C5 pour la substitution électrophile par le groupe méthyle de SAM	49
4. LES ORBITALES FRONTIERES HOMO/HUMO	50
a) L'écart énergétique $\Delta(\text{HOMO-LUMO})$ des réactifs.....	50
b) L'écart énergétique $\Delta(\text{HOMO-LUMO})$ des produits	51
Références :	52
CONCLUSION GENERALE	53

Liste des abréviations

ADN	L'acide désoxyribonucléique.
C	Cytosine.
Cys-s-	cystéine
5mC	5- méthylcytosines.
CpG, CpG Islands, CGIs	Dinucléotides Cytosine Guanine.
DNMT, MTase	ADN méthyl-transférases.
DFT	Théorie de la fonctionnelle de la densité
IRC	Coordonnées intrinsèques de réaction.
GGA	Approximation du gradient généralisé.
GLU	Acide Glutamique
HOMO	Plus haute orbitale moléculaire occupée
LCAO	Combinassions Linéaire des Orbitales Atomiques.
LUMO	Plus basse orbitale moléculaire inoccupée
LDA	Approximation locale de la densité.
OA, OF ,OM	Orbitales (Atomiques, Frontières, moléculaire).
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen.
SAH	S-adénosyl-L-homocystéine
SAM	S-adénosylméthionine.
SCF	Self-Consistent Field.
SEP	Surface d'énergie potentielle.
TS	Etat de transition.
TST	Théorie de l'état de transition.

Liste des figures

Figure I. 1: Représentation d'une molécule de l'ADN montrant la double hélice en mauve.....	3
Figure I. 2: différentes Molécules liées à la méthylation de d'ADN	4
Figure I. 3: Méthylation de l'ADN par les DNMT.....	6
Figure I. 4: Le processus global de la méthylation de l'ADN par dnmt1 au cours de la réplication.....	7
Figure I. 5: Interactions moléculaires permettant à DNMT1 d'avoir une forte affinité pour les sites hémiméthylé.....	8
Figure III. 1: Schéma tridimensionnel d'une SEP.....	28
Figure III. 2: Illustration schématique du chemin de la réaction	29
Figure III. 3: Illustration de la méthode d'optimisation contrainte de Gonzales-Schlegel pour suivre un IRC.....	33
Figure IV. 1: représente le mécanisme de méthylation de la cytosine	39
Figure IV. 2: les structures optimisées des molécules cystéine, SAM, GLU, cytosine et 5mc par la méthode B3LYP/6-31+G (d, p).....	42
Figure IV. 3: Profil énergétique en kcal/mol d'une réaction de méthylation de l'ADN déterminé par DFT/B3LYP 3-21+G* à T = 298,15	47
Figure IV. 4: illustration des longueurs de liaison, mécanisme réactionnel et le chemin réactionnel de la première réaction	48
Figure IV. 5: illustration des longueurs de liaison, mécanisme réactionnel et le chemin réactionnel de la deuxième réaction	49
Figure IV. 6: illustration des longueurs de liaison, mécanisme réactionnel et le chemin réactionnel de la troisième réaction.....	50
Figure IV. 7: Figure IV.7 : Illustration des orbitales frontières des réactifs par DFT/B3LYP 3-21+G* ...	51
Figure IV. 8: Illustration des orbitales frontières des produits par DFT/B3LYP 3-21+G*	52

List des tableaux

Tableau 1: Energies absolues E (kcal/mol), Energie de pont -zéro EZPE (kcal/mol) et les moments dipolaires μ (Debye) des géométries optimisées par la méthode B3LYP/ STO-3G*, 3-21+G*, 6-31+G (d, p)	44
Tableau 2: Propriétés thermodynamiques, énergies, énergies d'activation (kcal/mol) calculés par la méthode B3LYP/ 3-21+G*	46

INTRODUCTION GENERALE

CHAPITRE I :

*INTRODUCTION A LA
METHYLATION D'ADN*

L'épigénétique est l'étude des changements héréditaires dans l'expression génique (gènes actifs par rapport aux gènes inactifs) qui n'impliquent pas de changements à la séquence d'ADN. Le changement épigénétique est un phénomène régulier et naturel mais parfois ils peuvent avoir des effets plus dommageables pouvant entraîner des maladies comme le cancer. Parmi le mécanisme épigénétique c'est la méthylation de l'ADN qui implique sur l'addition d'un groupe méthyle de S-Adenosylmethionine sur la position C5 d'une base pyrimidique de l'ADN (cytosine).

La réaction de méthylation est catalysée par des enzymes d'ADN méthyltransférases pour former 5-méthylcytosine. Ce dernier est plus stable que la cytosine

Ce travail, s'inscrit dans l'axe de recherche << Aspect théorique de la réactivité chimique de méthylation d'ADN >>. Il s'agit-là de comprendre de façon approfondie la chimie de l'acide désoxyribonucléique (ADN) car l'intégrité de cette molécule constitue la condition nécessaire à la conservation de l'information génétique chez tous les êtres vivants. Au cours de ce travail, notre but s'est porté plus particulièrement sur l'étude de la réactivité chimique de méthylation de cytosine et comprendre les mécanismes réactionnels impliqués jusqu'à la formation de 5-méthylcytosine par les méthodes de la modélisation moléculaire.

Les théories quantiques de réactivité permettent, actuellement d'élaborer les mécanismes réactionnels et les profils énergétiques, tous les aspects énergétiques, cinétiques et thermodynamiques ont été traitées avec des méthodes de la mécanique quantique. Cette évaluation permet de déterminer la stabilité des différentes espèces chimique.

Parmi toutes les méthodes de chimie quantique dont disposent les chimistes théoriciens, ce sont celles basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) qui ont été utilisées, pour le bon compromis qu'elles offrent entre fiabilité et effort calculatoire car elles ne sont pas centrées autour de la fonction d'onde, mais autour de la densité électronique

Plusieurs théories ont été élaborées pour l'étude de la réactivité chimique. la méthodes la plus répandue et la plus utilisée est :

Théorie de l'état de transition : cette théorie a montré son efficacité pour l'étude des mécanismes de nombreuses classes de réactions chimiques. Cependant, la localisation précise des états de transition est une tâche difficile et parfois impossible surtout pour les réactions Complexes.

1. Introduction

Chacune de nos cellules contient l'ensemble de notre patrimoine génétique : 46 chromosomes hérités de nos parents sur lesquels on compte environ 25 000 gènes. Mais si toutes nos cellules contiennent la même information, elles n'en font visiblement pas tout le même usage : une cellule de la peau ne ressemble en rien à un neurone, une cellule du foie n'a pas les mêmes fonctions qu'une cellule du cœur. De même, deux jumeaux qui partagent le même génome ne sont jamais parfaitement identiques ! Dans ces exemples et dans bien d'autres, la clé du mystère se nomme "épigénétique"[1].

Alors que la génétique correspond à l'étude des gènes, l'épigénétique s'intéresse à une "couche" d'informations complémentaires qui définit comment ces gènes vont être utilisés par une cellule... ou ne pas l'être [2]. En d'autres termes, l'épigénétique correspond à l'étude des changements dans l'activité des gènes, n'impliquant pas de modification de la séquence d'ADN et pouvant être transmis lors des divisions cellulaires. Contrairement aux mutations qui affectent la séquence d'ADN, les modifications épigénétiques sont réversibles.

Les modifications épigénétiques constituent des changements dans l'expression des gènes causés par des mécanismes qui n'affectent pas la séquence de l'ADN et qui sont transmissibles à la descendance [3]. Elles peuvent être de plusieurs ordres, la méthylation de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones, les variantes d'histones, les complexes de remodelage de la chromatine ATP-dépendants et les ARNs non-codant, la chromatine constituant le support de ces modifications épigénétiques.

L'un des mécanismes épigénétiques est la « méthylation » de l'ADN, c'est-à-dire l'addition d'une molécule (CH_3) un groupe méthyle à la séquence des gènes. Cet ajout peut inactiver les gènes ou encore leur permettre de fonctionner à pleine capacité ou partiellement.

2. Structure de l'ADN

L'acide désoxyribonucléique, ou ADN, est présent dans toutes les cellules vivantes. Il constitue le support de l'information génétique, dont la structure en "double hélice" [4](figure 1.1) ce qui veut dire qu'elle a la forme de deux brins enroulés l'un autour de l'autre. Elle est formée par une succession de petites unités appelées nucléotides [5] Chaque nucléotide est composé d'un sucre (le desoxyribose) et d'une base azotée (A, C, T ou G pour Adénine, Cytosine, Thymines et Guanine) [6]. Un brin d'ADN peut donc être schématisé par une

succession des bases azotées. Au sein de la double hélice les bases sont associées par paires. Dans chaque paire il y a toujours une purine associée à une pyrimidine. L'association se fait par des liaisons faibles : les liaisons hydrogènes, deux liaisons pour une paire AT ; trois liaisons pour une paire GC. Lorsque l'on connaît la séquence d'un brin on peut en déduire la séquence de l'autre brin. Les deux brins sont orientés de manière opposée par rapport aux extrémités 3' et 5' (les brins sont dits antiparallèles).

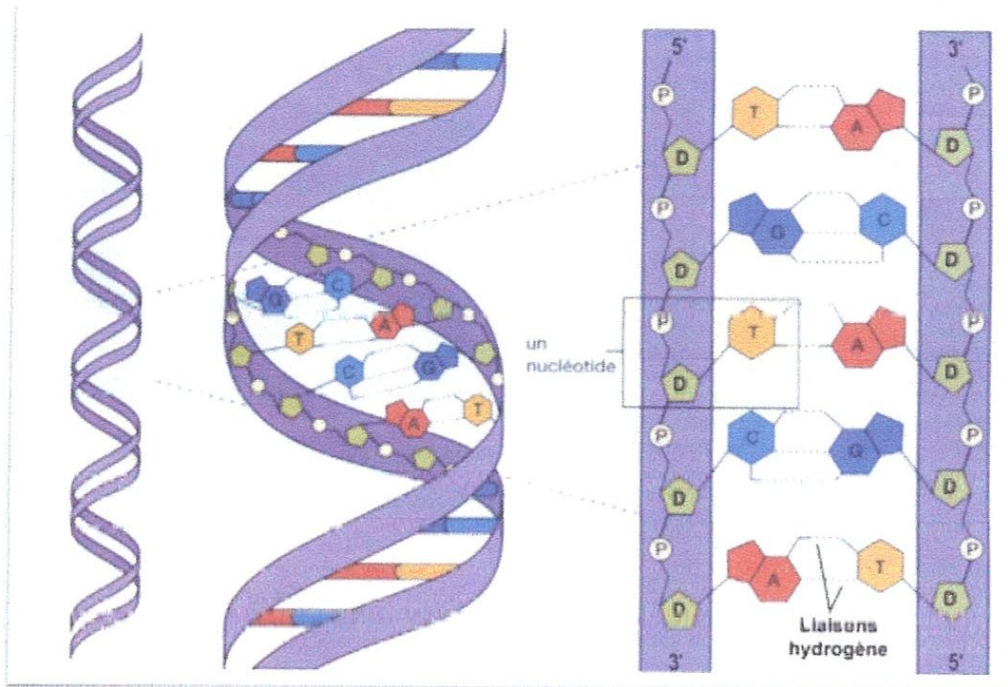


Figure I. 1: Représentation d'une molécule de l'ADN montrant la double hélice en mauve

3. La méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN est un mécanisme épigénétique utilisé par les cellules pour contrôler l'expression des gènes. Un certain nombre de mécanismes existent pour contrôler l'expression des gènes chez les eucaryotes, mais la méthylation de l'ADN est un outil de signalisation épigénétique couramment utilisé qui peut fixer les gènes dans la position «OFF».

Au cours des dernières décennies, les scientifiques ont fait diverses découvertes sur la méthylation de l'ADN et son importance pour un certain nombre de processus cellulaires tels

que le développement embryonnaire, l'inactivation du chromosome X, l'empreinte génomique, la suppression des gènes, la cancérogenèse et la stabilité chromosomique. Les chercheurs ont lié la méthylation anormale de l'ADN à plusieurs issues défavorables, y compris les maladies humaines [7].

3.1. Découvert de méthylation d'ADN

L'ADN provenant de diverses sources contient les bases méthylées C5-méthylcytosine, N4-méthylcytosine et N6-méthyladénine en plus des quatre nucléobases standards (figure 1.2a).

La méthylation de la cytosine à la position C5 a déjà été découverte dans l'ADN du thymus de veau en 1948 par des expériences de chromatographie sur papier [8] et la 6-méthyladénine dans l'ADN bactérien en 1955 [9]. La N4-méthylcytosine, troisième base méthylée la moins commune dans l'ADN bactérien, a été décrite pour la première fois en 1983 [10]. La méthylation des nucléobases à ces positions place les groupes méthyle dans la rainure principale de l'ADN B double brin, où ils n'interfèrent pas avec l'appariement de base Watson / Crick, mais peuvent être facilement détectés par des protéines interagissant avec l'ADN (Figure 1.2b). Par ce mécanisme, la méthylation ajoute des informations supplémentaires à l'ADN qui n'est pas codé dans la séquence d'ADN.

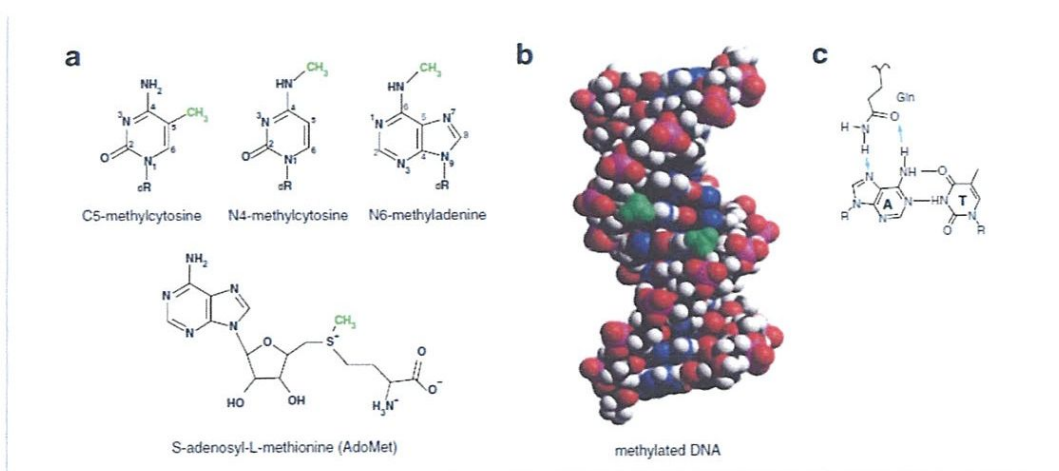


Figure I. 2: différentes Molécules liées à la méthylation de d'ADN

3.2. Les sites de méthylation de l'ADN (cytosine)

Les cytosines peuvent être modifiées par l'ajout d'un groupement méthyle. Cette réaction est effectuée par des enzymes particulières : les ADN méthyl-transférases (DNMT). Ces enzymes catalysent le transfert d'un groupement méthyle d'une S-adénosylméthionine (SAM) sur des résidus cytosine ou adénine. La S-adénosylméthionine est un métabolite présent dans les cellules, qui agit comme coenzyme dans les transferts de groupement méthyle. Chez les Mammifères, les cytosines méthyles se trouvent souvent dans des zones riches en cytosines et guanines, appelés îlots CpG (figure 1.3). De ce fait, la méthylation de l'ADN est une modification chimique de l'ADN qui ne modifie en rien la séquence d'acides nucléiques de l'ADN. Bien que la méthylation de l'ADN chez les mammifères se produise majoritairement au niveau des dinucléotides CpG, il est à noter que celle-ci peut également toucher les trinucleotides CpHpG et CpHpH (H = A, C ou T) au sein de cellules embryonnaire murines [11,12] par exemple. Chez l'homme, les 5 méthylecytosines (5mC) représentent environ 1% de toutes les bases composant le génome et elles occupent 70-80% des dinucléotides CpG [13]. Cependant, certaines régions particulièrement riches en CpG, appelées îlots CpG, sont généralement dépourvues de 5mC. La littérature décrit les îlots CpG (ou CpG Islands, CGIs) comme étant des régions de plus de 500 paire de bases et dont la composition en dinucléotide CpG est supérieure à 55% avec un ratio (CpG observé) / (CpG attendu) supérieur à 0,65 [14,15]. De plus, les CGIs sont décrits comme étant majoritairement localisés au niveau des régions TSS (transcription start site) des gènes (50%), mais sont aussi présents au niveau des régions intra géniques (25%) et intergéniques (25%) [16]. Même si certains CGI, comme ceux correspondant à TSS inactifs, peuvent être méthylés, les motifs 5mC se retrouvent principalement en dehors des îlots CpG [17].

