



MODELISATION MULTIECHELLE DE MONOOXYGENASES A CENTRES CUIVREUX NON COUPLES : de l'activation du dioxygène au transfert électronique à longue distance.

Aurélien de la Lande

► To cite this version:

Aurélien de la Lande. MODELISATION MULTIECHELLE DE MONOOXYGENASES A CENTRES CUIVREUX NON COUPLES : de l'activation du dioxygène au transfert électronique à longue distance.. Chimie théorique et/ou physique. Université Pierre et Marie CURIE; Universitat Jaume I (Castellón de la Plana, Espagne), 2007. Français. <NNT : >. <tel-04366791>

HAL Id: tel-04366791

<https://hal.science/tel-04366791v1>

Submitted on 29 Dec 2023

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

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



HAL Authorization

UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE PARIS 6

Ecole Doctorale de Chimie Physique et Analytique de Paris Centre

Laboratoire de Chimie Théorique – UMR 7616

Thèse réalisée en co-tutelle avec :

Departament de Química Física i Analítica

UNIVERSITAT JAUME I, CASTELLO, ESPAGNE

Spécialité : chimie théorique

Présentée par :

Aurélien de la LANDE de VALLIERE

MODELISATION MULTIECHELLE DE MONOOXYGENASES A

CENTRES CUIVREUX NON COUPLES :

de l'activation du dioxygène au transfert électronique à longue distance.

Directeurs de Thèse : Olivier PARISEL et Vicent MOLINER

Soutenue publiquement le 25 septembre 2007

JURY

MARIE-MADELEINE ROHMER

FELIU MASERAS

ALAIN FUCHS

ODILE EISENSTEIN

OLIVIA REINAUD

MARIONA SODUPE

VICENT MOLINER

OLIVIER PARISEL

Rapporteur, Directeur de Recherche au CNRS

Rapporteur, Professeur

Examinateur, Professeur

Examinateur, Directeur de Recherche au CNRS

Examinateur, Professeur

Examinateur, Professeur

Directeur de Thèse, Professeur

Directeur de Thèse, Chargé de Recherche au CNRS

A Papy

Si nous travaillons, c'est moins pour obtenir ces résultats positifs auxquels le vulgaire nous croit uniquement attachés, que pour ressentir cette émotion esthétique et la communiquer à ceux qui sont capables de l'éprouver.

Henri Poincaré

REMERCIEMENTS - AGRADECIMIENTOS

Cette thèse a été réalisée en co-tutelle pour moitié au Laboratoire de Chimie Théorique de l'Université Pierre et Marie Curie et pour moitié au *Departament de Química Física i Analítica de la Universitat Jaume I*. A ce titre je remercie sincèrement Bernard Silvi pour la confiance qu'il m'a témoignée en me proposant ce partenariat franco-espagnol et de m'avoir accueilli au LCT dans les périodes parisiennes. *Agradezco igualmente muchísimo a Juan Andrés por su hospitalidad en el grupo de Química Teórica y Computational de Castelló. Estos meses en España fueron una experiencia que no olvidaré.*

La casquette de directeur de thèse a donc coiffé simultanément deux têtes, l'une à Paris, l'autre à *Castelló*. J'adresse ainsi mes plus vifs remerciements à Olivier Parisel dont la rigueur scientifique exceptionnelle a constitué pour moi un modèle à suivre dans mon activité de recherche scientifique. Je lui suis très reconnaissant de la latitude qu'il m'a laissée pour mener mon travail, me permettant ainsi de tester les hypothèses les plus spéculatives, parfois même farfelues. *Quiero agradecer también a Vicent Moliner por su optimismo y su apoyo indefectible que me permitieron luchar, a veces con braveza, contra el cobre en todas sus formas, cuánticas, clásicas, y a veces híbridas.*

Durant cette thèse en chimie théorique, j'ai eu le privilège et le plaisir de travailler en étroite collaboration avec le groupe de Chimie Bioinorganique Supramoléculaire de l'Université Paris Descartes dirigé par Olivia Reinaud. Je tiens à la remercier très sincèrement pour la confiance qu'elle m'a témoignée en partageant, avant publication, de nombreuses données expérimentales. Je conserve surtout à l'esprit les nombreuses heures de discussion que nous avons eues rue des Saints-Pères et qui ont toujours été pour moi des moments particulièrement enrichissants. Je voudrais également associer ici ses collaborateurs et doctorants que j'ai eu la chance de côtoyer, principalement Diana, David, Benoît et Guillaume. Leurs résultats expérimentaux, de par leur finesse et leur précision, ont constitué les fondements indispensables à ce travail théorique.

Je tiens par ailleurs à remercier sincèrement les membres du Jury qui me font l'honneur de juger ce travail : Marie-Madeleine Rohmer, Feliu Maseras, Odile Eisenstein, Olivia Reinaud, Mariona Sodupe, Alain Fuchs et Bernard Silvi. *En particular, quiero agradecer a Mariona Sodupe y Feliu Maseras por haber aceptado juzgar este trabajo escrito en francés.*

La rédaction de cette thèse a été l'occasion de réaliser une nouvelle fois que ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide, ô combien précieuse, de nombreuses personnes, en premier lieu desquelles Hélène Gérard et Sergio Martí. Hélène d'une part, dont la compétence, la rigueur et la sagacité ont été des atouts majeurs dans bien des cas, notamment pour l'étude de réactivité présentée dans ce travail. Je n'oublie pas non plus son encadrement car-parrainien durant mon

stage de DEA, qui m'a permis de me familiariser avec la Dynamique Moléculaire, notions qui m'ont été si utiles par la suite. *Tengo un especial agradecimiento a Sergio por su disponibilidad y su competencia fuera de lo común, especialmente en programación: Ninguno de los cálculos híbridos DFT/MM hubieran sido posibles sin su ayuda y su apoyo.*

Je voudrais également remercier tous ceux qui ont contribué à faire du laboratoire un lieu agréable de vie et d'échange, notamment Olivier, Hélène, Christophe, Jean-Philip, Danielle, Jacques, Yves, Marie-Céline, Françoise, Luc-Henri, Marie-France, Isabelle et bien d'autres dont je ne peux faire la liste exhaustive en raison de sa longueur.

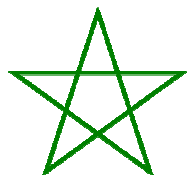
También agradezco a la gente del departamento, por su hospitalidad, especialmente durante los primeros meses (cuando no entendía ninguna palabra de las charlas del almuerzo). Gracias a Natal, Pamela, Lourdes, Silvia, Maite, Monica, Raquel, Xexo, Jucasa, Pedro, Victor, Pato, Sixte y Armando ... Seguro estoy olvidando nombres de tanta gente que fue maja conmigo.

Je remercie également chaleureusement Clément Douault pour les nombreux articles scientifiques obtenus grâce à son intermédiaire lorsque ceux-ci n'étaient pas accessibles par les voies "académiques".

Ces lignes sont également l'occasion de remercier très vivement Hervé Reynaud et tous les "collègues moniteurs" rencontrés à l'occasion des réunions Boulevard de Sébastopol. Ces rencontres resteront pour moi parmi des moments marquants de ces années de "thésard".

Je voudrais enfin achever ces remerciements en exprimant ma reconnaissance infinie à mon entourage familial dont la présence indéfectible a été essentielle. En particulier je voudrais exprimer ma profonde gratitude à mes parents, à mes grands-parents et à mes soeurs pour avoir, par leur affection et par l'environnement dont ils m'ont entouré, contribué à me faire choisir ce métier passionnant. Merci.

TABLE DES MATIERES GENERALE



CHAPITRE I	15
<i>Une "saga" enzymologique</i>	
CHAPITRE II	81
<i>Aux cœurs de la PHM et de la DβM : vers un complexe cuivreux biomimétique</i>	
CHAPITRE III	181
<i>Troisième étape : attaque de la liaison C — H</i>	
CHAPITRE IV	237
<i>Effets d'environnement : calixarènes solvatés</i>	
CHAPITRE V	269
<i>Transfert électronique dans la PHM : un aller simple vers le centre Cu_M</i>	
ANNEXES	301

INTRODUCTION

Les réactions chimiques enzymatiques constituent un idéal pour les processus chimiques. Cette "perfection" catalytique permet la formation de produits de réaction à des vitesses nettement accélérées par rapport aux processus équivalents en solution et souvent avec d'excellentes régio- et stéréospécificités. Dans certains cas le gain cinétique est tel que certaines réactions difficilement réalisables par les voies de synthèses organiques habituelles sont rendues possibles dans le milieu biologique. A titre d'exemple, l'activation des liaisons C — H aliphatiques demeure encore aujourd'hui un graal de la synthèse organique tandis qu'elle a lieu en permanence dans les organismes vivants au moyen de métalloenzymes. La compréhension fine des ressorts chimiques permettant ce type de réaction apparaît dans ces conditions comme un exercice fascinant aussi bien d'un point de vue fondamental que dans la perspective de mimer ces réactions au laboratoire. De ce point de vue la chimie théorique, de part la variété des méthodes qu'elle met à la disposition du chimiste, a certainement un rôle à jouer dans l'élucidation des mécanismes enzymatiques. C'est dans cet esprit que ce travail de thèse est envisagé en ayant pour objectif de comprendre "la chimie" se cachant derrière le processus d'hydroxylation de certaines liaisons hydrocarbonées catalysé par deux monooxygénases à cuivre : la PHM et la D β M. Comme nous le verrons, la nature des processus chimiques se déroulant au cours de leur cycle catalytique conduit à adopter des méthodes de modélisation allant de la chimie quantique en phase gazeuse à l'emploi de méthodes plus sophistiquées de type QM/MM

Avant d'entamer cette étude théorique, une présentation du rôle biochimique ainsi que de différentes données expérimentales nous apparaît comme indispensable. Cet examen nous conduira à considérer la littérature traitant l'aspect biochimique du problème mais également celle relevant de la synthèse et de la réactivité de systèmes inorganiques modèles.

Dans les deux chapitres suivants, nous nous intéresserons d'une part à l'activation du dioxygène et d'autre part à ses réactions oxydatives vis-à-vis des liaisons C — H et N — H. Cette étude est réalisée sur les modèles bio-inspirés au moyen de calculs *ab initio* permettant de prendre en compte le caractère multiconfigurationnel de ces espèces.

Dans un quatrième chapitre nous introduirons explicitement les effets d'environnement à l'aide de méthodologies hybrides DFT/MM. Nous focaliserons notre

attention sur des calixarènes métallés qui permettent de modéliser la cavité hydrophobe des systèmes enzymatiques tout en assurant une très bonne caractérisation du système expérimental.

Enfin dans un dernier chapitre nous nous intéresserons au problème du transfert électronique à longue distance qui s'avère être crucial dans la PHM et la D β M. En effet, le transfert entre les deux centres actifs à cuivre Cu(I) non couplés doit avoir lieu sur une distance de plus de 11 Å. Pour y parvenir il est nécessaire de prendre en compte la totalité de la structure enzymatique ainsi que le caractère dynamique du phénomène. Ainsi le recours à des simulations de dynamique moléculaire couplées au calcul des paramètres de la théorie de Marcus au moyen du modèle de Beratan est apparu comme une méthode de choix.

Ces résultats traitant donc de l'étude de l'activation du dioxygène au transfert électronique à longue distance doivent contribuer à une meilleure compréhension des trois étapes clés des réactions d'hydroxylation des liaisons C-H par la PHM et la D β M.

CHAPITRE I

UNE "SAGA" ENZYMOLOGIQUE

I FONCTIONS CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES	19
A. Fonctions biologiques	19
B. De la vue d'ensemble aux centres actifs	22
C. Conclusion : vers la coordination du dioxygène	31
II INCURSION BIOMIMETIQUE	32
A. Synthèse des adduits mononucléaires	33
B. De la coordination du dioxygène	37
C. Structure électronique	46
D. Approche vibrationnelle	49
E. Retour aux enzymes	57
III MECANISME COMPLET DANS LA PHM	58
A. Attribution des rôles	58
B. Test de l'analogie aux enzymes à fer	59
C. Etudes cinétiques	64
D. Transfert électronique	67
CONCLUSION	71
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	<i>73</i>

UNE "SAGA" ENZYMOLOGIQUE

Les enzymes à cuivre jouent un rôle important dans la catalyse des réactions d'oxydoréduction en milieux biologiques. La disponibilité de deux degrés d'oxydation +I et +II explique la seconde place de cet élément, après le fer, dans les nombreux processus oxydatifs ou oxygénatifs, c'est-à-dire conduisant à l'insertion d'oxygène dans un substrat, mais également dans le transport du dioxygène ou des électrons (Figure 1).¹

A l'exception de celles relevant du transport d'électrons, toutes les équations bilan qui y sont présentées suggèrent un étroit couplage entre cuivre et dioxygène dans ces catalyses. L'utilisation du dioxygène dans le milieu biologique n'est pas un choix biochimique trivial. Certes, les potentiels standards suggèrent que le dioxygène est un oxydant puissant capable de capter jusqu'à quatre électrons (Tableau 1). Cependant, la réduction à un électron est nettement plus difficile ($E^\circ(\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}) = -0,28 \text{ V}$) et dépend du partenaire réducteur en présence. Il en ressort que la réduction du dioxygène est thermodynamiquement favorable pourvu que la première étape d'oxydation à un électron soit franchissable. De là découlent deux implications majeures. Premièrement, la difficulté de réduire le dioxygène par les réducteurs courants du milieu cellulaire protège celui-ci d'une trop facile réduction et de la libération d'espèces nocives (radical anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ par exemple). Deuxièmement, des enzymes doivent intervenir pour modifier la cinétique de réduction du dioxygène tout en contrôlant le devenir des éventuels intermédiaires réactifs produits au cours de la catalyse.

Demi-équation redox	$E^\circ \text{ (V)}$
$\text{O}_2 + 4 \text{ H}_3\text{O}^+ + 4 \text{ e}^- \rightleftharpoons 6 \text{ H}_2\text{O}$	1,23
$\text{O}_2 + 2 \text{ H}_3\text{O}^+ + 2 \text{ e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O}$	0,69
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{ H}_3\text{O}^+ + 2 \text{ e}^- \rightleftharpoons 2 \text{ H}_2\text{O}$	1,76
$\text{O}_2 + 1 \text{ e}^- \rightleftharpoons \text{O}_2^{\bullet-}$	-0,28

Tableau 1 : Demi-équations électroniques associées à quelques couples d'oxydoréduction.

Il semble donc au vu des exemples de la Figure 1 que le cuivre ait cette capacité à activer, c'est-à-dire à rendre réactif le dioxygène dans un large panel de réactions redox.^{2,3,4,5,6} Pour le chimiste, comprendre les ressorts mécanistiques qui sous-tendent cette activité enzymatique est un défi difficile à relever mais extrêmement motivant.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à deux cuproenzymes appartenant à la famille des monooxygénases : la PHM et la D β M. Ce chapitre est donc naturellement

dédié à la présentation détaillée des connaissances accumulées sur ces enzymes, lesquelles serviront de fondements indispensables au travail de modélisation entrepris dans les Chapitres ultérieurs.

La première partie de ce chapitre est consacrée à l'exposé des grandes lignes biologiques, chimiques et structurales qui permettent de situer PHM et D β M dans la vaste famille des cuproenzymes. Une fois réalisé ce travail sur les systèmes biologiques, nous ferons une incursion dans le domaine de la modélisation inorganique des centres actifs. Les données expérimentales sur les systèmes modèles sont nombreuses et leur étude permettra de mieux cerner les enjeux de la coordination du dioxygène dans les enzymes. Enfin, nous reviendrons dans une troisième partie aux systèmes biologiques en nous intéressant plus particulièrement à l'état des connaissances concernant les étapes mécanistiques dont ils sont le théâtre.

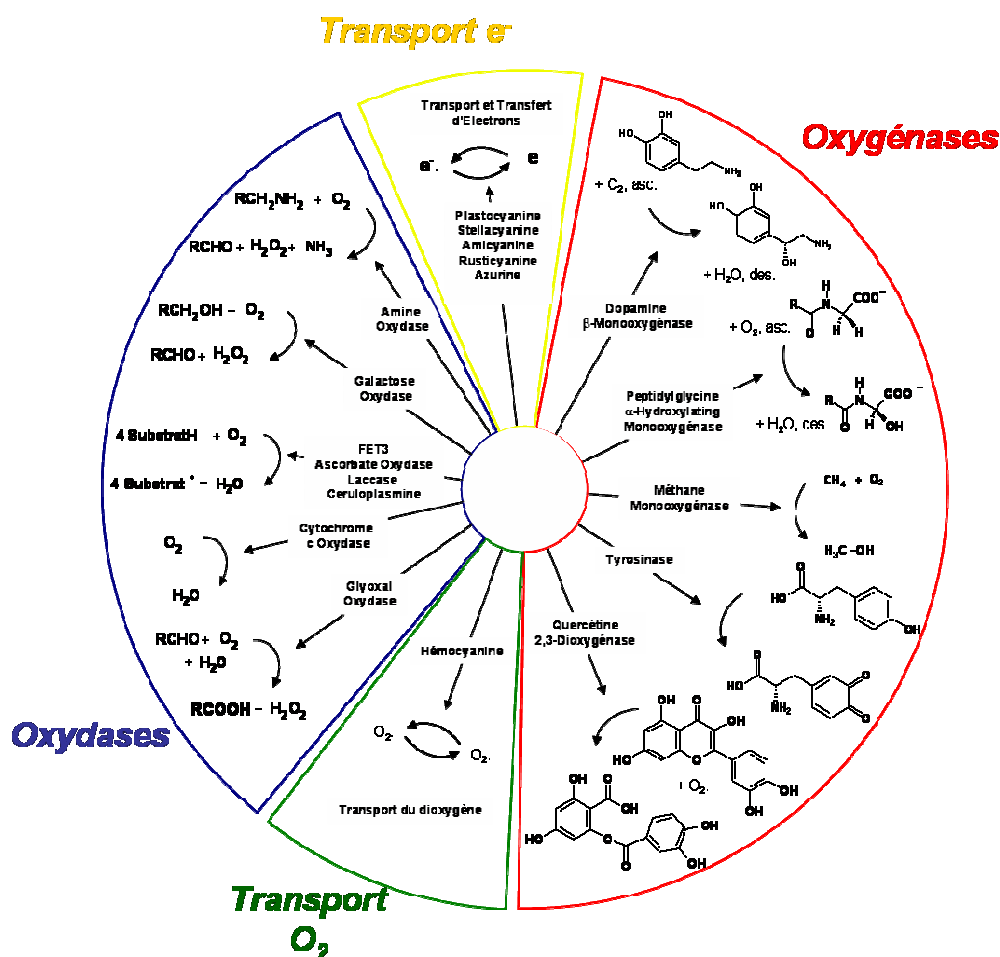


Figure 1 : Principales fonctions métaboliques du cuivre selon le type de processus auquel il participe.

I FONCTIONS CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES

A. Fonctions biologiques

1. Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygénase

Pour être biologiquement actifs, la plupart des peptides ont besoin de présenter une terminaison amide plutôt que la fonction carboxylique habituelle. Ainsi, plus de 50% des peptides dont l'importance a été reconnue dans l'activité neuronale ou endocrinale présentent cette fonctionnalisation.⁷ L'origine de l'amélioration de l'activité lors de l'amidation est seulement supposée à ce jour, mais la raison généralement avancée implique un meilleur arrimage des peptides amidés au niveau des récepteurs.⁸

La chaîne de fabrication des neuropeptides par les organismes eucaryotes a été identifiée et il est connu aujourd'hui que c'est en dernière étape qu'intervient la phase d'amidation.⁸ Pour ce faire, le peptide précurseur présente systématiquement un résidu glycine en position terminale.[†] La chaîne latérale du résidu glycine subit alors deux réactions successives : une hydroxylation sur l'atome de carbone α (Figure 2, haut) suivie du clivage d'une liaison $C_\alpha - N$ (Figure 2, bas).

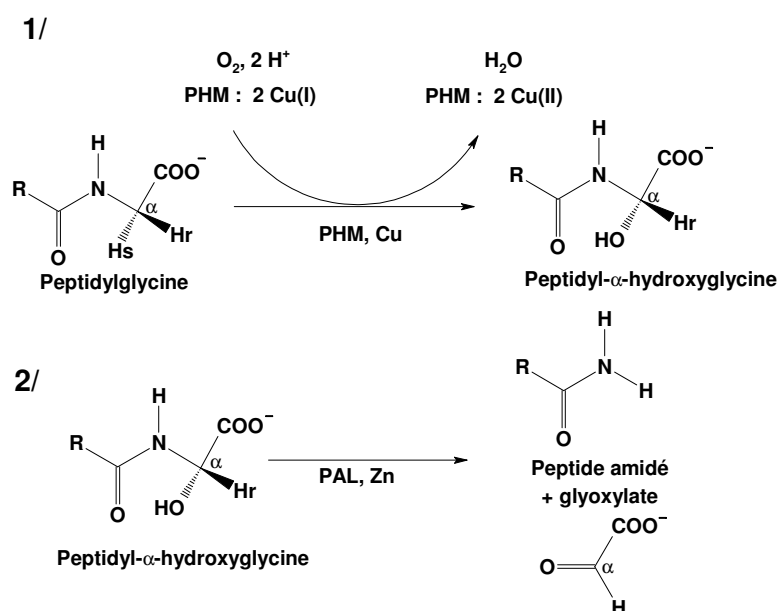


Figure 2 : Catalyse de la réaction d'amidation en deux étapes par la PAM.

[†] La liste des acides aminés essentiels est fournie en Annexe.

Cette transformation est catalysée par la Peptidylglycine α -Amidating Monooxygénase (PAM). De manière intéressante, elle est à l'heure actuelle la seule enzyme connue capable de catalyser la réaction d'amidation des peptides. On sait que les mouches ou les souris qui en sont privées ne peuvent pas se développer.⁹ En outre il est reconnu qu'un large panel de peptides sont de potentiels substrats de la PAM pourvu qu'ils présentent un résidu glycine final du côté carboxylique.^{7,10}

La PAM est en réalité une enzyme bifonctionnelle qui catalyse successivement chacune des deux étapes (Figure 2). Dans un premier temps, la PHM (Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygénase) catalyse l'hydroxylation de la chaîne latérale du résidu glycine de manière stéréospécifique et seule la liaison $C_\alpha - H_s$ est attaquée. Dans un second temps, l'intervention de la Peptidyl α -Hydroxyglycine Lyase (PAL) permet la N-désalkylation au niveau de la liaison $C_\alpha - N$. Ces enzymes présentes dans la PAM fonctionnent cependant séparément. Dans les organismes peu évolués, les deux enzymes PHM et PAL sont même codées sur des gènes différents et sont donc exprimées séparément. Dans ce travail nous nous intéresserons exclusivement à la PHM qui fait partie de la famille des monooxygénases à cuivre.

L'équation bilan de la PHM (Figure 2, haut) met clairement en évidence l'aspect oxydoréducteur de cette réaction. Le dioxygène est réduit selon un processus à quatre électrons pour conduire à l'hydroxylation du substrat et à la formation d'une molécule d'eau. En échange, la PHM fournit deux électrons grâce à l'oxydation des deux cations cuivre I qu'elle contient. Le substrat fournit les deux électrons complémentaires. L'ascorbate joue le rôle de cofacteur en permettant la régénération de l'enzyme par réduction des deux Cu(II) formés.¹¹

2. Dopamine β -Monooxygénase

La première étape du schéma réactionnel de la PAM est à rapprocher de celle d'une autre monooxygénase à cuivre, la Dopamine β -Monooxygénase (D β M). Cette dernière catalyse la conversion de la dopamine en norépinéphrine, toutes deux neurotransmetteurs (Figure 3).³ Chimiquement parlant, cette transformation permet l'hydroxylation stéréospécifique en position benzylique de la chaîne éthylamine de la dopamine ou même de dérivés de la phénylalanine.

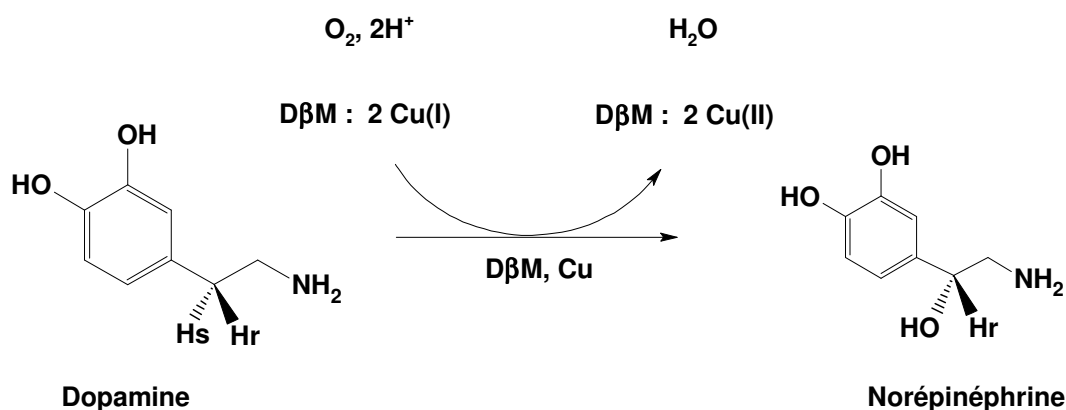


Figure 3 : Transformation de la dopamine en norépinéphrine par la DβM.

3. Conclusion et petit avertissement historique

Les équations-bilans présentées sur les figures précédentes incitent au rapprochement des deux activités catalytiques. Dans les deux cas, une liaison C — H est activée (environ 98,5 kcal.mol⁻¹ pour la rupture homolytique de la liaison)¹² avec insertion d'un atome d'oxygène provenant d'une molécule de dioxygène (fonction oxygénative),^{13,14,15} cette réaction se faisant de manière stéréospécifique.^{16,17} Dans les deux cas, cette réaction d'oxydoréduction est assurée par deux centres à cuivre. Les deux cations cuivreux cèdent chacun un électron pour opérer la réduction à quatre électrons du dioxygène.^{3,11,18}

Ces premières analogies constituent des encouragements à pousser plus loin la similitude entre PHM et DβM. L'analyse de la littérature traitant de la chimie de ces deux enzymes montre que, très tôt, les auteurs ont considéré comme interchangeable les données obtenues respectivement sur chacun de ces deux systèmes. Il est ainsi souvent difficile de faire la part entre les informations portant directement sur l'une des deux enzymes et celles extrapolées à partir de manipulations concernant l'autre enzyme.

Dans cette présentation, nous avons donc choisi de ne pas faire la revue *in extenso* de la littérature publiée depuis 25 ans. Au contraire, nous avons choisi de dépeindre l'état des connaissances aujourd'hui admises. Nous avons cependant pris garde à bien identifier l'origine de chaque information, à savoir sur quelle enzyme elle a été obtenue. Nous entamerons cette présentation par la description détaillée de la structure de ces enzymes, PHM et DβM.

B. De la vue d'ensemble aux centres actifs

1. Vue d'ensemble

a. Structure cristallographique de la PHM

L'obtention de structures cristallographiques est un élément important lors de l'étude d'une protéine et donne accès à de nombreux indices mécanistiques. Cependant il s'agit d'une opération expérimentalement délicate car l'isolation de monocristaux est parfois impossible. C'est notamment le cas pour la D β M : aucune méthode de préparation n'a pour l'instant permis une production en quantité suffisante pour des études RX.¹⁸ A l'inverse et grâce à sa plus petite taille, la PHM a pu être caractérisée précisément au moyen de méthodes de diffraction des rayons X.^{7,19,20} En réalité, les biochimistes ont montré que la fraction de la PHM du rat comprenant les résidus allant des indices 44 à 346, et appelée cœur catalytique (PHMcc), demeurait active.²¹ Toutes les études cristallographiques portent sur cette version tronquée de l'enzyme.

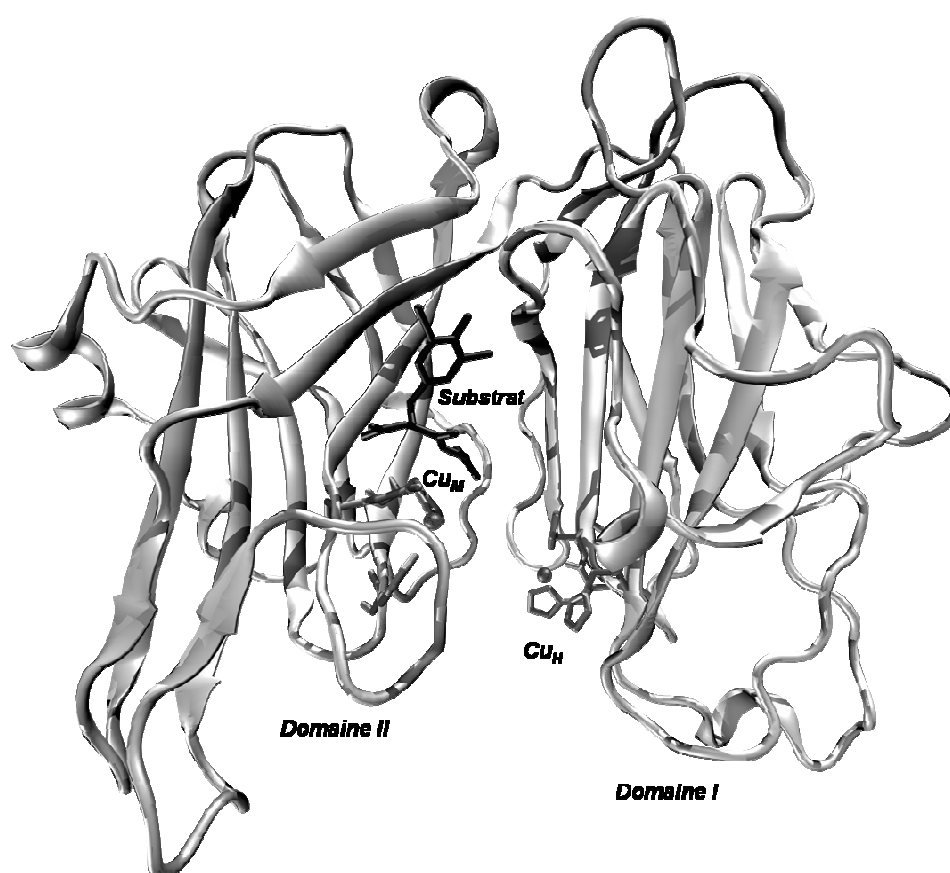


Figure 4 : Structure cristallographique de la forme oxydée de la PHMcc en présence de substrat (en noir). Les centres actifs sont représentés en gris foncé et en représentation de type bâtonnets. (Source : entrée 1OPM de la *Protein Data Bank*).²⁰

La Figure 4 est une représentation de la forme oxydée du cœur catalytique de la PHM en présence d'un substrat obtenue à une résolution de 2,1 Å avec un facteur R_{free} de 0,259.^{†,22,23} Dans ce travail, nous entendons par "oxydée" la forme dans laquelle les deux cations cuivre sont à l'état +II, c'est-à-dire à la fin du processus d'hydroxylation. Cette structure montre la séparation de la PHM en deux domaines distincts séparés par une cavité catalytique qui est certainement remplie de molécules d'eau dans le milieu biologique. Nous pouvons remarquer que les deux domaines sont essentiellement composés de feuillets β parallèles et anti-parallèles qui créent les parois de la cavité.

b. Deux centres métalliques mononucléaires

Les deux sites cuivriques, appelés Cu_M et Cu_H , sont maintenus à 11 Å l'un de l'autre à l'aide de résidus complexant localisés sur chacune des deux parois. Cette distance cristallographique est à mettre en parallèle avec les mesures de spectrométrie RPE qui ont échoué à détecter le moindre couplage magnétique entre les deux sites, suggérant ainsi un éloignement supérieur à 5 Å.^{24,25,26} Cette caractéristique structurale de la PHM la distingue d'autres enzymes à cuivre bimétalliques telles que la tyrosinase ou l'hémocyanine (Figure 1). Dans ces enzymes, les spectres RPE ont montré l'existence d'un couplage magnétique entre les deux métaux, suggérant leur proximité spatiale (4 Å).⁵ Il est ainsi d'usage de qualifier la PHM d'enzyme bimétallique à centres cuivreux non-couplés.

2. Deux centres métalliques

a. Coordination du site Cu_H

Le domaine I (Figure 4, droite) permet donc la coordination d'un cation cuivreux grâce à trois résidus histidine de type δ (HIS 107, HIS 108 et HIS 172), ce qui justifie sa dénomination Cu_H .[‡] Dans les anciennes publications une notation Cu_A est parfois rencontrée mais ce changement de nomenclature a été motivé par le désir d'éviter les confusions avec les centres Cu_A du cytochrome-c oxydase.^{5,27} Les diverses méthodes spectroscopiques ou théoriques n'ont pas toutes fourni les mêmes conclusions quant à la coordination de ce site en termes de nombre de coordination ou de géométrie. La sphère de coordination déduite de

[†] Ce paramètre évalue la qualité du modèle structural par comparaison du spectre expérimental au spectre engendré par le modèle. A. Brünger, qui l'a introduit, suggère de se méfier des structures RX dont le paramètre R_{free} s'approche de 0,4.²³

[‡] L'utilisation des symboles δ et ϵ , relatifs à la coordination métallique par un résidu histidine, est rappelée en annexe avec la liste des acides aminés.

structures cristallographiques de la forme réduite ($\text{Cu}_\text{H}(\text{I})$) est représentée sur la droite de la Figure 5.

Concernant les distances métal-ligands, le recensement de toutes les évaluations provenant d'études RX, EXAFS ou de modélisations théoriques est un travail fastidieux qui au final n'apporte que peu d'informations supplémentaires étant données leurs similitudes. Nous avons donc pris le parti de ne reporter que les distances issues d'une étude théorique (DFT) effectuée par le groupe de Solomon sur des modèles des centres actifs de la PHM.²⁸ Ce sont celles qui sont reportées sur la Figure 5 pour les formes réduites et oxydées. Elles constituent certainement pour la PHM les données les plus fiables publiées à ce jour pour ce qui concerne la géométrie des centres Cu_H et Cu_M .

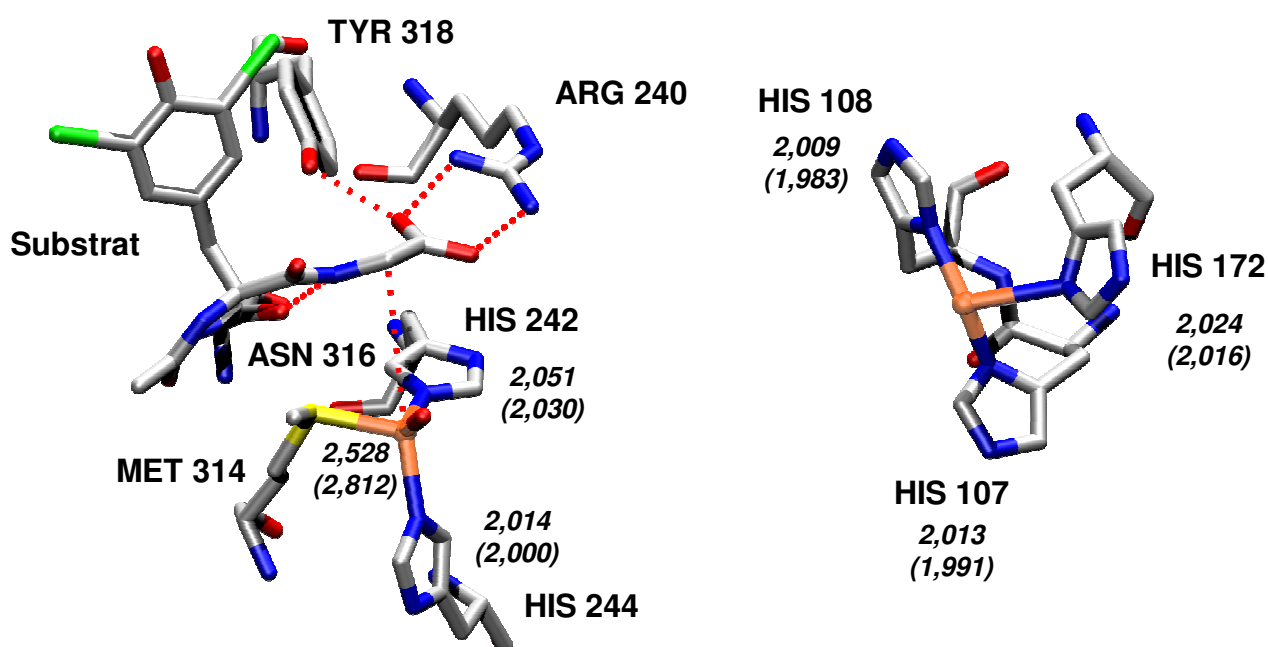


Figure 5 : Sphères de coordination du cuivre dans les centres Cu_M (à gauche) et Cu_H (à droite). (Structures cristallographiques tirées de l'entrée 1OPM de la *Protein Data Bank*).²⁰ Les distances sont exprimées en angströms dans les formes réduite et oxydée (entre parenthèses).²⁸ Code de couleurs spécifique à cette figure : C en gris, H en blanc, N en bleu, O en rouge, S en jaune, I en vert et Cu en orange.

Dans la forme réduite, la structure RX indique une géométrie trigonale en T, les résidus 107 et 108 occupant des positions *trans*. Les mesures EXAFS indiquent cependant que la coordination avec le résidu 172 est très faible car elle n'est pas détectée par cette spectrométrie.²⁷ Les calculs DFT, effectués sur un modèle du centre Cu_H confirment cependant la vision cristallographique en évaluant les distances $\text{Cu} - \text{N}$ dans la forme réduite à 2,01 Å environ (Figure 5, droite).²⁸

Dans la forme oxydée ($\text{Cu}_\text{H}(\text{II})$), diffraction des RX et spectrométrie EXAFS donnent de nouveau des visions différentes de la coordination du cation. La structure RX conduit comme dans la forme réduite à une coordination trigonale¹⁹ tandis que la spectrométrie EXAFS prédit une tétracoordination grâce à l'adjonction d'une molécule d'eau.²⁷ Le complexe adopte alors une géométrie de type Plan Carré (PC). Dans le cas de la forme oxydée, les calculs DFT tendent à confirmer cette fois la vision EXAFS avec une distance cuivre(II) - eau de 2,063 Å.²⁸ Chimiquement parlant, la coordination PC pour un complexe cuivrique de configuration électronique d^9 n'est pas surprenante et fait partie des géométries attendues pour cet état d'oxydation. Par rapport à la forme réduite, les distances Cu — N subissent un léger raccourcissement de l'ordre de 0,02 Å dans la forme oxydée.

b. Coordination du site Cu_M

Le domaine II, à gauche sur la Figure 4, est celui de la coordination du centre Cu_M . Comme précédemment, la sphère de coordination dans l'état cuivreux est représentée sur la Figure 5 (gauche), avec les distances métal-résidus issues de la modélisation théorique.

Dans la forme réduite le cation métallique est complexé par deux résidus histidine de type ϵ (HIS 242 et HIS 244), un résidu méthionine (MET 314) et une molécule d'eau. La coordination d'un cation cuivre par la fonction thioéther d'un résidu méthionine est rare dans les cuproenzymes et son rôle structural ou réactif n'a pour l'heure pas été précisément déterminé. Notons que cette particularité explique l'indice M dans le label de ce centre actif. La géométrie trouvée est de type tétraédrique en accord avec la structure électronique d^{10} du cuivre (I), cela quelle que soit la technique expérimentale ou théorique employée.^{19,27,28} Les distances Cu — N sont semblables à celles calculées pour le centre Cu_H (2,014 et 2,051 Å). La distance Cu — S est un peu plus longue (2,528 Å). Cette plus grande longueur peut être mise en parallèle avec le plus grand rayon ionique du soufre par rapport à l'azote (1,84 Å pour S vs. 1,71 Å pour N).¹²

La description de la forme oxydée ($\text{Cu}_\text{M}(\text{II})$) a donné lieu à une importante controverse. Alors que la technique de diffraction des RX indique une tétracoordination, les données spectrométriques RPE, XAS et EXAFS suggèrent une pentacoordination dans une géométrie pyramidale à base carrée, le résidu méthionine occupant la position axiale. De nouvelles études combinant spectrométrie, calculs DFT et analyse de champ de ligands ont confirmé cette coordination pour le centre Cu_M (Figure 6).²⁸ La nouveauté de cette étude

provient de la nature des deux ligands requis pour parvenir au nombre de coordination cinq. Alors que les premières données expérimentales avaient recours à deux molécules d'eau, les auteurs de l'étude expérimento-théorique proposent la coordination par une molécule d'eau et par un anion hydroxyde. Seule la présence de cet anion permet d'expliquer la bande de transfert de charge détectée expérimentalement sur les spectres UV-Visible.

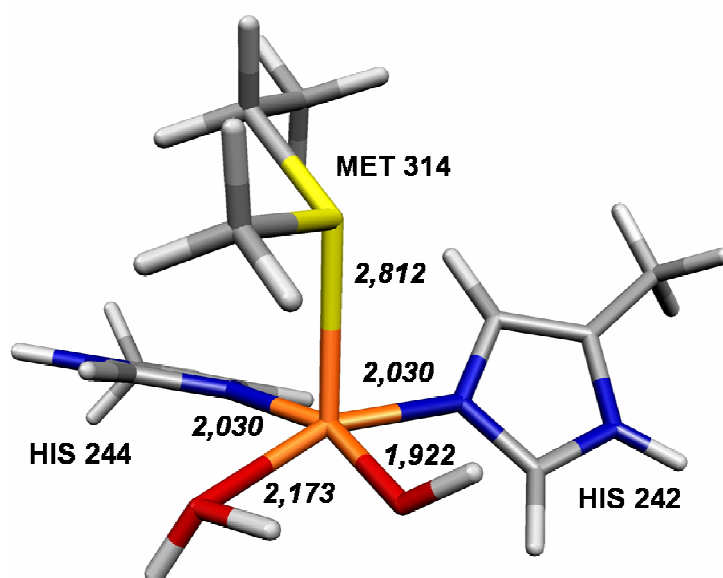


Figure 6 : Modèle du site oxydé Cu_M(II) proposé par Solomon *et al*²⁸ pour expliquer les données expérimentales de la PHM. Les distances sont exprimées en angströms. Le code de couleurs est le même que celui défini pour la Figure 5.

L'évolution des distances métal-résidus entre les formes réduite et oxydée est intéressante. Dans le cas des liaisons Cu — N, on constate systématiquement une légère diminution des distances lors de l'oxydation du cuivre, tendance déjà constatée pour le centre Cu_H. En revanche, dans le cas du ligand soufré, la distance Cu — S subit une élongation significative (+0,284 Å) lors de l'oxydation du cuivre. Ce phénomène peut certes être expliqué en partie par un changement de la géométrie du complexe. Dans la forme cuivreuse, le soufre est équivalent aux autres atomes coordinants dans la mesure où il occupe l'un des sommets du tétraèdre constituant la sphère de coordination du cation Cu(I). Dans la forme cuivrique, par contre, le soufre occupe la position axiale d'une pyramide à base carrée. Cette position singulière pourrait expliquer cet allongement particulier.

A partir des données cristallographiques, les études EXAFS et les modélisations théoriques ont permis une connaissance fine de la sphère de coordination des centres actifs

de la PHM. Nous nous proposons à présent de décrire la fixation du substrat au sein de la cavité catalytique de la PHM

d. Arrimage du substrat

Les données cristallographiques de la PHM mettent clairement en évidence le rôle de plusieurs résidus dans le maintien du substrat à proximité du centre Cu_M (Figure 5, gauche). Le schéma de la Figure 7 permet de mieux se représenter le réseau d'interactions entre ces résidus et le substrat qui consiste principalement en l'établissement de liaisons hydrogène, notamment avec les fonctions peptidique et carboxylate du substrat. Une forte interaction électrostatique entre la terminaison carboxylate et le résidu cationique ARG 240 contribue de surcroît au maintien du substrat. Il est intéressant de remarquer que l'atome de carbone C_α sur lequel se fait la réaction d'hydroxylation, se situe à 4,28 Å du Cu_M et dans une orientation telle que l'atome d'hydrogène H_S pointe directement vers le centre métallique.⁷

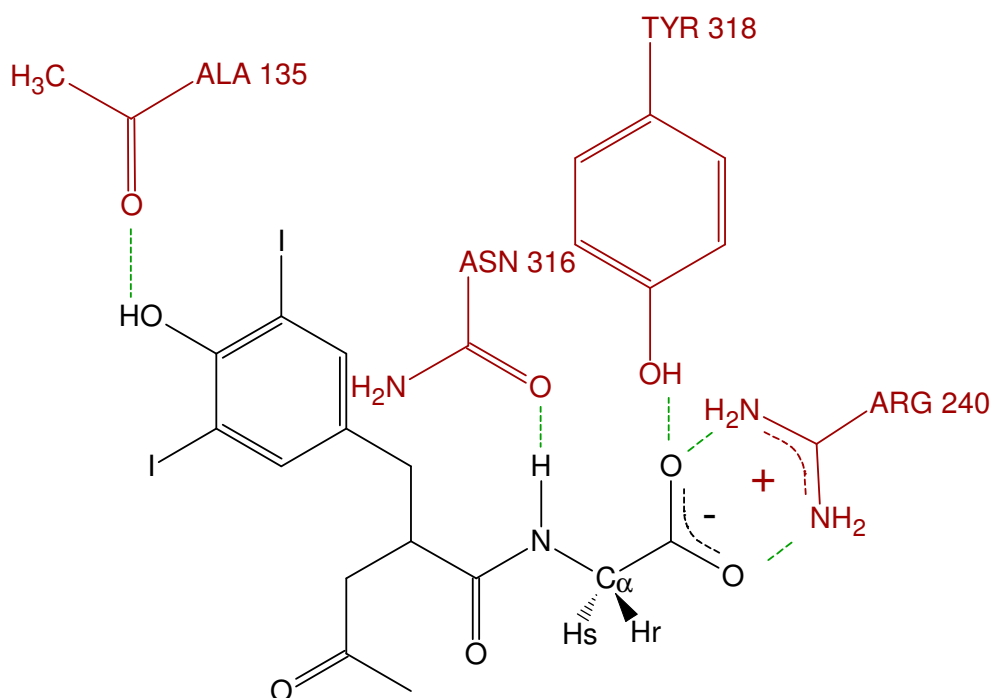


Figure 7 : Schématisation de l'arrimage du substrat, en noir, dans la cavité catalytique au moyen des résidus protéiques (en marron).

Les informations qui ont été présentées dans les paragraphes précédents témoignent de la bonne connaissance structurale de la PHM. En fait la disponibilité de structures RX est un atout majeur pour la représentation et la compréhension d'une enzyme. Ainsi pour la PHM, nous savons localiser les deux centres actifs mononucléaires dans chacun des deux

domaines de l'enzyme. Par ailleurs, les structures fournissent, en association avec d'autres méthodes expérimentales ou théoriques, une vision détaillée des sphères de coordination des deux centres Cu_M et Cu_H .

Pour la D β M, il n'y a pas à notre connaissance de structure RX publiée mais cet état de fait n'est pas synonyme d'ignorance quant à la structure de cette enzyme. Dans les paragraphes qui suivent, nous montrerons que l'exploitation d'autres sources expérimentales autorise une connaissance fine de la structure de la D β M.

3. Extrapolation à la D β M

a. Absence de structures RX mais analogies remarquables

L'absence de structures RX dans la littérature pour la D β M est imputable à la taille de cette enzyme qui rend difficile les travaux d'isolation et de cristallisation. En effet alors que la PHM est une enzyme monomérique de 35 kDa[†], la D β M est active sous forme de tétramères dont chacun pèse 75 kDa. Cette première différence de taille ne doit cependant pas décourager d'éventuels rapprochement structuraux entre les deux enzymes. Outre les parallèles évoqués précédemment à propos des réactions chimiques catalysées, de nombreux points communs expérimentaux plaident en faveur d'une forte similitude structurale des centres catalytiques. En premier lieu la comparaison de la séquence des acides aminés de la PHM et de la D β M indique une identité de résidus de 27%.²⁹ Ce pourcentage s'élève à près de 40% si le critère est élargi pour considérer comme similaires des résidus de même nature (polaires, protiques...).¹⁸ Ces taux de recouvrement sont considérés comme importants par les biochimistes et les amènent à conclure à une grande analogie de structures. En second lieu, les expériences RPE menées de longue date sur la D β M ont toutes montré l'absence de couplage entre les deux centres actifs.^{30,3} En cela la D β M rejoint la PHM dans sa particularité de contenir deux centres actifs non couplés et donc mononucléaires.

b. Sphères de coordination de la D β M

La question de la coordination des deux cations métalliques a été abordée au moyen de différentes techniques expérimentales. Dans un premier temps les résidus impliqués directement dans la coordination ont été identifiés au moyen d'expériences de mutagenèse

[†] Le Dalton (Da) est défini comme le seizième de la masse du nucléide ^{16}O . En conséquence 1 Da = $1,66 \cdot 10^{-24}$ g.

dirigée. Il apparaît que des résidus de même nature que dans la PHM sont requis pour fixer le cuivre. Ainsi, l'un des deux cations est complexé par trois résidus histidine δ (HIS 265, HIS 266 et HIS 336) en analogie directe avec le centre Cu_H de la PHM. De plus, dans les deux enzymes, ce sont deux résidus se faisant suite sur la chaîne peptidique (HIS 265 et HIS 266) qui entrent dans la sphère de coordination : ce fait est rare dans la coordination du cuivre dans les enzymes.^{2,4} Dans la PHM, les résidus HIS 107 et HIS 108 sont positionnés en *trans* par rapport au cuivre dans les formes réduite (géométrie en T) ou oxydée (Plan Carré). On est donc en droit d'attendre une géométrie semblable dans la D β M.

A nouveau l'autre site de coordination est appelé Cu_M du fait de la présence d'un résidu méthionine (MET 490) dans la sphère de coordination du cuivre. Deux résidus histidine ϵ (HIS 415 et HIS 417) viennent la compléter.

Une correspondance frappante apparaît donc entre résidus complexants dans les deux enzymes. Le Tableau 2, qui récapitule les éléments décrits plus haut, permet en outre de remarquer que l'écart entre deux résidus complexants sur la chaîne peptidique est presque conservé entre la PHM et la D β M. Même si la structure tertiaire de la D β M demeure inconnue, ces éléments constituent un faisceau d'indices en faveur d'une structure spatiale similaire entre PHM et D β M.


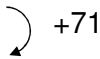

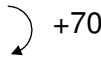

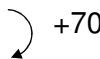

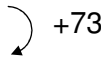
	PHM	D β M
Coordination Cu_H	HIS 107  HIS 108  HIS 172	HIS 265  HIS 266  HIS 336
Coordination Cu_M	HIS 242  HIS 244  MET 314	HIS 415  HIS 417  MET 490

Tableau 2 : Correspondance de coordination des cations cuivre entre la PHM et la D β M.

c. Constructions homologiques

Des modélisations théoriques ont également contribué à l'affinement des connaissances structurales de cette enzyme. A cet effet la technique de construction homologique est apparue comme source de nombreuses informations structurales. Pratiquement, en partant d'une structure RX de la PHM et de la séquence des acides aminés de la D β M, les auteurs construisent pas à pas une structure en trois dimensions de la seconde enzyme. A notre connaissance deux équipes ont publié des travaux utilisant cette technique.^{7,31} Elles confirment dans les deux cas l'éloignement des deux centres actifs, et donc leur caractère mononucléaire. Cependant, il n'est pas évident d'évaluer le biais qui a été introduit en prenant comme structure de départ du processus la structure RX de la PHM. Une donnée importante concerne l'arrimage du substrat au sein de la cavité formée par les deux domaines que l'on retrouve dans la D β M. De nouveau le substrat, la dopamine dans ce cas, est situé à proximité du centre Cu_M. Le schéma de la Figure 8 attribue des rôles particuliers aux résidus GLU 369, TYR 494 et GLU 268 dans le maintien de la molécule grâce à un réseau d'interactions électrostatiques et de liaisons hydrogène.

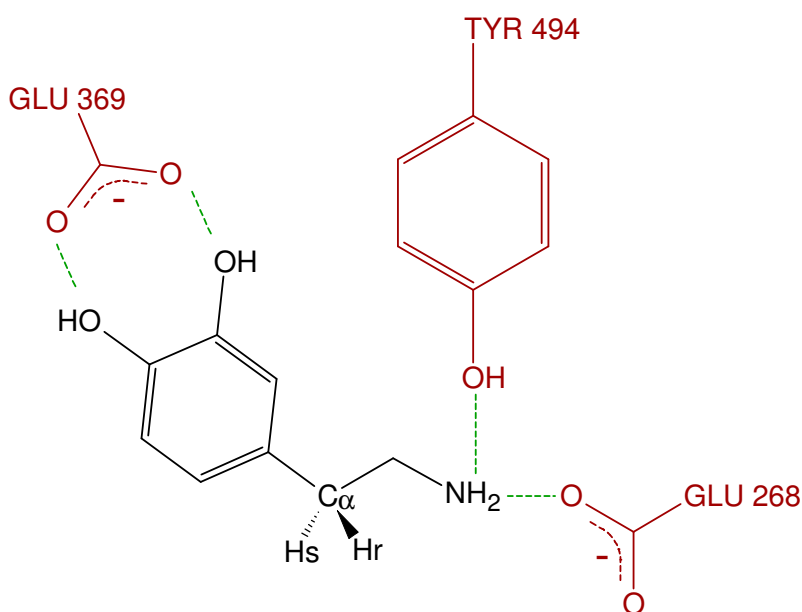


Figure 8 : Arrimage de la dopamine (en noir) à l'aide des résidus de la cavité catalytique (en marron).

C. Conclusion : vers la coordination du dioxygène

Deux activités enzymatiques ont retenu notre attention au cours de cette première partie. La PHM et la D β M présentent des similitudes fortes en ce qui concerne les réactions chimiques qu'elles catalysent et semblent très proches d'un point de vue structural. Particulièrement frappante est la nature mononucléaire des deux centres actifs Cu_M et Cu_H, singularité non partagée avec d'autres cuproenzymes bimétalliques.

De nombreuses études biochimiques ont eu pour objectif de mettre à jour les ressorts mécanistiques de ces enzymes. En 2004, une structure RX particulière de la PHM dans sa forme réduite a été publiée.³² L'échantillon a pu être obtenu en présence d'un substrat à la réactivité très lente. Ce faisant, la PHM a été piégée dans un état précatalytique, c'est-à-dire juste avant le déclenchement du processus d'hydroxylation du substrat. Les auteurs ont remarqué la fixation sur le centre Cu_M d'une molécule oxygénée qu'ils ont identifiée au dioxygène. Cette proposition est en accord avec la fonction oxygénative de la PHM qui procède à l'hydroxylation par insertion d'oxygène moléculaire dans le substrat. Ainsi, la première étape du mécanisme semble être la coordination du dioxygène sur ce centre actif, et c'est par cette étape d'activation du dioxygène que devrait logiquement commencer l'étude mécanistique de ces enzymes.

Cette problématique constitue cependant un défi majeur pour les chimistes enzymologistes. En effet, la cinétique très rapide observée dans les enzymes rend délicate une caractérisation approfondie des complexes Cu_M/O₂ ou Cu_H/O₂ qui pourraient être formés.[†] C'est la raison pour laquelle de nombreuses équipes ont entrepris ces dernières années l'élaboration de mimes mononucléaires. Plutôt que d'étudier le système Cu/O₂ dans le système biologique, cette approche consiste à élaborer des systèmes inorganiques mimant au mieux leurs parents enzymatiques (Figure 9). Il est d'usage de qualifier de biomimétiques de tels systèmes. Mais cette recherche poursuit en fait un double objectif. Il s'agit comme nous l'avons dit de mieux comprendre les systèmes biochimiques mais aussi de développer de nouveaux catalyseurs performants s'inspirant des réactions enzymatiques. En cela, cette démarche peut aussi être qualifiée de bio-inspirée. Cette approche s'est par exemple révélée très fructueuse dans le cas des enzymes à cuivre de type 3 (hémocyanine ou tyrosinase) dans lesquelles les centres métalliques sont magnétiquement couplés.⁶

[†] Tout au long de ce travail la notation Cu/O₂ désigne un complexe cuivreux sur lequel est fixé une molécule de dioxygène. Si les autres ligands complexant sont électriquement neutres l'édifice total à une charge + I.

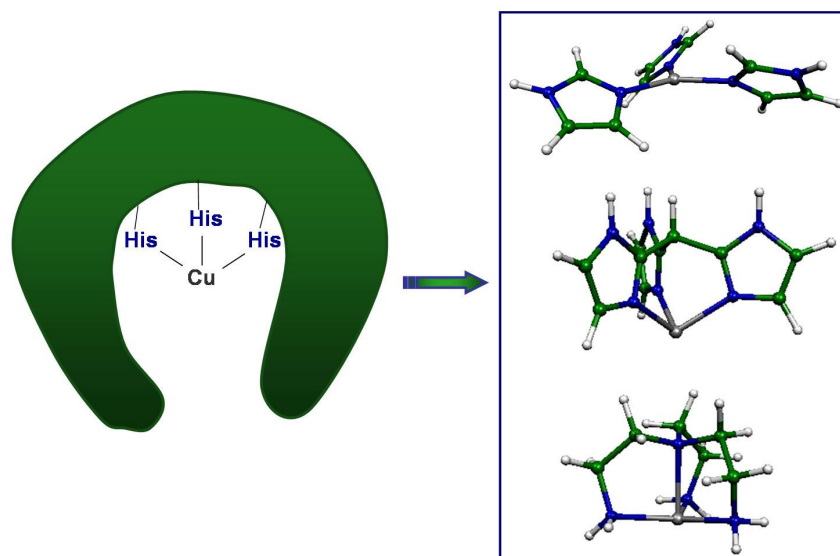


Figure 9 : Illustration de l'approche biomimétique pour l'étude d'un centre actif à cuivre.

Avant d'aller plus loin dans la description du mécanisme supposé de la PHM et de la D β M, il nous faut donc faire une incursion dans ce champ de recherches biomimétiques pour mieux cerner les enjeux de la coordination du dioxygène.

II INCURSION BIOMIMETIQUE

L'étude du mécanisme de formation des complexes cuivre-dioxygène et des propriétés électroniques ou réactives des adduits formés est un domaine de recherche particulièrement actif depuis une quinzaine d'années. Cette approche a par exemple montré son intérêt dans le mime du site actif de la galactose oxydase^{33,34} ou de la tyrosinase (Figure 1),^{35,36} et de nombreuses revues leur ont été consacrées.^{37,38,39} Ces études sont généralement difficiles à cause de la tendance des complexes cuivreux précurseurs à se dismuter en cuivre métallique et en ions cuivriques.³⁷ A cela s'ajoutent les difficultés liées à la synthèse des ligands chélatants qui présentent souvent des structures élaborées. En outre, une fois mis en présence de dioxygène, ils présentent une forte tendance à la dimérisation et conduisent à des composés de stoechiométrie 2:1 en Cu:O₂.

Notre but étant de mieux cerner les centres actifs de la PHM et de la D β M, lesquels sont par nature mononucléaires, nous restreignons ici notre attention aux systèmes bio-inspirés mononucléaires.^{40,41} Dans cette partie, après avoir présenté les caractéristiques expérimentales relatives aux réactions de formation des adduits de stoechiométrie 1:1 et 2:1, nous nous intéresserons au phénomène de coordination du dioxygène à l'échelle

moléculaire. Pour cela, nous examinerons ses possibilités de coordination (géométrie des adduits et structure électronique) et les propriétés spectroscopiques qui leur sont liées. Ces analyses seront principalement fondées sur les diagrammes orbitaux de l'interaction Cu/O₂.

Pour faciliter la lecture, une table regroupant les principales caractéristiques expérimentales des adduits cités dans le texte ainsi que leur structure semi-développée figure en Annexe et sur la feuille cartonnée jointe.

A. Synthèse des adduits mononucléaires

1. Position du problème

La préparation, ou du moins la caractérisation expérimentale, d'adduits de stoechiométrie 1:1 en Cu/O₂ n'a été possible qu'assez récemment. Comme nous l'avons déjà mentionné, sans précautions particulières, les complexes cuivreux forment des dimères ou bien sont dégradés par dismutation ou par d'autres processus rédox. En outre la réaction de formation des adduits étant très rapide, il est nécessaire de travailler avec des techniques expérimentales adaptées comme la méthode de flux stoppé.⁴²

Les études cinétiques et thermodynamiques ont été initiées par Karlin *et al.* dans les années 1990 avec le ligand tétradentate TMPA.⁴³ Elles ont permis l'élaboration d'un schéma mécanistique en accord avec les observations expérimentales.

a. Formation des adduits

La Figure 10 reproduit ainsi le mécanisme proposé pour expliquer la formation des adduits dinucléaires.⁴³ Dans une première étape, l'adduit 1:1 est formé avec relargage de la molécule exogène qui coordinaient initialement le Cu(I). Il s'agit généralement de nitriles (RCN) dans les études expérimentales. Cette étape est réversible et est caractérisée par des constantes de vitesse de formation (k_1) et de destruction de l'adduit (k_{-1}). Dans une seconde étape, l'adduit 1:1 réagit avec un autre complexe précurseur pour former le dimère et relarguer un second nitrile, k_2 et k_{-2} étant les constantes de vitesse de formation et de destruction de l'adduit 2:1.

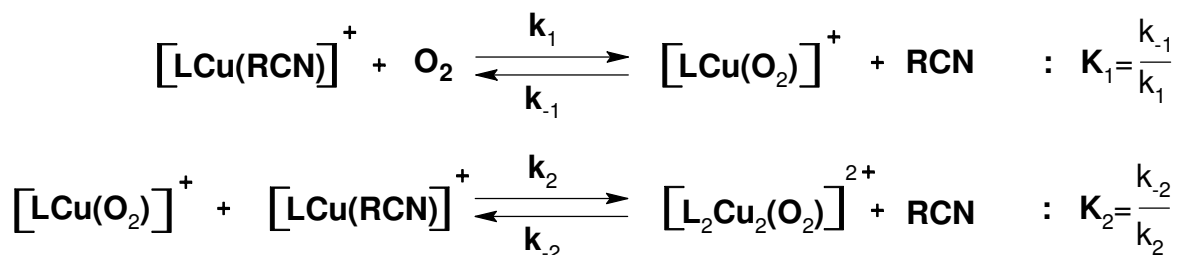


Figure 10 : Mécanisme de formation des adduits de stoechiométrie 1:1 et 2:1 à partir d'un complexe précurseur $[\text{LCu(RCN)}]^+$.

Des analyses plus détaillées ont depuis été publiées dans lesquelles les auteurs comparent l'influence de différents paramètres expérimentaux comme la nature du ligand ou du solvant. Par exemple, lorsque le THF est utilisé comme solvant, la cinétique de la formation des adduits est plus rapide que dans des milieux contenant un large excès de nitrile.^{44,45} Cependant, les grandes lignes qui sont explicitées dans les paragraphes qui vont suivre demeurent valables et ce sont celles auxquelles nous nous restreindrons.

b. Aspect thermodynamique

Pour illustrer les paramètres thermodynamiques correspondant au cadre mécanistique de la Figure 10, nous considérons deux complexes précurseurs de type N_4 , $[\text{Cu(TMPA)EtCN}]^+$ et $[\text{Cu(tren}^{\text{Me,Me}}\text{)EtCN}]^+$. Les données expérimentales les concernant ont été obtenues à partir d'appareillages couplant méthode de flux stoppé et spectrométrie UV-Visible.^{44,46} Les valeurs des constantes d'équilibre K_1 et K_2 obtenues à différentes températures sont reportées dans le Tableau 3.

T (K)	K_1		K_2	
	$[\text{Cu(TMPA)EtCN}]^+$	$[\text{Cu(tren}^{\text{Me,Me}}\text{)EtCN}]^+$	$[\text{Cu(TMPA)EtCN}]^+$	$[\text{Cu(tren}^{\text{Me,Me}}\text{)EtCN}]^+$
183	$7,4 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^6$	$6,7 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^8$
223	$2,2 \cdot 10^1$	$6,8 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^6$	$8,6 \cdot 10^5$
298	$3,8 \cdot 10^{-1}$	$1,6 \cdot 10^1$	$4,2 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$
$\Delta_r H^\circ$	7,14	10,73	16,68	11,16
$\Delta_r S^\circ$	25,8	30,6	21,3	22,5
$-T\Delta_r S^\circ$	-4,72	-5,60		

Tableau 3 : Thermodynamique de formation des adduits 1:1 et 2:1.⁴⁶ Les enthalpies de réaction et le terme $-T\Delta_r S^\circ$ (298K) sont donnés en kcal.mol^{-1} et les entropies de réaction en $\text{cal.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

Intéressons-nous dans un premier temps à l'équilibre de formation de l'adduit 1:1. A l'exception du ligand TMPA à la température de 298 K, l'équilibre est toujours déplacé en faveur de la coordination du dioxygène sur le complexe précurseur. Pour le ligand $\text{tren}^{\text{Me,Me}}$, la réaction est même totale à 183 K et fortement favorisée à 223 K ($K_1 = 1,4 \cdot 10^6$ et $6,8 \cdot 10^3$ respectivement). Les données mettent également en évidence l'impact de la nature du ligand chélatant du cuivre. Pour une même température, l'équilibre est systématiquement plus favorable à la coordination de O_2 avec le ligand $\text{tren}^{\text{Me,Me}}$ qu'avec le ligand TMPA.

Dans le cas particulier de ces deux ligands, cette différence est expliquée principalement en terme d'enthalpie de réaction. A 298 K, par exemple, la différence d'enthalpie libre entre les deux ligands ($\Delta(\Delta_r G^\circ) = 2,16 \text{ kcal.mol}^{-1}$) provient pour 72% du terme enthalpique ($\Delta(\Delta_r H^\circ) = 3,59 \text{ kcal.mol}^{-1}$), et pour 28% du terme entropique ($\Delta[T\Delta_r S^\circ] = 1,43 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Ce rôle prépondérant du terme enthalpique a été interprété en termes de basicité : le ligand aliphatique $\text{tren}^{\text{Me,Me}}$ est une meilleure base de Lewis que le ligand aromatique TMPA.⁴⁶

La formation de l'adduit de stoechiométrie 2:1 est totale pour les deux complexes à 223 et 183 K. Même à température ambiante la dimérisation est largement favorable. Ainsi le bullage de dioxygène dans une solution contenant $[\text{Cu}(\text{TMPA})\text{EtCN}]^+$ ou $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Me}})\text{EtCN}]^+$ conduit à la formation des dimères dioxygénés $[\text{Cu}_2(\text{TMPA})_2\text{O}_2]^{2+}$ ou $[\text{Cu}_2(\text{tren}^{\text{Me,Me}})_2\text{O}_2]^{2+}$.

2. Maîtrise des conditions expérimentales

a. Approche classique

Les données du Tableau 3 suggèrent que, si la formation de l'adduit de stoechiométrie 2:1 était inhibée, l'adduit 1:1 serait isolable et de stabilité variable à des températures raisonnables pour l'expérimentateur. D'où l'idée d'empêcher la dimérisation par greffage de substituants encombrants ou fortement basiques (au sens de Lewis) pour interdire aux deux cations métalliques de se rapprocher suffisamment et former le dimère. Les ligands développés ces dernières années dans cette optique sont présentés sur la feuille fournie en Annexe. Dans certains cas, la réaction de dimérisation n'est pas totalement inhibée mais elle est suffisamment ralentie pour laisser le temps à la caractérisation de l'adduit 1:1. A cet effet, différentes techniques (IR, RAMAN, UV-Visible) sont employées. Nous reviendrons sur leur intérêt dans la suite de ce travail. Le récapitulatif de ces données expérimentales sera également fourni. D'autres ligands ont, quant à eux, montré leur capacité à inhiber totalement la réaction de dimérisation et les réactions parasites de dégradation. En réalité, la limite séparant ces deux catégories est arbitraire et se fonde sur la durée pendant laquelle peut être conservé l'échantillon du composé 1:1.

L'approche d'encombrement des ligands chélatant le cuivre a permis l'isolation de plusieurs adduits mononucléaires. Ce faisant, la voie a été ouverte à la synthèse de mimes des centres actifs mononucléaires Cu_M et Cu_H . Il s'agit toutefois d'une méthode à double tranchant. En effet, en augmentant l'encombrement autour du cuivre pour empêcher l'arrivée d'un second complexe métallique, on interdit aussi l'accès à d'éventuels substrats candidats à l'oxydation par les adduits Cu/O_2 , lequel constitue pourtant l'un des objectifs de ces études.