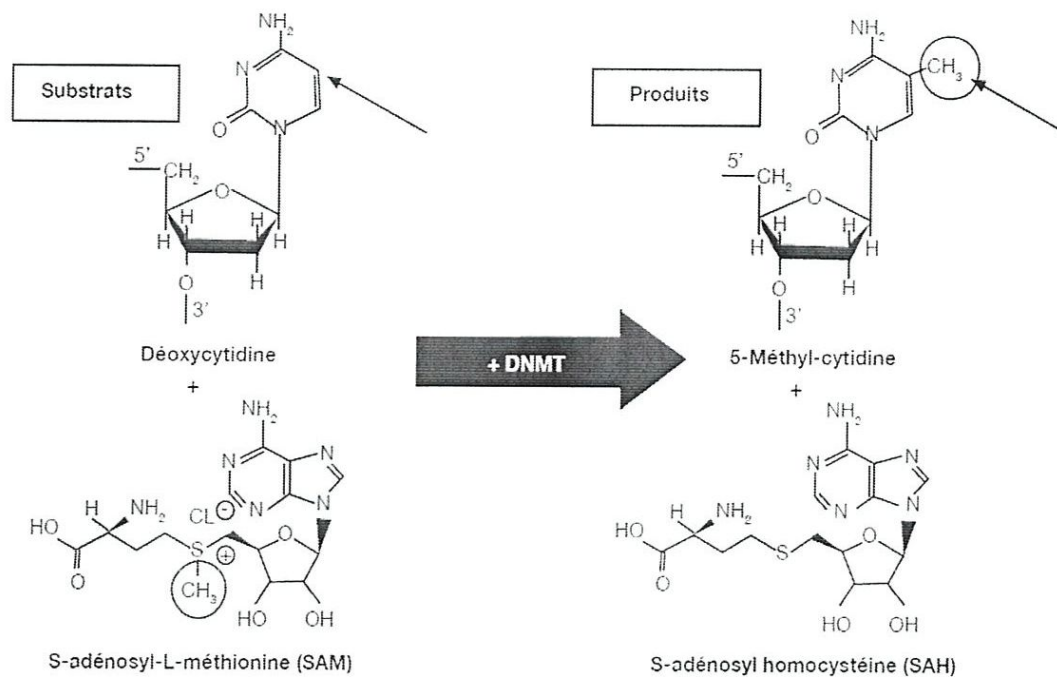


Figure I. 3. Méthylation de l'ADN par les DNMT

4. Les méthyltransférases de l'ADN (DNMT) :

Les ADN méthyltransférases humaines (DNMT) catalysent la formation de 5-méthylcytosine (5mC) aux sites CpG sur l'ADN, c'est un marque épigénétique clé présente dans le génome humain [18]. Chez les mammifères, Il existe deux types de méthylation : Méthylation de maintenance et méthylation de novo. La Méthylation, qu'elle soit *de novo* ou de maintenance, est assurée par une famille d'enzyme de DNMT.

La DNMT1 est responsable de la maintenance des profils de méthylation à partir de l'ADN hémiméthylé durant la division cellulaire et de façon synchrone à la réplication de l'ADN [19]. Plus courte, homologue dans sa partie C-terminale à la DNMT1, La DNMT2, bien que catalytiquement inactive, peut également se lier à l'ADN [20]. Sa fonction serait de méthyler les séquences rétrovirales intégrées.

Enfin, deux membres de la famille DNMT3 (DNMT3a et DNMT3b) sont, quant à elles, responsables de la méthylation *de novo* [21].

5. Maintien de la méthylation de l'ADN

a. Comment la cellule assure-t-elle l'hérédité précise des étiquettes de méthylcytosine ?

De tous les processus moléculaires impliqués dans l'hérédité transgénérationnelle épigénétique, le maintien des modèles de méthylation au cours de la division cellulaire est le mieux compris. La méthylation des résidus cytosine est maintenue par DNMT1.

La figure ci-dessous montre le processus global par lequel DNMT1 méthyle l'ADN au cours de la réplication de l'ADN.

Premièrement, l'ADN est recruté dans la fourche de réplication via son association avec PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) [22], la pince ADN qui confère la processivité aux polymérases (présentées ci-dessous comme un anneau orange). Puis, DNMT1 reconnaît les sites hémiméthylés [23], des paires de dinucléotides CG qui ont une méthylcytosine sur le brin d'origine et une cytosine nucléobase normale sur le brin nouvellement synthétisé.

Une fois que DNMT1 se lie au site hémiméthylé, il transfère un groupe méthyle sur le résidu cytosine nouvellement synthétisé, ce qui entraîne une copie précise de la marque méthyle.

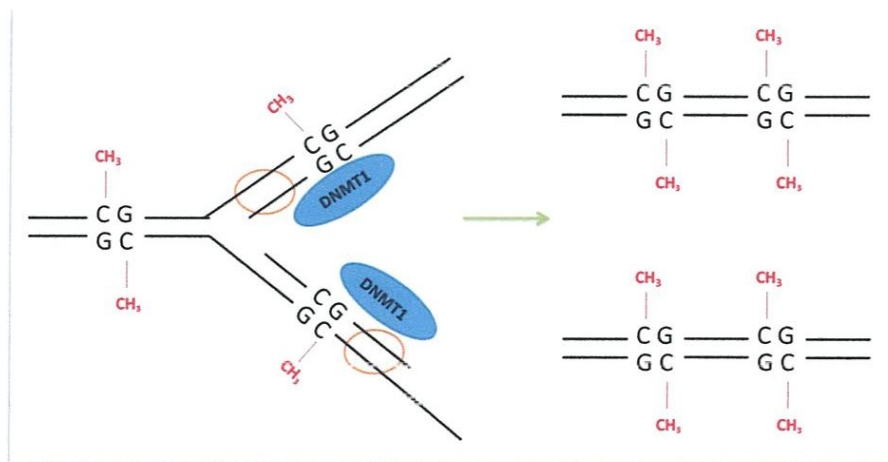


Figure I. 4: Le processus global de la méthylation de l'ADN par dnmt1 au cours de la réplication

b. Comment DNMT1 reconnaît-il l'ADN hémiméthylé ?

La caractéristique clé qui permet à DNMT1 de fonctionner comme mainteneur de modèles de méthylation est sa haute affinité pour l'ADN hémiméthylé, empêchant l'enzyme de méthyler les résidus de cytosine au hasard.

En 2012, la structure cristalline du DNMT1 murin lié à l'ADN hémiméthylé a finalement permis d'élucider les détails moléculaires de cette spécificité [24]. Il s'avère que l'enzyme a une poche hydrophobe composée de Cys1501, Leu1502, Leu1515 et Met1535 qui entoure le groupe méthyle du site hémiméthylé, comme le montre la figure ci-dessous. Cette association permet à un résidu Trp de glisser partiellement dans l'hélice d'ADN, d'interagir avec les bases par des interactions d'empilement et de maintenir l'enzyme étroitement associée à l'ADN. Avec l'enzyme effectivement bloquée sur l'ADN, la méthyltransférase peut avoir lieu

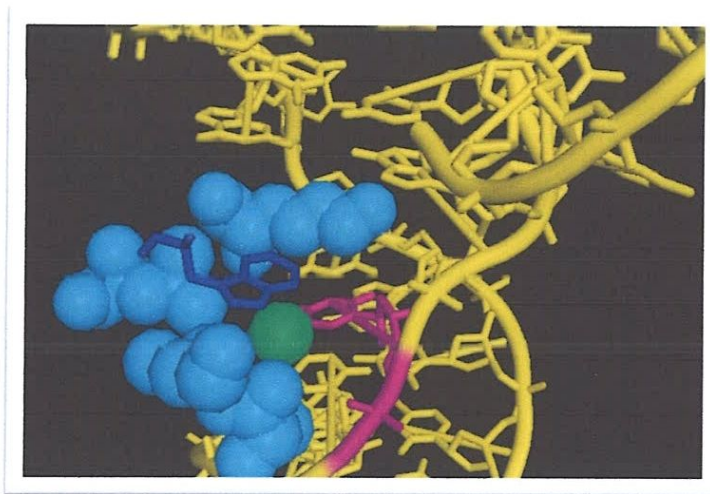


Figure I. 5: Interactions moléculaires permettant à DNMT1 d'avoir une forte affinité pour les sites hémiméthylé

Références:

- [1] <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/epigenetique>
- [2] Dossier « *Épigénétique* » [archive], sur le site de l'INSERM, février 2015 (consulté le 3 septembre 2015).
- [3] SL. Berger, T. Kouzarides, R. Shiekhattar and A. Shilatifard. An operational definition of epigenetics. *Genes & development*. 23, 781-7831 (2009)
- [4] S. Elrod, W. Standfield. *Génétique*, 4ème édition, Paris. P 79 (2003).
- [5] M. Levitt. Folding of nucleic acids. *Polymerization in biological systems*, Ciba Foundation Symposium 7, Elsevier, Amsterdam. 146-171 (1972).
- [6] G. Karp. *Biologie cellulaire et moléculaire*, 2ème édition, Paris. P 79 (2004).
- [7] http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/introduction/structure_adn.html
- [8] DB. Dunn, JD. Smith. *Occurrence of a new base in the deoxyribonucleic acid of a strain of Bacterium coli*. *Nature*.175(4451):336–7 (1955).
- [9] RD. Hotchkiss. *The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography*. *J Biol Chem*. 175(1):315–32(1948).
- [10] A. Janulaitis, S. Klimasauskas, M. Petrusyte, V. Butkus. *Cytosine modification in DNA by BcnI methylase yields N4-methylcytosine*. *FEBS Lett*.161(1):131–4(1983).
- [11] R. Lister, M. Pelizzola, R. Downen, et al. *Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences*. *Nature*, 462 (7271) pp. 315-322 (2009)
- [12] A. Meisner, T. Mikkelsen, H. Gu, et al. *Genome scale DNA methylation maps of pluripotent and differentiated cells*. *Nature*, 454 (7205), pp. 76-80 (2008)
- [13] N. Blackledge, R. Klose. *CpG island chromatin: a platform for gene regulation*. *Epigenetics*, 6 (2), pp. 147-152 (2011).
- [14] D. Takai, P. Jones *Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 99 (6, pp. 3740-3745) (2002).
- [15] M. Gardiner-Garden, M. Frommer. *CpG islands in vertebrate genomes*. *J Mol Biol*, 196 (2), pp. 261-282(1987).
- [16] A. Deaton, A. Bird. *CpG islands and the regulation of transcription*. *Genes Dev*. 25 (10), pp. 1010-1022 (2011).
- [17] R. Rollins, F. Haghghi, J. Edwards, et al. *Large-scale structure of genomic methylation patterns*. *Genome Res*. 16 (2), pp. 157-163 (2006).
- [18] A. Bird. *DNA methylation patterns and epigenetic memory*. *Genes Dev*.16(1):6–21(2002).

- [19] TH. Bestor. *The DNA methyltransferases of mammals*. Hum Mol Genet. 9 : 2395-402(2000).
- [20] A. Dong, JA. Yoder, X. Zhang, L. Zhou, TH. Bestor, X. Cheng. *Structure of human DNMT2, an enigmatic DNA methyltransferase homolog that displays denaturant-resistant binding to DNA*. Nucleic Acids Res. 29: 439-48 (2001).
- [21] S. Xie, Z. Wang, M. Okano, M. Nogami, Y. Li, et al. *Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family*. Gene. 236: 87-95 (1999).
- [22] LS. Huang, HI. Ian, TW. Koh, et al. *Human DNA-(cytosine-5) methyltransferase-PCNA complex as a target for p21WAF1*. Science 277 (5334): 1996–2000 (1997).
- [23] S. Pradhan, A. Bacolla, RD. Wells, and RJ. Roberts. *Recombinant Human DNA (Cytosine-5) Methyltransferase: expression, purification, and comparison of de novo and maintenance methylation*. J. of Biol. Chem. 274:33002-33010 (1997).
- [24] J. Song and DJ. Patel. *Structure-Based Mechanistic Insights into DNMT1-Mediated Maintenance DNA Methylation*. Science 335: 709-712 (2012).

CHAPITRE II :

*M*ETHODES DE CALCULS
QUANTO-CHIMIQUES

1. Equations et principes fondateurs

1.1. Équation de Schrödinger

La chimie quantique est basée sur la résolution de l'équation de Schrödinger [1] afin de déterminer l'énergie et la fonction d'onde d'une molécule. L'équation de Schrödinger indépendante du temps pour une molécule s'écrit :

$$\hat{H}_{\text{tot}} \Psi_{\text{tot}}(r,R) = E_{\text{tot}} \Psi_{\text{tot}}(r,R) \quad (01)$$

Où r : le vecteur de position pour les électrons et R : le vecteur position pour les noyaux.

L'opérateur hamiltonien total de la molécule, \hat{H}_{tot} , s'écrit comme la somme des énergies cinétiques et potentielles des noyaux et des électrons.

$$\hat{H}_{\text{tot}} = \hat{T}_N + \hat{T}_e + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{N,N} \quad (02)$$

Opérateur cinétique des électrons	Opérateur d'attraction des électrons par les noyaux	Opérateur de répulsion électrostatique entre les électrons	Opérateur cinétique des noyaux
-----------------------------------	---	--	--------------------------------

$$\hat{H} = - \sum_{k=1}^{n_e} \frac{\hbar^2}{2m_e} \cdot \nabla_k^2 - \sum_{k=1}^{n_e} \sum_{A=1}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_A}{r_{kA}} + \sum_{k=1}^{n_e} \sum_{k>1}^{n_e} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 \cdot r_{kl}} - \sum_{k=1}^N \frac{\hbar^2}{2M_A} \nabla_{RA}^2$$

$$+ \sum_{A=1}^N \sum_{A<B}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Opérateur de répulsion électrostatique entre les noyaux

(03)

Soit en unité atomique,

$$\hat{H}_{\text{tot}} = - \sum_A^M \frac{\nabla_A^2}{2M_A} - \sum_i^N \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_i^N \sum_{iA}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_i^N \sum_{i<j}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_A^M \sum_{A<B}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (03)$$

Avec N, le nombre total d'électrons, i et j, les indexes courants sur les électrons, M le nombre total de noyaux, A et B les indexes courants sur les noyaux.

La résolution exacte de l'équation de Schrödinger n'est possible que pour les systèmes hydrogénoïdes (à un électron). Dans tous les autres cas, il faut avoir recours à des approximations.

1.2. Approximation de Born-Oppenheimer

L'approximation de Born-Oppenheimer [2] est utilisée pour simplifier le problème moléculaire en séparant les mouvements électroniques et nucléaires. Cette approximation est basée sur le fait que les électrons, beaucoup moins lourds que les noyaux, peuvent s'adapter quasi instantanément aux déplacements nucléaires. Ainsi, la distribution électronique au sein d'une molécule dépend surtout de la position des noyaux et non pas de leurs vitesses. C'est pourquoi le terme d'énergie cinétique des noyaux, T_N (équation 02), est négligé lors de la résolution du problème électronique.