L'approche développée par l'équipe d'Olivia Reinaud (Université Paris Descartes, Paris 5) pour ménager l'accès au centre métallique tout en empêchant les réactions de polymérisation constitue de ce point de vue une alternative remarquable.

c. Vers la synthèse de calixzymes

Les calix[6]arènes sont en effet de bons candidats pour l'élaboration de complexes mononucléaires bio-inspirés d'enzymes (Figure 11). Par rapport aux modèles présentés ci-dessus, leur intérêt provient de la conformation conique qu'ils adoptent en solution (organique ou aqueuse). Ce repliement permet la création d'une cavité isolée du reste du milieu réactionnel et présentant un caractère hydrophobe du fait des parois aromatiques.^{47,48} Par ailleurs la flexibilité offerte dans la fonctionnalisation chimique de bras greffés notamment au niveau du petit col permet d'en faire des ligands potentiels par introduction de fonctions coordinantes.

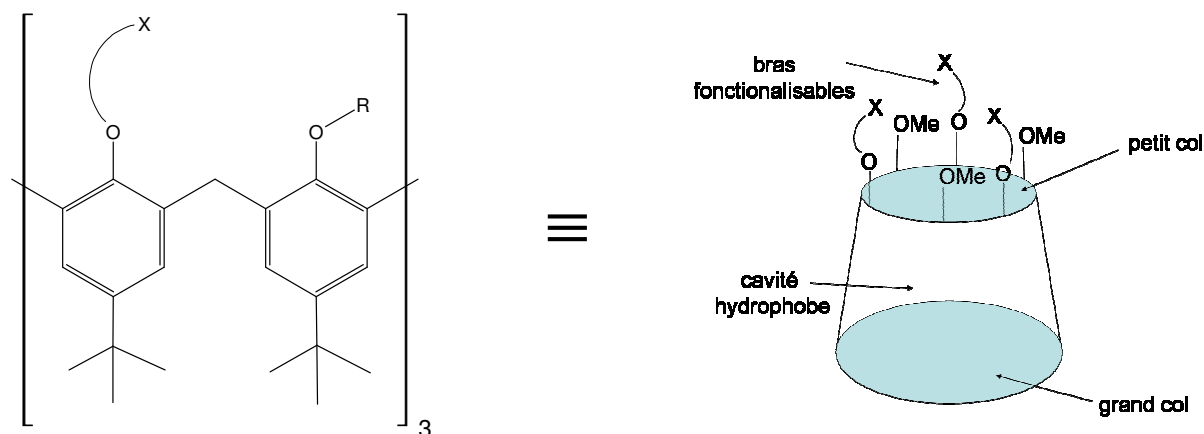


Figure 11 : Les calix[6]arènes, des complexes entonnoirs aisément fonctionnalisables.

Ainsi de nombreux essais ont été réalisés ces dernières années pour métalliser ces systèmes en jouant entre autres sur la nature des métaux utilisés ou sur les fonctions chimiques présentes au niveau des bras supérieurs.

Récemment, il a été possible de greffer des ligands tripodes au niveau du petit col et de les utiliser comme ligands de cations cuivreux. Cette avancée est particulièrement intéressante car, de par la présence de la cavité hydrophobe, les centres métalliques sont préservés de la dimérisation. Parmi les fonctionnalisations déjà opérées, nous pouvons citer le greffage des tripodes $\text{tren}^{\text{H,H}}$, $\text{tren}^{\text{H,Me}}$, TMPA, PN_3 ou NN_3 (Annexe).^{49,50,51,52} Notons par ailleurs que, contrairement aux ligands bio-inspirés "classiques", un chemin d'accès vers le métal est préservé dans les calixarènes (Figure 12).

Loin d'être purement conceptuels, ces systèmes ont déjà montré leurs potentialités à mimer des centres mononucléaires enzymatiques tels que ceux de la PHM ou de la D β M,^{53,54} et peuvent en cela être qualifiés de "calixzymes".⁵¹

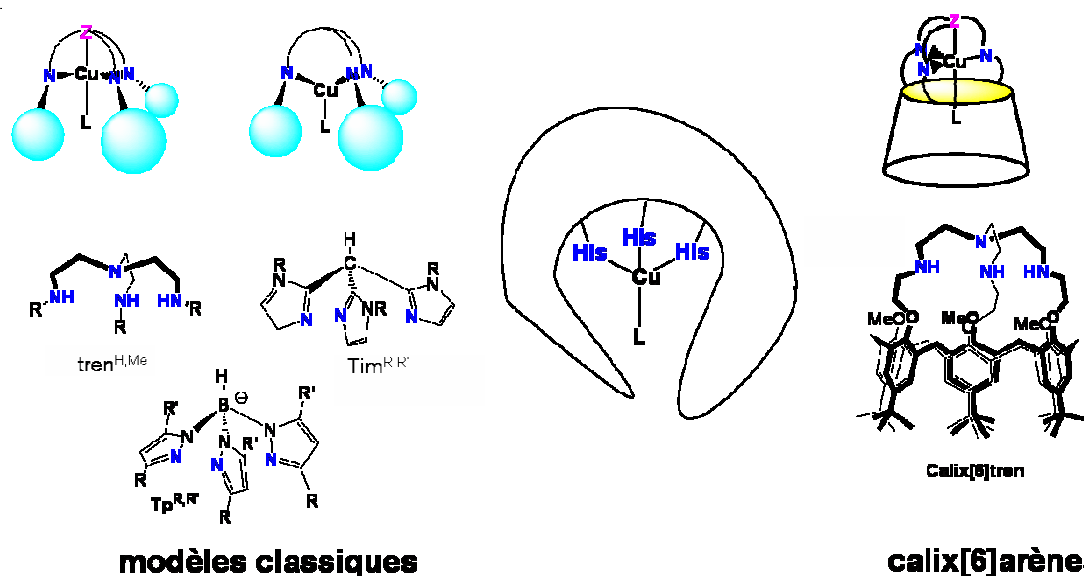


Figure 12 : Les calix[6]arènes comme modèles biomimétiques mononucléaires ménageant l'accès au centre métallique.

L'étape suivante a été la question de la coordination du dioxygène sur ces complexes précurseurs. C'est donc naturellement ce point qui va nous intéresser dans les pages suivantes.

B. De la coordination du dioxygène

De nombreux facteurs comme la structure du ligand précurseur, la nature du métal, les conditions opératoires ou encore le milieu environnant ont une incidence sur la coordination du dioxygène. Dans cette sous-partie, nous focalisons notre attention sur le système Cu/O_2 en détaillant les diverses possibilités de complexation en termes de

coordination et de spin. Nous fonderons notre raisonnement sur une analyse orbitale de l'interaction Cu/O₂.

1. Le diagramme orbitalaire comme outil de rationalisation

Les diagrammes orbitales constituent un outil simple mais puissant dans la compréhension qualitative des phénomènes électroniques qui ont lieu lors de l'interaction de deux composés chimiques. C'est la raison pour laquelle ils seront systématiquement utilisés dans ce travail.

a. Le dioxygène dans son état fondamental

Avant d'envisager le diagramme orbitalaire d'interaction avec le métal, il est utile de rappeler dans un premier temps celui de la molécule de dioxygène isolée. La Figure 13 reproduit l'allure du diagramme moléculaire de valence dans son état fondamental triplet.[†] Chacun des deux électrons célibataires occupe l'une des deux orbitales antiliantes π_x^* et π_z^* . Ces deux orbitales constituent donc les orbitales SO du système tandis que l'orbitale σ_u^* demeure inoccupée (BV).

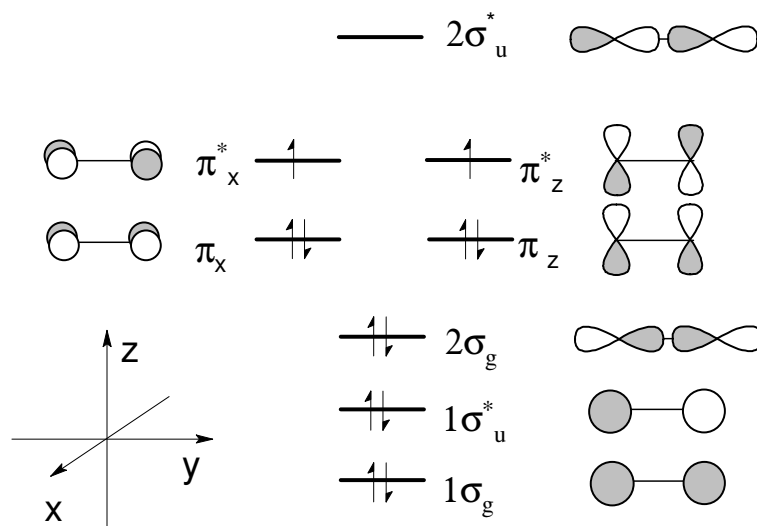


Figure 13 : Diagramme moléculaire de valence du dioxygène dans l'état fondamental.

[†] Contrairement à la convention habituelle d'orientation des axes dans les diagrammes orbitales des molécules linéaires (axe z colinéaire à la liaison), nous adoptons ici une convention alternative qui sera plus commode par la suite.

b. Side-on, une approche naturelle

Du fait de la forme des orbitales π_x^* et π_z^* , le recouvrement maximal entre O_2 et un métal est donc obtenu selon une approche symétrique des deux atomes d'oxygène. Une telle approche est qualifiée de *side-on*.

Par souci de lisibilité, nous n'avons représenté sur les diagrammes que les orbitales qui interagissent entre elles lors la formation de l'adduit. Ainsi, pour le cation, les orbitales d dont la symétrie ne permet pas d'interaction avec les orbitales moléculaires du dioxygène ont été omises. De même, seules les deux orbitales antiliantes π^* du dioxygène sont représentées, elles sont considérées plus hautes en énergie que les orbitales d métalliques. Les interactions avec les orbitales 4s/4p du cuivre sont également négligées dans la mesure où leur écart énergétique avec les orbitales π^* du dioxygène est élevé. En effet leur effet majeur est une réhybridation des orbitales moléculaires pour augmenter leur recouvrement. La prise en compte de ce phénomène n'a donc pas d'effet qualitatif sur les raisonnements que nous voulons tenir par la suite. De même nous négligerons les interactions δ qui pourraient avoir lieu entre les orbitales du dioxygène et les orbitales métalliques.

b.1. Interaction à deux orbitales

Le mode de coordination *side-on* peut être schématisé par la Figure 14. Structuellement, la principale caractéristique de cette coordination est sa symétrie locale C_{2v} .

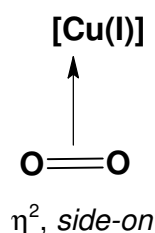


Figure 14 : Coordination d'haptacité 2. La notation [Cu] représente le cation cuivreux chélaté par des ligands autres que le dioxygène.

Dans le repère orthogonal défini sur la Figure 15, lors de l'approche du dioxygène selon l'axe z, le meilleur recouvrement est obtenu avec l'orbitale d_{yz} . Si nous considérons l'interaction avec l'orbitale π_z^* , celle-ci aboutit à la formation de deux orbitales moléculaires : une liante (orbitale **1**, $d_{yz} + \pi_z^*$) et une antiliante (orbitale **3**, $d_{yz} - \pi_z^*$). La seconde présente

principalement un caractère π_z^* tandis que la combinaison liante est essentiellement de caractère d. Ainsi la coordination a pour conséquence un transfert électronique du cuivre vers le dioxygène. O_2 joue donc le rôle d'un ligand π -accepteur. L'autre orbitale π_x^* n'interagit pas avec les orbitales du cuivre car elle ne présente pas la symétrie idoine (2).

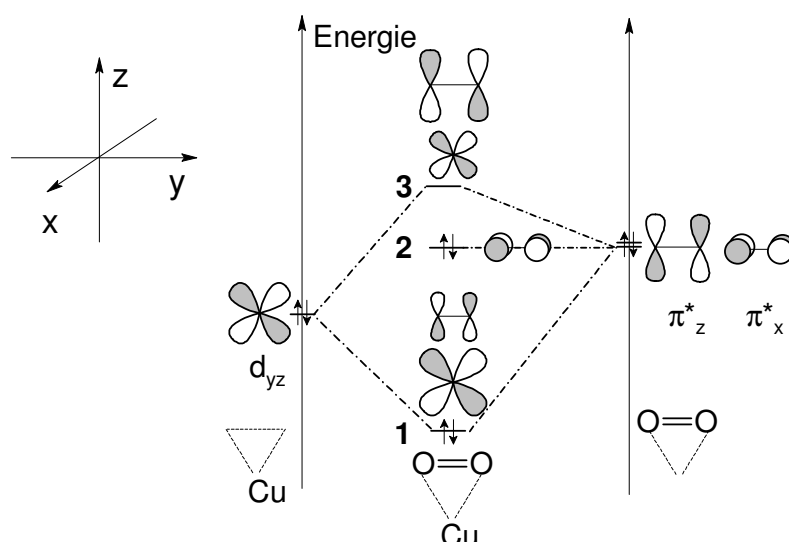


Figure 15 : Diagramme orbitalaire de valence pour la coordination *side-on* (remplissage correspondant à une multiplicité de spin singulet).

b.2. Confirmation expérimentale

Le mode de coordination *side-on* a été mis en évidence expérimentalement à plusieurs reprises. Dans le Tableau 4 nous avons reporté des complexes pour lesquels le mode de coordination est connu sans ambiguïté, presque toujours sur la base de diffraction des rayons X.

C'est par exemple le cas du premier complexe ("complexe historique") mononucléaire préparé et isolé par l'équipe de Kitajima en 1994.⁵⁵ La structure η^2 *side-on* en phase solide du complexe $[Cu(Tp^{tBu,iPr})(O_2)]$ indique deux distances Cu — O de 1,84 Å et un angle CuOO de 70,6°.

D'autres exemples de coordination *side-on* sont fournis par les ligands monoanioniques bidentates Dk^{tBu} et Al^{Me} . La structure RX du complexe $[Cu(Dk^{tBu})(O_2)]$ indique deux distances Cu — O de 1,85 Å.⁵⁶ Ces valeurs sont très proches de celles obtenues pour le complexe $[Cu(Al^{Me})(O_2)]$.⁵⁷

Complexe		Mode de coordination	O — O Å	Cu — O Å		CuOO deg.	Méthode expérimentale	Réf.
[Cu(Tp ^{iPr,tBu})O ₂]	N ₃	<i>side-on</i>	1,22	1,84(1) [†]	1,84(1) [†]	70,6 [‡]	RX	55
[Cu(Dk ^{tBu})(O ₂)]	N ₂	<i>side-on</i>	1,44(2) [*]	1,85(2) [†]	1,85(2) [†]	67,1 [‡]	RX	56
[Cu(Ai ^{Me})O ₂]	N ₂	<i>side-on</i>	1,39(2)	1,83(1)	1,82(1)	67,6 [‡]	RX	57
[Cu(tren ^{TMG})O ₂] ⁺	N ₄	<i>end-on</i>	1,280	1,927	2,842	123,5	RX	59
[Cu(TMPA ^{NMe₂})O ₂] ⁺	N ₄	<i>end-on</i>	-	-	-	-	RAMAN	60

Tableau 4 : Recensement des adduits 1:1 dont le mode de coordination a été caractérisé.

^{*} Cette distance est mise en doute par les auteurs. [†] Les deux distances sont trouvées égales par introduction de considérations de symétrie dans le traitement des données expérimentales. [‡] Moyenne sur les deux angles CuOO.

Dans ces trois structures *side-on*, les angles CuOO valent approximativement 70°. En revanche, la distance O — O semble être très sensible à la nature du ligand précurseur puisqu'elle s'échelonne de 1,22 à 1,44 Å. Si le ligand borate est effectivement de nature différente (ligand de type N₃⁻), ce qui pourrait expliquer la petitesse de la distance O — O, les deux ligands Dk^{Me} et Ai^{Me} présentent pourtant des structures assez similaires.

A ce propos il est intéressant de rappeler que sur deux des trois complexes présentés dans ce tableau, des doutes sérieux ont été émis quant à la précision de l'évaluation de la distance O — O.⁵⁶ Le traitement du signal enregistré est parfois délicat et requiert une qualité de cristal élevée. Ainsi les auteurs de la référence 55 attribuent-ils la longueur excessive de 1,44 Å à un désordre important dans le cristal de [Cu(Dk^{tBu})(O₂)].

Dans le cas du complexes [Cu(Tp^{iPr,tBu})O₂], Cramer *et coll.* ont suggéré que la petitesse de la distance inter-oxygène était due à un mouvement de libration du dioxygène relativement au cuivre (Figure 16).⁵⁸ Ce mouvement de balancier régulier du dioxygène expliquerait dans ce cas pourquoi les atomes d'oxygène apparaissent artificiellement plus proches du cuivre lors du traitement du signal RX et de la reconstruction de la géométrie de l'adduit.

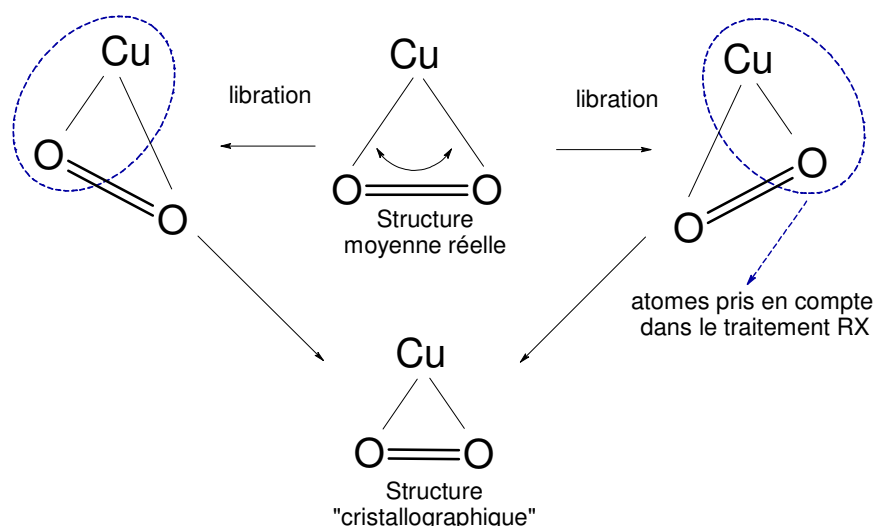


Figure 16 : Le mouvement de libration comme explication de la petite distance O — O dans l'adduit expérimental $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Pr,tBu}})\text{O}_2]$.⁵⁸

c. Coordination dans la PHM : un défi pour les modèles bio-inspirés

c.1. La coordination *side-on* ? Inconnue dans la PHM !

A ce stade, il est pertinent de revenir à la structure cristallographique de la PHM piégée dans un état réduit précatalytique. Le dessin de gauche de la Figure 17 est un zoom sur le site Cu_M .³² La présence d'une molécule de dioxygène sur la face inférieure du complexe indique clairement une coordination différente de la coordination *side-on*. Les distances Cu — O y valent respectivement 2,11 et 2,78 Å avec un angle CuOO de 110°, paramètres très différents de ceux évoqués plus haut pour les structures *side-on*. Les adduits présentés dans le Tableau 4 ne permettent donc pas de mimer structurellement la coordination du dioxygène sur le site actif de la PHM. La structure de l'enzyme constitue une preuve expérimentale de l'existence d'un mode de coordination alternatif appelé *end-on*.

Cette coordination est schématisée à droite de la Figure 17. Dans cette structure, les deux atomes d'oxygène ne sont pas équivalents et il est d'usage de qualifier l'atome coordonnant de *proximal* (O_p) et l'autre de *distal* (O_d).

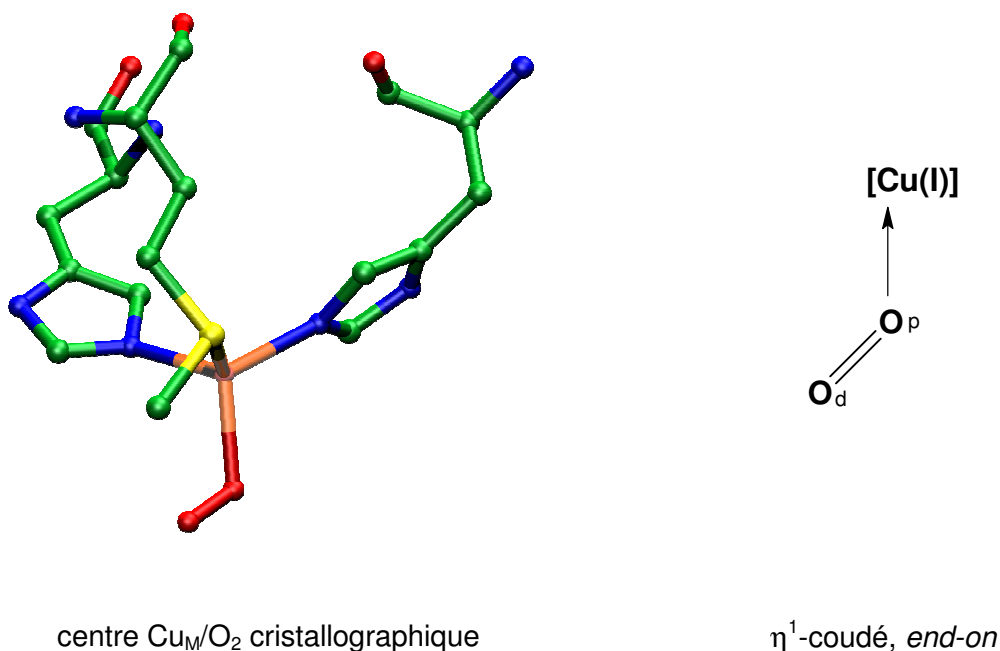


Figure 17 : L'adduit dioxygéné enzymatique comme exemple d'une coordination alternative à la fixation *side-on* dans les adduits Cu/O_2 .³²

L'allure du diagramme orbitalaire est dans ce cas très similaire au cas *side-on* (Figure 18). La différence notable vient du fait qu'il faut à présent considérer une orbitale d_{z^2} pour obtenir un recouvrement orbitalaire optimal lors de l'approche du dioxygène selon l'axe z .

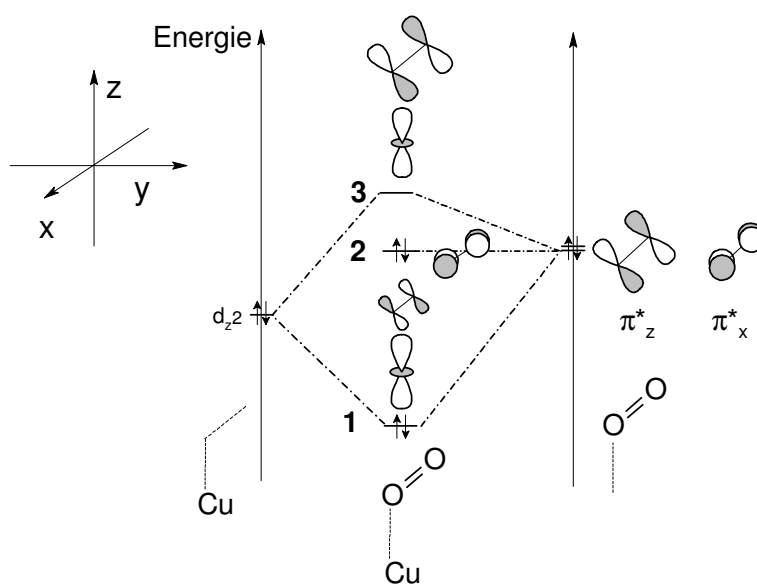


Figure 18 : Schématisation de la coordination *end-on* : le cas du centre Cu_M de la PHM.

c.2. Observations dans les modèles bio-inspirés

A notre connaissance seuls deux exemples d'adduits biomimétiques mononucléaires répondent à ce type de coordination et se rapprochent ainsi de celle du centre enzymatique. Le premier concerne le complexe précurseur $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{TMG}})]^+$ pour lequel les auteurs sont parvenus à cristalliser et à étudier par diffraction des rayons X l'adduit engendré (Tableau 4).⁵⁹ Les distances $\text{Cu} - \text{O}_p$ et $\text{Cu} - \text{O}_d$ valent respectivement 1,927 et 2,824 Å. L'angle CuOO est pour sa part affiné à 123,5°.

Le ligand $\text{TMPA}^{\text{NMe}_2}$ est le second exemple qui illustre ce mode de coordination. La détermination expérimentale de la fixation *end-on* n'a pas été déduite de mesures de diffraction RX mais de mesures spectroscopiques RAMAN.⁶⁰ Nous reviendrons en détails par la suite sur la technique utilisée tant elle apparaît novatrice dans ce cas particulier.

c.3 Rôle du ligand apical

La présence d'un atome coordinant en position apicale du ligand apparaît comme un élément commun des deux exemples *end-on* précédents et constitue la "clef de voûte" de l'architecture du ligand chélatant. Dans les deux cas, cet atome est présent en position *trans* du dioxygène (Figure 19, droite), contrairement au centre actif Cu_M de la PHM (gauche). En effet, alors que le centre Cu_M peut être décrit comme un ligand de type N_2S , les ligands $\text{TMPA}^{\text{NMe}_2}$ et tren^{TMG} sont des ligands de type N_4 . D'un point de vue orbitalaire, le ligand apical interagit aussi avec l'orbitale d_{z^2} via sa paire électronique libre. L'effet électronique engendré doit donc être pris en considération, ce qui n'était pas nécessaire dans le diagramme de la Figure 18.

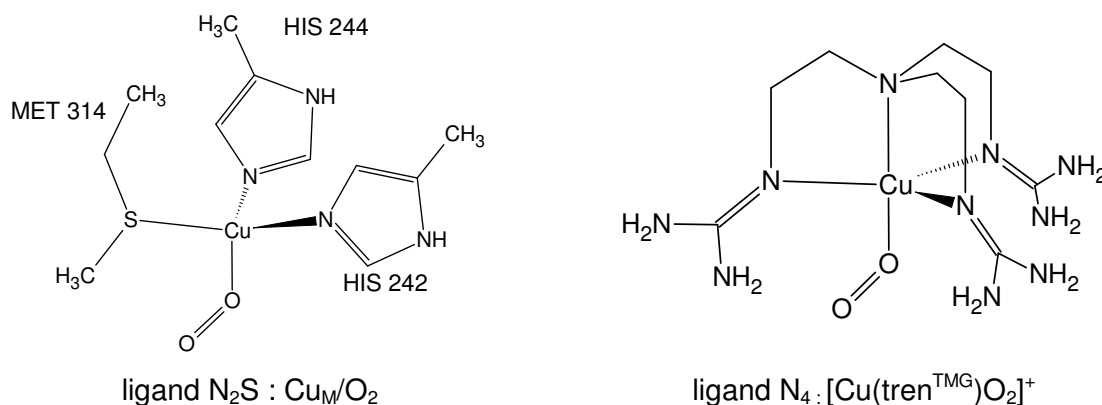


Figure 19 : Présence d'un ligand apical dans le cas du complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{TMG}})\text{O}_2]^+$, absent dans le cas du centre enzymatique Cu_M .

Dans une première étape, les orbitales d_{z^2} et la paire libre de l'azote (p_N) interagissent pour donner les orbitales **a** (liante) et **b** (anti-liante) (Figure 20). L'orbitale **b** présente un fort caractère d et peut donc être vue comme l'orbitale d_{z^2} déstabilisée par l'interaction à quatre électrons avec la paire libre de l'azote. Il ressort de cette déstabilisation une diminution de l'écart énergétique avec l'orbitale π_z^* du dioxygène, ce qui induit une meilleure interaction. Celle-ci est donc plus forte en comparaison de l'interaction directe entre la π_z^* et la d_{z^2} en absence de ligand apical. L'orbitale **2** étant une orbitale de transfert de charge, cet effet "push-pull" permet une plus grande donation vers le dioxygène. Dans une optique biomimétique, la présence en position *trans* du dioxygène d'un ligand donneur dans les modèles pourrait donc avoir un impact sur la qualité du mime du centre actif.

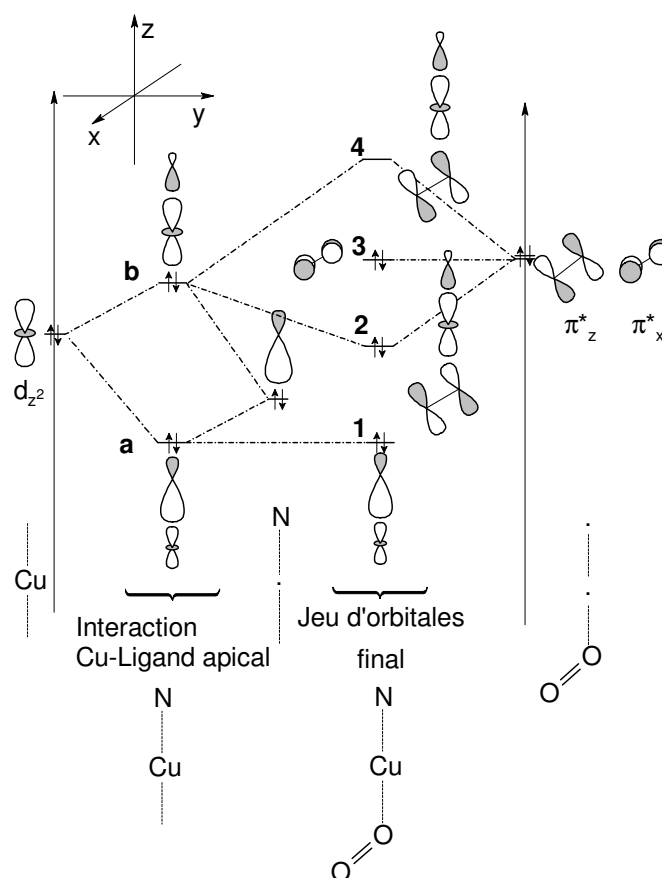


Figure 20 : Diagramme orbitalaire de valence pour la coordination *end-on* en présence d'un ligand apical (multiplicité singulet).

d. L'analogie à la rescousse

Le Tableau 4 (p. 41) montre bien que le nombre de complexes pour lesquels la caractérisation du mode de coordination a pu être obtenue expérimentalement est limité. Principalement, ce sont les méthodes de diffraction des RX qui fournissent le moyen le plus courant pour caractériser la structure du système Cu/O₂ mais avec les limitations évoquées plus haut. De nombreux complexes n'ont pas fait l'objet des études qui auraient permis de déterminer l'haptacité du dioxygène dans l'adduit. Cependant, dans ce cas, le mode de coordination peut souvent être déduit par analogie avec des ligands caractérisés expérimentalement. Par exemple, les complexes précurseurs dans lesquels le cuivre (I) est complexé par un ligand de type tren^{R,R'} sont supposés conduire à des coordinations *end-on* comme c'est le cas pour le ligand tren^{TMG}. Les ligands TMPA et TACN devraient aussi conduire à ce type de coordination.

Le même raisonnement est applicable aux ligands N₃ comme Tp^{R,R'} qui conduisent à des coordinations *side-on*.

C. Structure électronique

1. Remplissage du diagramme orbitalaire

Dans les trois diagrammes précédents (Figures 15, 18 et 20) les orbitales moléculaires ont été remplies dans une configuration de spin singulet. Pourtant, lors de l'interaction du dioxygène triplet avec un complexe de multiplicité singulet, le nombre total d'électrons reste pair et implique donc la considération de deux états de spin, singulet ou triplet.

Considérons le diagramme de la Figure 15 pour illustrer ce point. Dans le cas où l'interaction entre l'orbitale métallique et l'orbitale π^* du dioxygène est faible, soit par un mauvais recouvrement orbitalaire, soit par un trop fort écart énergétique, la différence d'énergie entre les orbitales **2** et **3** est petite et il est probable qu'une configuration (1)²(2)¹(3)¹, triplet et respectueuse de la règle de Hund, soit plus stable que la forme singlet de configuration (1)²(2)²(3)⁰. A l'inverse, dans le cas d'une interaction Cu/O₂ forte, les orbitales **2** et **3** sont d'avantage séparées énergétiquement et le respect de la règle de Hund (état triplet) ne compense pas le coût énergétique dû au remplissage d'une orbitale plus haute en énergie. La forme singulet permettant l'appariement des électrons est alors plus stable. Il n'existe cependant pas de moyen de préjuger de ces stabilités relatives.

2. Activation du dioxygène

Cette question de la stabilité relative des formes triplet et singulet est au cœur même de la notion d'activation du dioxygène. En effet, nous avons mentionné en introduction de ce Chapitre la difficulté de procéder à la réduction du dioxygène sans catalyseur enzymatique. Dans les produits organiques formés à l'issue de processus réactifs, l'état de spin est singulet. Si bien que, partant d'un état fondamental triplet pour le dioxygène, il doit y avoir croisement des surfaces singulet et triplet au cours de la réaction, la surface singulet devant être plus basse en énergie à la fin du processus pour relâcher les produits organiques attendus. Il est d'usage de considérer que l'un des rôles du métal dans les métalloenzymes est de procéder à l'activation du dioxygène, c'est-à-dire à rendre l'état de spin singulet plus favorable et donc de permettre le croisement des surfaces singulet et triplet. Il se pourrait ainsi que ce changement de spin intervienne, dans le cas de la PHM, dès l'étape de formation de l'adduit.

Cette question a pour l'instant été éludée dans les études biochimiques, probablement en raison de la difficulté déjà soulignée d'étudier les adduits. En revanche la question du spin des adduits est presque systématiquement traitée dans le champ biomimétique au moyen de diverses méthodes que nous nous proposons de présenter brièvement.

2. Détermination expérimentale

Les méthodes expérimentales aptes à déterminer l'état de spin d'un complexe se fondent sur une constatation simple. Un complexe dont la multiplicité de spin est singulet est un composé diamagnétique. A l'inverse les adduits d'état triplet sont paramagnétiques. On conçoit alors que les méthodes expérimentales reposant sur cette caractéristique physicochimique soient employées pour déterminer la multiplicité de spin d'un composé. Les trois méthodes principalement rencontrées dans le champ des adduits cuivre-dioxygène sont la magnétochimie, la RPE et la RMN. Le principe des deux premières techniques est succinctement présenté.

a. Mesures de susceptibilités magnétiques

La susceptibilité magnétique totale χ d'un échantillon est souvent mesurée au moyen de magnétomètres de type SQUID (Superconducting Quantum Interference Device). Elle peut être exprimée comme la somme d'une composante diamagnétique (χ_d) et d'une

composante paramagnétique (χ_p). Lorsque l'échantillon est chauffé, le peuplement progressif des niveaux d'énergie des états fondamental et excités est susceptible d'entraîner une variation de χ dans le cas où ces états présentent des multiplicités de spin différentes. Ainsi, partant d'un état fondamental singulet, responsable à basse température d'un échantillon de susceptibilité magnétique presque nulle, on obtient par chauffage un échantillon présentant un magnétisme croissant si un état de spin triplet est progressivement peuplé. L'équation de Bleaney-Bowers permet d'exploiter cette propriété :

$$\chi = \frac{\frac{2Ng^2\beta^2}{kT}}{\left[3 + \exp\left(-\frac{\Delta_{S/T}}{kT}\right) \right]}$$

Relation 1 : Equation de Bleaney-Bowers fournissant un lien entre la susceptibilité magnétique et l'écart singulet-triplet $\Delta_{S/T}$ en fonction de la température T. β est le magnéton de Bohr, N le nombre total de molécules de l'échantillon, g le facteur de Landé, k la constante de Boltzmann.

Dans la Relation 1, $\Delta_{S/T}$ est l'écart énergétique entre l'état fondamental singulet et le premier état excité triplet défini par $\Delta_{S/T} = E_S - E_T$. En pratique, l'ajustement de cette variable pour retrouver la courbe expérimentale (χ en fonction de T) est ainsi un moyen de déterminer cet écart.

Dans le cas du complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Pr,Ada}})\text{O}_2]$ les auteurs de l'étude ont par exemple déterminé que cet adduit présentait un état fondamental de spin singulet en phase liquide et ont estimé l'écart énergétique à $2,28 \pm 0,86 \text{ kcal.mol}^{-1}$.⁶¹ C'est à notre connaissance le seul adduit mononucléaire qui a fait l'objet de cette technique magnétochimique.

b. Un test rapide : la RPE

Les niveaux d'énergie électronique de spin d'un électron dans un champ magnétique **B** subissent une levée de dégénérescence en fonction du moment magnétique de spin de l'électron considéré. L'amplitude de ce dédoublement (E_{ms}) est donnée par la Relation 2. Le niveau α est abaissé de la grandeur $\frac{1}{2}g_e\mu_B B$ tandis que le niveau β est déstabilisé de la même quantité. Ce phénomène, connu sous le nom d'effet Zeeman, permet d'envisager des transitions entre ces deux niveaux ($\alpha \rightarrow \beta$) pourvu qu'une onde électromagnétique d'énergie égale à E_{ms} traverse l'échantillon.

$$E_{m_s} = g_e \mu_B m_s B$$

Relation 2 : Dédoublage énergétique des niveaux de spin de l'électron en présence d'un champ magnétique d'intensité B. g_e est le facteur de Landé et μ_B le magnéton de Bohr.

De part la nature même de l'expérience RPE, son application se restreint à des molécules contenant au moins un électron non apparié. C'est pourquoi son utilisation sur un échantillon composé de molécules d'état de spin singulet ne produit aucun signal. On dit alors que l'échantillon est silencieux. Ce test constitue ainsi un moyen rapide de déterminer si l'adduit $[\text{CuO}_2]^+$ est de spin singulet ou triplet. Les informations données dans la Table récapitulative illustrent la large utilisation de cette technique expérimentale.

D. Approche vibrationnelle

Parmi les techniques couramment utilisées par les expérimentateurs pour caractériser les adduits Cu/O_2 , deux ont retenu notre attention au regard des informations auxquelles elles donnent accès. La première est la spectrométrie UV-Visible, la seconde est la spectrométrie de vibration RAMAN ou Infra-Rouge (IR).

1. Spectrométrie UV-Visible

Les adduits Cu/O_2 sont couramment étudiés au moyen de la spectrométrie UV-Visible. La raison de l'emploi de cette méthode est qu'elle est souvent utilisée dans les montages tirant partie de la méthode de flux stoppé. Par ailleurs, les descriptions expérimentales font généralement état du changement de couleur des mélanges expérimentaux lors du bullage du dioxygène. Cette spectrométrie est donc une technique de choix pour la détection des adduits. Les diagrammes orbitaux que nous avons construits dans les pages précédentes seront utiles pour décrire les transitions attendues selon le mode de coordination et pour confronter ces prédictions aux résultats expérimentaux.

Nous rappelons à ce stade que l'ensemble des données spectroscopiques est fourni pour chaque complexe sur la feuille fournie en annexe et sur la feuille cartonnée.

a. Side-on : aucune absorption !

La simple construction orbitale de la Figure 15 permet d'envisager deux transitions électroniques distinctes. La première consiste en une excitation de l'orbitale métallique **1**

vers l'orbitale dioxygénée **3**. Cette absorption de transfert de charge doit *a priori* être de forte intensité car ces deux orbitales sont de même symétrie. En ce qui concerne la gamme d'énergie dans laquelle a lieu l'absorption, elle dépend de la force de l'interaction cuivre-dioxygène. Plus l'interaction métal-ligand sera forte plus l'écart énergétique entre les orbitales **1** et **3** sera important. L'étude spectroscopique d'absorption électronique la plus complète a été réalisée sur le complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{iPr,Ada}})(\text{O}_2)]$.⁶¹ Parallèlement, une modélisation théorique sur le complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})(\text{O}_2)]$ a été entreprise au moyen de calculs de type ΔSCF en DFT. Expérimentalement, cette bande d'absorption (**1** \rightarrow **3**) n'a pas pu être observée dans la gamme d'énergie examinée (10 000 à 30 000 cm^{-1}). Il a ainsi été supposé que cette absorption devait se situer à des énergies plus élevées. La modélisation théorique évalue cette énergie à 34 610 cm^{-1} .⁶¹

La seconde transition envisageable met en jeu l'excitation de l'orbitale **2** vers l'orbitale **3**. Elle a été observée expérimentalement pour ce complexe dans le proche IR à 4 200 cm^{-1} (2 381 nm).⁶¹ Comme le suggère la forme des deux orbitales, cette transition est interdite par symétrie et donne lieu à une absorption de faible intensité, ce qui est le cas expérimentalement ($\epsilon \approx 200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁶¹

Pour les autres adduits *side-on*, aucune étude ne témoigne à notre connaissance de la détection des absorptions théoriques précédentes dans la gamme d'énergie habituellement scannée. Des absorptions de faible intensité sont parfois reportées mais sont généralement attribuées à des transitions entre orbitales moléculaires du ligand (cf. Table expérimentale en Annexe). Finalement, le mode de coordination *side-on* n'implique pas de signatures UV-Visible caractéristiques.

b. Cas end-on

Du fait de l'intervention de la paire libre du ligand apical, nous pouvons envisager 3 bandes d'absorption électronique. La transition de l'orbitale **3** vers l'orbitale **4**, interdite par symétrie, est de faible énergie. Comme pour la coordination *side-on*, elle n'est pas observée sur les spectres UV-Visible. Les deux autres transitions font intervenir l'excitation d'un électron dans l'orbitale **4** à partir respectivement des orbitales métallique **2** ou du ligand apical **1**. Les spectres expérimentaux des complexes dérivés du ligand tren et du TMPA exhibent tous une bande de transfert de charge autour de 24 400 cm^{-1} (410 nm, voir feuille récapitulative). Deux enseignements peuvent être tirés de cette observation. D'une part la bande d'absorption est attribuable au transfert de l'orbitale **2** vers l'orbitale **4**, c'est-à-dire du métal vers l'orbitale π^* de O_2 . En effet, la transition **1** vers **4** doit être située à plus haute

énergie. D'autre part, en comparaison au cas *side-on*, le fait d'observer la transition **2** vers **4** à plus basse énergie -spectre Visible (*end-on*) vs. proche UV (*side-on*)- implique que l'interaction métal-ligand est plus faible dans la conformation *end-on*.

La spectrométrie UV-Visible montre donc une différence notable entre les adduits selon le mode de coordination du dioxygène. Dans les isomères *side-on*, à l'exception des éventuelles transitions de faible intensité entre orbitales moléculaires du ligand, aucune bande d'absorption n'est généralement observée ni à attendre. A l'inverse dans les coordinations *end-on* une bande de transfert de charge a toujours été jusqu'à présent observée sur les spectres expérimentaux. Un point doit cependant être gardé à l'esprit car tous les complexes *end-on* identifiés à ce jour sont construits avec des ligands tétradentates présentant un atome coordinant en position *trans* du dioxygène. A notre connaissance, aucun complexe *end-on* construit sur un ligand tridentate ou bidentate n'a été reporté expérimentalement.

2. Fréquences de vibration inter-atomique

a. $\nu(O-O)$ comme sonde du transfert de charge ?

a.1. Transfert de charge, longueur de liaison et fréquence

La description chimique des adduits fait l'objet d'un débat animé dans la littérature. Les diagrammes moléculaires que nous avons présentés mettent en évidence que le transfert de charge se fait toujours vers les orbitales π^* du dioxygène. La formation de l'adduit permet donc un transfert de charge partiel du cuivre vers le dioxygène qu'il est légitime de vouloir quantifier.

Une fois coordonné sur le cation Cu(I), le dioxygène reçoit par rétrodonation une partie de la densité électronique du cuivre pour s'approcher formellement d'un système {Cu(II)/superoxyde}. Si le raisonnement est poussé, il est aussi concevable d'écrire une entité {Cu(III)/peroxyde}. Il convient cependant de garder à l'esprit que ce jeu d'écriture ne traduit pas des états électroniques différents mais des formes mésomères limites, la réalité de la répartition électronique étant une superposition pondérée de ces trois formes (Figure 21).

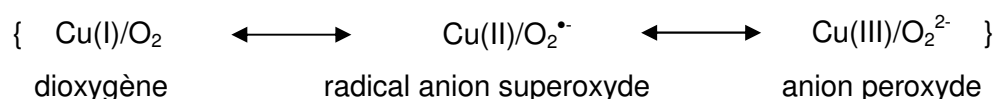


Figure 21 : Formes mésomères limites de l'adduit $[\text{CuO}_2]^+$.

Le transfert se faisant vers une orbitale π^* du dioxygène, la liaison O — O se trouve affaiblie ce qui doit se traduire par son allongement. Il est possible d'évaluer l'amplitude du transfert de charge à partir de la distance $d(\text{O} — \text{O})$ ou bien à partir de la fréquence de vibration O — O, plus basse que dans le dioxygène libre. Dans ce second cas, les spectrométries IR ou RAMAN apparaissent comme les méthodes naturelles d'étude expérimentale.

a.2. Illustration sur $\text{O}_2^{\text{n-}}$

Le Tableau 5 compile les valeurs expérimentales et calculées des distances O — O et des fréquences de vibration $\nu(^{16}\text{O} — ^{16}\text{O})$ pour les trois espèces correspondant aux réductions successives à un électron du dioxygène (dioxygène, ion superoxyde et ion peroxyde). Pour le calcul des valeurs théoriques, nous n'avons pas recherché une détermination très précise de la géométrie et des fréquences vibrationnelles, mais plutôt des estimations raisonnables qui puissent nous servir par la suite de valeurs de référence lorsque nous aurons à traiter les adduits. Ainsi nous avons opté pour la méthode DFT (fonctionnelle *mPWPW91* et la base $6-311^+G^*$). Cette méthode suit le protocole proposé par Cramer *et coll.* dans le cadre de l'évaluation de fréquences de vibration dans les adduits Cu/O_2 .⁵⁸ Aucun facteur d'échelle n'est appliqué aux fréquences présentées.

		$d(\text{O} — \text{O})$ Å		$\nu(^{16}\text{O} — ^{16}\text{O})$ cm^{-1}		référence expérimentale
		exp.	th.	exp.	th.	
dioxygène	O_2	1,208	1,220	1 552	1 543	62
ion superoxyde	$\text{O}_2^{\cdot-}$	1,35	1,363	1 097	1098	63
ion peroxyde	O_2^{2-}	1,49	1,594	802	629	64

Tableau 5 : Réductions successives du dioxygène, distances O — O (Å) et fréquences de vibration $\nu(^{16}\text{O} — ^{16}\text{O})$.

Comme on pouvait l'escompter, et la longueur $d(\text{O} — \text{O})$ et la fréquence de vibration sont très sensibles à la réduction à un électron du dioxygène. Ainsi $d(\text{O} — \text{O})$ subit un allongement successif de 0,143 Å et de 0,231 Å (valeurs calculées) lors des deux réductions.

En termes vibrationnels, cet affaiblissement de la liaison O — O se traduit par des diminutions successives de 445 cm⁻¹ et 469 cm⁻¹ de la fréquence de vibration. L'étendue de la gamme, 900 cm⁻¹, confirme donc que la fréquence de vibration $\nu(^{16}\text{O} - ^{16}\text{O})$ peut être utilisée comme sonde du transfert électronique vers le ligand O₂. Habituellement, il est d'usage de qualifier de type superoxyde les complexes dans lesquels la fréquence de vibration est comprise dans l'intervalle [1 050 - 1 200] cm⁻¹ et de peroxyde ceux pour lesquels elle se situe dans l'intervalle [800 - 930] cm⁻¹.⁵⁸

Dès qu'un adduit est caractérisé de manière expérimentale par la mesure de la fréquence de vibration ou la longueur O — O, il est possible de se faire une idée du taux de transfert de charge du cuivre vers le dioxygène. A titre d'exemple, le complexe [Cu(tren^{TMG})(O₂)]⁺ exhibe en phase solide une distance d(O — O) s'élevant à 1,297 Å, impliquant un transfert de charge modéré vers le dioxygène.⁶⁵ L'adduit formé est donc intermédiaire entre les formes {Cu(I)O₂} et {Cu(II)O₂}. A l'opposé les adduits construits avec des ligands appartenant à la famille des β-dikétimines vibrent à une fréquence $\nu(\text{O} - \text{O})$ de 968 cm⁻¹.^{66,40} Les auteurs en ont donc déduit que ces complexes présentent un caractère peroxyde prononcé.

Dans le cas du centre actif de la PHM, la longueur d(O — O) est évaluée à 1,22 Å.³² Si nous passons outre les éventuelles sous-estimations de distances parfois constatées dans les structures RX (c.f. p.40), il convient de conclure à un faible transfert de charge du cuivre vers le dioxygène dans l'adduit enzymatique. La forme mésomère {Cu(I)/O₂} semble alors prépondérante dans ce cas.

Restant un outil purement indicatif, le Tableau 5 est quelque peu frustrant. En effet, il serait commode et scientifiquement enrichissant de pouvoir évaluer quantitativement ce transfert de charge.

a.3. Calibration dans les adduits MO₂

Les tentatives de relier quantitativement distances inter-atomiques et fréquences de vibration, ou constantes de raideur des liaisons, sont apparues il y a de nombreuses années. Parmi elles, nous pouvons citer l'approche empirique de Badger,⁶⁷ certes ancienne, mais qui demeure utilisée notamment dans le champ des enzymes à fer ou à cuivre (Relation 3).^{40,68,69}

$$d(\text{O}-\text{O}) = \frac{C}{\nu^{2/3}} + D$$

Relation 3 : Loi empirique de Badger.

Une étude publiée en 2003 a tenté de compiler les données expérimentales de nombreux adduits oxygénés.⁵⁸ Les composés considérés n'appartiennent pas nécessairement à la même famille chimique : O₂ est associé dans certains cas à des métaux de transition variés (Cu, Co, Cr, Pd, Mn, Sm, Ni, Al) et dans d'autres cas à des alcalins (Li, Na). Les fréquences de vibration ont été observées ou calculées au moyen de calculs DFT sur l'ensemble de ces adduits qui permettent de couvrir une gamme de longueur allant de 1,2 à 1,45 Å associée à une gamme de fréquences allant de 890 à 1 550 cm⁻¹. Il ressort de l'ensemble de ces données une relation presque linéaire entre la fréquence de vibration et la distance O — O (R² = 0,90).⁵⁸ Avec un ajustement similaire prenant pour relation de référence la loi de Badger, le coefficient de régression linéaire est légèrement meilleur (R² = 0,96).⁴⁰

Pour illustrer l'utilité de ces droites, les auteurs ont considéré le complexe de Kitajima [Cu(Tp^{tBu,iPr})(O₂)]. En phase liquide une fréquence est mesurée à 1 112 cm⁻¹. Par ailleurs la structure cristallographique indique une distance d(O — O) de 1,22 Å. Ce point expérimental étant un point aberrant de la droite de régression linéaire, les auteurs ont ainsi été amenés à s'interroger sur la pertinence de ces valeurs. L'explication en terme de mouvement de libration du dioxygène évoquée plus haut a alors été proposée pour expliquer la très faible valeur de la longueur O — O. De telles droites seront affinées et rediscutées dans le Chapitre II.

b. Marquage isotopique à l'oxygène ¹⁸O

La cristallisation des adduits cuivre-dioxygène n'est souvent pas possible à cause de difficultés expérimentales. Dans certains cas, l'adduit de stoechiométrie 1:1 n'est qu'un intermédiaire de réaction à faible durée de vie. Pour parer cette difficulté, il a été émis l'hypothèse qu'une détection indirecte du mode de coordination pouvait être obtenue en tirant partie de la spectroscopie de vibration associée au marquage isotopique. Dans cette perspective, les spectroscopies RAMAN et Infra Rouge ont été abondamment employées pour mesurer la fréquence de vibration O — O dans des adduits marqués à l'oxygène ¹⁸O et tenter de corréliser les observations au mode de coordination. Lors de l'utilisation de dioxygène ¹⁸O₂, un déplacement de la fréquence de vibration vers les plus basses fréquences est observé en comparaison de l'expérience menée en présence de dioxygène

$^{16}\text{O}_2$ (terme $\Delta(^{18}\text{O})$ de la Table des résultats expérimentaux)[†]. Toutefois, comme le montrent les différentes valeurs reportées, l'amplitude de ce déplacement n'est pas corrélable au mode de coordination.

Alternativement, il a été proposé de recourir à l'utilisation de dioxygène mixte $^{18}\text{O}^{16}\text{O}$, avec pour idée de distinguer les deux modes de coordination en vertu du raisonnement que nous présentons dans le paragraphe qui suit.

b.1. Coordination de dioxygène mixte $^{18}\text{O}^{16}\text{O}$

i. Principe

Le principe de cette méthode paraît simple. Comme le montre la Figure 22, deux isotopomères co-existent lors de la fixation du dioxygène mixte $^{18}\text{O}^{16}\text{O}$. Dans le cas *side-on*, si nous supposons que la structure du ligand ne perturbe pas significativement la symétrie locale C_{2v} du système $\{\text{CuOO}\}$, les deux fréquences de vibration $^{18}\text{O} - ^{16}\text{O}$ sont identiques. Le spectre expérimental IR ou RAMAN ne présente qu'une seule bande d'absorption.

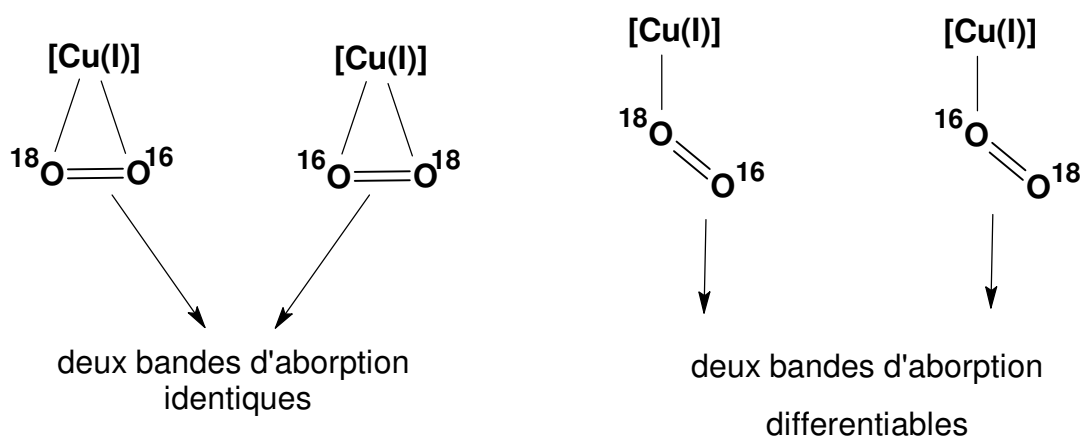


Figure 22: Différenciation des modes de coordination *side-on* et *end-on* grâce à l'utilisation de dioxygène marqué $^{18}\text{O}^{16}\text{O}$.

La situation est en revanche différente dans le cas d'une coordination *end-on*. Selon l'atome d'oxygène coordonnant, $^{18}\text{O}_p$ ou $^{16}\text{O}_p$, la liaison $\text{O} - \text{O}$ peut vibrer à des fréquences significativement différentes dans les deux isotopomères $\{[\text{Cu}] - ^{18}\text{O}_p - ^{16}\text{O}_d\}$ et

[†] L'isotope ^{18}O étant plus lourd que l'isotope ^{16}O il est logique de mesurer une fréquence de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$ plus basse, toutes choses étant égales par ailleurs.

$\{[\text{Cu}] - {}^{16}\text{O}_p - {}^{18}\text{O}_d\}$. Selon l'amplitude du dédoublement isotopique, deux bandes d'absorption sont à prévoir.

La mesure des fréquences de vibration apparaît donc comme un moyen de différencier les deux modes de coordination au vu du nombre de bandes observées sur les spectres IR ou RAMAN.

ii. Mise en pratique

En pratique, cette approche a fait l'objet d'un important débat dans la littérature. Des exemples expérimentaux de dédoublement concernant des complexes à base de cuivre, de cobalt,⁷⁰ de fer^{71,72} ou de palladium⁷³ ont été reportés. L'origine de la discussion sur la pertinence de la méthode provient en fait du nombre limité d'exemples probants. Pour le cuivre, deux ligands ont fait l'objet d'études couplant expérience et théorie.

Le premier cas a trait au ligand tren^{TMG} .⁶⁵ Aucun dédoublement de bande n'est constaté expérimentalement lors de l'utilisation de dioxygène marqué : une unique bande est mesurée à $1\,089\text{ cm}^{-1}$. Comme expliqué plus haut, ce résultat indiquerait une coordination *side-on*. Cependant, des calculs d'énergie DFT (BP86) montrent que le conformère *end-on* est plus stable que le conformère *side-on* par $7,0\text{ kcal/mol}$. De surcroît, la coordination *end-on* a été depuis vérifiée en phase solide grâce à une structure cristallographique.⁵⁹ La contradiction apparente entre le mode de coordination *end-on* et le nombre de bandes observées a été résolue par le calcul des fréquences de vibration des deux isotopomères dans chacune des deux conformations. Ce calcul montre que le dédoublement isotopique attendu dans la conformation *end-on* ne dépasse pas $0,3\text{ cm}^{-1}$, écart vraisemblablement trop faible pour que les deux bandes soient résolues sur les spectres expérimentaux.

L'autre exemple concerne un modèle bio-inspiré de la Galactose Oxydase, le complexe $[\text{Cu}(\text{TACN}^{\text{PhOH}})(\text{O}_2)]^+$. De même que précédemment, aucun dédoublement n'est observé expérimentalement.⁷⁴ La prédiction de l'isomère le plus stable au moyen de calculs de type CASPT2 conclut à une coordination *end-on* préférentielle.⁷⁵ De nouveau le calcul des fréquences de vibration conduit à deux fréquences quasi identiques ($1\,120$ et $1\,121\text{ cm}^{-1}$).

En réalité, à notre connaissance, le seul exemple de dédoublement pour un complexe cuivreux a été publié par Chaudhuri avec une isominiquinone. Un dédoublement de 10 cm^{-1} a été reporté, signature d'une coordination *end-on*. Toutefois, les données ont été réinterprétées à partir de calculs effectués sur des modèles du complexe expérimental. Les auteurs de l'étude théorique ont réassigné l'une de deux bandes à une vibration étrangère au

système {CuO₂}, et, de nouveau, les deux bandes isotopomériques sont prédites à la même fréquence.⁷⁵

En conclusion, il semble raisonnable de généraliser la remarque de Cramer *et coll.* : “*The failure to observe a mixed-isotope splitting in the experimental [Resonant Raman] spectrum does not appear to be diagnostic for a particular O₂ coordination motif*”.⁷⁵ Ce jugement doit cependant être tempéré en le restreignant aux seules vibrations O — O considérées dans ces études. En effet les modes de vibration Cu — O sont également de potentiels porteurs d'informations structurales.

c. Utilisation de la fréquence ν (Cu — O)

Il est surprenant de constater que très peu de données concernant la vibration Cu — O aient été reportées à ce jour. Il faut sans doute expliquer cette absence par la difficulté d'identification de ces signatures qui se trouvent généralement dans la zone digitales des spectres de vibration. Toutefois le déplacement de certaines bandes lors de la substitution ¹⁶O en ¹⁸O a permis d'identifier dans certains cas des bandes d'absorption autour de 450 cm⁻¹. C'est le cas des complexes utilisant les ligands tren^{Me,Bn}, Tp^{Pr,Ada} et TACN^{PhOH}.

Il convient par ailleurs de mentionner une étude innovante dans laquelle a été appliquée la méthode de marquage isotopique à l'oxygène mixte pour identifier le mode de coordination à partir des fréquences ν (Cu — O).⁶⁰ Cette étude concerne le complexe [Cu(TMPA^{NMe2})O₂]⁺. Deux bandes d'absorption à 452 et 472 cm⁻¹ sont observées avec le dioxygène mixte ¹⁶O¹⁸O. Elles correspondent à celles observées indépendamment en présence de ¹⁶O₂ (472 cm⁻¹) ou de ¹⁸O₂ (452 cm⁻¹). Ces données sont donc parfaitement en accord avec une coordination *end-on* du dioxygène. A notre connaissance, cet exemple récent est le premier qui exploite les fréquences de vibrations ν (Cu — O) pour déterminer le mode de coordination.

E. Retour aux enzymes

Cette incursion dans le champ biomimétique de la coordination du dioxygène a permis de mieux cerner les particularités des centres actifs de la PHM. Il est apparu à travers la variété des coordinations rencontrées avec les ligands bio-inspirés que les caractéristiques structurales du centre Cu_M ne sont sans doute pas fortuites mais répondent aux exigences liées à une coordination *end-on*, dans un certain état de spin qu'il reste à déterminer.

Cependant, si l'approche biomimétique s'est avérée fructueuse dans la préparation d'adduits monomoléculaires, elle s'est pour l'instant "contentée" de les synthétiser. De manière frustrante, à l'exception de deux complexes particuliers, tous les systèmes mononucléaires bio-inspirés se sont révélés inertes vis-à-vis des réactions d'oxydation de substrats. Seul le complexe $[\text{Cu}(\text{TMPA}^{\text{NMe}_2})\text{O}_2]^+$ et le système calixarénique $[\text{Cu}(\text{calixtren})\text{O}_2]^+$ ont témoigné d'une activité en présence de substrats.^{60,76}

Pour poursuivre la présentation biologique entamée au début de ce Chapitre, il nous faut donc revenir aux systèmes enzymatiques sur lesquels il existe, à l'inverse, de nombreuses données expérimentales.

III MECANISME COMPLET DANS LA PHM

Dans la dernière partie de ce Chapitre, nous achevons la présentation de la PHM et de la D β M en nous focalisant non plus sur les aspects structuraux mais sur l'aspect mécanistique.

Nous avons mis en garde le lecteur sur la confusion des informations provenant d'expériences menées alternativement sur la PHM ou la D β M : nous réitérons cette mise en garde. Alors que pour la structure la connaissance la plus fine venait de la PHM grâce à la disponibilité de nombreuses structures RX, en ce qui concerne les indices mécanistiques, les informations les plus fines proviennent d'expériences menées sur la D β M. Nous continuerons donc à être attentifs à l'origine des données expérimentales présentées.

A. Attribution des rôles

Deux centres monomoléculaires non couplés assurent la catalyse de la réaction stéréospécifique d'hydroxylation. Un simple décompte électronique apporte déjà quelques indications sur cette réaction d'oxydoréduction. Pour réduire le dioxygène, quatre électrons sont nécessaires. Dans la PHM, comme dans la D β M, deux électrons sont formellement apportés par l'atome de carbone subissant l'hydroxylation tandis que les deux autres sont apportés par les deux cations cuivreux. Il a en outre été montré pour la D β M que l'intervention de réducteurs supplémentaires au cours de la réaction est superflue et que ces quatre électrons sont nécessaires et suffisants pour rendre compte des différents transferts électroniques.⁷⁷

Après la réaction d'hydroxylation, les complexes cuivriques formés sont réduits grâce à l'ascorbate qui est oxydé en semi-deshydroascorbate. Il s'agit d'un mécanisme de type "*ping-pong*" signifiant que cette seconde phase de régénération de l'enzyme est indépendante de la phase d'hydroxylation et nous ne nous y intéresserons pas dans ce travail. Seule nous importera la phase oxydative des centres actifs.

La structure cristallographique de la forme précatalytique de la PHM suggère que, puisque le substrat est situé à proximité du centre Cu_M , qui permet la coordination du dioxygène, ce site actif est celui où se déroule la réaction.³² A l'opposé le centre Cu_H ne jouerait qu'un rôle de réservoir d'électron. Notons que la grande distance séparant les deux centres actifs (environ 11 Å) implique un phénomène de transfert électronique à longue distance. Cette configuration amène naturellement la question de l'intérêt du découplage des deux sites dans ces enzymes. Nous reviendrons sur ce point par la suite.

Il est admis généralement que deux étapes principales doivent intervenir au cours du cycle catalytique d'hydroxylation : une étape de transfert d'un atome d'hydrogène par attaque de la liaison $\text{C}_\alpha - \text{H}_s$ et une étape de transfert électronique du centre Cu_H vers le centre Cu_M . L'espèce permettant l'oxydation de la liaison hydrocarbonée est probablement une espèce oxygénée. Cependant, selon que le transfert électronique à longue distance a lieu avant ou après cette étape, son degré d'oxydation sera différent. Par exemple si le transfert n'a pas eu lieu au moment de l'étape d'activation de la liaison $\text{C}_\alpha - \text{H}_s$, c'est l'espèce $\text{Cu}_M(\text{I})/\text{O}_2$ qui pourrait être l'espèce oxydante. A l'inverse si ce transfert a déjà eu lieu, c'est l'espèce $\text{Cu}_M(\text{I})/\text{O}_2^{\bullet-}$ qui pourrait jouer ce rôle.

Ainsi la question de l'identité de l'espèce oxydante est intimement liée à la localisation de l'étape de transfert électronique au cours du cycle catalytique. Les différentes alternatives ont toutes fait l'objet de l'attention des biochimistes, lesquels ont utilisé d'analogies avec d'autres métalloenzymes dont les mécanismes sont mieux connus, et parmi elles, les enzymes à fer, héminiques ou non-héminiques.

B. Test de l'analogie aux enzymes à fer

1. Transfert électronique avant activation

Le complexe $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{HOO}^\bullet)]^+$ a été proposé dès le milieu des années 1980 à partir d'expériences portant sur la D β M.⁷⁸ Il a été suggéré que cette espèce soit ou directement responsable de l'activation de la liaison $\text{C}_\alpha - \text{H}_s$, ou précurseur de l'espèce cuivre-oxy $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{O}^\bullet)]^+$ par rupture homolytique de la liaison $\text{O} - \text{O}$. A partir de l'adduit Cu_M/O_2 qui doit

certainement être la première espèce formée, le complexe $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{HOO}^-)]^+$ provient formellement de la réduction à deux électrons du dioxygène et de l'apport d'un proton. Puisque l'intervention d'un réducteur extérieur est superflue⁷⁷ et qu'aucun résidu réducteur n'est présent à proximité du centre Cu_M ,⁷ les deux électrons proviennent des deux centres cuivreux. Dans ce cas, l'étape de transfert électronique précède de fait l'activation du substrat. Ce schéma de fonctionnement trouve un parallèle avec les enzymes à fer non-héminiques. Cette analogie est d'ailleurs le principal argument en faveur de l'hypothèse hydroperoxyde. Par exemple, dans le cas du cytochrome P450, après formation d'un intermédiaire du type $[\text{CpFe}(\text{III})(\text{HOO}^-)]^{2+ \dagger}$, la liaison peroxyde subit une rupture hétérolytique concomitante à l'oxydation du ligand Cp pour conduire à une espèce du type $[\text{Cp}^*\text{Fe}(\text{IV})=\text{O}]^{3+}$.⁷⁹ La réaction de rupture étant plus lente que les étapes conduisant à la formation de l'intermédiaire hydroperoxyde, il y a accumulation de la première espèce $[\text{CpFe}(\text{III})(\text{HOO}^-)]^{2+}$ et relargage d'ions hydroperoxyde dans le milieu.⁸⁰

Si l'analogie entre le cytochrome P450 et la PHM ou la D β M est justifiée, un comportement similaire devrait y être observé. Sous réserve que les étapes suivant la formation de l'intermédiaire hydroperoxyde $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{HOO}^-)]^+$ soient plus lentes, l'accumulation d'anions hydroperoxyde dans le milieu devrait être détectée. En outre, puisque l'oxydation du centre Cu_H conduit à une espèce cuivrique, un suivi RPE de la réaction devrait montrer l'apparition d'une espèce paramagnétique. Cette condition cinétique, si elle n'était pas spontanément remplie dans le fonctionnement normal de l'enzyme (étapes postérieures à la formation de l'intermédiaire $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{HOO}^-)]^+$ rapides), pourrait de toute façon l'être en utilisant un substrat inerte. C'est cette expérience qui a été menée en 2003 par l'équipe de J. P. Klinman.⁸⁰

Cette étude apporte un démenti solide à l'analogie avec les enzymes à fer. Les auteurs ont constaté un étroit couplage entre la consommation de dioxygène et l'activation du substrat, autrement dit l'étape d'attaque de la liaison $\text{C}_\alpha - \text{H}_\beta$ dans la D β M. Par ailleurs en présence de β, β -difluorophénéthylamine (DFPA), un substrat inerte, aucun signal RPE n'est enregistré, indiquant que l'oxydation du centre Cu_H n'a pas eu lieu. Le transfert électronique intervient donc après l'étape d'activation du substrat.