L'approximation d'Oppenheimer permet de résoudre les problèmes nucléaires et électroniques de façon indépendante. On écrit la fonction d'onde totale sous la forme du produit d'une fonction d'onde électronique avec une fonction d'onde nucléaire :

$$\Psi_{BO}(\{r\}; \{R\}) = \psi_e(\{r\}; \{R\})\psi_{nucl}(\{R\}) \quad (04)$$

Pour la majorité des systèmes, l'approximation de Born-Oppenheimer introduit seulement une erreur très faible. Une fois placé dans le cadre de cette approximation, le problème est de résoudre d'abord l'équation de Schrödinger électronique pour un jeu de coordonnées nucléaires, R (équation 1), devenues des paramètres :

$$\hat{H}_{elec} = \hat{H}_e + \hat{V}_{N,N} \quad (05)$$

$$\hat{H}_e \psi_e(\mathbf{r}; \mathbf{R}) = E_e \psi_e(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \quad (06)$$

$$\hat{H}_e = - \sum_i^N \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_i^N \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_i^N \sum_{i < j}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (07)$$

L'opérateur hamiltonien électronique \hat{H}_e s'écrit :

$$\hat{H}_e = \hat{T}_e + \hat{V}_{N,e} + \hat{V}_{e,e} \quad (07)$$

Dans un deuxième temps, on résout l'équation de Schrödinger pour les noyaux. La fonction d'onde électronique dépend paramétriquement de la géométrie nucléaire et est une fonction propre de l'hamiltonien électronique. La somme de la valeur propre associée (l'énergie électronique) et du potentiel de répulsion coulombienne V_{NN} définit un potentiel effectif qui gouverne les mouvements nucléaires. Ceux-ci varient donc d'un état électronique à un autre. Par conséquent, les noyaux dans l'approximation de Born-Oppenheimer se déplacent sur une surface de potentiel obtenue en résolvant le problème électronique :

$$\left\{ \hat{T}_N + E_e + \hat{V}_{NN} \right\} \psi_{\text{nucl}}(\{\mathbf{R}\}) = E_{\text{BO}} \psi_{\text{nucl}}(\{\mathbf{R}\}) \quad (08)$$

Les solutions de l'équation de Schrödinger nucléaire décrivent la vibration, la rotation et la Translation d'une molécule. L'énergie totale dans l'approximation de Born-Oppenheimer E_{BO} , inclut les énergies électroniques, vibrationnelle, rotationnelle et de translation.

1.3. L'approximation orbitélaire et déterminant de Slater

L'approximation orbitélaire, introduite par Hartree en 1928 [3], et qui est utilisée dans toutes les méthodes qui suivent, consiste à écrire la fonction multiélectronique $\Psi(1,2,\dots,n_e)$ en un produit de n_e spinorbitales monélectroniques supposées normalisées (Hartree). Cette situation correspond physiquement à un modèle de particules indépendantes. La forme la plus simple est :

$$\Psi = \varphi_1(1) \cdot \varphi_2(2) \cdot \varphi_3(3) \cdot \dots \cdot \varphi_{n_e}(n_e) \quad (09)$$

Où chaque spin orbitale φ_i , est le produit d'une fonction d'espace φ_i , et d'une fonction de spin

$$\varphi_i(r_i, s_i) = \varphi_i(r_i) \cdot \eta(s_i) \quad (10)$$

La fonction de spin n'admet que 2 formes notées α pour $m_{s_i} = 1/2$ et β pour $m_{s_i} = -1/2$.

On adopte souvent la notion suivante pour une spinorbitale :

$$\varphi_i\alpha = \varphi_i \quad \text{et} \quad \varphi_i\beta = \bar{\varphi}_i \quad (11)$$

Hartree et Fock ont généralisé le concept en montrant que le principe d'exclusion de Pauli [4] (Qui impose à deux électrons de ne pas pouvoir occuper la même spin-orbitale) est respecté si on écrit la fonction d'onde sous la forme d'un déterminant construit à partir de n_e spin-orbitale. [5] On obtient alors ce qui est connu sous le nom de « déterminant de Slater ».

La façon la plus simple d'écrire l'approximation orbitélaire tout en respectant les conditions d'antisymétrie et de normalisation est d'écrire la fonction d'onde polyélectronique sous la forme d'un monodéterminant dit de Slater où les spin-orbitales ont été choisies de façon à être orthogonales et normées.

Dans le cas d'un système à N électrons où la fonction d'onde polyélectronique est construite à partir de N spin-orbitales occupées, le monodéterminant de Slater s'écrit de la façon suivante :

$$\Psi(1,2, \dots, n_e) = \frac{1}{\sqrt{n_e!}} \begin{vmatrix} \varphi_1(1) & \varphi_2(1) & \dots & \varphi_{n_e}(1) \\ \varphi_1(2) & \varphi_2(2) & \dots & \varphi_{n_e}(2) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \varphi_1(n_e) & \varphi_2(n_e) & \dots & \varphi_{n_e}(n_e) \end{vmatrix} \quad (12)$$

$\frac{1}{\sqrt{n_e!}}$: est le facteur de normalisation.

La forme déterminantale de la fonction d'onde respecte le principe de Pauli : l'inversion de deux électrons correspond à la permutation de deux lignes (ou de deux colonnes), ce qui a pour effet de changer le signe du déterminant. Les spin-orbitales φ_i doivent, d'autre part, être différentes les unes des autres, car dans le cas contraire, le déterminant s'annule. Les spins-orbitales sont déterminées en résolvant l'équation (04) sur la base des fonctions (12) en utilisant le principe variationnel. Le problème consiste dès lors à rechercher les spins-orbitales qui conduisent à l'énergie la plus basse possible pour le système.

1.4. Méthode de Hartree-Fock

Dans la méthode Hartree-Fock, nous résolvons l'équation électronique de Schrödinger en minimisant l'énergie évaluée sur la base d'un déterminant de Slater.

L'énergie moyenne du système définie par:

$$E_e = \frac{\langle \Psi | H | \Psi \rangle}{\langle \Psi | \Psi \rangle} \quad (13)$$

Où : Ψ est un déterminant de Slater s'obtient aisément à partir des règles de Slater.

Pour un système à couches fermées contenant $2n$ électrons, on obtient :

$$E_e = 2 \sum_{i=1}^n h_{ii} + \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n (2J_{ij} - K_{ij}) \quad (14)$$

où : h_{ii} est la partie monoélectronique définie par :

$$h_{ii} = \int \Phi_i(1) \left(-\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_A \frac{Z_A}{r_{1A}} \right) \Phi_i(1) d\tau_1 \quad (15)$$

Les éléments de matrice de la partie biélectronique sont donnés par

$$J_{jj} = \int \Phi_j^*(1) \Phi_j^*(2) \frac{1}{r_{12}} \Phi_j(1) \Phi_j(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad (16)$$

$$K_{ij} = \int \Phi_i^*(1) \Phi_j^*(2) \frac{1}{r_{12}} \Phi_j(1) \Phi_i(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad (17)$$

Les intégrales J_{ij} et K_{ij} sont respectivement appelées intégrales de Coulomb et intégrale d'échange. L'intégrale de coulomb a un équivalent en mécanique classique, alors que l'intégrale d'échange provient de l'indiscernabilité des électrons. Les intégrales de Coulomb et d'échange prennent en compte les interactions entre électrons. J_{ij} représente l'interaction coulombienne moyenne entre deux électrons situés dans les orbitales i et j respectivement. L'intégrale d'échange K_{ij} est non nulle seulement si les deux orbitales i et j sont associés à la même partie de spin. Lorsque les spins sont identiques, K_{ij} apparaît comme une correction à J_{ij} .

Le calcul des éléments de matrice h_{ii} , J_{ij} et K_{ij} nécessite la connaissance des orbitales i . Celles-ci sont déterminées en même temps que l'énergie en utilisant le principe variationnel.

Fock et Slater ont développé de façon simultanée et indépendante, ce qui est maintenant connu sous le nom d'équation de Hartree-Fock. Étant donnée une fonction onde d'essai normée à l'unité, sous la forme d'un déterminant de Slater.

Le principe variationnel permet d'écrire :

$$E' = \langle \Psi' | H_e | \Psi' \rangle \geq E_0 \quad (18)$$

Où : E_0 est l'énergie exacte $\langle \Psi' | H_e | \Psi' \rangle$, et Ψ' sont des fonctions d'onde normalisées et antisymétriques.

La «meilleure» fonction d'onde de type déterminant de Slater sera donc obtenue en faisant varier tous les paramètres qu'elle contient, jusqu'à ce que l'on obtienne l'énergie la plus basse. Cela revient à minimiser la quantité $\langle \Psi' | H_e | \Psi' \rangle$, en conservant la condition de normalisation de la fonction d'onde soit $\langle \Psi' | \Psi' \rangle = 1$.

Le problème revient alors à faire une minimisation avec contrainte que l'on résout par la méthode des «multiplicateurs de Lagrange». Appliqué au problème de la recherche des orbitales conduisant à l'énergie minimale avec conservation de la norme, le procédé conduit aux « équations de Hartree-Fock » :

$$\left[h(1) + \sum_j [2J_j(1) - K_j(1)] \right] \phi_i(1) = \sum_{j=1}^n \epsilon_{ij} \phi_j(1), i = 1, 2, \dots, n \quad (19)$$

Où les ε_{ij} sont les multiplicateurs de Lagrange et :

$$h(1) = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{1A}} \quad (20)$$

$$J_j(1)\Phi_i(1) = \left\{ \int \Phi_j(2) \frac{1}{r_{12}} \Phi_j(2) d\tau_2 \right\} \Phi_i(1) \quad (21)$$

$$K_j(1)\Phi_i(1) = \left\{ \int \Phi_j(2) \frac{1}{r_{12}} \Phi_i(2) d\tau_2 \right\} \Phi_j(1) \quad (22)$$

$h(1)$ est l'opérateur mono électronique défini par la relation (15), il prend en compte l'opérateur cinétique de l'électron <<1>> et le potentiel d'interaction avec les noyaux A. Les opérateurs J et K sont définis en (20) par leur action sur une orbitale. Par une transformation orthogonale unitaire des Φ_i , on transforme la matrice des multiplicateurs de Lagrange $[\varepsilon_{ij}]$ en une forme diagonale. L'équation (19) prend alors la forme d'un problème aux valeurs propres:

$$F(1)\Phi_i = \varepsilon_i \Phi_i(1) \quad (23)$$

Où : $F(1)$ est l'opérateur monoélectronique de Fock donné par :

$$F(1) = h(1) \sum_j [2J_j(1) - K_j(1)] \quad (24)$$

Et ε_i est l'énergie correspondant à l'orbitale Φ_i' .

L'opérateur de Fock est invariant par rapport à une transformation unitaire appliquée aux orbitales constitutives d'un déterminant de Slater donc dans l'équation (23) il est bâti sur les orbitales Φ_i . On l'exprime en fonction des solutions Φ_i que l'on cherche. On se trouve donc en présence d'un ensemble de n équations monoélectroniques non linéaires qu'il faudra résoudre par un processus itératif. A partir d'un jeu d'orbitales d'essai on construit l'opérateur :

$$[h(1) = \sum_j [2J_j(1) - K_j(1)]] \quad (25)$$

On résout l'équation (23) avec cet opérateur, on déduit un nouveau jeu de fonctions Φ_i , à partir duquel on calcule à nouveau l'opérateur et ainsi de suite jusqu'à la convergence : c'est-à-dire lorsque le jeu d'orbitales obtenu est très proche du jeu d'orbitales qui a permis de l'obtenir. Ce processus est nommé auto-cohérent (ou self-consistent).

1.5. L'approximation LCAO et les équations de Hartree-Fock Roothaan

Pour les cas moléculaires on résout de manière approchée les équations de Hartree-Fock en choisissant pour orbitales moléculaires des combinaisons linéaires d'orbitales atomiques. C'est l'approximation LCAO (Linear Combinations of Atomic Orbitals) qui consiste à choisir un jeu limité d'orbitales atomiques (OA) χ_{μ} qui constituera une base sur laquelle seront développées les orbitales moléculaires Φ . Pour résoudre les équations de Hartree-Fock pour des molécules, dans l'approximation LCAO, on utilise l'équation de Roothaan.

Les fonctions Φ_i sont appelées "orbitales moléculaires" [6] et répondent à certains critères. Elles doivent être localisées aux alentours des noyaux et s'annuler à l'infini. C'est pourquoi, elles peuvent se développer sous forme de combinaisons linéaires d'orbitales atomiques (méthode LCAO) χ_{μ} supposées connues.

Roothaan, [7] a démontré que, les équations intégrales-différentielles peuvent alors être transformées en un système d'équations algébriques et peuvent ainsi être résolues en utilisant la méthode matricielle habituelle de résolution des problèmes aux valeurs propres. Il s'agit des équations de Hartree-Fock-Roothaan. En posant :

$$\Phi_i = \sum_{\mu} C_{i\mu} \chi_{\mu} \quad (26)$$

Et en reportant dans l'équation de Hartree-Fock on obtient :

$$[F_{\mu\nu} - \varepsilon_{\mu\nu} - S_{\mu\nu}] \cdot [C_i] = 0, i = 1, 2, 3, \dots, n \quad (27)$$

Avec comme définition de $F_{\mu\nu}$ et $S_{\mu\nu}$:

$$\left\{ \begin{array}{l} f_{\mu\nu} = \int \chi_{\mu}^*(1) f(1) \chi_{\nu}(1) dr_1 \\ S_{\mu\nu} = \int \chi_{\mu}^*(1) \chi_{\nu}(1) dr_1 \end{array} \right\} \quad (28)$$

La forme matricielle de l'expression (28) devient donc :

$$\mathbf{FC} = \mathbf{SC}\varepsilon \quad (29)$$

Où chaque élément est une matrice :

- ε est une matrice diagonale des énergies orbitales : chacun de ces éléments ε_i représente l'énergie orbitale d'un électron de l'OM ϕ_i .
- F est la matrice de Fock représentant l'effet moyen du champ créé par tous les électrons sur chaque orbitale.
- S est la matrice recouvrement représentant le recouvrement entre chaque orbitale.
- C est la matrice constituée des coefficients des orbitales moléculaires sur les fonctions de base.

Etant donné que la matrice de Fock F dépend des coefficients de la matrice C , l'équation (29) n'est pas linéaire et doit être résolue de manière itérative à l'aide de la procédure nommée champ auto-cohérent ou Méthode SCF de l'anglais Self-Consistent Field. Lorsque cette procédure converge, l'énergie est à son minimum et les orbitales génèrent un champ produisant les mêmes orbitales d'où le nom de la technique. Les solutions produisent un ensemble d'orbitales qui sont, soit occupées, soient vides et le nombre total d'orbitales est égal au nombre de fonctions de base utilisées.

2. Méthodes de la fonctionnelle de la densité.

Fondement de la théorie DFT :

La théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur le postulat proposé par Thomas et Fermi qui dit que les propriétés électroniques peuvent être décrites en terme de fonctionnelles de la densité électronique, en appliquant localement des relations appropriées à un système électronique homogène [8]. Thomas et Fermi ont utilisé leur théorie pour la description d'atomes, mais le manque de précision, ainsi que l'impossibilité de traiter des systèmes moléculaires en ont fait un modèle trop simpliste lorsqu'il a été proposé.

Hohenberg et Kohn, en 1964 [9], ont repris la théorie de Thomas-Fermi et ont montré qu'il existe une fonctionnelle de l'énergie $E[\rho(r)]$ associée à un principe variationnel, ce qui a permis de jeter les bases de la théorie de la fonctionnelle de la densité.

2.1. Théorème de Hohenberg et Kohn

Les deux théorèmes de Hohenberg et Kohn formulés en 1964 [9] ont permis de donner une cohérence aux modèles développés sur la base de la théorie proposée par Thomas et Fermi à la fin des années 30.

2.1.1. Première méthode :

Énoncé : « L'énergie moléculaire, la fonction d'onde et toutes les autres propriétés électroniques de l'état fondamental sont déterminées à partir de la densité électronique de l'état fondamental $\rho_0(x, y, z)$ » [10] On peut alors utiliser la densité électronique comme variable de base pour la résolution de l'équation de Schrödinger électronique. Etant donné que $\rho(r)$ est liée au nombre d'électrons du système, elle peut en effet également déterminer les

fonctions propres de l'état fondamental ainsi que toutes les autres propriétés électroniques du système ; si n est le nombre d'électrons du système, on a que :

$$\int p(r) dr = n \quad (01)$$

$$H = -\frac{1}{2} \sum_{i>j}^n \Delta_i + \sum_{i>j}^n \frac{1}{r_{ij}} + \sum_i^n v(r_i) \quad (02)$$

Rappelons l'expression de l'Hamiltonien électronique d'un système polyélectronique :

$$v(r_i) = - \sum \frac{Z_\alpha}{r_{i\alpha}} \quad (03)$$

Avec : $v(r_i)$ est le potentiel externe de l'électron i .