Cette étude a ainsi permis une avancée majeure dans la compréhension du mécanisme d'action de la D β M en écartant les mécanismes dans lesquels l'étape de transfert électronique précède l'attaque du substrat. Outre la forme hydroperoxydique $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{HOO}^-)]^+$, il convient d'écarter la forme peroxydique $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{O}_2^{2-})]^+$ et la forme oxylique $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{O}^\bullet)]^+$ qui, toutes trois, nécessitent le transfert de l'électron du site Cu_H pour être formées. Remarquons qu'il convient également d'exclure l'espèce $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{O}^{2-})]$ bien que

[†] Le symbole Cp se réfère au squelette protéique du cytochrome P450.

sa réactivité vis-à-vis de l'attaque de la liaison C — H ait été mise en évidence à partir de calculs théoriques.^{31,81}

Devançant les données biochimiques, des modélisations théoriques se sont intéressées à la comparaison des schéma réactionnels entres certaines enzymes à fer et l'intermédiaire hydroperoxyde supposé de la PHM et la DβM. Bien que nous ayons mis hors de propos cette possibilité à partir des données expérimentales, il est instructif de mentionner ces étude afin de mieux comprendre la spécificité des centres actifs à cuivre non couplés.

2. Evaluations énergétiques théoriques

a. Retour au biomimétisme

Deux études ont retenu notre attention. La première, d'inspiration biomimétique a porté sur le complexe modèle $[\text{Cu(II)}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{OOH}]$ dont le ligand chélatant a déjà été utilisé dans le cadre de l'étude de la coordination du dioxygène (Figure 23).⁸²

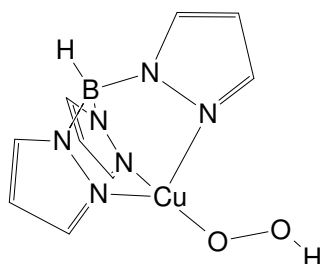


Figure 23 : Complexe modèle $[\text{Cu(II)}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{OOH}]$ utilisé pour l'étude de la réactivité de l'anion hydroperoxyde.

La réactivité de l'espèce $[\text{Tp}^{\text{H,H}}\text{Cu(II)}(\text{OOH})]$ est envisagée selon quatre modes d'évolution distincts. Dans les deux premiers, les auteurs étudient la rupture homo- ou hétérolytique de la liaison peroxydique et la formation respective d'une espèce $[\text{Cu(III)}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{O}^{2-}]$ ou $[\text{Cu(IV)}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{O}^{2-}]$. Les bilans énergétiques associés à ces deux possibilités (respectivement 75 et 232 kcal.mol⁻¹) indiquent que ces voies ne sont pas envisageables. Ce point est d'ailleurs en accord avec les écritures formelles auxquelles elle conduisent, à savoir Cu(III) et Cu(IV), états d'oxydation peu raisonnables pour cet élément. Il est instructif de faire à nouveau un parallèle avec les enzymes à fer dans lesquelles un certain nombre d'intermédiaires de type $[\text{LFe(III)}(\text{HOO})]^{2+}$ (L se réfère au squelette enzymatique) évoluent vers la rupture homo- ou hétérolytique de la liaison O — O et la

formation des espèces $[\text{LFe(IV)O}^{2-}]^{2+}$ ou $[\text{L}^*\text{Fe(IV)O}^{2-}]^{2+}$ avec des énergies raisonnables ($< 30 \text{ kcal.mol}^{-1}$).^{83,84} Dans le cas des complexes cuivriques, modèles de centres monomoléculaires, le bilan énergétique est bien plus défavorable.

Si d'aventure un intermédiaire hydroperoxyde était formé dans la PHM ou dans la D β M, il n'évoluerait pas de la même manière que dans les enzymes à fer héminiques ou non- héminiques.

Outre les énergies de rupture de la liaison O — O, les auteurs ont estimé que le clivage réducteur de la liaison Cu — O pour donner un cation Cu(I) et un radical hydroperoxyde n'était pas non plus favorable puisque le bilan énergétique avoisine les 70 kcal.mol^{-1} .⁸² Enfin la dernière voie d'évolution est l'utilisation de l'intermédiaire $[\text{Cu(II)(Tp}^{\text{H,H}}\text{OOH}]$ dans une réaction de H-abstraction sur une molécule alkylque R — H pour conduire à un alcool (R — OH) et un complexe $[\text{Cu(II)(Tp}^{\text{H,H}}\text{O}^\bullet]$. Cette dernière voie est associée à un bilan énergétique défavorable d'environ 50 kcal.mol^{-1} .⁸²

A partir de ces valeurs énergétiques, il est délicat de proposer une analogie dans la D β M ou la PHM. Faisant suite aux travaux théoriques précédents d'inspiration biomimétique, des auteurs ont évalué la possibilité de la réaction d'abstraction d'hydrogène ou de rupture homolytique de la liaison O — O à partir de modèles des centres actifs de la PHM.^{28,83} Il est apparu d'une part que l'abstraction de l'atome d'hydrogène à partir de la liaison C — H, si elle est thermodynamiquement favorable ($\Delta G = 6$ et $21,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ respectivement pour les états triplet et singulet), est associée à une barrière énergétique évaluée à près de 40 kcal.mol^{-1} . Cet élément contribue à disqualifier ce mécanisme. D'autre part la rupture homolytique de la $[\text{Cu}_M(\text{II})\text{OOH}]^+$, est comme précédemment associée à une variation d'enthalpie libre largement défavorable ($\Delta G = 31,6$ et $46,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour les formes triplet et singulet respectivement). Les résultats de cette étude théorique, ayant comme objet des modèles de centres actifs enzymatiques, rejoignent donc les résultats précédents obtenus sur le modèle bio-inspiré.

b. De l'intérêt du découplage des sites Cu_M et Cu_H

Cette différence de réactivité entre les enzymes à cuivre bimétalliques et les enzymes à fer ont conduit A. Decker et E. I. Solomon à émettre des hypothèses sur le rôle du couplage dans les enzymes à cuivre bimétalliques comme la tyrosinase et inversement sur celui de la séparation des centres dans la PHM et la D β M.⁸³

Partant du constat que dans les sites binucléaires couplés de type 3, le dioxygène est activé par donation de deux électrons provenant de chacun des cations Cu(I), il doit exister

un intérêt au couplage des cations métalliques. En effet, lors de la fixation du dioxygène au cœur des centres binucléaires, celui-ci subit directement une réduction à deux électrons, le rendant ainsi activé pour des réactions d'attaques électrophiles et d'hydroxylation de substrats aromatiques. A l'inverse, les adduits Cu_2O_2 sont relativement inertes vis-à-vis de réactions d'abstraction d'atomes d'hydrogène.

Pour la PHM et la D β M, puisque l'étape de transfert électronique est probablement lente, la séparation géographique des sites servirait à aménager un temps durant lequel le complexe Cu/O_2 , activé par la réduction à un seul électron du dioxygène, constituerait l'espèce réactive. Si l'adduit $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$ est capable d'assurer une réaction de H-abstraction, il y aurait là une explication au découplage des deux centres. Plusieurs études se sont donc intéressées aux capacités oxydantes des adduits Cu/O_2 .

3. O_2 est l'espèce oxydante

a. Soutien expérimental

La proposition de considérer l'espèce dioxygénée comme responsable de l'activation de la liaison $\text{C}_\alpha - \text{H}_\beta$ séduit par sa simplicité : *une fois le dioxygène fixé sur le centre Cu_M , c'est l'entité $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$ qui intervient dans l'étape suivante d'activation du substrat.* Cette assertion trouve une justification dans la structure cristallographique de la PHM dans sa forme réduite précatalytique.³² Nous avons signalé dans la seconde partie de ce chapitre que la distance $\text{O} - \text{O}$, évaluée à 1,23 Å traduisait majoritairement une structure électronique de type $[\text{Cu}_M(\text{I})\text{O}_2]^+$.

Cette valeur est en conformité avec le fait que le transfert électronique n'a pas encore eu lieu dans cet état précatalytique. En effet, si la forme $[\text{Cu}_M(\text{II})\text{O}_2^{2-}]$ était présente dans cette structure cristallographique, la distance inter-oxygène serait certainement plus grande (cf. Tableau 5, p. 52) en raison du plus grand degré de réduction de cette espèce.

Une autre donnée expérimentale récente joue en faveur du dioxygène comme espèce oxydante. Au moyen de marquages isotopiques il a été montré qu'en milieu aérobie, l'activation du substrat devait faire intervenir l'espèce dioxygénée.⁸⁵

b. Faisabilité théorique

Plusieurs études théoriques se sont intéressées à la faisabilité de l'attaque d'une liaison $\text{C} - \text{H}$ par un complexe $[\text{CuO}_2]^+$. Selon les modèles ou les méthodes théoriques utilisés, les barrières d'activation ont été évaluées dans une gamme allant de 14 à 23 kcal.mol⁻¹.^{31,28,81,86} Ces valeurs indiquent donc que cette voie est envisageable de manière

raisonnable pour un processus biochimique. Elles sont en outre bien plus basses que celles trouvées pour l'anion hydroperoxyde (environ 50 kcal.mol^{-1}) et se rapprochent de l'évaluation expérimentale de l'enthalpie d'activation proposée pour la PHM (13 kcal.mol^{-1}).⁸⁷

C. Etudes cinétiques

Conjointement aux études précédentes, les enzymes ont fait l'objet d'études cinétiques qui ont permis l'établissement d'un cadre mécanistique solide sur lequel nous pourrions fonder notre travail de modélisation théorique.^{88,89,90} Ces études menées indépendamment sur l'une ou l'autre des deux monooxygénases ont conclu à des mécanismes très similaires.

a. Proposition de mécanisme

Pour rappeler les grandes lignes du mécanisme, nous avons représenté le cycle catalytique de la PHM proposé par Klinman *et coll.* qui apparaît comme le plus raisonnable au vu des données expérimentales.⁸⁰

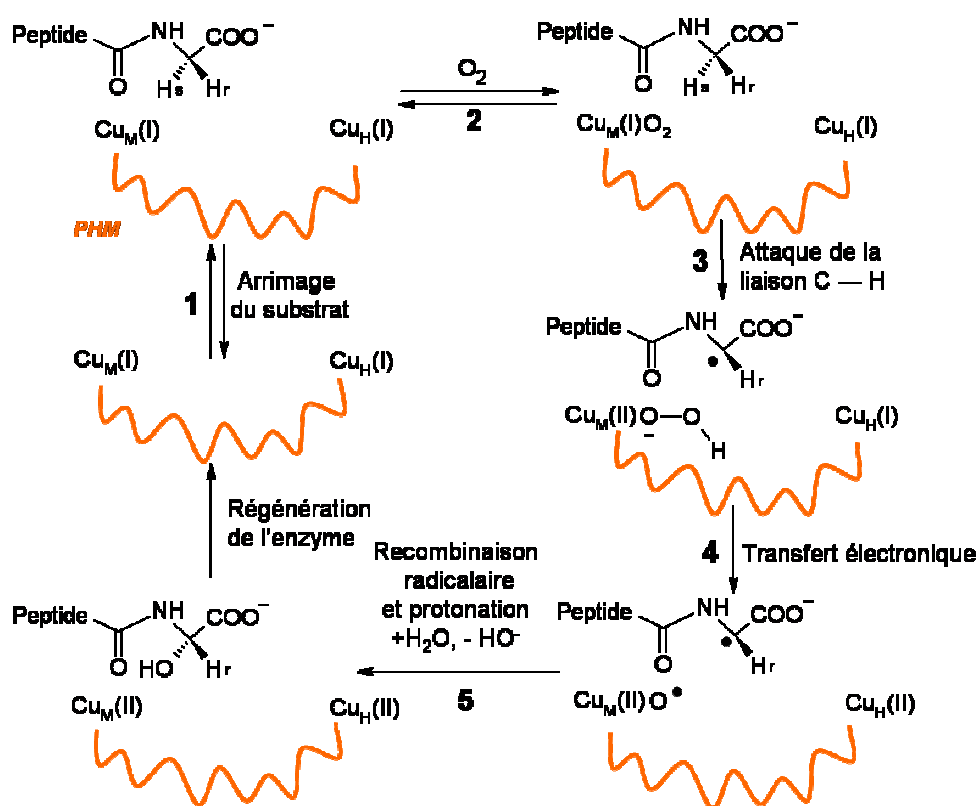


Figure 24 : Cycle catalytique proposé par Klinman *et coll.* pour la PHM.⁸⁰ Le serpent représente le squelette carboné de l'enzyme.

La phase oxydative du mécanisme débute par la coordination du substrat à proximité du centre Cu_M (étape 1). Dans une seconde étape le dioxygène se lie au centre Cu_M (étape 2). Il y a mésomérie entre la forme $\text{Cu}_M(\text{I})/\text{dioxygène}$ (Figure 24) et la forme $\text{Cu}_M(\text{II})/\text{superoxyde}$. Les positions respectives de l'espèce oxygénée et du substrat permettent en troisième étape l'attaque de la liaison $\text{C} - \text{H}_s$ pour former un complexe $[\text{Cu}_M(\text{II})\text{HOO}]^+$ et un carboradical (étape 3). En terme de nombre d'oxydation, cette étape voit la réduction à deux électrons du dioxygène en anion hydroperoxyde. Les deux électrons ont été fournis l'un par le cation $\text{Cu}_M(\text{I})$ l'autre par l'atome de carbone C_α .

A ce stade, il est nécessaire de mentionner des études portant sur la PHM et sur la D β M qui tendent à montrer que l'étape 3 est assimilable à une H-abstraction, c'est-à-dire à un transfert d'atome d'hydrogène. C'est donc bien un carboradical qui est formé à l'issue de cette étape.^{11,78,91} Si un transfert sous forme d'hydrure H^- avec formation d'un carbocation C_α^+ n'est pas à exclure de l'avis même des auteurs, cette hypothèse est jugée peu probable.³ C'est la raison pour laquelle nous avons retenu l'écriture radicalaire sur la Figure 24. Nous serons toutefois amenés à rediscuter ce point particulier lors du Chapitre III.

C'est en quatrième étape que le transfert électronique est supposé intervenir en permettant le transfert d'un électron du centre Cu_H vers le centre Cu_M . Dans ce schéma, les auteurs proposent la formation d'un complexe $[\text{Cu}_M(\text{II})(\text{O}^\bullet)]^+$. Enfin, dans la dernière étape de cette phase oxydative (étape 5), les deux radicaux, le radical oxyl et le carboradical, se recombinent pour former le produit hydroxylé attendu.

L'enzyme est ensuite régénérée durant la phase réductive grâce à l'intervention d'un réducteur tel que l'ascorbate, réducteur le plus courant dans le milieu biologique. Ce schéma met bien en évidence le caractère "*ping-pong*" de ce mécanisme : les deux séquences, d'oxydation et de réduction, sont clairement séparées.

b. Données cinétiques

L'évaluation des constantes de vitesse associées au cycle catalytique est une opération difficile mais qui peut être réalisée grâce à la mesure des effets cinétiques isotopiques (KIE).^{92,93} Ces études biochimiques, réalisées à la fois sur la D β M et sur la PHM, révèlent à nouveau de fortes analogies entre les deux enzymes, suggérant un mécanisme commun. Les valeurs des effets cinétiques isotopiques de substitution de l'atome d'hydrogène $^1\text{H}_s$ par $^2\text{D}_s$ ou du dioxygène $^{16}\text{O}_2$ par $^{18}\text{O}_2$ regroupées dans le Tableau 6 suffisent à s'en convaincre.^{88,94,95}

Enzyme	k_H/k_D pour $C_\alpha - H_S$		k_{16O}/k_{18O} pour $O - O$	
	primaire	secondaire	primaire	secondaire
D β M	10,9	1,19	1,0197	1,0256
PHM	10,6	1,20	1,0167	1,0216

Tableau 6 : Comparaison des effets cinétiques isotopiques entre D β M et PHM. ^{88,94,95}

En pratique la détermination des constantes de vitesses s'effectue par ajustement des données expérimentales à un modèle mécanistique. Selon l'adéquation obtenue le schéma mécanistique est validé ou non. Dans le cas de la PHM de nombreux schémas ont été testés.^{88,89} La description de toutes ces alternatives ne constitue pas l'objectif de cette présentation et c'est à dessein que nous restreindrons notre attention aux constantes de vitesses associées au seul mécanisme de la Figure 24 et dont la séquence mécanistique peut être simplifiée par la Figure 25.⁸⁸

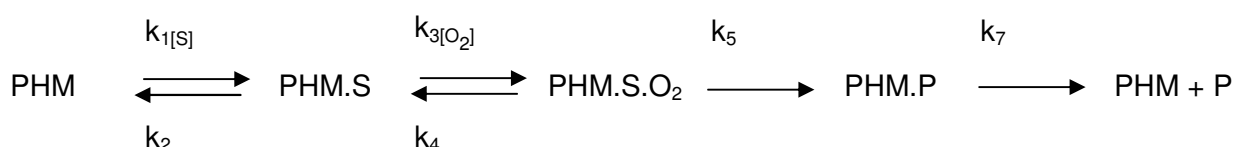


Figure 25 : Schéma mécanistique de l'hydroxylation d'un substrat S par la PHM dans le cadre d'un mécanisme ordonné d'équilibre. ^{†,88}

Les études cinétiques ne permettent pas de déterminer l'ensemble des constantes de vitesse de la Figure 24, mais seulement celles associées au modèle cinétique de travail (Figure 25). Un travail de correspondance entre ces deux schémas doit donc être réalisé. Ainsi la constante k_5 correspond à la constante de vitesse de l'étape de rupture de la liaison $C_\alpha - H_S$. Cette étape apparaît comme rapide en comparaison de la constante de vitesse k_7 : l'activation du substrat n'est donc pas cinétiquement limitante dans la PHM. C'est en fait la constante de vitesse k_7 qui correspond à l'étape cinétiquement limitante sur l'ensemble du site catalytique, à savoir une étape non identifiée intervenant entre la formation du produit de rupture de la liaison $C_\alpha - H_S$ et la libération du produit. Par comparaison avec le cycle catalytique de la Figure 24, cette étape pourrait être par exemple celle du transfert électronique ou de la recombinaison radicalaire.

[†] On entend par *ordonné* un mécanisme dans lequel les deux substrats sont fixés à l'enzyme dans un ordre précis.

Etape	Constante de Vitesse
k_3 ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	227 ± 7
k_4 (s^{-1})	185 ± 28
k_5 (s^{-1})	810 ± 120
k_7 (s^{-1})	41 ± 1

Tableau 7 : Constantes de vitesses déterminées pour l'hydroxylation de l'acide hippurique par la PHM dans le cadre du schéma cinétique de la Figure 25.⁸⁸

Cette donnée expérimentale nous amène ainsi à nous interroger sur la description de l'étape de transfert électronique entre le centre Cu_H et le centre Cu_M qui pourrait constituer l'étape cinétiquement limitante. Elle a fait l'objet de très nombreuses hypothèses ces dernières années que nous nous proposons de présenter dans les dernières pages de ce Chapitre.

D. Transfert électronique

1. Hypothèse superoxyde channel

Nous avons vu que le transfert de l'électron depuis le centre Cu_H vers la sphère réactive est un événement incontournable. A la fin des années 1990, certains auteurs ont proposé l'hypothèse *superoxide channel* consistant à considérer le dioxygène comme médiateur de ce transfert. Ainsi, il a été postulé que le dioxygène se fixe en première étape sur le centre Cu_H . Après oxydation du métal et décooordination d'un anion superoxyde O_2^\bullet , son transit vers le site Cu_M permet le transfert d'un équivalent d'électron. Cette hypothèse se fondait alors sur une étude de la coordination du monoxyde de carbone, supposé analogue du dioxygène (*sic*).⁹⁶

Cependant, l'étude récente qui montre le couplage étroit entre la consommation de dioxygène et l'activation du substrat va à l'encontre de l'hypothèse *superoxide channel*.⁸⁰ En effet, ainsi que nous l'avons précisé plus haut, les mécanismes dans lesquels le transfert électronique intervient avant l'étape d'activation du substrat ne cadrent pas avec cette donnée expérimentale. C'est la raison pour laquelle l'hypothèse superoxyde semble aujourd'hui abandonnée.

2. Transfert électronique longue distance

Une fois écartée l'hypothèse précédente, il est naturel d'envisager le transfert électronique directement entre les deux sites Cu_H et Cu_M . A première vue, et du fait de l'éloignement des deux centres actifs, il est probable que le phénomène soit différent de celui

rencontré dans les enzymes bimétalliques couplées. Nous avons d'ailleurs mentionné plus haut le possible rôle du découplage des centres à cuivre comme un moyen de retarder le transfert du second électron vers le centre réactif.

Ce phénomène n'en reste pas moins énigmatique car si les deux sites sont situés à 11 Å l'un de l'autre "à vol d'oiseau", l'étude des structures RX de la PHM montre que le chemin le plus court entre les deux sites *via* les résidus de la protéine mesure 80 Å. De nombreux exemples de transfert électronique à longue distance dans les protéines légitiment cependant l'existence de ces phénomènes.^{97,98,99,100} Mais cette distance paraît élevée en comparaison des autres systèmes enzymatiques connus. Il faut donc envisager un moyen de raccourcir la longueur du chemin électronique pour le rendre cinétiquement viable.

Un mouvement de respiration de la cavité permettant un rapprochement des deux centres actifs a été un temps avancé. Toutefois, la PHM demeure active en phase solide où des mouvements de grande amplitude sont exclus, écartant de fait le recours à ce type de suggestions.²⁰

En analysant les premières structures cristallographiques de la PHM, les biochimistes ont mis en évidence l'existence d'un chemin entre les deux centres à cuivre qui pourrait servir de voie de transit pour l'électron (Figure 26). Lors de ces premières études, seules les trois structures cristallographiques, des formes réduite et oxydée, avec et sans substrat pour cette dernière, étaient à leur disposition.^{7,19,20}

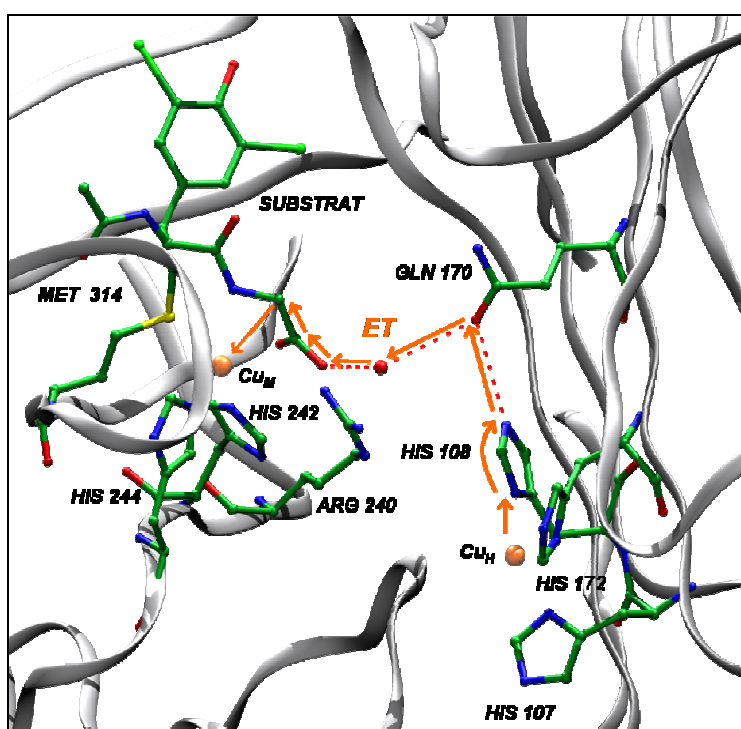


Figure 26 : Chemin de transfert électronique (en orange) proposé à partir de la structure RX de la forme oxydée avec substrat de la PHM.⁷

Dans les trois formes le résidu HIS 108 est lié par liaison hydrogène au résidu GLN 170. Par ailleurs, en présence du substrat (dans la forme oxydée) une molécule d'eau forme un pont entre le résidu GLN 170 et la terminaison carboxylate du substrat. Ces deux constatations ont conduit les auteurs à proposer que, dans la forme réduite avec substrat, cet arrangement permet l'établissement d'un chemin pour le transfert électronique *via* deux résidus de la protéine, une molécule d'eau et le substrat.

Cette proposition structurale a depuis été confirmée grâce à l'obtention de la forme réduite avec substrat, c'est-à-dire de la PHM dans sa forme précatalytique.³² La longueur totale du chemin avoisine alors la vingtaine d'angströms.⁷

La proposition précédente, bien qu'attrayante, est cependant sujette à caution. Dans le but de l'éprouver, diverses expériences de mutagenèse dirigée ont été opérées sur le résidu clé GLN 170 dans la PHMcc. Les constantes de vitesse catalytique déterminées dans le cadre du modèle cinétique de Michaelis ont été calculées pour différentes enzymes mutantes. Elles ont ensuite été comparées à la constante de vitesse associée au système natif ("mutation GLN170GLN").¹⁰¹ Les principaux résultats, regroupés dans le Tableau 8, sont surprenants.

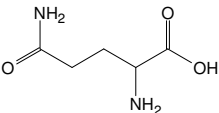
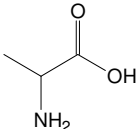
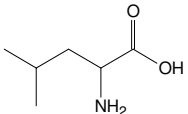
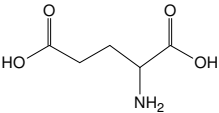
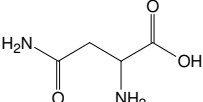
Mutation	Structure de l'acide aminé	Activité de l'enzyme mutée *
GLN170GLN (native)		1,00
GLN170ALA		0,80
GLN170LEU		0,05
GLN170GLU		0,07
GLN170ASN		0,85

Tableau 8 : Altération de l'activité enzymatique de la PHM par mutation du résidu GLN 170. *
Les valeurs correspondent au quotient $k_{cat,mutant}/k_{cat,native}$ où k_{cat} est la constante de vitesse catalytique d'hydroxylation de l'acide hippurique.

Lorsque le résidu GLN est remplacé par un résidu plus encombrant (leucine) ou fortement polaire (glutamate), l'activité de l'enzyme est très fortement altérée ($k_{cat_mutant}/k_{cat_native} = 0,05$ et $0,07$ respectivement). Certes ce résultat est cohérent avec le postulat rencontré en enzymologie que les systèmes catalytiques ont évolué pour tendre vers l'architecture optimale en vue de remplir au mieux leur(s) fonction(s) catalytique(s). Dès lors la mutation d'un résidu clé du centre actif se traduit par une perte d'activité de l'enzyme. C'est bien l'effet constaté avec ces deux mutations.

A l'inverse lorsque la mutation fait intervenir un résidu asparagine, dont la chaîne latérale est plus courte que dans le résidu glutamine mais qui présente la même fonction chimique, l'activité de l'enzyme est presque intégralement conservée ($k_{cat_mutant}/k_{cat_native} = 0,85$). De même lors du remplacement du résidu 170 par un résidu alanine, plus petit et apolaire, un rapport de $0,8$ est mesuré entre les constantes de vitesse. Dans le premier cas, on conçoit que l'enzyme puisse s'adapter à cette nouvelle configuration puisque la fonctionnalisation chimique (fonction amide) est conservée par rapport à l'enzyme native. En revanche le résidu alanine, lui, ne présente pas d'atome accepteur de liaison hydrogène sur sa chaîne latérale comme c'est le cas dans la protéine native. L'effet de cette mutation amène donc à s'interroger sur la pertinence du chemin présenté sur la Figure 26.

Divers chemins alternatifs ont alors été proposés en suggérant par exemple que le substrat établisse un pont direct entre les deux centres actifs.¹⁰¹ Certaines études récentes ayant trait aux transferts électroniques dans les protéines ou plus spécifiquement dans la PHM apportent un début de réinterprétation au phénomène dans les monooxygénases non-couplées. En effet, Beratan *et coll.* ont récemment mis en lumière le rôle des molécules d'eau dans l'accélération de la cinétique de transfert électronique.¹⁰² Au moyen de modélisations théoriques du transfert électronique inter-cytochrome *b5*, ces auteurs ont montré que, pour des distances entre partenaires comprises entre 9 et 12 Å, l'efficacité cinétique du transfert était exaltée grâce à l'établissement de réseaux composés de quelques molécules d'eau. Les auteurs font l'hypothèse que certaines enzymes organisent la formation de ce type d'arrangements locaux dans le but d'accélérer les processus de transfert électronique à longue distance.

De nombreuses études expérimentales ou théoriques illustrent par ailleurs cette proposition.^{103,104,105,106,107,108,109} Parmi elles, une étude spécifiquement dédiée à la PHM indique le probable recours aux molécules d'eau de la cavité catalytique pour transférer l'électron du site Cu_H vers le site Cu_M .¹⁰⁹ La tentation est donc grande de relier ces deux études même si, comme le remarque Klinman en 2006 : "*The vexing question of the exact mechanism of long range electron transfer between Cu_H and Cu_M sites also awaits*

elaboration".¹⁸ Une contribution théorique à cette problématique est donc la bienvenue. Elle fera l'objet du Chapitre V.

CONCLUSION

Ce Chapitre introductif a été l'occasion de faire un point bibliographique sur la littérature ayant trait à la PHM et à la D β M. Après avoir présenté leur rôle biologique et chimique, les informations structurales les concernant ont été mises en avant. Ainsi nous avons particulièrement insisté sur la nature découplée des deux centres actifs à cuivre Cu_M et Cu_H, laquelle constitue une singularité au sein de la famille des cuproenzymes. Ce sont donc des centres mononucléaires qui accueillent en deuxième étape le dioxygène nécessaire à la réaction. Un détour dans le champ bio-mimétique, ou bio-inspiré, nous a permis de nous familiariser avec les problématiques qui ont trait au phénomène de coordination du dioxygène sur un complexe cuivreux. Les différents modes de coordination ou états de spin ont été présentés conjointement aux outils spectroscopiques habituellement utilisés par les expérimentateurs comme les spectroscopies UV-Visible ou RAMAN.

Enfin, la dernière partie de ce Chapitre a été consacrée à exposer les données mécanistiques de ces enzymes. De nouveau sont apparues de fortes similitudes entre les deux enzymes. Il ressort de l'examen de la bibliographie que le dioxygène doit être considéré comme l'espèce oxydant la liaison hydrocarbonée du substrat, une fois lié au centre Cu_M. Après rupture de la liaison C — H, la réduction complète du dioxygène et la formation des produits s'opère grâce au transfert électronique depuis le centre Cu_H, probablement *via* un réseau de quelques molécules d'eau s'établissant dans la cavité enzymatique.

En dépit de l'impressionnante accumulation d'indices mécanistiques concernant ces systèmes, le tableau de l'hydroxylation des liaisons C — H par les adduits Cu/O₂ dans les monooxygénases reste lacunaire. C'est en fait à chacune des étapes du cycle catalytique qu'une description plus fine est nécessaire. Ce manque de rationalisation au niveau moléculaire est sans doute imputable aux difficultés expérimentales. La chimie théorique apparaît comme un outil complémentaire aux expériences biochimiques ou inorganiques et le présent Chapitre a montré la potentialité de cette approche alternative dans l'étude des adduits biomimétiques ou du transfert électronique. C'est dans cet esprit que nous cherchons dans ce travail à apporter quelques contributions aux différents stades du cycle catalytique. La variété des processus chimiques impliqués dans les enzymes suppose néanmoins le choix d'outils méthodologiques adaptés aux diverses problématiques. Il s'avère

cependant que la succession chronologique des étapes du mécanisme de la PHM peut se superposer avec une démarche de complexification croissante des modèles théoriques.

Ainsi, au cours des Chapitres II et III nous chercherons à modéliser successivement les étapes de coordination du dioxygène et de réaction oxydative des liaisons hydrogénées. Pour y parvenir, des calculs de type *ab initio* effectués sur de petits complexes modèles d'une quarantaine d'atomes semblent suffisants. Toutefois dans la perspective d'améliorer la description de l'environnement des complexes métalliques, nous reprendrons ce travail dans le quatrième Chapitre en incorporant de manière explicite ces effets. Ces calculs seront réalisés *via* des approches hybrides QM/MM en prenant pour objet d'étude certains calixarènes métallés dont nous avons montré le rôle biomimétique dans ce Chapitre. Enfin une ultime étape de complexification sera atteinte lors du Chapitre V dans lequel sera réexaminée la question du transfert électronique à longue distance dans la PHM. En raison du nombre élevé d'atomes à considérer, cette étude sera réalisée aux moyens de méthodes de Mécanique Moléculaire qui pourront en outre prendre en compte le caractère dynamique du phénomène.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ "Copper — A "Modern Bioelement", W. Kaim, J. Rall, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 43 - 60.
- ² "Reduction of Dioxygen by Enzymes Containing Copper", I. Bento, M. A. A. Carrondo, P. F. Lindley, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 539 - 547.
- ³ "Mechanisms Whereby Mononuclear Copper Proteins Functionalize Organic Substrates", J. P. Klinman, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2 541 - 2 561. Ainsi que les références incluses.
- ⁴ "Oxygen Binding, Activation, and Reduction to Water by Copper Proteins", E. I. Solomon, P. Chen, M. Metz, S. -K. Lee, A. E. Palmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4570 - 4590.
- ⁵ "Multicopper Oxidases and Oxygenases", E. I. Solomon, U. M. Sundaram, T. E. Machonkin, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2563 - 2605. Ainsi que les références incluses.
- ⁶ "Bioinorganic Chemistry of Copper", Ed. K. D. Karlin, Z. Tyeklár, 1993, Chapman & Hall, Inc. ISBN : 0-412-03631-2(HB)
- ⁷ "New Insights into Copper Monooxygenases and Peptide Amidation: Structure, Mechanism and Function", S. T. Prigge, R. E. Mains, B. A. Eipper, L. M. Amzel, *Cell. Mol. Life. Sci.* **2000**, 57, 1 236 - 1 259. Ainsi que les références incluses.
- ⁸ "The Biosynthesis of Neuropeptides: Peptide α -Amidation", B. A. Eipper, D. A. Stoffers, R. E. Mains, *Annu. Rev. Neurosci.* **1992**, 15, 57 - 85.
- ⁹ "Neuropeptide Amidation in *Drosophila* Separate Genes Encode the two Enzymes Catalyzing Amidation", A. S. Kolhekar, M. S. Roberts, N. Jiang, R. C. Johnson, R. E. Mains, B. A. Eipper, P. H. Taghert, *J. Neurosci.* **1997**, 17, 1 363 - 1 376.
- ¹⁰ "C-Terminal Amidated Peptides: Production by the in vitro Enzymatic Amidation of Glycine-Extended Peptides and the Importance of the Amide to Bioactivity", D. J. Merkler, *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, 16, 450 - 456.
- ¹¹ "Enzymatic Formation of C-Terminal Amides", R. Kulathila, K. A. Merkler, D. J. Merkler, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 16, 145 - 154.
- ¹² "Tables de Chimie, un Mémento pour le Laboratoire", J. Tonneau, **1991**, De Boeck-Wesmael, ISBN 2-8041-1491-5.
- ¹³ "Incorporation of Aerobic Oxygen into the Hydroxyglycyl Intermediate during Formation of C-Terminal Peptide Amides by Peptidylglycine α -Amidating Monooxygenase (PAM)", T. M. Zabriskie, H. Cheng, J. C. Vederas, *Chem. Commun.* **1991**, 571 - 572.
- ¹⁴ ¹⁸O Isotopic ¹³C NMR Shift as Proof That Bifunctional Peptidylglycine α -Amidating Enzyme **Is** a Monooxygenase", D. J. Merkler, R. Kulathila, A. P. Consalvo, S. D. Young, D.E. Ash, *Biochemistry* **1992**, 31, 7282 - 7288.
- ¹⁵ "The Source of the Oxygen Atom in the Alpha-Hydroxyglycine Intermediate of the Peptidylglycine Alpha-Amidating Reaction", M. Noguchi, H. Seino, H. Kochi, H. Okamoto, T. Tanaka, M. Hiram, *Biochem. J.* **1992**, 883 - 888.
- ¹⁶ "Formation of Peptide Amides by Peptidylglycine α -Amidating Monooxygenase : A New Assay and Stereochemistry of Hydrogen Loss", S. E. Ramer, H. Cheng, M. M. Palcic, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 8526 - 8532.

- ¹⁷ "Tandem Stereochemistry of Peptidylglycine Alpha-Monooxygenase and Peptidylamidoglycolate Lyase, the Two Enzymes Involved in Peptide Amidation", D. Ping, A. G. Katopodis, S. W. May, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 3998 - 4000.
- ¹⁸ "The Copper-Enzyme Family of Dopamine β -Monooxygenase and Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase : Resolving the Chemical Pathway for Substrate Hydroxylation", J. D. Klinman, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 3013 - 3016.
- ¹⁹ "Amidation of Bioactive Peptides : the Structure of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase", S. T. Prigge, A. S. Kolhekar, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **1997**, 278, 1300 - 1305.
- ²⁰ "Substrate-Mediated Electron transfer in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase", S. T. Prigge, A. S. Kolhekar, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, 6, 976 - 983.
- ²¹ "The Copper-Enzyme Family of Dopamine β -Monooxygenase and Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase : Active Sites Residues, Disulfide Linkages, and a Two Domain Model of the Catalytic Core", A. Kolhekar, H. T. Keutmann, R. E. Mains, A. S. W. Quon, B. Eipper, *Biochemistry* **1997**, 36, 10901 - 10909.
- ²² "Structural Quality Assurance" in Structural Bioinformatics, R. A. Laskoski, **2003**, Ed. P. E. Bourne and H. Weissig. ISBN 0-471-20199-5.
- ²³ "Free R value: a Novel Statistical Quantity for Assessing the Accuracy of Crystal Structures", A. T. Brünger, *Nature* **1992**, 455, 547 - 479.
- ²⁴ "Redox Cycling of Enzyme-Bond Copper During Peptide Amidation", J. C. Freeman, J. J. Villafranca, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4923 - 4924.
- ²⁵ "The Catalytic Core of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase : Investigation by Site-Directed Mutagenesis, Cu X-ray Absorption Spectroscopy, and Electron Paramagnetic Resonance", B. A. Eipper, A. S. W. Quon, R. E. Mains, J. S. Boswel, N. J. Blackburn, *Biochemistry* **1995**, 34, 2857 - 2865.
- ²⁶ "Structural Investigations on the Coordination Environment of the Active-Site Copper Centers of Recombinant Bifunctional Peptidylglycine α -Amidating Enzyme", J. S. Boswell, B. J. Reedy, R. Kulathila, D. Merkler, N. J. Blackburn, *Biochemistry* **1996**, 35, 12241 - 12250.
- ²⁷ "Major Changes in Copper Coordination Accompany Reduction of Peptidylglycine Monooxygenase : Implications for Electron Transfer and the Catalytic Mechanism", N. J. Blackburn, F. C. Rhames, M. Ralle, S. Jaron, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 341 - 353.
- ²⁸ "Oxygen Activation by the Noncoupled Binuclear Copper Site in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase. Reaction Mechanism and Role of the Noncoupled Nature of the Active Site", P. Chen, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4991 - 5000.
- ²⁹ "Sequence Similarity Between Dopamine β -Hydroxylase and Peptide-Amidating Enzyme: Evidence for a Conserved Catalytic Domain", C. Southan L. I. Kruse, *FEBS Lett.* **1989**, 255, 116 - 120.
- ³⁰ "Electron Spin-Echo Studies of the Copper(II) Binding Sites in Dopamine β -Hydroxylase", J. MacCracken, P. R. Desai, N. J. Papadopoulos, J. J. Villafranca, J. Peisach, *Biochemistry* **1988**, 27, 4133 - 4137. Ainsi que les références incluses.
- ³¹ "Computational Exploration of the Catalytic Mechanism of Dopamine β -Monooxygenase : Modeling of Its Mononuclear Copper Active Sites", T. Kamachi, N. Kihara, Y. Shiota, K. Yoshizawa, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 4226 - 4236.

- ³² "Dioxygen Binds End-On to Mononuclear Copper in a Precatalytic Enzyme Complex", S. T. Prigge, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **2004**, 304, 864 - 867.
- ³³ "Catalytic Galactose Oxidase Models: Biomimetic Cu(II)-Phenoxy-Radical Reactivity", Y. Wang, J. DuBois, B. Hedman, K. Hodgson, T. Stack, *Science* **1998**, 279, 537-540.
- ³⁴ "Aerobic Oxidation of Primary Alcohols by a New Mononuclear Cu(II)-Radical Catalyst", P. Chaudhuri, M. Hess, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1095-1098.
- ³⁵ "A copper-oxygen ($\text{Cu}_2\text{-O}_2$) complex. Crystal Structure and Characterization of a Reversible Dioxygen Binding System", R. R. Jacobson, Z. Tyeklar, A. Farooq, K. D. Karlin, S. Liu, J. Zubieta, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 3690 - 3692.
- ³⁶ "Reversible reaction of dioxygen (and carbon monoxide) with a copper(I) complex. X-ray structures of relevant mononuclear Cu(I) precursor adducts and the trans-(μ -1,2-peroxo)dicopper(II) product", Z. Tyeklar, R. R. Jacobson, N. Wei, N. N. Murthy, J. Zubieta, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 115, 2677 - 2689.
- ³⁷ "Reactivity of Copper(I) towards Dioxygen", S. Schindler, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 2311-2326.
- ³⁸ "Using Synthetic Chemistry to Understand Copper Protein Active Sites : A Personal Perspective", W. B. Tolman, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 261-271.
- ³⁹ "Reactivity of Dioxygen-Copper Systems", E. A. Lewis, W. B. Tolman, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 1047-1076.
- ⁴⁰ "Mononuclear Cu — O_2 Complexes: Geometries, Spectroscopic Properties, Electronic Structures, and Reactivity", C. J. Cramer, A. B. Tolman, *Acc. Chem. Res.* ASAP DOI 10.1021/ar700008c.
- ⁴¹ "Mononuclear Copper Active-Oxygen Complexes", S. Itoh, *Curr. Op. Chem. Biol.* **2006**, 10, 115 - 122.
- ⁴² "Low Temperature Stopped-Flow Studies in Inorganic Chemistry", M. Weitzer, M. Schatz F. Hampel, F. W. Heinemann, S. Schindler, *J. Chem. Soc. (Dalton Trans.)*, **2002**, 686 – 694.
- ⁴³ "Kinetics and Thermodynamics of Copper(I)/Dioxygen Interaction", K. D. Karlin, S. Kaderli, A. D. Zuberbühler, *Acc. Chem. Res.* **1997**, 30, 139-147.
- ⁴⁴ "Copper(I)-Dioxygen Reactivity of $[(\text{L})\text{Cu(I)}]^+$ (L =)Tris(2-pyridylmethyl)amine): Kinetic/Thermodynamic and Spectroscopic Studies Concerning the Formation of Cu-O_2 and $\text{Cu}_2\text{-O}_2$ Adducts as a Function of Solvent Medium and 4-Pyridyl Ligand Substituent Variations", C. Xin Zhang, S. Kaderli, M. Costas, E. Kim, Y.-M. Neuhold, K. D. Karlin, A. D. Zuberbühler, *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 1807 - 1824.
- ⁴⁵ "The Rate of O_2 and CO Binding to a Copper Complex, Determined by a "Flash-and-Trap" Technique, Exceeds that for Hemes", H. C. Fry, D. V. Scaltrito, K. D. Karlin, G. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11866 - 11871.
- ⁴⁶ "Reversible Binding of Dioxygen by the Copper(I) Complex with Tris(2-dimethylaminoethyl)amine (Me_6tren) Ligand", M. Weitzer, S. Schindler, G. Brehm, S. Schneider, E. Hörmann, B. Jung, S. Kaderli, A. D. Zuberbühler, *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 1800 - 1806.
- ⁴⁷ "Hydrogen Bonding and CH/π Interactions for the Stabilization of Biomimetic Zinc Complexes : First Examples of X-Ray Characterized Alcohol and Amide Adducts to a Tetrahedral Dicationic Zn Center", O. Sènèque, M. Giorgi, O. Reinaud, *Chem. Commun.* **2001**, 984 - 985.
- ⁴⁸ "Polarizing a Hydrophobic Cavity for the Efficient Binding of Organic Guests : the Case of Calix[6]tren, a highly Efficient and Versatile Receptor for Neutral or Cationic Species", U. Darbost, M. - R. Rager, S. Petit, I. Jabin, O. Reinaud, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8517 - 8525.

- ⁴⁹ "First C_{3v} -Symmetrical Calix[6](aza)crown", I. Jabin, O. Reinaud, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 3416 - 3419.
- ⁵⁰ "A Novel Receptor Based on a C_{3v} -Symmetrical PN3-Calix[6]cryptand", X. Zeng, N. Hucher, O. Reinaud, I. Jabin, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 6886 - 6889.
- ⁵¹ "Calix[6]tren and Copper(II) : A third Generation of Funnel Complexes on the way to Redox Calixzymes", G. Izzet, B. Douziech, T. Prangé, A. Tomas, I. Jabin, Y. Le Mest, O. Reinaud. *PNAS* **2005**, 102, 6831 - 6836.
- ⁵² "Insights into the Binding Properties of a Cuprous Ion Embedded in the Tren Cap of a Calix[6]arene and Supramolecular Trapping of an Intermediate", G. Izzet, X. Zeng, H. Akdas, J. Marrot, O. Reinaud, *Dalton Trans.* **2007**, 771 - 780.
- ⁵³ "Biomimetic Copper(I) — CO Complexes : A Structural and Dynamic Study of a Calix[6]aren-Based Supramolecular System", Y. Rondelez, O. Sénèque, M. -R. Rager, A. F. Duprat, O. Reinaud, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 4218 - 4226.
- ⁵⁴ "Supramolecular Stabilization of a Tris(imidazolyl) Zn — Aqua Complex Evidenced by X-Ray Analysis : A Structural Model for Mono-Zinc Active Sites of Enzymes", O. Sénèque, M. -R. Rager, M. Giorgi, O. Reinaud, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8442 - 8443.
- ⁵⁵ "A Monomeric Side-On Superoxocopper(II) Complex: $Cu(O_2)(HB(3-^tBu-5-^{iPr}pz)_3)$ ", K. Fujisawa, M. Tanaka, Y. Moro-oka, N. Kitajima, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 12079 - 12080.
- ⁵⁶ "Snapshots of Dioxygen Activation by Copper: The Structure of a 1:1 Cu/O₂ Adduct and its Use in Syntheses of Asymmetric Bis(μ -oxo) Complexes", N. W. Aboeella, E. A. M. Reynolds, W. W. Brennessel, C. J. Cramer, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 10660-10661.
- ⁵⁷ "Characterization of a 1:1 Cu-O₂ Adduct Supported by an Anilido-Imine Ligand", A. M. Reynolds, D. F. Gherman, C. J. Cramer, W. B. Tolman, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 6989-6997.
- ⁵⁸ "Variable Character of O — O and M — O Bonding in side-on (η^2) 1:1 metal complexes of O₂", C. J. Cramer, W. B. Tolman, K. H. Theopold, A. L. Rheingold, *PNAS* **2003**, 100, 3635 - 3640.
- ⁵⁹ "Crystallographic Characterization of a Synthetic 1:1 End-On Copper Dioxygen Adduct Complex", C. Würtele, E. Gaoutchenova, K. Harms, M. C. Holthausen, J. Sundermeyer, S. Schindler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3867-3869.
- ⁶⁰ "A 1:1 Copper-Dioxygen Adduct is an End-On Bound Superoxo Copper(II) Complex which Undergoes Oxygenation Reactions with Phenols", D. Maiti, H. C. Fry, J. S. Woertink, M. A. Vance, E. I. Solomon, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 264-265.
- ⁶¹ "Spectroscopic and Electronic Structure Studies of the Diamagnetic Side-on Cu^{II}-Superoxo Complex $Cu(O_2)[HB(3-R-5-^{iPr}pz)_3]$: Antiferromagnetic Coupling versus Covalent Delocalization", P. Chen, D. R. Root, C. Campochiaro, K. Fujisawa, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 466 - 474.
- ⁶² "Argon Matrix Raman Spectrum of LiO₂. Bonding in the $M^+O_2^-$ Molecules and the Ionic Model", L. Andrews, R. R. Smardzewski, *J. Chem. Phys.* **1973**, 58, 2258–2261.
- ⁶³ "Some Spectroscopic Constants for O₂⁻ Ions in Alkali Halide Crystals", J. Rolfe, W. Holzer, W. F. Murphy, J. H. Bernestein, *J. Chem. Phys.* **1968**, 49, 963–975.
- ⁶⁴ "Dioxygen-Metal Complexes: Toward a Unified View", L. Vaska, *Acc. Chem. Res.* **1976**, 9, 175 - 183.

- ⁶⁵ "Combined Spectroscopic and Theoretical Evidence for a Persistent End-On Copper Superoxo Complex", M. Schatz, V. Raab, S. P. Foxon, G. Brehm, S. Scheinder, M. Reiher, M. C. Holthausen, J. Sundermeyer, S. Schindler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4360 - 4363.
- ⁶⁶ " β -Diketiminato Ligand Backbone Structural Effects on Cu(I)/O₂ Reactivity: Unique Copper-Superoxo and Bis(μ -oxo) Complexes", D. J. E. Spencer, N. W. Aboelella, A. M. Reynolds, P. L. Holland, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2108 - 2109.
- ⁶⁷ "The Relation Between the Internuclear Distances and the Forces Constants of Molecules and Its Application to Polyatomic Molecules", A. M. Badger, *J. Chem. Phys.* **1935**, 3, 710 - 714.
- ⁶⁸ "Application of Badger's Rule to Heme and Non-Heme Iron-Oxygen Bonds : An examination of Ferryl Protonation States", M. T. Green, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1902 - 1906.
- ⁶⁹ "Ligand Structural Effects on Cu₂S₂ Bonding and Reactivity in Side-on Disulfido-Bridged Dicopper Complexes", E. C. Brown, I. Bar-Nahum, J. T. York, N. W. Aboelella, W. B. Tolman, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 486 - 496.
- ⁷⁰ "Resonance Raman Characterization of Five-Coordinate Dioxygen Adducts of Porphyrinato Cobalt(II) Complexes Formed in Low Temperature O₂ Matrices ", L. M. Proniewicz, A. Kulczycki, A. Wesełucha-Birczyńska, H. Majcherczyk, K. Nakamoto, *New J. Chem.* **1999**, 23, 71 - 76.
- ⁷¹ "Resonance Raman Spectroscopy with Unsymmetrically Isotopic Ligands. Differentiation of Possible Structures of Hemerythrin Complexes", R. L. Firor, K. Seff, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 5 033-5 034.
- ⁷² "Resonance Raman Study of the μ -Oxo-Bridged Binuclear Iron Center in Oxyhemerythrin", A. K. Shiemke, T. M. Loehr, J. Sanders-Loehr, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 98, 4951- 4956.
- ⁷³ "Oxygen-18 Isotopic Infrared Study of Dioxygen-Transition Metal Complexes", A. Nakamura, Y. Tatsuno, M. Yamamoto, S. Otsuka, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 6052 - 6059.
- ⁷⁴ "Copper(II)-phenolate Complexes as Models of the Reduced Active Site of Galactose Oxidase: Synthesis, Characterization, and O₂ Reactivity", B. A. Jazdzewski, A. M. Reynolds, P. L. Holland, V. G. Young Jr, S. Kaderli, A. D. Zuberbühler, W. B. Tolman, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2003**, 8, 381-393.
- ⁷⁵ "How Useful Are Vibrational Frequencies of Isotopomeric O₂ Fragments for Assessing Local Symmetry? Some Simple Systems and the Vexing Case of a Galactose Oxidase Model", C. R. Kinsinger, B. F. Gherman, L. Gagliardi, C. J. Cramer, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, 10, 778 - 789.
- ⁷⁶ "Modèles Supramoléculaires de Cupro-Enzymes à Sites Monomoléculaires. Synthèse, Caractérisation et Réactivité de Complexes Basés sur des Calix[6]Arènes", G. Izzet, 2004. Thèse de doctorat de l'Université Paris XI Orsay
- ⁷⁷ "Correlation of Copper Valency with Product Formation in Single Turnovers of Dopamine β -Monooxygenase", M. C. Brenner, J. D. Klinman, *Biochemistry* **1989**, 28, 4664 - 4670.
- ⁷⁸ "Secondary Isotope Effects and Structure-Reactivity Correlations in the Dopamine β -Monooxygenase Reaction: Evidence for a Chemical Mechanism", S. M. Miller, J. P. Klinman, *Biochemistry* **1985**, 24, 2114 - 2127.
- ⁷⁹ "Mechanism of Oxidation Reactions Catalyzed by Cytochrome P450 Enzymes", B. Meunier, S. P. de Visser, S. Shaik, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 3947 - 3980.
- ⁸⁰ "Evidence That Dioxygen and Substrate Activation Are Tightly Coupled in Dopamine β -Monooxygenase", J. P. Evans, K. Ahn, J. P. Klinman, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 49691 - 49698.

- ⁸¹ "Catalytic Mechanism of Dopamine β -Monooxygenase Mediated by a Cu(III)-Oxo", K. Yoshizawa, N. Kihara, Y. Shiota, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 3034 - 3041.
- ⁸² "Spectroscopic and Theoretical Studies of Mononuclear Copper(II) Alkyl- and Hydroperoxo Complexes: Electronic Structure Contributions to Reactivity", P. Chen, K. Fujisawa, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 10177 - 10193.
- ⁸³ "Dioxygen Activation by Copper, Heme, and Non-Heme Iron Enzymes: Comparison of Electronic Structures and Reactivities", A. Decker, E. I. Solomon, *Curr. Op. Chem. Biol.* **2005**, 9, 152 - 163.
- ⁸⁴ "Non-Heme Iron Enzymes: Contrasts to Heme Catalysis", E. I. Solomon, A. Decker, N. Lehnert, *PNAS* **2003**, 100, 3589 - 3594.
- ⁸⁵ "The Hydrogen Peroxide Reactivity of Peptidylglycine Monooxygenase Supports a Cu(II)-Superoxo Catalytic Intermediate", A. T. Bauman, E. T. Yukl, K. Alkevich, A. L. McCormack, N. J. Blackburn, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 4190 - 4198.
- ⁸⁶ "The Catalytic Mechanism of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase Investigated by Computer Simulation", A. Crespo, M. A. Marti, A. E. Roitberg, L. M. Amzel, D. A. Estrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 12817 -12828.
- ⁸⁷ "Hydrogen Tunneling in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase", W. A. Francisco, M. J. Knapp, N. J. Blackburn, J. P. Klinman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8194 - 8195.
- ⁸⁸ "Kinetic Mechanism and Intrinsic Isotope Effects for the Peptidylglycine α -Amidating Enzyme Reaction", W. A. Francisco, D. J. Merkler, N. J. Blackburn, J. P. Klinman, *Biochemistry* **1998**, 37, 8244 - 8252.
- ⁸⁹ "The Catalytic Role of the Copper Ligand H172 of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase : A kinetic Study of the H172A Mutant", J. P. Evans, N. J. Blackburn, J. P. Klinman, *Biochemistry* **2006**, 45, 15419 - 15429.
- ⁹⁰ "Rapid Freeze- and Chemical-Quench Studies of Dopamine β -Monooxygenase : Comparison of Pre-Steady-State and Steady-State Parameters", M. C. Brenner, C. J. Murray, J. P. Klinman, *Biochemistry* **1989**, 28, 4656 - 4664.
- ⁹¹ "3-Phenylpropenes as Mechanism-Based Inhibitors of Dopamine β -Hydroxylase Evidence for a Radical Mechanism", P. F. Fitzpatrick, D. R. Flory Jr. J. J. Villafranca, *Biochemistry* **1985**, 24, 2108 - 2114.
- ⁹² "Deduction of Kinetic Mechanism in Multisubstrate Enzyme Reactions from Tritium Isotope Effects", J. P. Klinman, H. Humphries, J. G. Voet, *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 11648 - 11651.
- ⁹³ "Mechanistic Deductions from Isotope Effects in Multireactant Enzyme Mechanisms", P. F. Cook, W. W. Cleland, *Biochemistry* **1981**, 20, 1790 - 1796.
- ⁹⁴ "Oxygen-18 Kinetic Isotope Effects in the Dopamine β -Monooxygenase : Evidence for a New Mechanism in the Non-Heme Metallomonooxygenase", G. Tian, J. A. Berry, J. P. Klinman, *Biochemistry* **1994**, 33, 226 - 234.
- ⁹⁵ "Magnitude of intrinsic isotope effects in the dopamine β -monooxygenase reaction", S. M. Miller, J. P. Klinman, *Biochemistry* **1983**, 22, 3091 - 3096.
- ⁹⁶ "Does Superoxide Channel between the Copper Centers in Peptidylglycine Monooxygenase? A New Based on Carbon Monoxide Reactivity", S. Jaron, N. J. Blackburn, *Biochemistry* **1999**, 38, 15086 - 15096.

-
- ⁹⁷ "Electron Transfer Reactions in Chemistry. Theory and Experiments", R. M. Marcus, *Rev. Mod. Phys.* **1993**, 65, 599 - 610.
- ⁹⁸ "Electron Transfer in Proteins", H. B. Gray, J. R. Winkler, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65, 537 - 561.
- ⁹⁹ "Electron Tunneling Pathways in Proteins", J. R. Winkler, *Curr. Op. Chem. Biol.* **2000**, 4, 192 - 198.
- ¹⁰⁰ "Long Range Electron Transfer", H. B. Gray, J. R. Winkler, *PNAS* **2005**, 102, 3534 - 3539.
- ¹⁰¹ "Mechanistic Investigation of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase via Intrinsic Tryptophan Fluorescence and Mutagenesis", J. Bell, R. El Meskini, D. D'Amato, R. E. Mains, B. A. Eipper, *Biochemistry* **2003**, 42, 7133 - 7142.
- ¹⁰² "The Nature of Aqueous Tunneling Pathways Between Electron-Transfer Proteins", J. Lin, I. A. Balabin, D. N. Beratan, *Science* **2005**, 310, 1311 - 1313.
- ¹⁰³ "Electron Transfer in Protein Crystals", F. A. Tezcan, B. R. Crane, J. R. Winkler, H. B. Gray, *PNAS* **2001**, 98, 5002 - 5006.
- ¹⁰⁴ "Dramatic Modulation Electron Transfer in Protein Complexes by Crosslinking", I. M. C. Vab Amsterdam, M. Ubbink, O. Einsle, A. Messerschmidt, A. Merli, D. Cavazzini, G. L. Rossi, G. W. Canters, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, 9, 48 - 52.
- ¹⁰⁵ "Interprotein Electron Transfer from Cytochrome c2 to Photosynthetic Reaction Center : Tunneling across an Aqueous Interface", O. Miyashita, M. Y. Okamura, J. N. Onuchic, *PNAS* **2005**, 102, 3558 - 3563.
- ¹⁰⁶ "A Theoretical Study of the Electronic Coupling Element for Electron Transfers in Water", N. E. Miller, M. C. Wander, R. J. Cave, *J. Phys. Chem. A.* **1999**, 103, 1084 - 1093.
- ¹⁰⁷ "Water Mediated Electron Transfer between Protein Redox Centers", A. Migliore, S. Corni, R. Di Felice, E. Molinari, *J. Phys. Chem. B.* **2007**, 111, 3774 - 3781.
- ¹⁰⁸ "Docking and Molecular Dynamics Simulations of the Azurin—Cytochrome c551 Electron Transfer Complex", A. R. Bizzarri, E. Brunori, B. Bonanni, S. Cannistraro, *J. Mol. Recognit.* **2007**, 20, 122 - 131.
- ¹⁰⁹ "Investigation of the Pathway for Inter-Copper Electron Transfer in Peptidylglycine α -Amidating Monooxygenase", W. A. Francisco, G. Wille, A. J. Smith, D. J. Merkler, J. P. Klinman, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13168 - 13169.

CHAPITRE II

AUX CŒURS DE LA PHM ET DE LA D β M : VERS UN COMPLEXE CUIVREUX BIOMIMETIQUE

I AVANT LA COORDINATION DU DIOXYGENE	84
A. Six chapeaux pour une tête	84
B. Evaluation des capacités de coordination	91
C. Conclusion : application aux systèmes réels	99
II. COORDINATION DU DIOXYGENE	101
A. Géométries des adduits Cu/O ₂	101
B. Transfert de charge vers O ₂	110
C. Des règles générales	126
III. Cu/O₂ : DES ESPECES "SINGULETS COUCHES OUVERTES"	126
A. L'approche SF : une alternative prometteuse	127
B. Applications	128
C. Conclusions	134
IV. ALLER-RETOUR ENTRE BIOMIMETISME ET BIOCHIMIE	135
A. Application des règles prédictives aux centres actifs	135
B. Synthèse <i>in silico</i> d'un tripode biomimétique	137
C. Activation du dioxygène ?	140
CONCLUSION	146
ANNEXES AU CHAPITRE II	149
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	175

AUX CŒURS DE LA PHM ET DE LA D β M : VERS UN COMPLEXE CUIVREUX BIOMIMETIQUE

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre introductif, la coordination du dioxygène est probablement la deuxième étape du mécanisme d'hydroxylation de la PHM et de la D β M après celle de l'arrimage du substrat. Cette hypothèse semble confirmée par la structure cristallographique de la PHM dans sa forme précatalytique qui montre un ligand de type O-O coordonné au site Cu_M.¹ La distance inter-oxygène, affinée à 1,23 Å, suggère qu'il s'agit d'oxygène moléculaire. Cependant, la cinétique très rapide constatée dans cette enzyme rend délicate une étude approfondie de l'adduit et sa caractérisation. C'est la raison pour laquelle de nombreuses équipes ont entamé ces dernières années l'élaboration de mimes mononucléaires. Plutôt que d'étudier le système Cu/O₂ dans son environnement biologique, cette approche consiste à élaborer des systèmes inorganiques mimant au mieux leurs parents enzymatiques. Dans ce champ de recherches on constate généralement des associations entre groupes d'expérimentateurs et de théoriciens pour élaborer ces modèles, chaque groupe travaillant presque exclusivement sur celui dont il est le concepteur. Ces recherches ont permis des avancées majeures, notamment dans la préparation de complexes mononucléaires stables. Le Chapitre I a été l'occasion de présenter de manière les modèles bio-inspirés reportés dans la littérature. Toutefois, le mécanisme biologique d'activation reste encore obscur. On peut citer à titre d'exemple le mode de coordination *side-on* observé dans certains complexes biomimétiques^{2,3,4} et qui contraste avec la coordination *end-on* dans la PHM, ou encore le mécanisme précis de ce qu'il est d'usage d'appeler l'activation du dioxygène et qui requiert une élaboration plus fine dans le cas des centres enzymatiques.

Lors de la confrontation du comportement de modèles bio-inspirés à celui des centres Cu_M et Cu_H, il est apparu que la maîtrise de l'environnement proche du cuivre était un facteur déterminant. Plus particulièrement, un chemin d'accès pour le dioxygène et le substrat doit être aménagé de manière adéquate. Les modèles construits sur des motifs calix[6]arènes ont constitué de ce point de vue une innovation importante au sens où la cavité du calixarène reproduit en partie l'environnement enzymatique et ménage l'accès au cation métallique. En outre le travail de synthèse et de caractérisation réalisé par les développeurs de ces systèmes a donné lieu à une grande variété de fonctionnalisation notamment en ce qui concerne le greffage de ligands tripodes. Il constitue pour le chimiste théoricien une excellente base de données expérimentales.

Finalement bien que très encourageantes les études biomimétiques n'ont pas encore permis de "baliser" totalement le phénomène de coordination du dioxygène dans les adduits mononucléaires. De ce point de vue, une nouvelle étude théorique pourrait apporter de nouveaux éléments de réponse. Dans ce Chapitre, nous avons cherché à étudier une série homogène de modèles, en contraste avec les études théoriques antérieures qui s'étaient focalisées chacune sur un type particulier de structure. Nous espérons qu'en suivant cette approche qui, par nature, englobera davantage de situations chimiques de par la variété des systèmes qui seront étudiés, des tendances générales pourront être dégagées. Ce Chapitre est subdivisé en quatre parties. La première est consacrée à la présentation détaillée des complexes précurseurs avant réaction avec le dioxygène. Pour cela nous examinerons leur structure et leur capacité à fixer divers petits ligands modèles. La coordination par le dioxygène est ensuite étudiée en deux temps. Tout d'abord nous nous intéresserons aux aspects structuraux des adduits (deuxième partie), puis nous évaluerons certaines données énergétiques comme l'écart singulet-triplet (troisième partie). Enfin, forts des enseignements acquis au cours de ce travail, nous effectuerons un retour à sa source biochimique en réexaminant les possibilités de coordination du dioxygène sur les centres enzymatiques Cu_M et Cu_H (quatrième partie).

I AVANT LA COORDINATION DU DIOXYGENE

L'étude de l'activation du dioxygène constitue l'objectif principal de ce Chapitre. Il convient néanmoins dans un premier temps de décrire les complexes précurseurs qui ont été choisis. En outre, l'étude de leur capacité à fixer des ligands alternatifs du dioxygène (H₂O, CO et CH₃CN) semble constituer une étape qui ne peut pas être évitée si l'on souhaite comprendre en détail les données expérimentales.

Cette première partie a donc pour objet l'étude des capacités de coordination de différents complexes pouvant être vus comme des modèles bio-inspirés des centres actifs de la PHM et de la DβM ou bien comme modèles de la partie cryptante des calixarènes.

A. Six chapeaux pour une tête

1. Choix du panel

Six complexes précurseurs sont considérés dans ce travail. Ils sont construits par complexation du cuivre (I) sur les ligands tren^{H,H}, tren^{Me,H}, PN₃, NN₃, Tim^{H,H} et Tp^{H,H} (Annexe).

Les quatre ligands $\text{tren}^{\text{H,H}}$, $\text{tren}^{\text{Me,H}}$, PN_3 et NN_3 sont des modèles de chapeaux de calixarènes synthétisés dans l'équipe d'Olivia Reinaud.^{5,6,7,8,9} Historiquement ce sont les ligands tren qui ont été les premiers cryptants greffés au niveau du petit col des calix[6]arènes. Leur réactivité vis-à-vis du dioxygène a par ailleurs été mise en évidence dans le cas du calixtren.¹⁰

L'introduction d'un atome de phosphore dans le ligand PN_3 est motivante pour deux raisons principales. La première tient au fait du peu de connaissances accumulées sur la liaison $\text{Cu(II)} - \text{P}$.¹¹ L'étude du ligand calix PN_3 est donc novatrice. La seconde raison est motivée par l'introduction d'un atome "mou" dans la sphère de coordination du cuivre par analogie avec la présence d'un atome de soufre dans le centre Cu_M . Pour mettre en évidence le rôle du ligand phosphoré, l'analogue NN_3 a également été examiné.

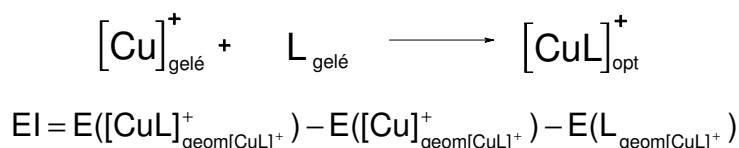
Le complexe neutre $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})]$ a pour sa part été choisi en tant que modèle du complexe historique de Kitajima $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{iPr,tBu}})]$ dans lequel les groupements tertibutyle et isopropyle ont été remplacés par des atomes d'hydrogène.² Ce modèle a fait l'objet de plusieurs études expérimentales et théoriques qui fourniront un appui comparatif à nos calculs.¹²

Enfin le complexe $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]^+$ est un analogue structural du modèle de Kitajima mais de nature cationique. Dans ce ligand, l'atome de bore a été remplacé par un groupe CH. Il fournit un exemple de ligand non étudié à ce jour d'un point de vue expérimental mais qui pourrait être greffé sur un calixarène.

2. Au commencement étaient les ligands précurseurs

a. Aspect énergétique de la coordination

Les valeurs des énergies d'interaction calculées selon la Relation 1 entre l'atome de cuivre à l'état d'oxydation +I et les ligands tripodes sont reportées dans le Tableau 1. La troisième colonne de ce tableau fournit quant à elle les charges sur le métal calculées dans l'approche NPA.[†]



Relation 1 : Définition de l'énergie d'interaction entre le cation cuivreux et le ligand L. Les fragments séparés sont considérés dans la géométrie qu'ils adoptent dans le complexe). c.f. Relation 2.

[†] La méthode de calcul *ab initio* utilisée dans cette thèse est détaillée en Annexe.