Ce potentiel correspond à l'attraction de l' e^- (i) avec tous les noyaux qui sont externes par rapport au système d'électrons. Connaissant la densité électronique $\rho(r)$ d'un système, on a donc accès au nombre d'électrons, au potentiel externe, ainsi qu'à l'énergie totale $E[\rho(r)]$. Celle-ci peut s'écrire comme une somme de trois fonctionnelles :

$$E[\rho] = V_{ne}[\rho] + T[\rho] + V_{ee}[\rho]. \quad (04)$$

Avec :

$$V_{ne}[\rho] = \int \rho(r) v(r) dr. \quad (05)$$

$$T[\rho] = \int [-1/2 \nabla^2 \rho(r)] dr. \quad (06)$$

$$V_{ee} \left\{ \begin{array}{l} J[\rho] = \frac{1}{2} \int \int \frac{1}{r_{12}} \rho(r_1) \rho(r_2) dr_1 dr_2 \\ K[\rho] = \frac{1}{4} \int \int \frac{1}{r_{12}} \rho(r_1 r_2) \rho(r_1 r_2) dr_1 dr_2 \end{array} \right. \quad (07)$$

On constate que le terme $V_{ee}[\rho]$ est composé de deux parties ; la première correspond à l'interaction coulombienne classique $J[\rho]$, et la seconde partie dite non- classique est appelée « énergie d'échange et de corrélation $K[\rho]$.

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

$$E_0[\rho] = \int \rho_0(r) v(r) dr + F[\rho_0] \quad (08)$$

Où $F[\rho_0]$ est la fonctionnelle universelle de Hohenberg et Kohn. $V(r)$ représente le potentiel externe agissant sur ces particules.

$$F[\rho_0] = T[\rho_0] + V_{ee}[\rho_0] \quad (09)$$

$F[\rho_0]$ est une fonctionnelle prenant en compte tous les effets interélectroniques ; elle est indépendante du potentiel externe, et elle est donc valable quelque soit le système étudié. La connaissance de $F[\rho]$ permet l'étude de tous les systèmes moléculaires, malheureusement la forme exacte de cette fonctionnelle est à l'heure actuelle loin d'être connue, et il faut avoir recours à des approximations La fonctionnelle $F[\rho]$ est inconnue.

2.1.2. Deuxième méthode

Énonce : « Pour une densité d'essai $\check{\rho}(r)$, telle que $\check{\rho}(r) \geq 0$

$$\int \check{\rho}(r) dr = n \quad (10)$$

L'inégalité suivante est vérifiée : $E_0 \leq E[\check{\rho}]$

La condition pour qu'une fonctionnelle telle que $E[\rho]$ admette un extremum est que sa dérivée fonctionnelle s'annule. D'après la définition :

$$\delta E = \int \frac{\delta L}{\delta p} dp dr = 0 \quad (11)$$

$$\frac{\delta E}{\delta p} = 0 \quad (12)$$

La relation $\delta E=0$ est donc vérifiée si : $\check{\rho}(r) dr = n$

La résolution du problème consiste dès lors à chercher à minimiser $E[\rho]$ avec la contrainte

On résout le problème une fois encore par l'utilisation de multiplicateurs de Lagrange.

2.2. La méthodologie de Kohn-Sham

La fonctionnelle de Hohenberg et Kohn contient une composante d'énergie cinétique $T[\rho]$ et une composante d'énergie potentielle $V_{ee}[\rho]$. Cette dernière peut, comme il l'a déjà été dit, elle-même se scinder en une partie classique (la répulsion coulombienne), notée $J[\rho]$, et une partie d'origine quantique, $K[\rho]$.

Thomas et Fermi avaient proposé une approximation de $T[\rho]$, mais celle-ci, comme il l'a été dit, s'est révélée être insuffisante pour décrire de manière satisfaisante l'énergie cinétique

des systèmes électroniques. Kohn et Sham ont proposé en 1965 [11] de calculer une énergie cinétique approchée $T_s[\rho]$ en introduisant les orbitales.

Cette méthode, plus indirecte, est donc basée sur l'utilisation d'orbitales qui permettent d'évaluer avec une bonne précision l'énergie cinétique ; une faible correction étant apportée dans un second temps.

Il faut noter que les orbitales utilisées dans l'équation de Kohn-Sham sont celles conduisant à un minimum pour l'énergie totale et sont obtenues de manière auto-cohérente. La signification physique de ces orbitales n'est cependant pas claire ; l'orbitale HOMO permet néanmoins d'obtenir la valeur du potentiel d'ionisation, sur la base du théorème de Janak.

Kohn et Sham ont donc permis à la DFT de devenir un outil efficace pour l'étude des systèmes chimiques. Actuellement, la très grande majorité des calculs DFT sont réalisés dans le cadre de ce formalisme ; les approximations qui vont brièvement être décrites ci-après s'inscrivent dans le cadre du formalisme de Kohn-Sham.

2.3. Les fonctionnelles d'échange-corrélation

La qualité de la théorie de la fonctionnelle de la densité repose sur la précision de la description du potentiel d'échange-corrélation, potentiel qui comprend les contributions quantiques à l'échange et à la corrélation, la correction à la self-interaction et la contribution quantique à l'énergie cinétique. On parle souvent de « quête » de la fonctionnelle exacte pour ces chercheurs qui essaient au mieux de décrire ce potentiel. On fait aussi la comparaison avec l'échelle de Jacob dont les échelons représentent les différents degrés d'approximations du potentiel d'échange-corrélation allant du moins précis à la fonctionnelle exacte. Historiquement, c'est l'approximation de la densité locale (LDA pour Local Density Approximation en anglais) qui apporte les premiers résultats concluants. Dans le but d'accroître la description du potentiel, de nouvelles fonctionnelles sont apparues qui, en plus de la densité locale, incorporent le gradient de la densité. Ce sont les fonctionnelles GGA (pour Gradient Generalized Approximation en anglais) ou plus récemment les meta-GGA. Enfin, soulignons que les fonctionnelles hybrides qui incorporent une part du calcul de l'échange HF sont aussi devenues très populaires ces dernières années, entre autres parce que la présence de l'échange HF corrige pour partie la self-interaction non compensée exactement.

2.4. Approximation locale de la densité (LDA)

La difficulté principale dans le développement du formalisme de Kohn – Sham réside dans la construction des fonctionnelles d'échange corrélation. L'approximation locale dite «LDA» stipule qu'en première approximation, la densité peut être considérée comme étant localement constante. On peut dès lors définir l'énergie d'échange-corrélation de la manière suivante :

$$E_{xc}^{LDA}[p] = \int p(\vec{r}) \varepsilon_{xc}(p(\vec{r})) d\nu \quad (13)$$

Où ε_{xc} est la densité d'énergie d'échange–corrélation. Seule la densité est prise en compte dans la fonctionnelle. Cette approximation découle directement du modèle du gaz homogène d'électrons. Par ailleurs, si l'on partitionne l'énergie d'échange–corrélation en deux (énergie d'échange ε_x et énergie de corrélation ε_c) telle que :

$$\varepsilon_{xc} = \varepsilon_x + \varepsilon_c \quad (14)$$

On peut utiliser l'énergie d'échange proposée par Dirac [12] comme approximation de ε_{xc} :

$$K_D[p(r)] = c_x \int p(r)^{\frac{4}{3}} dr \quad (15)$$

Avec:
$$c_x = \frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Pour l'énergie de corrélation, plusieurs paramétrisations ont été proposées depuis le début des années 1970. Les plus élaborées sont celles de J. P. Perdew et A. Zunger [13], de J. P. Perdew et Y. Wang [14] et de S. H. Vosko et collaborateur [15]. Dans cette dernière, qui est la plus couramment utilisée aujourd'hui, l'énergie de corrélation est obtenue par interpolation analytique sur une base de données d'énergie de corrélation du gaz uniforme d'électrons issues de calculs de type Monte Carlo quantique effectués par D. M Ceperley et B. J. Alder [16]. Dans la pratique, l'approximation a tendance à raccourcir les longueurs de liaison dans les molécules et aussi, à surestimer les énergies de liaison. De plus, il est très fréquent que les barrières d'activation des réactions chimiques soient largement sous-estimées. Les fréquences de vibration sont par contre généralement en bon accord avec l'expérience (l'écart étant souvent inférieur à 5%) [17]. Depuis 1985, d'énormes efforts ont contribué à l'amélioration des fonctionnelles d'échange-corrélation. Ces travaux ont débouché sur une deuxième génération de fonctionnelles prenant en compte l'inhomogénéité de la densité électronique : ces fonctionnelles prennent en compte à la fois, la densité électronique et son gradient.

2.5. Approximation du gradient généralisé (GGA)

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

$$E_{xc}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int f(\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla\rho_\alpha, \nabla\rho_\beta) dv \quad (16)$$

Ces fonctionnelles améliorent dans de nombreux cas les résultats structuraux et énergétiques. Les plus utilisées sont celles proposées par Perdew (P86) [18], Becke (B88) [19], Perdew et Wang (PW86 et PW91) [20,21] et par Perdew, Burke et Ernzerhof (PBE) sous sa forme initiale [22] ainsi que sous sa forme modifiée [23]. La fonctionnelle d'échange-corrélation reste la seule approximation liée à la DFT, même si sa qualité s'améliore constamment avec par exemple l'apparition de fonctionnelles non locales [24]. Mais d'autres approximations sont nécessaires pour l'étude de nos systèmes.

2.6. Les fonctionnels hybrides

Les fonctionnels hybrides ont été développés par Axel Becke en 1993 [25]. L'approche est basée sur l'addition d'une partie d'échange issue de la théorie Hartree-Fock, nommée énergie d'échange exacte, à l'énergie d'échange DFT. A titre d'exemple, la fonctionnelle BLYP a été transformée en B3LYP en ajoutant une fraction d'échange exacte

$$E_{xc}^{B3LYP} = a_0 E_x^{LDA} + (1 - a_0) E_x^{exact} + a_0 \Delta E_x^{B88} + E_c^{LDA} + a_2 (E_c^{LYP} + E_c^{LDA}) \quad (17)$$

$a = 0.20$; $b = 0.72$ et $c = 0.81$, sont des paramètres ajustés expérimentalement par rapport à l'énergie d'atomisation, potentiels d'ionisation, affinité protonique et les énergies d'un ensemble de molécules. Malgré qu'un nombre assez important de fonctionnelles ont été développées, la B3LYP reste la plus utilisée malgré qu'elle a été proposée en 1993.

Références

- [1] E. Schrodinger Quantisierung als Eigenwertproblem (Erste Mitteilung). Ann. phys. Leipzig. 79,361.1926.
- [2] M. Born, J. R. Oppenheimer Zur Quantentheorie der Molekeln. Ann. Physik. 389, 457-484. 1927.
- [3] D. R. Hartree, Proc. Cambridge Philos. Soc. 24, 89.1928.
- [4] D. R. Hartree, Proc. Cambridge Philos. Soc. 24, 426.1928.
- [5] W. Pauli, Z. Physik.31, 765.1925.
- [6] J.C. Slater, Phys. Rev. 35, 210.1930.
- [7] J. C. Slater, Adv. Quantum Chem. 6, 1.1972.
- [8] R. S. Mulliken, Phys. Rev., 41, 49.1932.
- [9] C. C. J. Roothaan. Rev. Mod. Phys. 23, 69.1951.
- [10] G. te Velde , E. J. Baerends, J. Comp. Phys. 99, 84.1992.
- [11] H.F. Hameka. J.Mol. Struct. (Theochem). 226, 241.1991.
- [12] P.Hohenberg , W. Kohn, Phys. Rev. 136, B846.1964.
- [13] W. Kohn , L. J. Sham, "Self-consistent equations including exchange and correlation effects,"Phys. Rev. 140, A1133.1965.
- [14] A. M. Dirac, Proc. Cambridge Phil. Soc. 26, 376.1930.
- [15] J. P. Perdew and A. Zunger, Phys. Rev. B 23, 5048.1981.
- [16] J. P. Perdew and Y. Wang, Phys. Rev. B 45, 13244.1992.
- [17] S. H. Vosko, L. Wilk, M. Nusair. Canadian Journal of Physics.58, 1200.1980.
- [18] D. M. Ceperley , B. J. Alder. Phys. Rev. Lett. 45, 566.1980.
- [19] H. Chermette, Coord. Chem. Rev. 178–180, 699.1998.
- [20] J. P. Perdew, Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. Phys. Rev. B 33 ,8822-24.1986.
- [21] A. D. Becke: Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic-behavior. Phys. Rev. A 38, 3098-100.1988.
- [22] J.P. Perdew, Y. Wang.: Accurate and simple density functional for the electronic exchange energy: Generalized gradient approximation. Phys. Rev. B 33, 8800-8802.1986.
- [23] J. P. Perdew: In electronic structure of solids. 91, Ed. P. Ziesche, H. Eschrig, Akademie Verlag, Berlin, 11.1991.

- [24] J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.* 77, 3865-3868.1996.
- [25] J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.* 78, 1396.1997.
- [26] J. P. Perdew, S. Kurth, A. Zupan ,P. Blaha: Accurate density functional with correct formal properties: A step beyond the generalized gradient approximation. *Phys. Rev. Lett.* 82, 2544-2547, 5179.1999.
- [27] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98, 1372.1993.

CHAPITRE III :

***A**PPROCHE THEORIQUE DE LA
REACTIVITE CHIMIQUE*

1. Introduction

Si la chimie est la science qui traite de la construction, la transformation et des Propriétés des molécules, la chimie théorique [1] combine les méthodes mathématiques Avec les lois fondamentales de la physique pour étudier les processus d'intérêt chimique. Le comportement d'un atome ou d'une molécule est souvent caractérisé par quelques Paramètres, que les chimistes déduisent de leurs expériences et leurs intuitions et les utiliser Pour prédire la réactivité chimique [2].

Actuellement, la chimie quantique offre la possibilité d'étudier la réactivité Chimique [3,4] à l'aide de plusieurs théories. Les prédictions théoriques sont souvent Basées sur :

- Le calcul des charges atomiques.
- Le calcul des énergies et des structures des états de transition
- Le calcul des propriétés thermochimiques des réactions.
- La prédiction des chemins réactionnels.

Les théories quantiques de la réactivité chimique peuvent être divisées en deux catégories :

1. Les méthodes statiques dans lesquelles la réactivité est exprimée par indices Caractérisant la molécule a l'état isole.
2. Les méthodes dynamiques dans lesquelles la réactivité est exprimée par des indices Caractérisant la molécule en état d'interaction avec d'autres molécules.

Dans le présent chapitre, nous avons présente les théories les plus utilisées pour l'étude de La réactivité chimique, à savoir : La théorie des orbitales frontières (FMO) et La théorie de l'état de transition (TST).

2. Surface d'énergie potentielle SEP

C'est la surface décrite par l'énergie totale d'un système moléculaire calculée par les méthodes de chimie quantique décrites précédemment dont les noyaux seraient immobiles, lorsqu'elle est exprimée comme une fonction des positions relatives de ces derniers. Un point de la surface correspond à une géométrie donnée du système. Par conséquent, une réaction chimique se traduit par un déplacement du point représentatif du système au cours de l'évolution de sa géométrie vers celle du ou des produit(s) à partir de celle du ou des réactifs(s).

Dans un système moléculaire constitué de M noyaux, $3M-6$ paramètres géométriques indépendants permettent ainsi de décrire la géométrie. On parle de $3M-6$ [5] coordonnées internes. Compte-tenu de ce nombre, pour la plupart des réactions chimiques, la surface d'énergie potentielle est en réalité une hyper surface qu'il n'est pas possible de représenter dans l'espace à 3 dimensions. Comme toute surface, la surface d'énergie potentielle peut présenter différents types de points, Les points caractéristiques sur une SEP correspondent à des « points stationnaires ».

Dans le cadre d'une étude de réactivité, on s'intéresse particulièrement à deux types de points stationnaires :

✓ **Les minima** sont des points de la SEP autour desquels tout mouvement dans une quelconque direction (associé à une déformation au sein de la molécule), se traduit par une élévation de l'énergie potentielle. Toutes les fréquences de vibration de ces structures sont réelles et positives. On parle de minimum « local » quand ce point possède l'énergie la plus basse dans une région bien délimitée de la SEP, et de minimum « global » ou « absolu » sur la totalité de la SEP. Les minima locaux correspondent notamment à des conformères stables. Dans le cadre d'un chemin réactionnel, ce sont typiquement les réactifs, les produits et les intermédiaires de réaction.

✓ **les points selles** (en anglais saddle point) d'ordre un correspondent à des minima locaux dans toutes les $(n-1)$ directions d'une SEP à n dimensions et également à des maxima locaux dans une direction particulière de cette SEP. Toutes les fréquences de vibration de ces structures sont réelles et positives à l'exception d'une (si l'on considère un point selle de premier ordre), qui est imaginaire. Cette direction correspond au chemin de réaction. Ces points incarnent alors les états de transition qui vont relier les réactifs et les produits d'une réaction chimique [6].

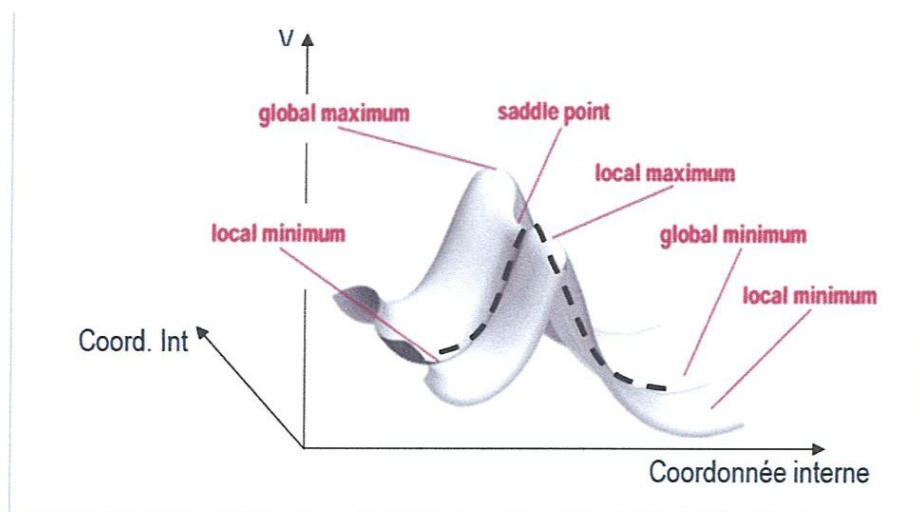


Figure III. 1: Schéma tridimensionnel d'une SEP

2.1. L'Exploitation de la surface d'énergie potentielle

La surface d'énergie potentielle peut être exploitée soit par des méthodes dite de dynamique ab initio » [7] qui sont basées sur la construction complète de la surface d'énergie potentielle associée à une réaction chimique, qu'on peut par la suite de déterminer le mécanisme réactionnel le plus probable. Cependant, ce sont des méthodes très coûteuses en temps de calculs, et dans certains cas, soit par « les méthodes statiques » en ne calculant que certains points bien particuliers de la surface d'énergie potentielle. Ces dernières sont basées sur la théorie de l'état de transition développée au début du XXème siècle de façon simultanée par H. Eyring et par M. G. Evans et M. Polanyi [8,9,10].

2.2. Théorie de l'état de transition

Tout processus cinétique peut être réduit, par l'intermédiaire du mécanisme réactionnel, en une séquence de réactions élémentaires. En général, pour un système contenant des réactifs et des produits de la réaction élémentaire, il est utile d'introduire un diagramme de potentiel multidimensionnel qui reflète la variation d'Énergie du système en fonction de la position des atomes impliqués dans la réaction.

La théorie de l'état de transition a été développée par Eyring en 1931 [11] dans Le but d'expliquer les vitesses réactionnelles observées en fonction des paramètres Thermodynamiques. Elle préconise que les réactifs doivent franchir un état de Transition sous forme de complexe active et que la vitesse de cette réaction est Proportionnelle à la

concentration de ce complexe active. L'avantage primordial de Cette théorie est de relier la cinétique a la thermodynamique.

Soit la réaction chimique suivante :



Au niveau microscopique, la constante de vitesse k dépend des états quantiques des molécules A, B, C et D, c'est à dire des états de translation, de rotation et de vibration. A l'échelle macroscopique, la constante de vitesse est prise comme une moyenne des constantes de vitesse microscopiques pondérées par les probabilités de trouver chaque molécule dans un certain état quantique. On note que la thermodynamique statistique permet de relier les états microscopique et macroscopique d'un système. Selon la théorie de l'état de transition, le passage des réactifs (état initial) aux produits (état final) nécessite le passage par un état de transition c'est-à-dire l'affranchissement d'une barrière d'activation calculée par :

$$\Delta G^\ddagger = G(TS) - G(\text{réactifs}) \quad (01)$$

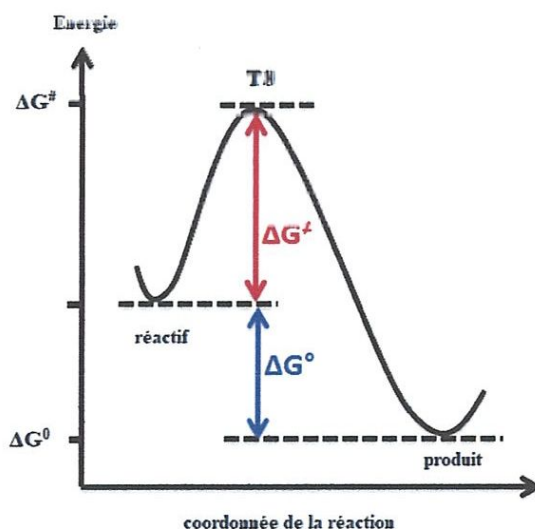


Figure III. 2: Illustration schématique du chemin de la réaction

Dans la figure (3.2), le point qui correspond à l'énergie maximale représente l'état de transition qui est un point de selle d'ordre 1 (First-order saddle point) sur la surface d'énergie potentielle (PES), c'est-à-dire un maximum dans la direction de la coordonnée de la réaction et un minimum par rapport aux autres coordonnées perpendiculaires. Pour un point de selle d'ordre 1, il existe une et une seule fréquence imaginaire de vibration

A l'échelle macroscopique, la constante de vitesse est écrite selon l'équation d'Arrhenius [12] selon :

$$k(T) = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right) \quad (02)$$

k_B : la constante de Boltzmann.

h : la constante de Planck.

R : la constante des gaz parfaits, $R=1.9872 \text{ cal K}^{-1}\text{mol}^{-1}$.

T : la température.

ΔG^\ddagger : l'enthalpie libre d'activation.

2.2.1. Difficultés dans l'application de la TST

Les résultats obtenus avec la TST sont avérés très satisfaisantes comparés aux résultats expérimentaux disponibles. Cependant, le domaine d'application de cette théorie reste restreint étant donné que la localisation des états de transitions dans certains cas n'est pas toujours facile. En effet, la présence de substituants trop volumineux, la présence de catalyseurs organiques ou organo-métalliques, la présence de solvants peut rendre la localisation des états de transition très difficile, voire impossible. Plusieurs problèmes numériques peuvent surgir lors de la localisation des états de transition :

- problème de temps de calcul élevé. En effet, certains calculs peuvent durer plusieurs jours, voire, plusieurs semaines !
- problème de limitation de la capacité de stockage et de la mémoire vive.
- problème de divergence de calculs.
- problème de calculs des fréquences de vibration (calcul analytique vs. Numérique) On

note que plusieurs solutions ont été proposées pour essayer de surmonter ces contraintes comme les méthodes hybrides (QM/MM). Cependant, de telles techniques n'ont pu résoudre les problèmes de la TST que partiellement. De ce fait, les chimistes théoriciens ont pensé à faire appel à d'autres alternatives et à d'autres théories qui conduisent aux mêmes conclusions que la TST mais en étant plus pratiques et moins coûteuses en temps machine. Parmi ces théories, on peut citer la théorie FMO et la théorie de la DFT conceptuelle.

2.2.2. Recherche d'état de transition

La détermination des états de transition implique une connaissance de la structure optimale des points de départ (Réactif) et d'arrivés (Produit), ce qui permet d'effectuer une interpolation entre ces deux points de façon automatique grâce à des algorithmes développés pour cette fin (méthode synchronie suivie d'une méthode quasi-Newton (QST)) [13].

Dans le but de localiser nos différents états de transition, nous avons fait appel à cette méthode, en utilisant les deux options possibles QST2 et QST3

L'analyse des fréquences vibrationnelles des états de transition montre bien l'existence d'une et une seule valeur propre négative, dont la valeur dépend de la barrière énergétique à franchir.

Pour vérifier que la structure ainsi optimisée est représentative de la coordonnée de réaction souhaitée, il est nécessaire d'effectuer une vérification de la structure de l'état de transition. L'algorithme IRC (Internal Reaction Coordinate) [14] permet, à partir de la structure de l'état de transition, de descendre la pente vers les intermédiaires en suivant la direction

indiquée par le mode normal de vibration de la fréquence imaginaire

3. Chemin de réaction (coordonnée de réaction)

Le chemin de réaction représente le trajet sur la SEP le long duquel les atomes d'un système évoluent au cours d'une réaction chimique. Pour déterminer un chemin de réaction, il faut repérer les états de transition ainsi que les éventuels intermédiaires réactionnels qui permettent de relier les réactifs aux produits. Seule une approche théorique peut conduire à la caractérisation structurale systématique des états de transition qui, de par leur instabilité, sont difficilement détectables expérimentalement. Si on parcourt la totalité de la SEP, on se rend compte qu'il existe une infinité de chemins réactionnels qui sont plus ou moins favorisées selon les barrières d'énergie à franchir. Même si lors des transformations chimiques, les molécules sont amenées à suivre différents chemins de réaction, on s'attache généralement à rechercher les coordonnées de réaction qui passent par le chemin d'énergie minimale. Le meilleur moyen de déterminer ce chemin de réaction minimale serait de construire l'intégralité de cette SEP. Ceci présente néanmoins un coût computationnel considérable pour les molécules contenant plus de 4 atomes. Néanmoins, d'autres méthodes alternatives subsistent en ne considérant que des points particuliers de la SEP. Il s'agit des méthodes qui reposent sur la théorie de l'état de transition.

La compréhension de la réactivité chimique passe par la détermination des chemins réactionnels possibles, correspondant aux différents intermédiaires et aux états de transition (point-selle), ce qui permettra ainsi d'en déduire leur stabilité relative et les barrières d'énergie de chaque processus, afin de trouver le mécanisme le plus favorable que ce soit cinétiquement ou thermodynamiquement.

Si la plus haute barrière d'énergie d'un chemin d'énergie minimum est en accord avec l'énergie d'activation déterminée expérimentalement, la coordonnée de réaction associée permet de proposer un mécanisme réactionnel acceptable pour la réaction chimique étudiée.

3.1. Coordonnées intrinsèques de réaction

En pratique, lorsque l'on a optimisé des minimas et des TS sur une PES, il n'est pas toujours évident de savoir quels sont les deux minimas qui sont connectés par un TS donné, surtout dans le cas où une étape réactionnelle implique une forte réorganisation structurale. Le calcul de la coordonnée intrinsèque de réaction [15,16] (IRC : Intrinsic Reaction Coordinate) permet de résoudre ce problème. Cette coordonnée est obtenue en suivant le chemin de plus grande pente sur la PES de part et d'autre de la géométrie d'un TS. Ce chemin est donc celui qui est le plus favorable énergétiquement pour la relaxation du TS. Il est important de noter qu'une simple optimisation de géométrie (minimum) à partir du TS ne suit pas forcément ce chemin.

3.2. IRC (Intrinsic Coordinate Reaction)

Une fois un état de transition trouvé sur la SEP, il faut vérifier que celui-ci connecte bien les réactifs aux produits en question. En effet, la déformation associée à la fréquence imaginaire du TS peut être un élément de preuve. Néanmoins dans plusieurs cas elle ne constitue pas une preuve irréfutable sur l'exactitude du TS considéré et ne permet donc pas d'authentifier ce dernier. Une méthode rigoureuse consiste à déterminer la coordonnée de réaction intrinsèque (Intrinsic Reaction Coordinate : IRC) [17], définie comme le chemin de réaction d'énergie minimale (Minimum Energy Path : MEP) d'un système de coordonnées pondérées en masse, entre le TS de la réaction et ses réactifs et produits associés. Elle est spécifiée par l'équation différentielle suivante :

$$\frac{dx}{ds} = -\frac{g}{|g|} \quad (03)$$

Où : **x** : représente les coordonnées nucléaires (pondérées en masse)
s : est la longueur de chemin ; **g** le gradient et **v** est le gradient normalisé (négatif)

Pour déterminer l'IRC, il faut résoudre cette équation et démarrer d'une géométrie légèrement décalée du TS le long de la coordonnée normale associée à la fréquence imaginaire. Pour ce faire, l'approche la plus simple consiste à y aller par incréments selon la méthode d'Euler [18,19]

$$x_{n+1} = x_n + \Delta_{sv}(x_n) \quad (04)$$

Cette méthode correspond à l'algorithme de minimisation de type steepest descent (ligne de plus grande pente) avec un pas Δs fixé. Lors de cette approche, le calcul a tendance à osciller autour du vrai chemin de réaction. Par conséquent, il est utile de faire des pas de petites tailles pour suivre de façon précise l'IRC.

La méthode de Gonzales-Schlegel peut être utilisée pour suivre l'IRC (en utilisant le mot clé IRC sur Gaussian). L'algorithme est illustré dans la figure (3.3). La méthode Gonzales-Schlegel semble à présent être une de meilleures méthodes pour le chemin IRC. Pour l'utilisation dans les méthodes de chemin de réaction, l'IRC, avec une exigence d'un pas faible, peut-être une méthode très sophistiquée.

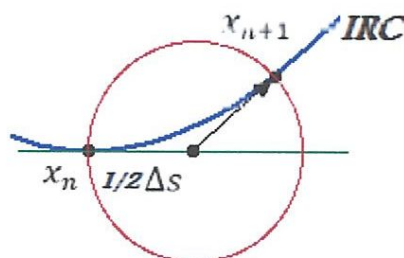


Figure III. 3: Illustration de la méthode d'optimisation contrainte de Gonzales-Schlegel pour suivre un IRC

Physiquement, le chemin de réaction d'énergie minimale est le chemin de réaction que suivrait le système pour aller des réactifs aux produits avec une énergie cinétique constamment nulle. Autant dire que ce chemin est loin de représenter ce qui se passe en réalité. Néanmoins, il est conceptuellement intéressant de le déterminer.

4. Détermination des grandeurs thermodynamiques

La connaissance des grandeurs thermodynamiques pour les réactifs, l'état de transition et les produits, permet de calculer les constantes de vitesse directes et inverses d'un processus élémentaire en appliquant la théorie de l'état de transition (TST).

Les valeurs d'activation des grandeurs thermodynamiques correspondent à leurs variations molaires pour aller des réactifs aux complexes activés. Il est intéressant de remarquer que dans le cadre de la théorie de l'état de transition, pour connaître la constante de vitesse d'une réaction élémentaire, il suffit de connaître les paramètres thermodynamiques du (ou des) réactif (s) et ceux de l'état de transition. Il est donc tout à fait possible de ne caractériser que certains points de la surface d'énergie potentielle pour avoir accès à la vitesse d'une réaction chimique.