	El	q(Cu)
[Cu(tren ^{H,H})] ⁺	-150,0	0,82
[Cu(tren ^{Me,H})] ⁺	-148,7	0,84
[Cu(PN ₃)] ⁺	-160,6	0,80
[Cu(NN ₃)] ⁺	-150,9	0,79
[Cu(Tp ^{H,H})]	-210,5	0,92
[Cu(Tim ^{H,H})] ⁺	-133,4	0,91

Tableau 1 : Aspects énergétiques de la complexation de Cu (I) par les ligands tripodes (BSSE incluse). Les énergies d'interaction sont en kcal.mol⁻¹, les charges NPA en e.

Les valeurs obtenues sont sensiblement les mêmes pour tous les ligands à l'exception du ligand borate Tp^{H,H} pour lequel l'énergie d'interaction est plus importante en valeur absolue (-210 kcal.mol⁻¹). Cette particularité peut être reliée à la nature anionique de ce ligand qui favorise la composante électrostatique de l'interaction. Nous retrouvons en fait l'une des motivations des expérimentateurs à préférer les ligands anioniques pour la complexation du cation Cu(I) qui, sans cela, est labile. La comparaison des ligands neutres montre une légère préférence pour la chélation par le ligand PN₃ en comparaison des autres ligands (tren^{H,H}, tren^{H,Me} et NN₃). L'introduction d'un atome coordonnant "mou" induit donc une meilleure interaction, ce qui est conforme au caractère "mou" par ailleurs attribué au cation Cu(I).

Les charges NPA laissent apparaître quant à elles deux catégories de ligands. Avec les ligands de type XN₃ (tren^{H,H}, tren^{Me,H}, PN₃ et NN₃), la charge sur le métal avoisine 0,8 e tandis qu'avec les ligands tridentates de type N₃ (Tp^{H,H} et Tim^{H,H}) la charge approche 0,9 e. Cette séparation est aisément rationalisable en considérant que les ligands tétradentates de la première catégorie, en fournissant un atome coordinant supplémentaire au cuivre, augmentent la donation vers le métal et donc abaissent sa charge. Il est en revanche instructif de noter que le caractère anionique du ligand borate ne permet pas une diminution de charge sur le cation en comparaison du ligand Tim^{H,H} (0,92 contre 0,91 e).

b. Géométrie des complexes optimisés

Les structures optimisées des complexes précurseurs avec leurs principales caractéristiques géométriques sont représentées sur les Figures 1 et 4. Deux classes de

complexes apparaissent clairement selon que l'atome apical est capable ou non d'interagir avec le cuivre. Nous les examinons donc successivement.

b.1. Géométrie pyramide trigonale

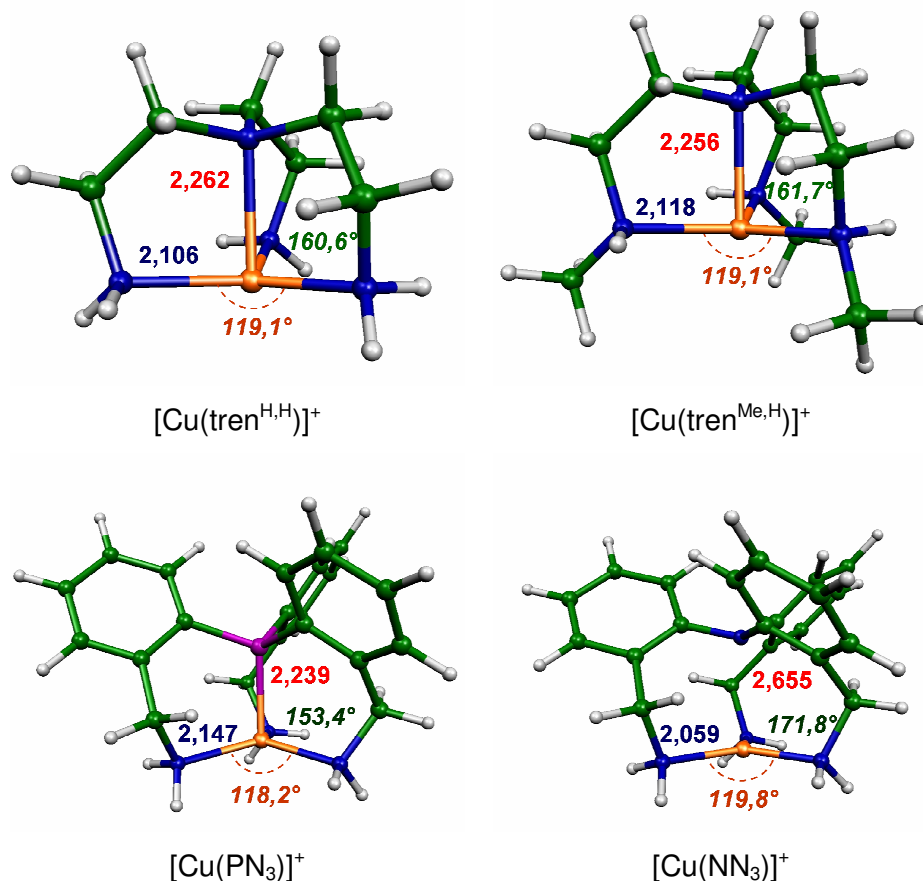


Figure 1 : Géométries optimisées des complexes précurseurs dérivés des ligands XN₃. Les distances sont en Å, les angles en degrés. En bleu, moyenne des trois distances Cu — N équatoriales. En marron, moyenne des trois angles NCuN correspondants. En vert, angle dièdre NCuNN et en rouge la distance Cu — X_{ap} (le code couleur est détaillé en Annexe)

Avec les ligands tren^{H,H}, tren^{Me,H} et PN₃, la distance Cu — X_{ap} (2,262 ; 2,256 et 2,239 Å respectivement) indique l'existence d'une liaison métal ligand entre le cuivre et le ligand apical (Figure 1). Dans le cas du ligand NN₃, la distance Cu — N (2,655 Å) suggère qu'il n'y a pas de véritable liaison mais nous maintenons ce ligand dans la première classe en raison de la coordination potentielle du ligand apical dont la paire libre reste dirigée vers le cuivre. La perte de la coordination au cuivre lors du passage du ligand PN₃ au ligand NN₃ est entièrement imputable à la nature de l'hétéroatome apical (P ou N) puisque le reste du ligand est identique. Les énergies d'interaction du cuivre avec les ligands PN₃ ou NN₃ valent respectivement -160,6 et -150,9 kcal.mol⁻¹ (Tableau 1) indiquant ainsi une plus forte affinité

du ligand PN_3 pour le cation métallique. Puisque les orbitales d du cuivre sont pleines (configuration d^{10}), la différence d'énergie d'interaction entre les deux ligands ne peut être expliquée en invoquant les interactions à quatre électrons entre les orbitales métalliques d et les paires libres des ligands qui sont par nature déstabilisantes. Cette différence s'explique en revanche en faisant appel aux orbitales vacantes 4s et 4p du cuivre. Dans le cas du ligand PN_3 , une meilleure donation a lieu grâce à la position énergétique des orbitales 3p du phosphore en comparaison des orbitales 2p de l'azote. Plus hautes en énergies, les orbitales $3p(\text{P}_{\text{ap}})$ interagissent davantage avec les orbitales métalliques 4s et 4p. D'autre part la distance $\text{Cu} - \text{X}_{\text{ap}}$, longue dans le complexe $[\text{Cu}(\text{NN}_3)]^+$ (2,655 Å), ne joue pas en faveur d'un bon recouvrement orbitalaire entre les orbitales $2p(\text{N}_{\text{ap}})$ et $4s/4p(\text{Cu})$. Ces deux facteurs expliquent la plus forte énergie d'interaction obtenue dans la cas du ligand phosphoré. Notons toutefois que cette différence d'énergie d'interaction reste limitée ($\sim 10 \text{ kcal.mol}^{-1}$).

Les quatre complexes de la première classe partagent le même type de géométrie autour du cuivre, pyramide trigonale avec une distance axiale fortement allongée dans le cas du complexe $[\text{Cu}(\text{NN}_3)]^+$. Le cuivre est très proche du plan défini par les trois atomes d'azote équatoriaux comme en témoignent les angles dièdre NCuNN proches de 180° (en vert sur la Figure 1). Il est toutefois intéressant de noter que, dans le cas du ligand PN_3 , l'atome métallique rentre légèrement dans la cage formée par le tripode en comparaison des complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{R,H}})]^+$. Cela se traduit par une moyenne des angles $\text{X}_{\text{ap}}\text{CuN}$ valant 97° avec le ligand PN_3 et $84,7^\circ$ avec le ligand $\text{tren}^{\text{Me,H}}$. Cette caractéristique géométrique est cohérente avec une distance $\text{Cu} - \text{P}$ très courte (2,239 Å).

Les structures cristallographiques des complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Me}})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+$ confirment les descriptions précédentes pour les complexes issus des ligands $\text{tren}^{\text{H,Me}}$ et PN_3 . Ces deux structures cristallographiques $[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+, \text{ClO}_4^-$ et $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Me}})]^+, \text{ClO}_4^-$ obtenues respectivement par Lang *et coll.*¹¹ et Schindler *et coll.*¹³ en présence de contre-ions perchlorates, sont représentées sur la Figure 2 et quelques paramètres géométriques sont reportés dans le Tableau 2.

Les structures cristallographiques permettent de retrouver la géométrie de type pyramide trigonale pour ces deux complexes en accord avec les structures optimisées précédentes. La comparaison systématique des paramètres géométriques présentés dans le Tableau 2 indique aussi un excellent accord entre la théorie et l'expérience en dépit de la non prise en compte des effets d'environnement dans nos calculs. Ces deux éléments valident donc pleinement le protocole calculatoire utilisé dans ce travail pour ce qui est de la qualité des optimisations de géométrie.

	$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Me}})]^+$		$[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+$	
	RX	théorie ($\text{tren}^{\text{H,Me}}$)	RX	théorie (PN_3)
$d(\text{Cu} - \text{N})$	2,122	2,118	2,171	2,147
$d(\text{Cu} - \text{X}_{\text{ap}})$	2,200	2,256	2,185	2,239
$\text{X}_{\text{ap}}\text{CuN}$	84,8	84,7	98,1	97
NCuN	119,2	119,1	118,1	118,2

Tableau 2 : Accord entre structures cristallographiques et théoriques. Les distances sont en Å et les angles en degrés.¹³

Une information supplémentaire provenant des données expérimentales a trait à la coordination, ou non, du contre-ion perchlorate sur le cation métallique. En effet dans les calculs présentés plus haut celui-ci a été négligé. Dans les structures RX, il apparaît clairement que le contre-ion n'est pas coordonné au cuivre même si dans le cas du complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Me}})]^+$ la structure de droite de la Figure 2 met en évidence une interaction faible ($\sim 3,5$ Å) entre le cation Cu(I) et l'ion perchlorate.

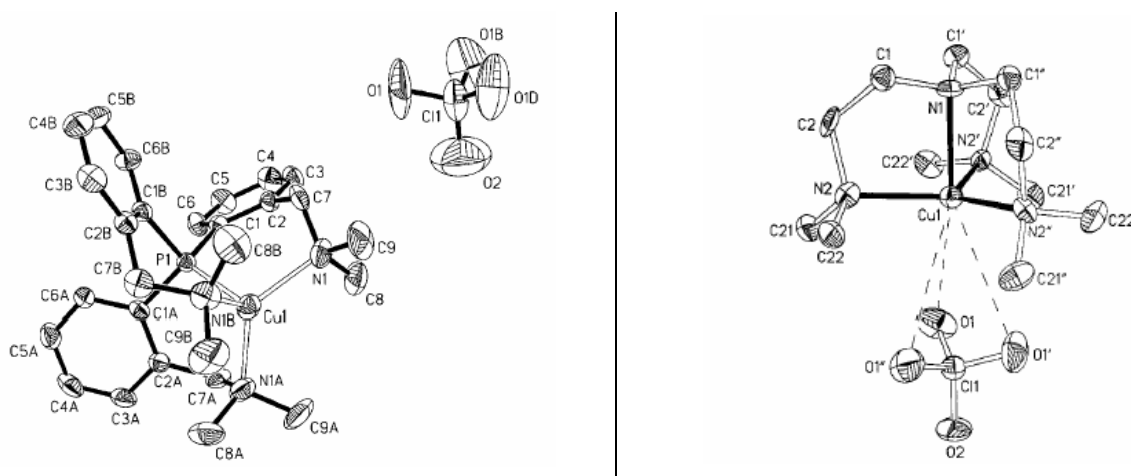
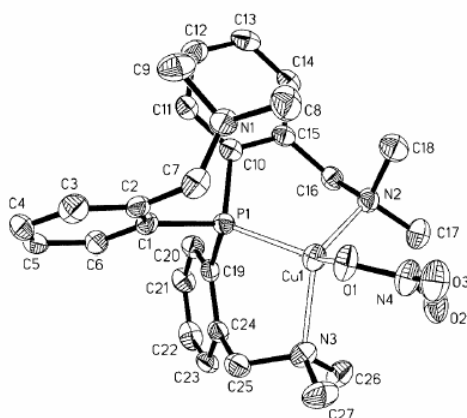


Figure 2 : Structures cristallographiques des complexes $[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+$ (à gauche)¹¹ et $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Me}})]^+$ (à droite)¹³ en présence du contre-anion perchlorate.

Il est amusant de relever une expérience faite par Lang *et coll.* avec le ligand PN_3 : en utilisant du nitrate de cuivre comme sel métallique, ils ont obtenu un isomère du complexe $[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+, \text{NO}_3^-$ dans lequel le contre-ion est lié au cation métallique (Figure 3).¹¹ Le cuivre demeure tétracoordiné et relâche l'un des bras du tripode (atome N1). La géométrie autour du cuivre apparaît alors tétraédrique. Cette géométrie particulière n'a pas été rencontrée dans nos calculs puisque aucun contre-ion n'était présent. Nous conserverons toutefois à

l'esprit cette possibilité d'arrangement du ligand PN_3 que l'on pourrait concevoir également avec les ligand $\text{tren}^{\text{R,R'}}$ ou NN_3 .



Cu1-P1 2.189(1), Cu1-N2 2.117(4), Cu1-N3 2.156(4), Cu1-O1 2.07(4), P1-C1 1.845(4), P1-C10 1.825(4), P1-C19 1.836(4), O1-N4 1.27(1), O2-N4 1.23(2), O3-N4 1.24(2); P1-Cu1-O1 122(1), P1-Cu1-N2 99.94(9), P1-Cu1-N3 99.80(9), N2-Cu1-N3 121.9(1), N2-Cu1-O1 113(1), N3-Cu1-O1 101(2).

Figure 3 : Décoordination de l'un des bras du ligand PN_3 et coordination de l'ion nitrate sur le complexe précurseur.¹¹

b.2. Pyramidalisation du complexe

La seconde classe de composés comporte les complexes construits avec les ligands $\text{Tp}^{\text{H,H}}$ et $\text{Tim}^{\text{H,H}}$ pour lesquels une géométrie de type trigonale fortement pyramidalisée est obtenue. Dans les deux cas il semble que la rigidité du ligand empêche le cuivre de se placer dans le plan défini par les trois atomes d'azote coordinants. Les angles dièdres $\phi(\text{NCuNN})$ qui avoisinent les 100° sont d'ailleurs cohérents avec une géométrie tétraédrique.

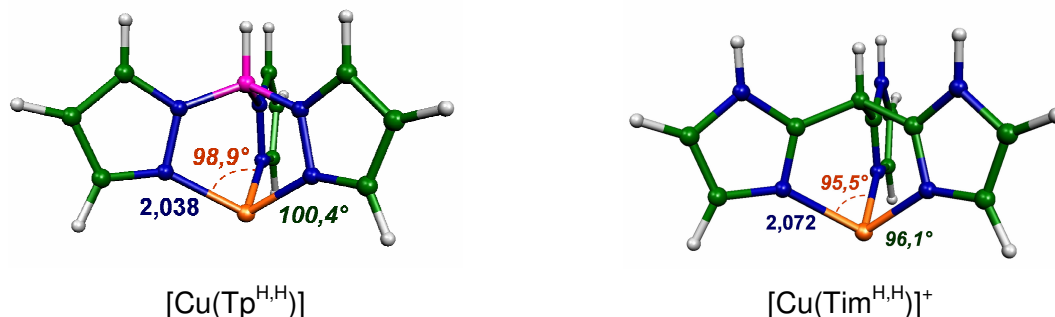


Figure 4 : Géométries optimisées des complexes précurseurs dérivés des ligands N_3 . Les distances sont exprimées en Å et les angles en degrés. En bleu, moyenne des trois distances Cu — N équatoriales. En marron, moyenne des trois angles NCuN correspondants. En vert, angle dièdre NCuNN , et en rouge la distance Cu — X_{ap} .

Ces premiers paragraphes ont permis de faire la connaissance des six tripodes précurseurs qui seront utilisés tout au long de ce Chapitre comme modèles de chapeaux des calixarènes. Nous nous intéressons à présent à la possibilité d'y fixer divers ligands exogènes supplémentaires.

B. Evaluation des capacités de coordination

Outre l'étude de la coordination du dioxygène sur les ligands précurseurs, nous souhaitons acquérir une connaissance plus générale des capacités de coordination de ces centres cuivreux. En effet, que cela soit dans le milieu biologique ou dans les synthèses réalisées au laboratoire, un nombre important de molécules autres que le dioxygène sont susceptibles de se lier au cuivre. On peut penser par exemple aux molécules d'eau de la cavité enzymatique.

Comme nous venons de l'entrevoir, la coordination d'anions sur la série précédente ne semble pas possible sans altérer la structure initiale du précurseur. Nous restreindrons donc notre étude à des ligands neutres que nous étudierons en deux temps. Tout d'abord nous nous intéressons à la coordination d'une molécule d'eau comme représentant de la famille des ligands essentiellement σ -donneurs. Puis nous considérerons la coordination de deux ligands σ -donneurs π -accepteurs, le monoxyde de carbone et l'acétonitrile.

a. L'eau, toujours présente

Au cours de la synthèses des calixarènes, et même en travaillant dans des conditions anhydres strictes, la présence de traces d'eau est presque inévitable.¹⁴ La question de la fixation de ce ligand aux complexes précurseurs ne peut donc être éludée. Toutefois cette étude a l'intérêt d'être représentative en première approximation de la coordination d'alcools ROH qui, eux, présentent un intérêt expérimental certain.^{7,15}

La coordination a par ailleurs un intérêt évident dans une optique biochimique puisque les centres Cu_M et Cu_H , localisés sur la paroi de la cavité catalytique, sont en contact direct avec le milieu aqueux et sont susceptibles d'accueillir de l'eau dans leur sphère de coordination. La preuve en est, ainsi qu'il a été mentionné dans le premier Chapitre, que les données cristallographiques, spectroscopiques et théoriques montrent que le cation $\text{Cu}_M(\text{I})$ est tétracoordiné grâce à la présence supplémentaire d'une molécule d'eau en complément des résidus complexant de la protéine.^{16,17,18,19}

a.1. De l'influence de la géométrie du complexe précurseur

Pour les trois complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,Me}})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+$, deux situations sont systématiquement rencontrées. Dans le cas de ces ligands tétradentates, il n'est pas possible d'identifier de structure permettant simultanément la coordination de la molécule d'eau et des quatre atomes coordinant du tripode. Pour y parvenir il est nécessaire de procéder à la décooordination de l'un des bras des ligands (Figure 5). Cette décooordination s'accompagne de la formation d'une liaison hydrogène entre l'atome décoordiné et la molécule d'eau. Avec les ligands $\text{tren}^{\text{H,H}}$ et $\text{tren}^{\text{H,Me}}$, la géométrie obtenue est trigonale avec allongement de la liaison $\text{Cu} - \text{N}_{\text{ap}}$ par rapport au ligand précurseur (allongements de 0,121 et 0,122 Å respectivement). Avec le ligand PN_3 , la géométrie est de type tétraédrique avec conservation de la longueur de liaison $\text{Cu} - \text{P}$ (2,242 Å). Cette géométrie n'est pas sans rappeler la structure RX du complexe précurseur $[\text{Cu}(\text{PN}_3)\text{NO}_3]^+$ présentée sur la Figure 3. La constante entre les différents systèmes est le choix d'une tétracoordination du cation métallique.

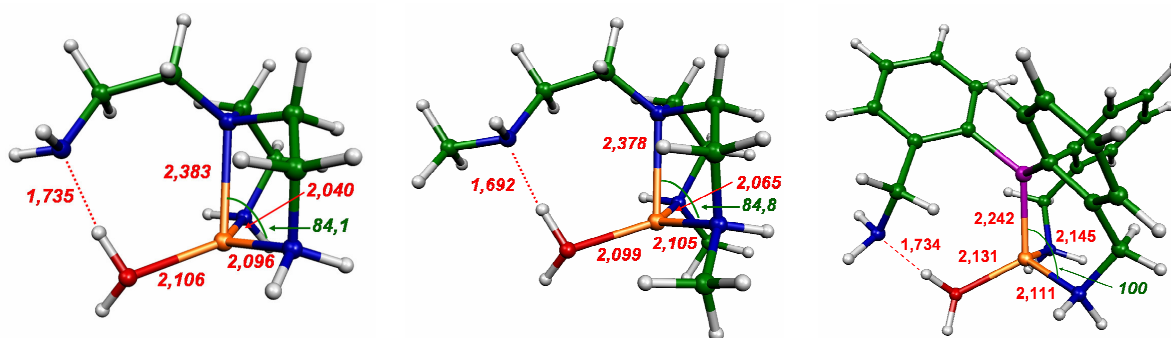


Figure 5 : Coordination de l'eau sur les complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,Me}})]^+$ et $[\text{CuPN}_3]^+$. Les distances (en rouge) sont en Å et les angles (en vert) en degrés.

A l'opposé des trois ligands précédents, la coordination de l'eau sur les complexes précurseurs $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})]$ est obtenue sans perte de coordination de l'un des atomes du tripode. Pour chacun des précurseurs, deux structures correspondant à des minima d'énergie différents ont en fait été localisées. Elles sont représentées sur la Figure 6.

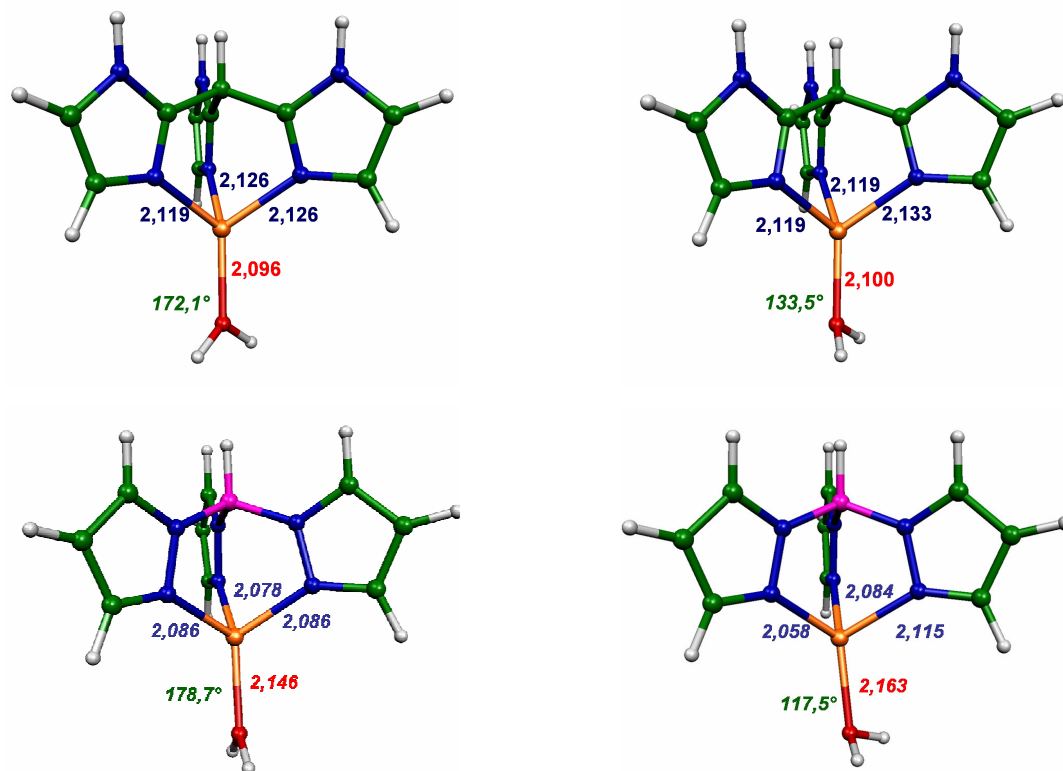


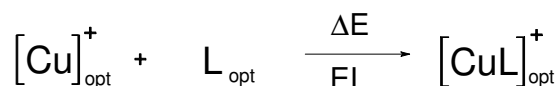
Figure 6 : Coordination de l'eau sur les complexes précurseurs $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]^+$ (haut) et $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})]$ (bas). Les distances (Cu — N en bleu et Cu — O en rouge) sont en Å, l'angle (en vert) correspond à l'angle dièdre $\phi(\text{HOCuH})$.

Pour chacun des deux ligands, les deux formes exhibent une géométrie tétraédrique autour du cuivre. Ainsi les angles dièdres entre les sommets du tétraèdre de coordination sont proches de 75° dans les deux isomères. Pour chacun des deux ligands, la principale différence entre ces deux isomères provient de l'amplitude de sortie du cuivre hors du plan défini par la molécule d'eau. Cette donnée structurale peut être caractérisée par l'angle dièdre $\phi(\text{HOCuH})$ reporté en vert sur la Figure 6. Il vaut $172,1^\circ$ ($[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$) et $178,7^\circ$ ($[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]$) dans le cas où le cuivre est presque dans le plan (dessins de gauche) et $133,5^\circ$ ($117,5^\circ$ resp.) dans le cas opposé (dessins de droite). Malgré cette différence les distances Cu — O restent très similaires pour chacun des précurseurs.

Les différences d'énergie entre les deux isomères ($0,2$ et $0,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$ et $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]$ respectivement en faveur de la forme "hors du plan") obtenues en DFT (B3LYP) ne permettent pas de préjuger de leur stabilité relative mais indiquent certainement l'existence d'un mélange de ces deux formes, voir d'un mouvement de balancement peu contraint.

a.2. Energies d'interaction et de complexation

Les énergies d'interaction et de complexation (Relation 2) de l'eau sont reportées dans le Tableau 3. Les valeurs des énergies de complexation ΔE , négatives, indiquent un bilan systématiquement favorable à la complexation. Cependant dans le cas des ligands tren, et même du ligand PN_3 , étant donné la petitesse de cette grandeur ($-1,4$; $-1,9$ et $-4,9$ kcal.mol^{-1}), il est probable que les effets entropiques non pris en compte dans ΔE et qui sont défavorables pour une réaction d'association induisent une variation d'enthalpie libre positive, et donc un bilan thermodynamique défavorable. Ces calculs n'ont pas été effectués mais, quoi qu'il en soit, toute conclusion tranchée concernant le bilan énergétique de la coordination de l'eau avec ces trois complexes semble délicate. En revanche avec les ligands $\text{Tp}^{\text{H,H}}$ et $\text{Tim}^{\text{H,H}}$, partant d'un ΔE plus grand en valeur absolue, les contributions entropiques auront davantage de difficultés à faire basculer le terme ΔG dans les valeurs positives.



$$\Delta E = E([\text{CuL}]_{\text{opt}}^+) - E([\text{Cu}]_{\text{opt}}^+) - E(\text{L}_{\text{opt}})$$

Relation 2 : Définition de l'énergie de complexation (ΔE) entre le cation cuivreux et le ligand L (BSSE incluse).

	$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$	$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$	$[\text{Cu}(\text{PN}_3)\text{H}_2\text{O}]^+$	$[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^*$	$[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^{**}$
ΔE	-1,4	-1,9	-4,9	-6,1	-12,4
EI	-21,1	-21,9	-21,9	-8,9	-14,9

Tableau 3 : Aspects énergétiques de la coordination de l'eau. Les énergies sont en kcal.mol^{-1} .

*** Les bilans énergétiques ont été calculés sur l'isomère le plus stable.**

Ainsi avec des ligands N_3 l'énergie de complexation est plus importante qu'avec des ligands XN_3 . Cette différence peut être expliquée par le coût énergétique de la perturbation de la sphère de coordination du cuivre engendrée lors de la formation des complexes aqueux avec les ligands $\text{tren}^{\text{R,H}}$ et PN_3 . L'examen des énergies d'interaction permet de tester cette hypothèse, et semble la confirmer puisque les énergies d'interaction permettent une très nette amélioration de l'interaction pour les complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$,

$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$ et $[\text{Cu}(\text{PN}_3)\text{H}_2\text{O}]^+$, et modérée pour les complexes $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})]$ et $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]$. En effet, ΔE et E_I passent respectivement d'environ -2,7 à -22 kcal.mol⁻¹ pour les trois premiers mais seulement de -9 à -12 kcal.mol⁻¹ en moyenne pour les deux derniers. En fait, pour les complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,H}})\text{H}_2\text{O}]^+$ et $[\text{Cu}(\text{PN}_3)\text{H}_2\text{O}]^+$, les valeurs d'énergie d'interaction sont très similaires, ce qui indique le peu d'influence de la nature chimique des atomes coordonnant du tripode. Ainsi la présence de phosphore dans la sphère de coordination ni n'améliore ni ne diminue l'affinité de la molécule d'eau pour le complexe. Seul l'effet de la déformation géométrique conduit à une coordination légèrement meilleure.

A l'opposé la comparaison des énergies d'interaction dans le cas des ligands N_3 montre l'importance de la charge globale du complexe : en présence d'un ligand anionique ($\text{Tp}^{\text{H,H}}$), l'affinité pour la molécule d'eau est moindre (-8,9 contre -14,9 kcal.mol⁻¹).

b. Monoxyde de carbone et acétonitrile

Après avoir étudié la coordination de la molécule d'eau, exemple de ligand essentiellement σ -donneur, la caractérisation des capacités coordinantes des modèles cuivreux est poursuivie par l'examen de deux ligands de type σ -donneurs, π -accepteurs : le monoxyde de carbone et l'acétonitrile. Ces deux ligands ont été choisis car ils sont souvent utilisés expérimentalement pour sonder les capacités de coordination des complexes à cuivre aussi bien dans le domaine biochimique^{20,21,22} que biomimétique.^{8,23,24,25,26,27}

b.1. Vers le tétraèdre

Les deux ligands CH_3CN et CO conduisent chacun à des coordinations similaires pour un précurseur donné. Les discussions géométriques pour ces deux ligands sont donc menées simultanément (Figure 7). Toutes les géométries obtenues sont tétraédriques autour de l'atome métallique.

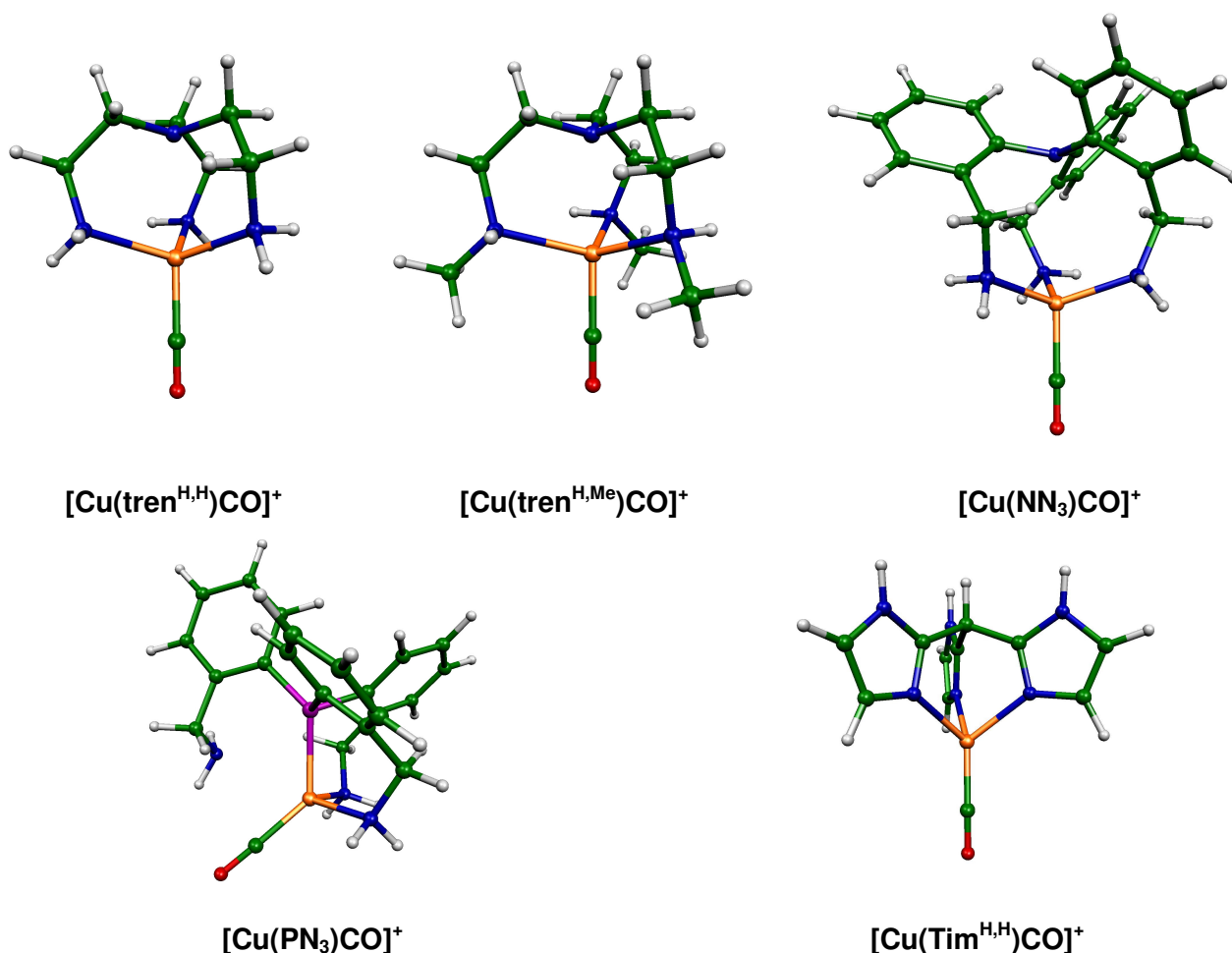


Figure 7 : Coordination du monoxyde de carbone sur les tripodes précurseurs. La coordination de l'acétonitrile est du même type.