La théorie de l'état de transition vise à fournir une expression mathématique pour les constantes de vitesse des réactions élémentaires. Elle est basée sur quatre hypothèses [20,21,22] :

- Il existe une surface, située au niveau de l'état de transition, divisant la surface d'énergie potentielle entre la région des réactifs et la région des produits. Les trajectoires traversant cette surface en provenance de la réaction des réactifs et en direction de la région des produits ne peuvent conduire qu'à la formation des produits.
- Même lorsque réactifs et produits ne sont pas à l'équilibre chimique, les réactifs sont en équilibre avec les complexes activés (systèmes moléculaires à l'état de transition).
- Dans leur région, les molécules de réactifs sont à l'équilibre thermique.
- La réaction chimique est électroniquement adiabatique, et ceci même au voisinage de l'état de transition.

Dans ces conditions, la constante de vitesse k est donnée par l'équation d'Eyring :

$$k = e \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{\Delta^\ddagger S^0}{R}\right) \exp\left(\frac{E_{\text{act}}}{RT}\right) c_0^{-1} \quad (05)$$

$$E_{\text{act}} = \Delta^\ddagger H^0 + RT \quad (06)$$

Avec :

k_B : constante de Boltzmann, $1,80662 \cdot 10^{-23}$ J.K-1

h : constante de Planck, $6,626176 \cdot 10^{-34}$ J.s

R : constante des gaz parfaits, $8,314$ J.mol-1. K-1

T : température, K

c° : concentration (prise égale à 1)

k : constante de vitesse (s-1)

e : 2,71828183

E_{act} : énergie d'activation

L'équation d'Eyring introduit le même type de dépendance entre constante de vitesse d'une réaction élémentaire et température que la loi empirique d'Arrhénius. Cependant, l'énergie d'activation E_a que l'on peut déduire d'une étude cinétique expérimentale et l'enthalpie d'activation DH^\ddagger que l'on peut tirer du calcul de la surface d'énergie potentielle n'ont pas exactement la même signification physique. Il est important d'arriver à relier les deux afin de pouvoir établir une comparaison expérience/calcul.

5. La théorie des orbitales frontières (FMO)

La théorie des orbitales frontières (FMO) est basée sur l'approche de Coulson, et de Longuet-Higgins [23]. En utilisant la théorie des perturbations, Klopman [24] et Salem [25] ont donné une équation déterminant ainsi l'énergie gagnée ou perdue lors de l'interaction entre deux molécules. Elle s'écrit comme :

$$\Delta E = \underbrace{-\sum (q_a + q_b) \beta_{ab} S_{ab}}_{1^{ier} \text{ terme}} + \underbrace{\sum Q_k Q_l / \epsilon R_{kl}}_{2^{ème} \text{ terme}} + \underbrace{\sum_r^{\text{occ}} \sum_s^{\text{unocc}} - \sum_r \sum_s 2 \sum_{ab} (c_{ra} c_{sb} \beta_{ab})^2 / (E_r - E_s)}_{3^{ème} \text{ terme}} \quad (07)$$

Tel que :

q_a, q_b : populations électroniques des orbitales a et b respectivement.

b et S : intégrales de résonance et de recouvrement.

Q_k et Q_l : charges totales des atomes k et l.

ϵ : constante diélectrique locale.

R_{kl} : distance entre l'atome k et l'atome l ($k < l$).

c_{ra} et c_{sb} : coefficients des orbitales atomiques a et b dans l'orbitale moléculaire r et s respectivement ($s \neq r$ et $a \neq b$).

E_r et E_s : énergies des orbitales moléculaires r et s respectivement.

D'après Fukui, lorsqu'on étudie une réaction chimique à contrôle frontalier, seules deux orbitales moléculaires présentent un réel intérêt : la plus haute occupée (HOMO) et la plus

basse vacante (LUMO). Ces deux orbitales, qualifiées de "frontières", jouent le même rôle que les orbitales de valence chimique :

- HOMO qui renferme les électrons de plus haute énergie, donc les plus faciles à céder, est en rapport avec le caractère donneur d'électrons de la molécule.
- LUMO au contraire renseigne sur le caractère accepteur d'électrons de la molécule.

Comme une réaction chimique n'est rien d'autre qu'un échange d'électrons entre les réactifs, on conçoit l'importance de l'hypothèse de Fukui, qui permet d'avoir un aperçu de la réactivité moléculaire.

5.1. Approximations des orbitales frontières

La théorie FMO est basée sur les approximations suivantes :

- 1- Toutes les interactions entre OM occupées peuvent être négligées.
- 2 Toutes les interactions occupée-vacante, à l'exception des interactions frontières HOMO-LUMO, peuvent être négligées.
- 3- Le système est correctement décrit par une seule configuration électronique.
- 4- Les OF utilisées dans le traitement standard sont celles des réactifs de départ.
- 5- La théorie des OF ne s'applique qu'aux réactions bimoléculaires. Les systèmes unimoléculaires sont formellement découpés en fragments appropriés, dont la recombinaison est ensuite traitée comme une réaction bimoléculaire.

Références:

- [1] F. Jansen, Introduction to Computational Chemistry, J. Wiley and sons, Inc., New York, 1999.
- [2] W. Yang, R.G. Parr, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 6723 (1985).
- [3] H. Chermette. J. Comp. Chem. 20, 129 (1999).
- [4] F. De Proft, P. Geerlings. Chem. Rev. 101, 1451 (2001).
- [5] IUPAC, Glossary of terms used in physical organic chemistry, Pure & Appl. Chem. 66, 1077-1184 (1994).
- [6] D. R. Glowacki, J. N. Harvey, A. J. Mulholland Nat. Chem. 4, 169 – 176 (2012).
- [7] M. E. Tuckerman, Ab initio molecular dynamics: basic concepts, current trends and novel applications, J. Phys. Condens. Matter. 14, R1297-R1335 (2002).
- [8] H. Eyring, The Activated Complex in Chemical Reactions. J. Chem. Phys. 3, 107-115 (1935).
- [9] M. G. Evans, M. Polanyi, Some applications of the transition state method to the calculation of reaction velocities, especially in solution, Trans. Faraday Soc. 31, 875-894 (1935).
- [10] H. Eyring, The Activated Complex and the Absolute Rate of Chemical Reactions, Chem. Rev. 17, 65-77 (1935).
- [11] H. Eyring, M. Polanyi, J. Phys. Chem. 12, 279 (1931).
H. Eyring, J. Chem. Phys. 3, 107 (1935).
- [12] S. Arrhenius, Z. Phys. Chem. 4, 226 (1889); M. H. Back, K. J. Laidler, Selected Readings in Chemical Kinetics, Pergamon, Oxford, 1967
- [13] C. Peng, P. Y. Ayala, H. B. Schlegel, M. J. Frisch, J. Comput. Chem. 17, 49 (1996).
- [14] C. Gonzalez, Schlegel, H. B. An improved algorithm for reaction path following. J. Chem. Phys. 90, 2154-2161 (1989).
- [15] H. P. Hratchian, H. B. Schlegel, J. Chem. Theory Comput. 1, 61–69 (2005).
- [16] H. P. Hratchian, H. B. Schlegel, J. Chem. Phys. 120, 9918–9924 (2004).
- [17] K. Fukui, Acc. Chem. Res. 14, 363 – 368 (1981).
- [18] J. C. Butcher, Numerical Methods for Ordinary Differential Equations, New York, John Wiley & Sons, 2003.
- [19] E. Hairer, S. P. Nørsett, G. Wanner, Solving Ordinary Differential Equations I: Nonstiff Problems, Springer-Verlag, Berlin, (1993).

- [20] D. G. Truhlar, B. C. Garrett, S. J. Klippenstein, *J. Phys. Chem.* 100, 12771 (1996).
- [21] E. Wigner, *Trans. Faraday. Soc.* 34, 29 (1938).
- [22] K. J. Laidler, *Theories of chemical reaction rates*, McGraw-Hill series in advanced chemistry, McGraw-Hill Inc. (1969).
- [23] M. J. S. Dewar, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 200, 301 (1989).
- [24] G. Klopman, *J. Amer. Chem. Soc.* 90, 223 (1968).
- [25] L. Salem, *J. Amer. Chem. Soc.* 90, 543 (1968).

CHAPITRE IV :

APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSION

1. Introduction

Dans ce travail, nous avons étudié théoriquement le mécanisme de réaction de méthylation de la cytosine dans l'ADN catalysé par l'ADN MTase. Comme illustré sur la figure 1, le mécanisme de formation de m5C dans l'ADN se passe sur plusieurs étapes :

- L'attaque du groupe thiol d'une nucléophile cystéine sur C6 de la cytosine.
- Formation d'un énolate (ou éno)l intermédiaire 2 Avec une liaison covalente entre le groupe thiol et C6 de l'anneau pyrimidine (Figure 1A).
- L'activation de C5 pour la substitution nucléophile subséquente par le groupe méthyle de SAM, générant un acide nucléique protéine intermédiaire méthylé.
- Enfin, l'abstraction protonique de C5 par une base générale et l'élimination β de l'enzyme conduisent au produit contenant m5C 4 et régénération SAH de l'enzyme libre.

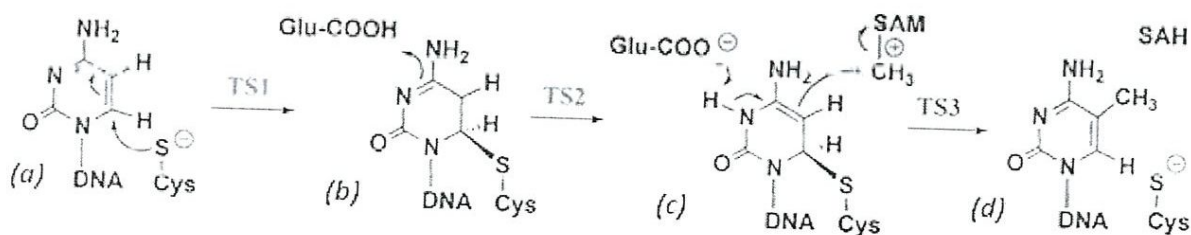


Figure IV. 1: représente le mécanisme de méthylation de la cytosine

La méthylation de la cytosine se fait par une réaction d'addition conjuguée entre un thiolate nucléophile (thiol déprotoné) du résidu cystéine de la MTase et le carbone 6 du cycle pyrimidine de la cytosine, formant un intermédiaire covalent entre le thiolate et le carbone 6 pour activer le carbone 5 pour l'addition de méthyle. Le thiolate dans le résidu cystéine agit sur un nucléophile fort, attaquant l'atome de carbone 6 du cycle pyrimidine de la cytosine pour former une liaison covalente entre l'atome de thiolate et l'atome de carbone 6. Un résidu de glutamate au voisinage du site de réaction stabilise la charge négative sur la cytosine. Une attaque nucléophile se produit alors sur le groupe méthyle de la S-adénosyl-L-méthionine (SAM), qui est convertie en S-adénosyl-L homocystéine (SAH). Enfin, la β -élimination a lieu à travers la liaison carbone 5 et carbone 6, délogeant la MTase de la cytosine méthylée. D'un autre côté, la méthylation des atomes d'ADN de l'azote aminé exocyclique prend des voies différentes bien que le même donneur de méthyle soit impliqué dans le processus. [1]

2. Méthodologie de calcul

Tous les calculs de cette étude ont été effectués par le programme Gaussian 09, [2] l'interface GaussView05 [3] a été utilisée pour visualiser les structures moléculaires. On a réalisé l'optimisation géométrique par la méthode de la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT en utilisant la fonctionnelle hybride B3LYP [4] et en choisissant les bases STO-3G*, 3-21+G* et 6-31+G (d, p)

Un calcul des fréquences vibrationnelles était nécessaire pour déterminer la nature des points stationnaires, vérifier l'existence de l'état de transition et pour appliquer ensuite la technique IRC dans le but de confirmer l'unicité de l'état de transition et de déterminer le chemin réactionnel.

La réalisation des profils énergétiques de la surface d'énergie potentielle, nous a permis de faire une comparaison entre les valeurs des énergies relatives et de déterminer par la suite les points stationnaires favorables énergétiquement.

2.1. Recherche de l'état de transition

Deux approches ont été utilisées pour la détermination des états de transitions : QST2 et QST3. [5] Dans la méthode QST2 deux structures de départ sont nécessaires, la structure du réactif et celle du produit. [6,7]

La structure du TS localisée par la QST2, est ensuite utilisée dans un calcul QST3 qui nécessite trois structures (le réactif, le produit, et le TS) pour déterminer une structure du TS plus exacte. La structure obtenue par ces méthodes est un point de selle d'ordre 1, qui possède une seule fréquence imaginaire. [8]

L'étape du calcul IRC [9] sera réalisée par la suite afin de dessiner le chemin réactionnel en descendant la pente vers les intermédiaires en suivant la direction indiquée par le mode normal de vibration de la fréquence imaginaire.

Pour un minimum sur la Surface l'Energie Potentielle, toutes les constantes de force des modes normaux sont positives, pour chaque mode de vibration il y a une force de rappel, comme celle du ressort. Quand les atomes effectuent un mouvement, cette force les tire et les ralentit jusqu'à ce que les atomes se déplacent dans le sens inverse, et le mouvement est périodique. Pour un état de transition, l'une des vibrations qui est le long des coordonnées de la réaction est différente. Le mouvement des atomes selon ce mode prend l'état de transition

vers le produit finale ou le réactif, sans aucune force de rappel. Cette vibration unique qui correspond à une fréquence imaginaire (valeur négative), fait passer l'espèce par la géométrie de l'état de transition. [10]

2.2. Calcule IRC

Pour vérifier que la structure ainsi optimisée et représentative de la coordonnée de réaction Souhaitée, il est nécessaire d'effectuer un calcul IRC (Intrinsic rdaction coordinate) [11] qui Permet, à partir de la structure de l'état de transition, de descendre la pente vers les intermédiaires en suivant la direction indique par le mode normal de vibration de la fréquence imaginaire.

Nous avons utilisé les résultats de fréquence dans le calcul IRC qui permettent de vérifier les structures des états de transition qui connecte les deux minimums.

L'IRC [12,13] a été effectué et tracé afin de montrer que le TS est bien relié aux deux minima (réactif et produit).

La cinétique nous informe sur la vitesse d'apparition et de disparition des réactifs et des produits

3. Discussion des résultats

3.1. Optimisation des géométries initiales

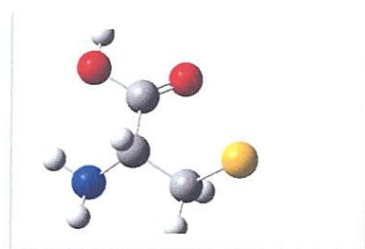
Un maximum, un minimum ou les points de selles sont des points critiques dans la surface d'énergie, qui sont caractérisé par un gradient nul. Pour les distinguer il faut calculer la matrice hessienne :

- Un minimum est caractérisé par une matrice hessienne définie positive.
- Un maximum est caractérisé par une matrice hessienne définie négative.
- Les points selles sont caractérisés par une matrice hessienne ayant des valeurs propres négatives et positives. Le nombre de valeurs propres négatives donne l'ordre du point selle.

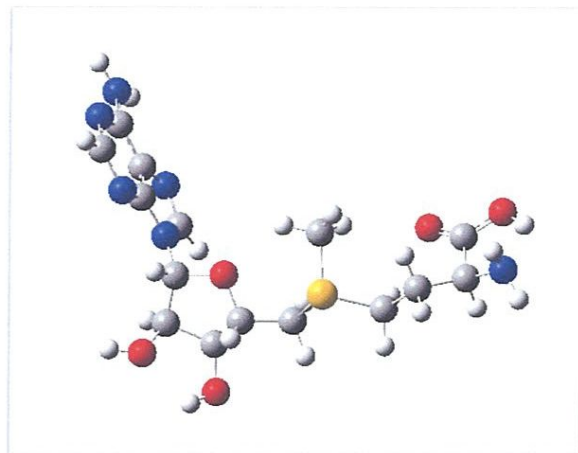
Autrement dit, les réactifs et les produits sont caractérisés par un ensemble de fréquences de vibration positives tandis qu'un état de transition est caractérisé par la présence d'une et une seule valeur négative dite : la fréquence imaginaire.

Après avoir optimisé séparément chaque structure impliquée dans le mécanisme de méthylation de cytosine, par la méthode les méthodes B3LYP/ STO-3G*, 3-21+G*, 6-31+G (d, p)

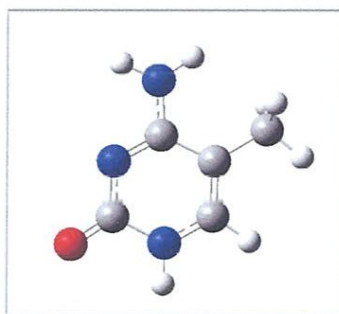
on a pu déterminer les structures d'énergie minimale - minimum globaux- de chaque structure (Figure IV.2)



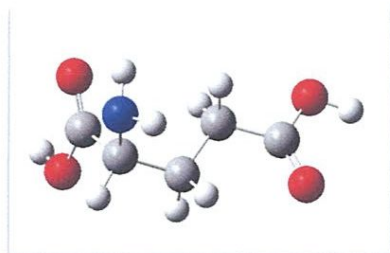
Cys-S-



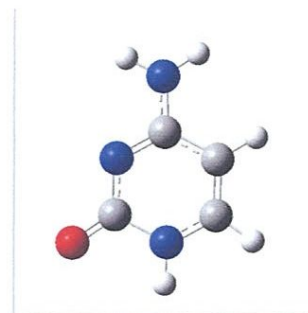
SAM



5mC



Glu



Cytosine

Figure IV. 2: les structures optimisées des molécules cystéine, SAM, GLU, cytosine et 5mc par la méthode B3LYP/6-31+G (d, p)

on représentées dans tableau suivant les différentes énergies des géométries optimisées ainsi que les moments dipolaires, calculées avec les bases STO-3G*, 3-21+G*, 6-31+G (d,p) de la méthode B3LYP.

Tableau 1: Energies absolues E (kcal/mol), Energie de point -zéro EZPE (kcal/mol) et les moments dipolaires μ (Debye) des géométries optimisées par la méthode B3LYP/ STO-3G*, 3-21+G*, 6-31+G (d, p)

	STO-3G*			3-21+G*			6-31+G(d,p)		
	E	E _{ZPE}	μ	E	E _{ZPE}	μ	E	E _{ZPE}	μ
Gys-S-	-447578,44	-447507,323	2.162032	-450774,452	-450707,984	2.684140	-453035,13	-452967,503	2.900780
GLU	-341544,835	-341445,536	1.997825	-344308,516	-344215,312	1.604169	-346178,59	-346083,457	1.252128
SAM	-1667,094	-1045849,8	12.780515	-1679,298	-1053522,27	12.833795	-1059312,93	-1059058,75	12.342826
CYT	-244581,422	-244518,556	4.3245	-246450,375	-246388,184	6.1811	-247843,049	-247781,683	6.8924
SMC	-268961,836	-268879,502	4.481844	-270983,805	-270909,056	6.494089	-272517,055	-272438,211	7.332423

L'analyse des résultats du tableau précédent amène que l'association de la base 6-31G+(d,p) avec la méthode B3LYP conduirait à des valeurs d'énergies supérieures à celles des bases STO-3G* et 3-21+G*. L'écart énergétique très élevés entre la 5-methylcytosine et la cytosine montre que 5mc est le plus stable.

Avec la méthode B3LYP on constate une augmentation légère de la polarité avec l'augmentation de la base.

Concernant la polarité, les valeurs de moment dipolaire μ montrent que SAM (12.342826-12.780515 D) est le plus polaire parmi les autres réactifs et glu (2.900780-2.162032) est le moins polaire.

3.2. Les états de transitions

Tous les calculs ont été effectués par la méthode B3LYP/3-21+G(d), malheureusement on n'a pas pu augmenter la base, et on a rencontré beaucoup de problèmes de calculs pour réaliser un QST3. Ici on a assumé que les états de transition sont qui correspond au celles obtenus par QST2. Nous allons présenter dans cette section les résultats des calculs de thermodynamique entrepris pour étudier la stabilité. Les deux propriétés thermodynamiques, la chaleur de formation ΔH et l'énergie libre d'activation ΔG ont été déterminées. Les résultats de calcul sont représentés dans le tableau 2.

Les enthalpies et enthalpies libres dans le vide ainsi que les énergies et les énergies d'activation des différents points caractéristiques du mécanisme proposé pour la réaction de méthylation de cytosine. On notera que ces valeurs sont exprimées relativement aux états de transitions dont la géométrie a été optimisée sous contrainte pour imposer une orientation correcte entre les réactifs et les produits.

Le Tableau 2 met en évidence que dans le mécanisme réactionnel étudié, l'attaque nucléophile du résidu Cystéine sur le carbone 6 de la cytosine reste l'étape cinétiquement déterminante, avec une enthalpie libre d'activation $\Delta G = 23.72$ kcal/mol. L'enthalpie d'activation dans le vide, $\Delta H = -114,45$ kcal/mol, est bien négative synonyme de processus exothermiques et en conséquence une transformation favorable. En revanche, la deuxième étape du mécanisme qui est de mettre le résidu glutamate au voisinage du site de réaction pour stabilise la charge négative sur la cytosine possède une valeur positive de $\Delta H = 5.40$ kcal/mol Signifiant une transformation endothermique et une valeur négative de ΔG , synonyme d'un processus spontané et favorable. Pour la troisième étape qui est l'attaque nucléophile sur le

groupe méthyle de la S-adénosyl-L-méthionine (SAM), pour se convertir en S-adénosyl-L-homocystéine (SAH), on notera des valeurs négatives de ΔH et ΔG synonyme de processus exothermique, spontané et favorable et que cette réaction est très rapide.

On a rencontré des difficultés de calcul et on n'a pas pu accéder à l'étape de β -élimination par le logiciel.

Tableau 2: Propriétés thermodynamiques, énergies, énergies d'activation (kcal/mol) calculés par la méthode B3LYP/ 3-21+G*.

R B 3 L Y P					
3-21+G*					
	ΔH	ΔE	ΔE^a	ΔG	$\Delta G^\#$
R1→P1	-114,45	-114,9967	137,3981	-105,6788	23,72
R2→P2	5,40	4,3769	24,2093	8,4444	-17,306
R3→P3	-131,49	-133,627	29,322	-109,415	-85,241

Après des optimisations des géométries et détermination des états de transition on a dessiné le profil de la surface d'énergie potentielle – figure IV.3

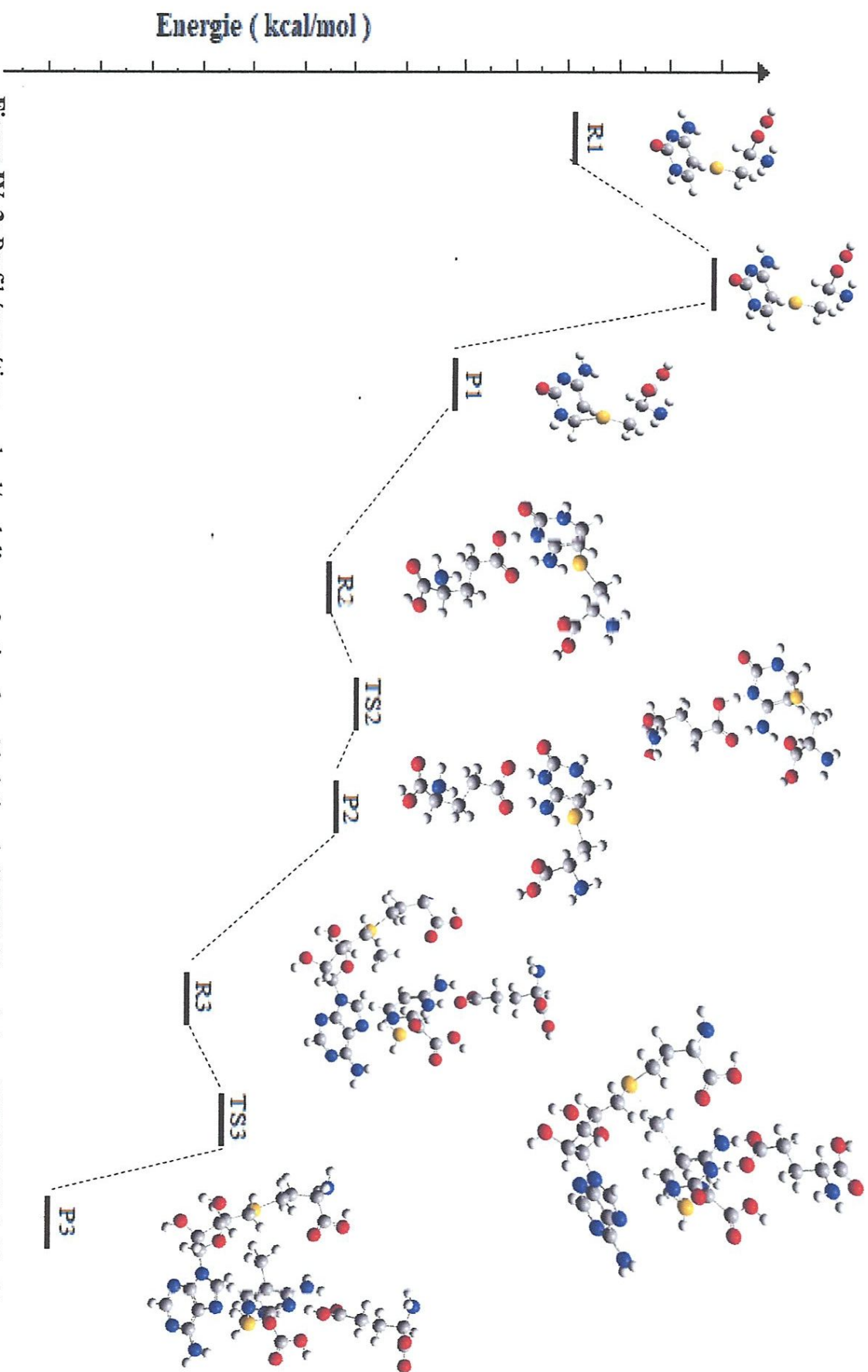


Figure IV. 3: Profil énergétique en kcal/mol d'une réaction de méthylation de l'ADN déterminé par DFT/B3LYP 3-21+G*

à T = 298,15

3.3. Chemin réactionnel (IRC)

Lorsqu'un état de transition est obtenu par le calcul, il faut contrôler que celui-ci peut effectivement être relié aux réactifs et aux produits à l'aide d'un calcul de type IRC.

Les IRC correspondantes aux différentes réactions ont été obtenus en utilisant la méthode IRC dans le niveau de calcul B3LYP/3-21+G(d). Les résultats obtenus lors de la recherche des états de transitions pour les trois étapes de mécanisme étudié ainsi que quelques longueurs de liaison (Å) sont illustrées sur les figures IV4, IV5, et IV6.

Les trois figures montrent qu'il y a une seule structure d'état de transition sur le chemin des coordonnées de la réaction, et que cette structure a la plus haute énergie et relie deux minima qui sont le réactif et le produit.

a) Réaction de l'attaque nucléophile de Cys-S⁻

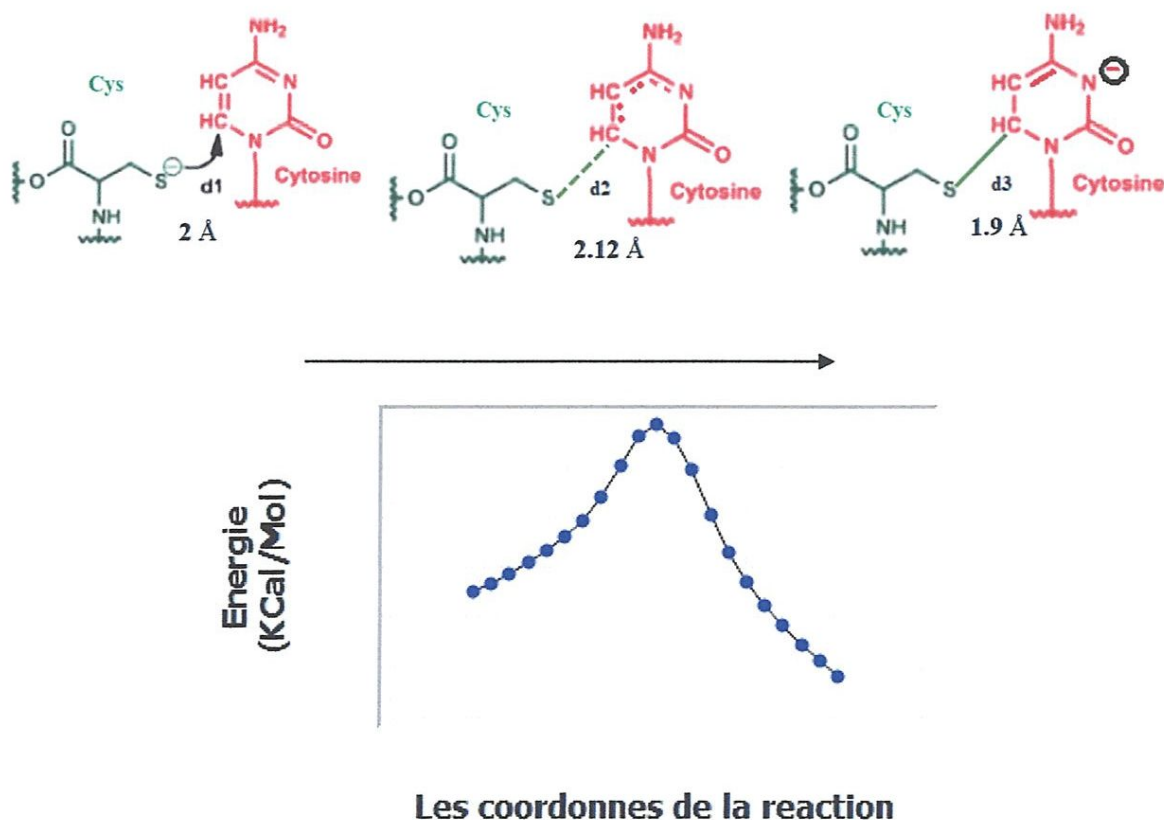


Figure IV. 4: illustration des longueurs de liaison, mécanisme réactionnel et le chemin réactionnel de la première réaction

Le résidu Cys-S⁻ est loin 2 Å de la C6 de l'anneau cytosine, et est bien positionné pour une attaque nucléophile sur C6 pour former une liaison covalente entre Cys-S⁻ et le C6 de l'anneau pyrimidine d=1,9 Å, suit à un déplacement de la double liaison de C5-C6 vers C4-C5 sous l'effet de résonance et la charge négative qui va situer à la position N3 à la fin de réaction. IRC montre que le produit P1 est plus stable que le réactif R1

b) Stabilise la charge négative sur la cystéine par Glu

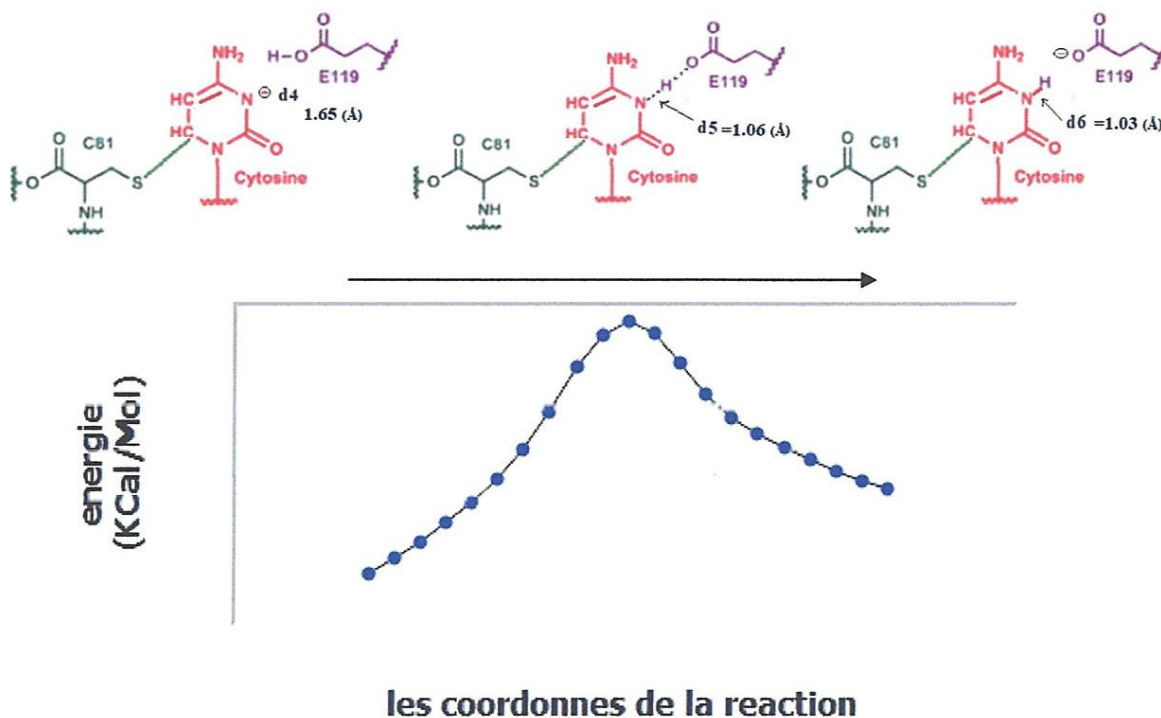


Figure IV. 5: illustration des longueurs de liaison, mécanisme réactionnel et le chemin réactionnel de la deuxième réaction

L'acide Glutamique situe au voisinage du site N1 de cytosine ($d= 1.65 \text{ \AA}$), cette distance a un rôle très important dans la réaction de méthylation de cytosine car elle va stabilise la charge négative sur la cytosine pour activer le site C5 de l'anneau pyrimidine. L'hydrogène de l'acide est lié à N1 par une distance de 1.03 \AA . Le chemin réactionnel montre que le produit P2 est plus stable que le réactif R2.

c) L'activation de C5 pour la substitution électrophile par le groupe méthyle de SAM

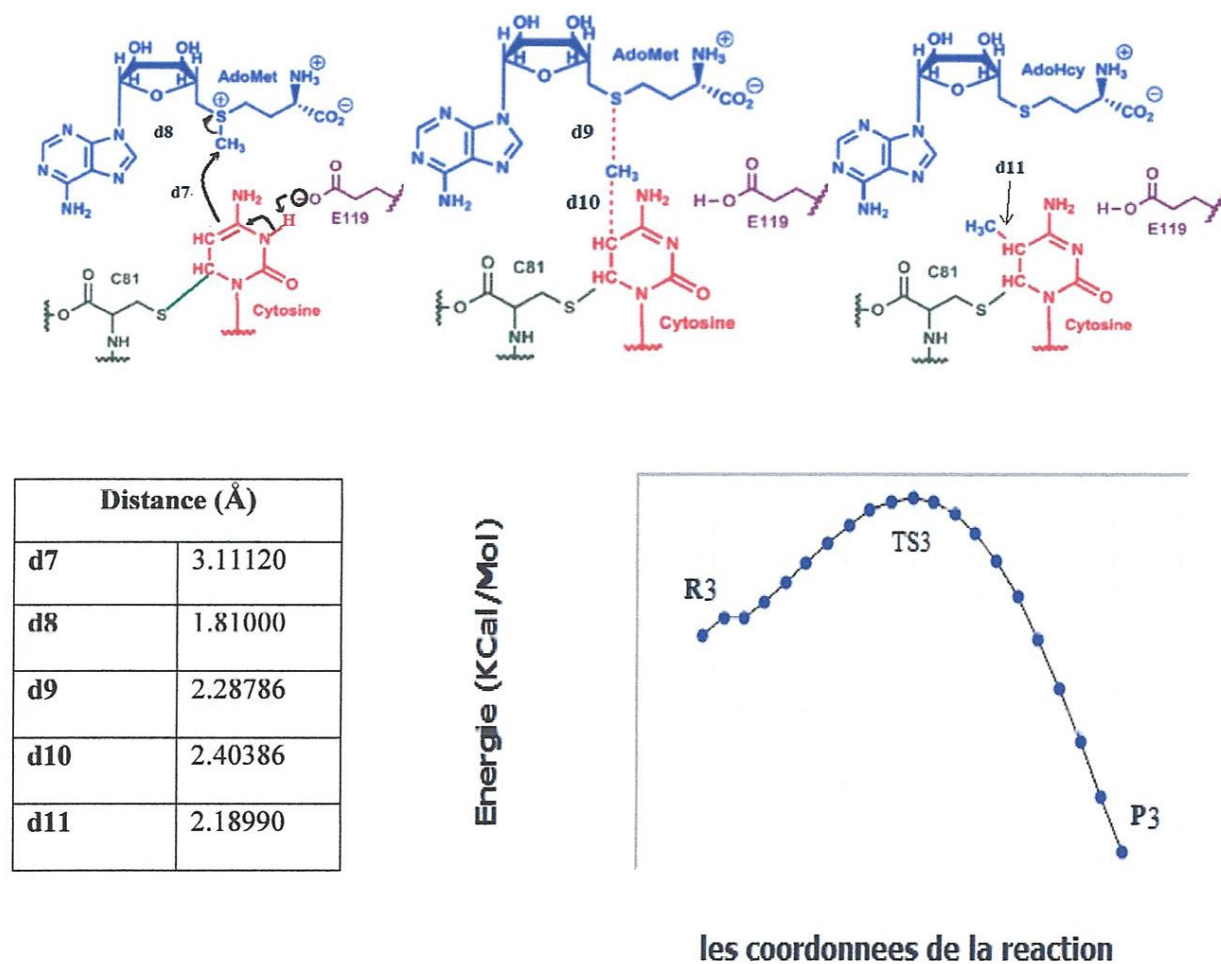


Figure IV. 6: illustration des longueurs de liaison, mécanisme réactionnel et le chemin réactionnel de la troisième réaction

La distance S-CH₃ a subit une élongation de 1.81 Å à 2.288 Å afin de former une liaison entre le CH₃ de SAM et le C5 de l'anneau pyrimidine.

Lorsque le groupe méthyle est complètement transféré à la cytosine, on obtient l'intermédiaire le plus stable sur le plan énergétique dans le chemin IRC.

4. Les orbitales frontières HOMO/HUMO

Les orbitales HOMO et LUMO sont des paramètres très importants dans la chimie quantique. Les écarts énergétique frontière aide à caractériser la réactivité chimique et la stabilité des molécules. Telle que, la molécule ayant l'écart énergétique le plus petit est plus polarisable et généralement elle possède la plus haute réactivité chimique et une basse stabilité cinétique. Un grand gap énergétique HOMO-LUMO indique la haute stabilité d'une molécule.

a) L'écart énergétique $\Delta(\text{HOMO-LUMO})$ des réactifs

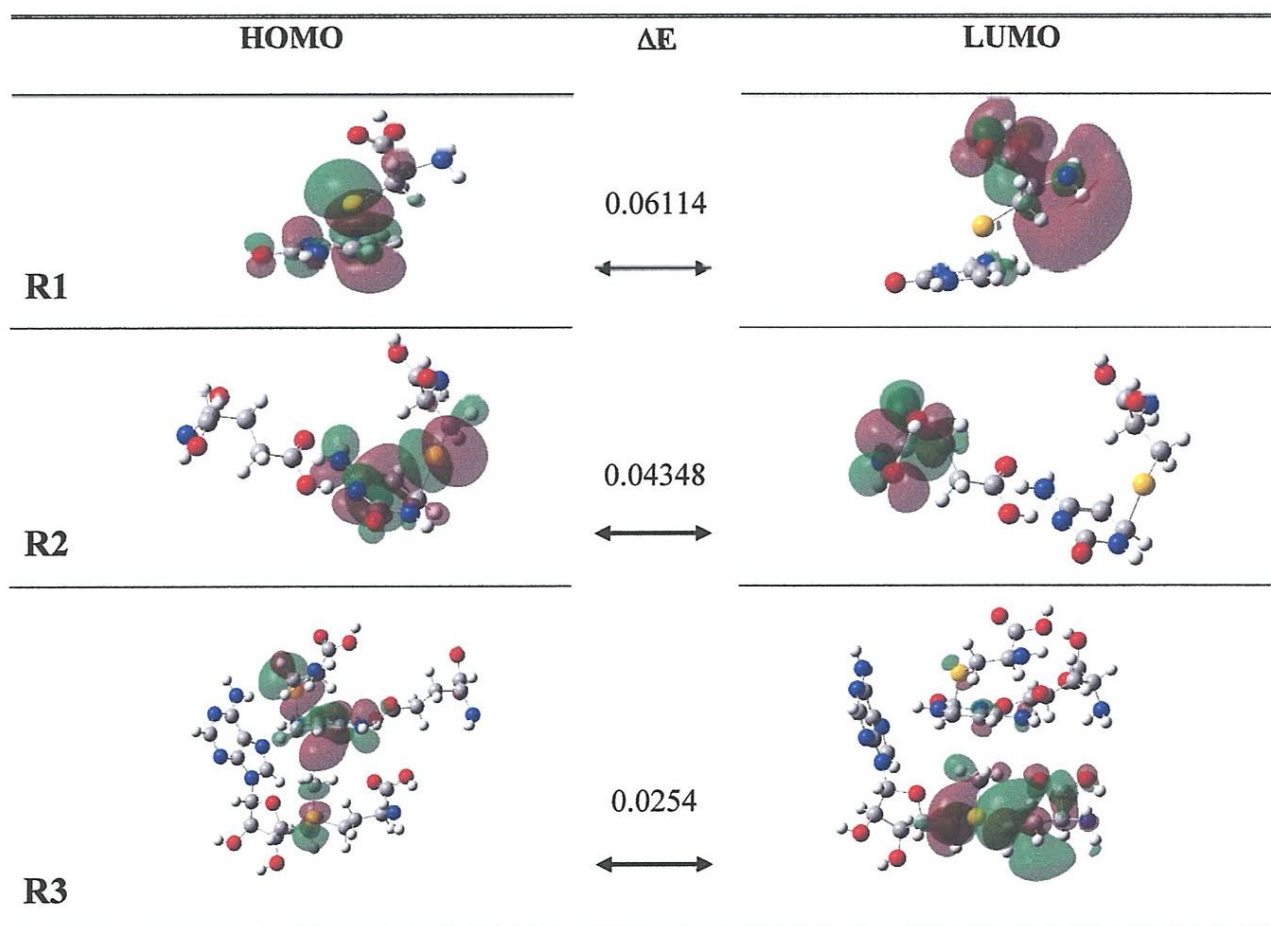


Figure IV.7 : Illustration des orbitales frontières des réactifs par DFT/B3LYP 3-21+G*

Le calcul des énergies des orbitales frontières et l'écart énergétique entre les deux types $\Delta(\text{HOMO-LUMO})$, montre que le réactif R3 possède l'écart énergétique le plus faible ce qui

indique que le R3 est le moins stable et le plus polaire donc il va chercher la stabilité, contrairement à R1 est le plus stable, ce qui confirme que la première étape- attaque nucléophile sur le SAM- est spontanée et favorable.

b) L'écart énergétique $\Delta(\text{HOMO-LUMO})$ des produits

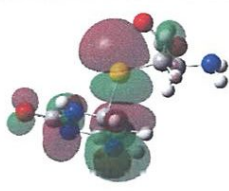
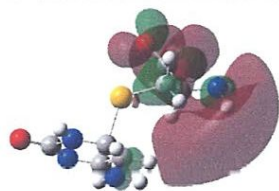
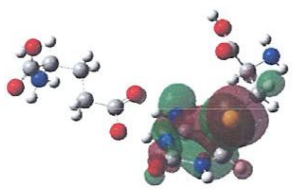
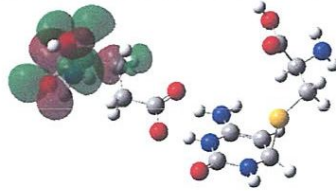
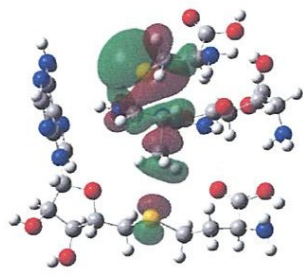
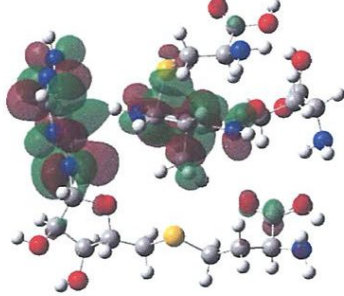
	HOMO	ΔE	LUMO
P1		0.06047 ↔	
P2		0.07652 ↔	
P3		0.14173 ↔	

Figure IV.8 : Illustration des orbitales frontières des produits par DFT/B3LYP 3-21+G*

Les valeurs des écarts énergétiques ΔE (HOMO-LUMO) qui sont apparait dans la figure 8 montre bien que le produit P3 est le plus stable ce qui confirme les résultats obtenus précédemment.

Références :

- [1] https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=PMC4737724_thnov06p0369g001&query=pathways+methylation+cytosine&req=4&npos=1
- [2] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
- [3] W. Gaussview, A. E. Frisch, A. B. Nielsen and A. J. Holder, Gaussian Inc., Carnegie Office Park, Building 6, Pittsburgh, PA 15106, USA. 2003.
- [4] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* 98, 11623 (1994).
- [5] C. Peng, P.Y. Ayala, H.B. Schlegel, M. J. Frisch, *J. Comput. Chem.*, 17, 49-56 (1996).
- [6] H. Eyring, M. Polanyi, *J. Phys. Chem.*, 12.279 (1931).
- [7] H. Eyring, *J. Chem.Phys.* 3, 107-115 (1935).
- [8] J. Petre, W. Atkins, *Chimie physique. de Boeck université S. A., Paris*, 831, 832 (2000).
- [9] C. Gonzalez, H. B. Schlegel, *An J. Chem. Phys.*90, 2154-2161 (1989).
- [10] E. G. Lewars, *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of molecular and Quantum Mechanics.*2, 33-34.
- [11] S. Wawzonek, P. J. Thelan, *J. Am. Chem. Soc.* 72, 2118 (1950).
- [12] S. Wawzonek, M. F. Thelan, P. J. Thelan, *J. Am. Chem. SOC.* 73, 2806 (1951).
- [13] S. Wawzonek, T. P. Culbertson, *J. Am. Chem. SOC.* 81, 3367 (1959).

*C*ONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Dans ce travail, nous avons essayé d'apporter des éléments théoriques permettant de renseigner sur un mécanisme réactionnel de la méthylation de l'ADN et sur la réactivité observée lors de la transformation de cytosine au 5-méthylcytosine effectuée par le DNMT. Nous avons pour cela privilégié les méthodes de modélisation moléculaire basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité et avons d'utilisé de façon complémentaire des méthodes quantitatives permettant de calculer l'énergie et la structure électronique des systèmes moléculaires, et la DFT conceptuelle, modèle qualitatif de la réactivité chimique.

Plus généralement, l'utilisation de la DFT conceptuelle se révèlent particulièrement bien adaptés à l'étude de la réactivité des bases nucléiques, que ce soit à l'état. Seul un exemple a été étudié au cours de ce travail dans une durée insuffisante et il reste de nombreuses renseignements à comprendre plus en détails.

Le contrôle cinétique et thermodynamique réservée aux différentes étapes de mécanisme a confirmé que l'attaque nucléophile de résidu Cys-S⁻ sur la cytosine est l'étape cinétiquement déterminante et la transformation est la plus favorable. Par contre, l'étude thermodynamique prédit, en plus, les deux transformations favorables.

Le travail exposé dans ce mémoire a concerné uniquement une partie de la méthylation d'ADN. Nous souhaitons dans une prochaine étape étudiée l'influence de quelques paramètres sur la méthylation et par la suite d'autres types de méthylation.