Dans le cas des ligands tétradentates XN_3 , l'adoption d'une tétracoordination suppose la décooordination de l'un des atomes coordonnant en contrepartie de l'entrée du ligand exogène dans la première sphère de coordination. Avec les ligands $\text{tren}^{\text{R,H}}$ et NN_3 , c'est l'atome d'azote en clef de voûte qui s'éloigne du cuivre : $d(\text{Cu} - \text{N}_{\text{ap}}) = 2,749$; $2,604$ et $3,605$ Å (avec CO). En revanche, le système conserve la coordination avec l'atome de phosphore du ligand PN_3 , que ce soit avec le monoxyde de carbone ou l'acétonitrile : $d(\text{Cu} - \text{P}_{\text{ap}}) = 2,339$ et $2,280$ Å respectivement. Dans ce cas, c'est l'un des bras azotés qui est décoordiné. Il faut remarquer qu'en dépit de nombreux essais d'optimisation, une forme dans laquelle la décooordination de l'atome de phosphore apparaîtrait n'a pu être obtenue.

		$[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]^+$	$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})]^+$	$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,H}})]^+$	$[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+$	$[\text{Cu}(\text{NN}_3)]^+$
Précurseur						
$d(\text{Cu} - \text{X}_{\text{ap}})$		--	2,262	2,256	2,239	2,656
CO	ΔE	-25,7	-7,1	-6,6	-4,01	-2,6
	$\Delta \Phi$	7,24	38,23	32,23	--	49,4
EI		-27,6	-18,7	-15,19	-21,7	-18,1
$d(\text{Cu} - \text{X}_{\text{ap}})$		--	2,749	2,604	2,339	3,605
$d(\text{Cu} - \text{C}_{\text{CO}})$		1,823	1,873	1,878	1,857	1,878
$d(\text{C} - \text{O})$		1,146	1,147	1,147	1,147	1,147
$\nu(^{12}\text{C} - ^{16}\text{O})$		2179 (2114)	2160 (2095)	2155 (2090)	2153 (2088)	2156 (2091)
$\nu(\text{Cu} - ^{12}\text{C}_{\text{CO}})$		430 (417)	349 (338)	346 (336)	378 (367)	353 (342)
$\nu(\text{Cu} - ^{14}\text{N}_{\text{ap}})$		206 (200) (Cu-CH)	370 (3159)	373 (362)	--	--
CH₃CN	ΔE	-25,9	-9,6	-8,7	-6,0	-6,0
	$\Delta \Phi$	7,14	32,11	30,16	--	29,8
EI		-29,3	-16,7	-15,9	-21,4	-13,0
$d(\text{Cu} - \text{X}_{\text{cdv}})$		--	2,656	2,595	2,280	3,291
$d(\text{Cu} - \text{N}_{\text{NCMe}})$		1,907	2,028	2,031	1,990	2,124
$d(\text{C} - \text{N}_{\text{NCMe}})$		1,162	1,163	1,163	1,162	1,162
$\nu(^{12}\text{C} - ^{14}\text{N})_{\text{NCMe}}$		2366 (2295)	2350 (2279)	2349 (2278)	2360 (2289)	2353(2282)

Tableau 4 : Interaction de CO et CH₃CN avec les complexes précurseurs. Les énergies ΔE et EI sont en kcal.mol⁻¹, les distances en Å, les angles en degrés et les fréquences de vibration en cm⁻¹. Les valeurs données entre parenthèses résultent de l'application d'un facteur d'échelle de 0,97.

A l'inverse des ligands XN_3 , le complexe dérivé du ligand tridentate $\text{N}_3 \text{Tim}^{\text{H,H}}$ lie les deux ligands exogènes sans réarrangement de structure particulier. Il apparaît donc au final que c'est avant tout le nombre d'atomes liés au cuivre qui gouverne la coordination des deux ligands σ -donneurs π -accepteurs. La sphère de coordination s'adapte pour conduire à une géométrie tétraédrique.

b.2. Aspects énergétiques

Quel que soit le complexe précurseur considéré, la fixation de l'acétonitrile et du monoxyde de carbone est favorable au regard de l'énergie de complexation ΔE (Tableau 4), quoique la coordination de CO soit systématiquement légèrement supérieure à celle de CH₃CN. Par ailleurs il apparaît très clairement que la complexation sur les complexes N_3 est

plus favorable que sur les complexes XN_3 . Ainsi ΔE avoisine $-25 \text{ kcal.mol}^{-1}$ sur $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]^+$, mais n'atteint jamais $-10 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour les complexes dérivés de ligands tétradentates. Comme pour la coordination de la molécule d'eau sur ces complexes, il faut sans doute attribuer cette différence à la nécessaire réorganisation géométrique des ligands tétradentates lors du processus de complexation de CO et CH_3CN . Avec les ligands $\text{tren}^{\text{H,R}}$, il y a décooordination de l'atome d'azote apical. La valeur $\Delta\phi$ qui mesure la variation de l'un des angles dièdres (NCuNN) pris avec les atomes de la base du tripode témoigne de cette réorganisation. $\Delta\phi$ est proche de 30° pour la coordination sur les précurseurs $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,H}})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{NN}_3)]^+$ mais ne dépasse pas 7° avec les complexes $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})]$. Dans le cas du complexe phosphoré PN_3 le paramètre $\Delta\phi$ perd de sa pertinence car ici c'est l'atome de phosphore apical qui reste coordonné. En fait une simple observation de la Figure 7 atteste de cette réorganisation.

En conséquence les énergies d'interaction E_I corrigent bien plus favorablement les énergies dans le cas des ligands XN_3 , mais l'interaction reste tout de même plus favorable pour le ligand N_3 .

b.3. Analyse vibrationnelle : $\nu(\text{C} - \text{O})$

Les valeurs des fréquences de vibration calculées dans le complexe $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})\text{CO}]^+$ pour les vibrations $\nu(^{12}\text{C} - ^{16}\text{O})$ et $\nu(\text{Cu} - ^{12}\text{C}_{\text{CO}})$ (respectivement $2\,114$ et 417 cm^{-1}) sont en bon accord avec de nombreuses valeurs publiées récemment pour des complexes expérimentaux similaires (pyrazoles vs. imidazoles) (Tableau 4) : $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Pr,Pr}})\text{CO}]^+$ ($2\,107$ et 449 cm^{-1}); $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Me,Me}})\text{CO}]^+$ ($2\,113 \text{ cm}^{-1}$); $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Ph,H}})\text{CO}]^+$ ($2\,104 \text{ cm}^{-1}$) et enfin $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Bu,H}})\text{CO}]^+$ ($2\,100 \text{ cm}^{-1}$).^{23,24,25}

Par ailleurs, bien qu'elles soient un peu plus importantes que les valeurs expérimentales reportées pour les complexes $[(\text{ImH})_3\text{CuCO}]^+$ ($2\,080 - 2\,086 \text{ cm}^{-1}$) ou pour les centres actifs d'enzymes ($2\,043$ et $2\,063 \text{ cm}^{-1}$ pour les centres Cu_M et Cu_H dans la PHM). La valeur calculée de $2\,114 \text{ cm}^{-1}$ pour $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})\text{CO}]^+$ est assez proche de celles observées avec les calix[6](ImR)₃ ($2\,092 - 2\,102 \text{ cm}^{-1}$).²⁶

La seule valeur expérimentale disponible pour un environnement tren provient du système calixtren pour lequel une valeur de $2\,075 \text{ cm}^{-1}$ a été mesurée. Cette valeur est sensiblement plus faible que celle observée pour les systèmes calix(ImR)₃ ($2\,092 - 2\,102 \text{ cm}^{-1}$). Nos résultats théoriques sur les deux ligands tren indiquent le même comportement puisqu'une valeur de $2\,090 \text{ cm}^{-1}$ est calculée.

Enfin, concernant l'environnement phosphoré, des fréquences de vibration de 2 081 et 2 085 cm^{-1} ont été mesurées pour les complexes $[\text{Cu}(\text{PN}_3)]^+$ et $[\text{Cu}(\text{calixPN}_3)]^+$.²⁸ L'accord entre valeurs théoriques (2 088 cm^{-1}) et expérimental est donc excellent.

b.4. Force de la liaison métal-ligand

Il est couramment admis que la valeur de la fréquence de vibration $\nu(\text{C} - \text{O})$ reflète la force de la liaison $\text{Cu} - (\text{CO})$. Une forte donation σ de la part de CO vers Cu(I) conduit à une fréquence de vibration élevée, tandis qu'une importante rétrodonation π du cuivre vers CO a tendance à la diminuer.²⁹ Nous prendrons comme valeur de référence la fréquence de vibration du monoxyde de carbone libre (2 104 cm^{-1} , corrigée d'un facteur 0,97).

Une première constatation a trait à la faible variation des fréquences $\nu(\text{C} - \text{O})$ par rapport au monoxyde de carbone libre. Le plus grand écart est obtenu avec le complexe $[\text{Cu}(\text{PN}_3)\text{CO}]^+$ mais n'atteint pourtant que 16 cm^{-1} . Cette donnée est en accord avec les faibles énergies de complexation calculées.

Le fait que les fréquences soient plus faibles pour les complexes $\text{tren}^{\text{R,H}}$, PN_3 et NN_3 que pour le complexe $\text{Tim}^{\text{H,H}}$ reflète une meilleure donation σ pour $\text{Tim}^{\text{H,H}}$ et une meilleure rétrodonation pour les trois autres ligands. Cette tendance est cohérente avec le fait que ces derniers qui sont de bons ligands σ -donneurs enrichissent fortement le métal Cu(I). En conséquence la donation σ est affaiblie alors que la rétrodonation est exaltée. La fréquence la plus faible est obtenue avec le ligand PN_3 (2 088 cm^{-1}), ce qui indique le meilleur pouvoir donneur de l'atome de phosphore en comparaison des ligands azotés.

De même dans le cas des ligands imidazole ou pyrazole, le caractère π -accepteur de ces ligands induit une plus forte donation σ de CO vers le métal et une plus faible rétrodonation du métal vers le monoxyde de carbone.

C. Conclusion : application aux systèmes réels

Dans cette première partie nous avons évalué la possibilité de lier divers ligands exogènes sur les complexes cuivreux constitués de ligands tripodes. Qu'il s'agisse de molécules d'eau, de monoxyde de carbone ou d'acétonitrile, il ressort qu'un nombre de coordination de quatre est systématiquement préféré par le cation métallique. Cet état de fait semble naturel s'il est mis en parallèle avec la configuration électronique du cuivre. En effet, puisque la couche d est remplie (d^{10}), ce sont les interactions avec les orbitales 4s/4p qui

gouvernent la géométrie autour du métal. Dans ce cas on prévoit préférentiellement une tétracoordination dans une géométrie tétraédrique.

Si le ligand tripode chélatant est de type N_3 la coordination d'un ligand supplémentaire est possible sans perturbation de la géométrie du tripode. Les énergies de complexation du quatrième ligand indiquent un bilan largement favorable. En revanche dans le cas des ligands XN_3 il est nécessaire de procéder à la décooordination de l'un des atomes du tripode pour que le ligand externe puisse entrer dans la sphère de coordination du métal en lui conservant son nombre de coordination.

La règle du nombre de coordination semble constituer la loi première régissant la fixation des trois molécules étudiées dans ce travail. Dans le cas de tripodes tétradentates la nature de l'atome subissant la décooordination apparaît le cas échéant comme un facteur secondaire. Il est par exemple frappant de relever la préférence systématique des systèmes étudiés à conserver la liaison $Cu - P$ avec le ligand PN_3 .

En raison des coûts énergétiques liés à la nécessité des réarrangements géométriques du tripode, les énergies de complexation calculées indiquent des bilans énergétiques légèrement favorables.

Dans ces conditions, l'extrapolation directe de ces résultats aux calixarènes semble délicate. Au moins deux éléments justifient cette prudence. D'une part les possibilités de réarrangements géométriques de la partie cryptante du calixarène sont certainement amoindries par rapport au tripode en phase gazeuse. Alors que dans les modèles en phase gazeuse les sphères de coordination sont libres de se réarranger, le greffage de ces tripodes sur le petit col des calixarène introduit une certaine rigidité. Il conviendrait donc d'évaluer l'impact de l'existence des liens covalents unissant le tripode au cône du calixarène.

D'autre part l'environnement du centre métallique dans les calixarènes est différent de celui de la phase gazeuse. A titre d'exemple la présence à moyenne distance de six fonctions éther est certainement source d'effets particuliers dans les calixarènes par introduction de forts effets électrostatiques.

Ces deux effets, parmi d'autres, sont donc de nature à jouer un rôle déterminant dans les calixarènes par rapport aux prévisions faites dans ce Chapitre pour des complexes en phase gazeuse. Le traitement idoine de ces différents effets passe par l'utilisation de méthodes hybrides de type DFT/MM qui prennent en compte explicitement l'environnement des complexes précurseurs. L'utilisation particulière de ces outils méthodologiques fera l'objet du Chapitre IV. Pour l'instant nous poursuivons notre étude des capacités de coordination des complexes cuivreux en nous intéressant à la coordination du dioxygène.

II. COORDINATION DU DIOXYGENE

Nous envisagerons la présentation des résultats relatifs à la coordination du dioxygène en deux temps. Tout d'abord nous portons notre attention sur les seuls aspects géométriques des adduits dioxygénés. Les conclusions reposant sur la caractérisation énergétique des adduits seront pour leur part exposées dans la partie suivante.

A. Géométries des adduits Cu/O₂

Le Chapitre I a été l'occasion de faire le point sur les alternatives s'offrant au dioxygène lors de sa coordination au cation métallique. Nous avons donc recherché pour les complexes précurseurs chacun des quatre adduits pouvant en principe être engendré en jouant à la fois sur l'état de spin (singulet vs. triplet) et sur le mode de coordination (*side-on* vs. *end-on*) dans le complexe Cu/O₂.[†]

La première constatation qu'il convient de faire est l'impossibilité, pour un ligand donné, de localiser quatre minima d'énergie correspondant aux deux alternatives rappelées précédemment. La discussion s'articule de nouveau autour du nombre de coordination du ligand chélatant. C'est la raison pour laquelle nous étudions successivement la coordination sur les complexes dérivés de ligands XN₃ puis de ligands N₃.

2. Coordination avec les ligands XN₃

a. *End-on* : singulet et triplet

Les complexes précurseurs dérivés des ligands tren^{H,H}, tren^{H,Me}, PN₃ et NN₃ permettent tous la fixation du dioxygène selon une approche *end-on* quel que soit l'état de spin (Tableau 5). Les adduits présentent une géométrie de type bipyramide trigonale autour du centre métallique (Figure 8 et Figure 9).

[†] Tout au long de ce travail la notation Cu/O₂ désigne un complexe cuivreux sur lequel est fixé une molécule de dioxygène. Si les autres ligands complexant sont électriquement neutres l'édifice total à une charge + I.

Ligand	type géométrique	Cu — X	Cu — O*	O — O	CuOO*
tren^{H,H}					
<i>side-on</i> S	t2	2,065 ^b /2,291 ^c	1,917	1,321	70,0
<i>end-on</i> S	t1	2,146 ^a /2,179 ^f	1,983	1,295	106,0
<i>end-on</i> T	t1	2,152 ^a /2,224 ^f	2,000	1,272	112,1
tren^{Me,H}					
<i>side-on</i> S	t2	2,086 ^b /2,379 ^c	1,917	1,322	69,8
<i>end-on</i> S	t1	2,157 ^a /2,164 ^f	1,890	1,296	112,1
<i>end-on</i> T	t1	2,179 ^a /2,213 ^f	1,988	1,275	114,6
PN₃					
<i>end-on</i> S	t1	2,134 ^a /2,298 ^f	1,931	1,312	109,1
<i>side-on</i> S	t2	2,257 ^{bP} /2,001 ^{bN} 2,469 ^c	1,887	1,350	69,1
<i>end-on</i> T	t1	2,172 ^a /2,319 ^f	2,063	1,281	113,9
NN₃					
<i>end-on</i> S	t1	2,073 ^a /2,497 ^f	1,997	1,294	112,2
<i>end-on</i> T	t1	2,076 ^a /2,795 ^f	2,231	1,247	115,2
Tim^{H,H}					
<i>side-on</i> S	t2	1,983 ^b /2,365 ^c	1,861	1,334	68,0
<i>side-on</i> T	t2	2,051 ^b /2,230 ^c	2,027	1,288	71,1
Tp^{H,H}					
<i>side-on</i> S	t2	1,962 ^b /2,281 ^c	1,861	1,343	68,9
<i>side-on</i> T	t2	2,021 ^b /2,196 ^c	2,029	1,300	71,6

Tableau 5 : Coordination du dioxygène sur six ligands tripodes dans les deux états de spin singulet (S) et triplet (T). Les distances sont données en Å. Les distances indexées a, b, c et f et les types géométriques sont définies sur la Figure 8. * pour les coordinations *side-on* nous reportons la moyenne des deux distances d (Cu — O) ou des angles CuOO.

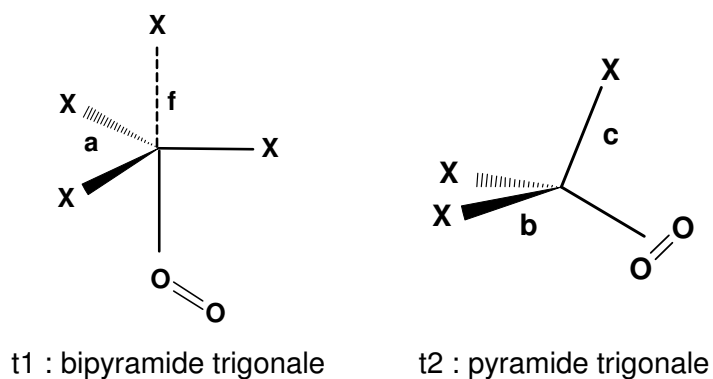


Figure 8 : Types géométriques obtenus pour les adduits [Cu(O₂)]⁺.

Les atomes d'azote des "bras" des ligands tripodes constituent la base de la bipyramide. Il ressort de l'examen des longueurs de liaison Cu — N, pour un adduit donné, que celles-ci ne sont pas significativement différentes. C'est la raison pour laquelle seules les moyennes de ces trois distances (libellées "a") sont reportées dans le Tableau 5. L'un des deux sommets de la bipyramide est occupé par l'atome d'oxygène *proximal* avec une distance d (Cu — O_p) qui ne semble dépendre que de l'état de spin de la molécule, soit environ 2,0 Å pour les triplets et environ 1,9 Å pour les singulets.

Le second sommet est, quant à lui, occupé par l'atome situé en clef de voûte du tripode et se positionne de fait en position *trans* du dioxygène. Pour un ligand donné, la distance Cu — N_{ap} est sensiblement la même que dans les ligands précurseurs. Seul le ligand NN₃ apparaît comme particulier parmi la famille des ligands tétradentates en raison de la distance Cu — N_{ap}, un peu plus longue avec ce tripode en comparaison des ligands tren^{H,R} et PN₃. Elle vaut 2,497 Å dans l'adduit singulet et 2,795 Å dans l'adduit triplet. Nous retrouvons de fait une caractéristique déjà constatée pour le complexe précurseur (d (Cu — N_{ap}) = 2,655 Å).

Enfin si nous nous intéressons au système {CuO₂} il ressort de l'examen des longueurs de liaison Cu — O_p et de l'angle CuO_pO_d une grande similitude entre les différentes géométries. Du moins il n'est pas aisé de trier les adduits selon l'influence que pourraient avoir différents critères (spin, nature chimique du ligand...) sur ces caractéristiques géométriques. Le seul point de comparaison biomimétique expérimental provient de la structure cristallographique de l'adduit [Cu(tren^{TMG})O₂]⁺ pour lequel une distance de 1,927 Å et un angle de 123,5° ont été reportés.³⁰ Nos valeurs théoriques sont proches de ces valeurs cristallographiques.

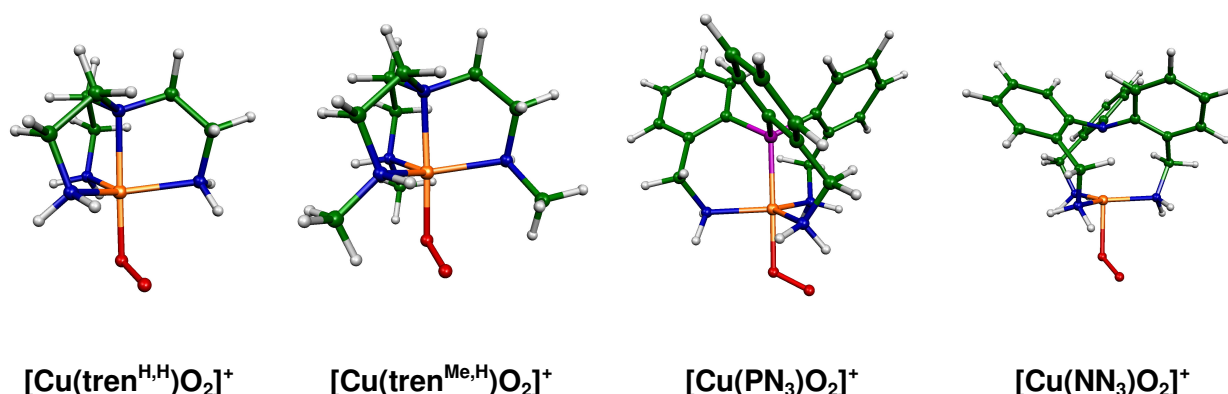


Figure 9 : Allure des adduits *end-on* (singulet ou triplet) obtenus avec les ligands XN₃. Les distances inter-atomiques caractéristiques sont reportées dans le Tableau 5.

b. Side-on : singulet uniquement

L'approche alternative *side-on* a également été obtenue avec ces tripodes mais seulement pour un état de spin singulet (Figure 10). La géométrie est de type pyramide à base triangulaire ("t2", Figure 8). Puisque l'atome métallique demeure tétracoordiné avec ce type d'arrangement géométrique, la coordination *side-on* suppose la perte de la coordination de l'un des atomes coordinants des tripodes XN_3 . Dans le cas des ligands $\text{tren}^{\text{H,R}}$ c'est l'atome situé en clef de voûte qui fait les frais de ce réarrangement géométrique. Ainsi les distances $\text{Cu} - \text{N}_{\text{ap}}$ dans les adduits $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})\text{O}_2]^+$ et $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,H}})\text{O}_2]^+$ valent-elles respectivement 2,771 Å et 2,661 Å. Dans le cas du ligand PN_3 , en revanche, la coordination avec le phosphore localisé en clef de voûte est conservée ($d(\text{Cu} - \text{P}) = 2,257$ Å) et c'est l'un des "bras" du tripode qui s'éloigne cation métallique ($d(\text{Cu} - \text{N}) = 2,625$ Å pour l'une d'entre elles). La préférence du cuivre pour la coordination par l'atome de phosphore apparaît donc de nouveau avec les complexes Cu/O_2 après avoir été constatée à maintes reprises dans la partie précédente.

Mise à part cette différence entre le ligand phosphoré et les autres ligands tripodes, tous les adduits *side-on* partagent des caractéristiques communes, en premier lieu desquelles la coordination du dioxygène en position basale. Les distances $\text{Cu} - \text{O}$ apparaissent d'ailleurs très similaires quel que soit le ligand tripode. Les deux autres sites de coordination de la base de la pyramide sont quant à eux occupés soit par deux atomes d'azote (cas des ligands $\text{tren}^{\text{H,R}}$ et NN_3) soit par un atome d'azote et un de phosphore (ligand PN_3). Enfin, le sommet de la pyramide est occupé par le dernier atome du tripode. Pour un ligand précurseur donné on observe l'allongement de cette liaison lors de la coordination du dioxygène (distance "c") qui devient donc un peu plus longue que les autres distances $\text{Cu} - \text{X}$ (indexées "b").

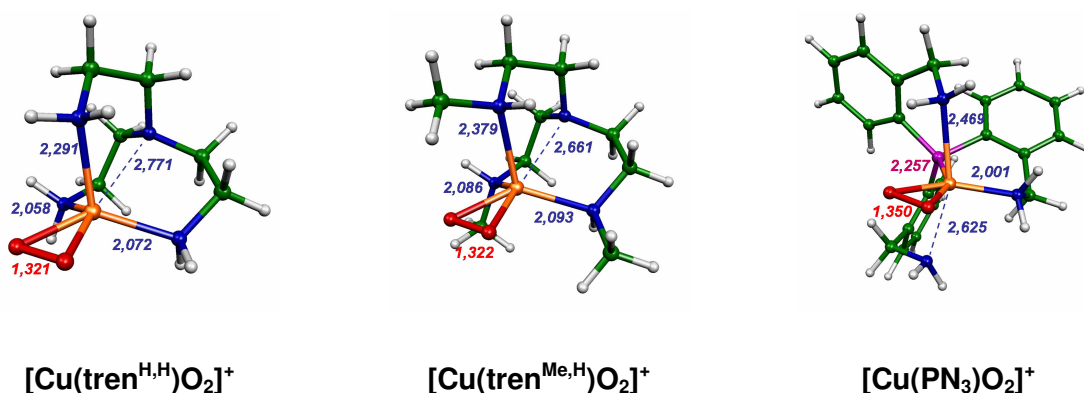


Figure 10 : Coordination singulet *side-on* dérivée des ligands tétradentates $\text{tren}^{\text{H,R}}$ et PN_3 . Les distances sont en Å.

A notre connaissance aucune structure cristallographique d'adduit *side-on* obtenu à partir de ligand tétradentates n'a été reportée à ce jour dans la littérature. Seule une étude théorique publiée sur le complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{TMG}})\text{O}_2]^+$ peut éventuellement servir de structure de comparaison.³¹ Dans ce cas les auteurs indiquent un comportement très similaire à nos calculs avec perte de la coordination de l'un des atomes d'azote.

2. Coordination avec les ligands N_3

Avec les complexes dérivés des ligands de type N_3 ($\text{Tp}^{\text{H,H}}$ et $\text{Tim}^{\text{H,H}}$), seules des coordinations *side-on* ont pu être obtenues dans les deux états de spin. Une description géométrique très similaire à celle exposée pour les complexes *side-on* issus de ligands tétradentates est faisable à la différence près qu'il n'est pas nécessaire ici de décoordonner l'un des atomes du tripode. Ainsi une géométrie de type pyramide à base triangulaire est obtenue avec allongement de la distance $\text{Cu} - \text{N}$ pour l'atome situé au sommet de la pyramide par rapport aux deux autres atomes (distances indexées respectivement c et b dans le Tableau 5).

En conclusion, malgré la variété des complexes précurseurs à partir desquels nous avons examiné la coordination du dioxygène, deux types géométriques communs aux divers adduits sont apparus. Il est cependant remarquable que certains tripodes ne permettent pas l'accès à tous les modes de coordination imaginables. La rationalisation de ce point particulier serait souhaitable puisqu'elle pourrait permettre d'expliquer le mode de coordination observé selon les modèles biomimétiques ou enzymatiques. C'est ce travail que nous nous proposons à présent de réaliser.

3. Rationalisation du mode de coordination

a. Diagramme de Walsh

La géométrie autour du métal semble en effet dépendre du mode de coordination. Ainsi les complexes *side-on* exhibent-ils des géométries de type pyramide à base triangulaire alors que les complexes *end-on* présentent des géométries de type (bi)pyramide à base triangulaire. Nous entrevoyons ainsi une éventuelle relation entre la géométrie du complexe précurseur et la géométrie observée dans l'adduit.

Afin de caractériser les différences géométriques entre les différents complexes précurseurs, deux paramètres, Σ et Ω , ont été définis (Figure 11). Le premier correspond à la

somme des trois angles X_bCuX_b entre les atomes de base des tripodes et le cuivre. Plus ce nombre se rapproche de 360° , plus il y a proximité de l'atome métallique au plan défini par les atomes de base X_b (à gauche). A l'inverse, plus ce paramètre diminue, plus il y a pyramidalisation de la géométrie autour du cuivre (à droite). Le second paramètre, Ω , mesure l'un des angles dièdres $X_bCuX_bX_b$. Une valeur de 180° implique une géométrie de type pyramide à base triangulaire tandis que des valeurs proches de 100° impliquent des structures que nous qualifierons de fortement pyramidalisées.

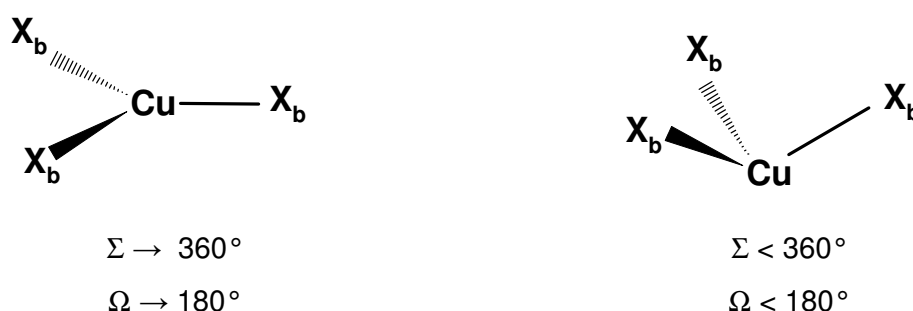


Figure 11 : Définitions de deux paramètres géométriques Σ et Ω traduisant la pyramidalisation de la géométrie autour du cation métallique.

La dépendance entre mode de coordination du dioxygène dans l'adduit et géométrie du complexe précurseur peut être rationalisée au moyen d'un diagramme de corrélation reliant les deux types géométriques (Figure 12) du fragment métallique seul.

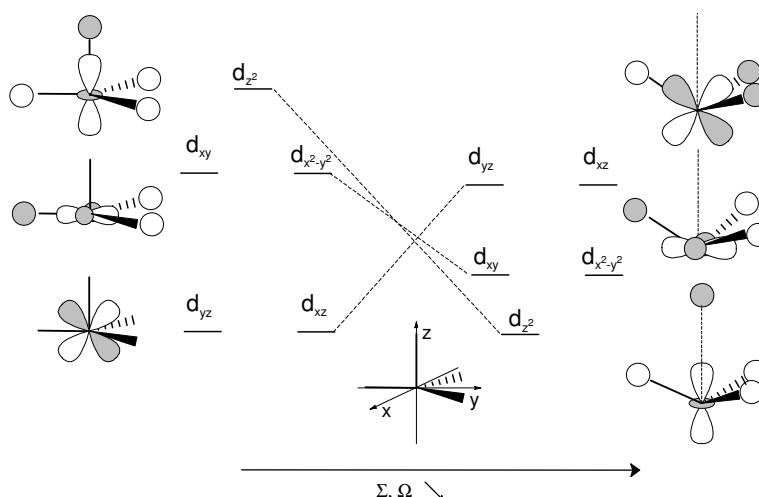


Figure 12 : Diagramme de Walsh du complexe cuivreux précurseur le long de la diminution des paramètres Σ et Ω (tous les niveaux énergétiques sont remplis mais les électrons sont omis pour plus de visibilité).

a.1. Coordination *end-on*

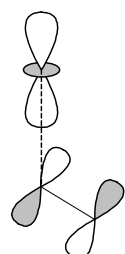
La partie gauche du diagramme correspond au schéma de valence des orbitales métal-ligands dans le cas limite où $\Sigma = 360^\circ$ et $\Omega = 180^\circ$. Il est donc associable aux complexes précurseurs issus des ligands $\text{tren}^{\text{R,R}}$, PN_3 ou NN_3 . Nous supposons ici par souci de simplicité que le système se trouve dans une symétrie C_{3v} idéale. L'ordre énergétique des orbitales métal-ligand répond alors aux considérations suivantes.

- L'orbitale d_{z^2} est fortement déstabilisée par l'interaction avec la paire libre du ligand situé en position apicale. A cela s'ajoute la déstabilisation due à l'interaction entre le tore de la d_{z^2} et les ligands situés dans le plan xy. Dans le cas du ligand NN_3 toutefois, la géométrie du complexe précurseur a montré la probable faiblesse de l'interaction $\text{Cu} - \text{N}_{\text{ap}}$ en raison de la longueur de la distance d ($\text{Cu} - \text{N}_{\text{ap}}$) (2,655 Å). Ainsi, l'orbitale d_{z^2} pourrait se trouver juste sous les orbitales d_{xy} et $d_{x^2 - y^2}$.

- Les orbitales d_{yz} et $d_{x^2 - y^2}$ sont également fortement déstabilisées par l'interaction avec les ligands contenus dans le plan xy. Puisque cette interaction est la seule source de déstabilisation de ces orbitales, nous les supposons plus basses en énergie que la d_{z^2} avec les ligand $\text{tren}^{\text{R,R}}$ et PN_3 . Avec le ligand NN_3 , l'ordre énergétique des trois orbitales d_{z^2} , d_{yz} et $d_{x^2 - y^2}$ n'est pas trivial. Toutefois, quel que soit le ligand tripode considéré, l'approche selon l'axe z d'une molécule de dioxygène résulterait en un recouvrement orbitalaire nul entre l'orbitale $\pi^*(\text{O}_2)$ et les orbitales d_{yz} et $d_{x^2 - y^2}$. La position énergétique relative des trois orbitales est donc secondaire car seule l'orbitale d_{z^2} peut interagir avec le dioxygène dans une approche selon l'axe z.

- Enfin, les orbitales d_{yz} et d_{xz} ne sont pas perturbées par les ligands car ils ne possèdent pas d'orbitales de symétrie adaptées à ces deux orbitales métalliques.

Il ressort que le dioxygène, agissant comme un ligand accepteur par l'orbitale π^* , doit interagir avec l'orbitale d_{z^2} qui constitue l'orbitale la plus haute occupée de symétrie adaptée du système cuivreux. Dans une approche selon l'axe z, le meilleur recouvrement est obtenu pour une liaison de type σ dans une coordination *end-on* (Figure 13).



approche σ

Figure 13 : Orbitale d_{z^2} du cuivre impliquée dans l'interaction avec l'orbitale π^* du dioxygène conduisant au meilleur recouvrement orbitalaire dans une approche σ .

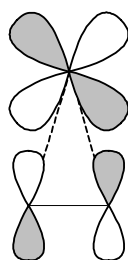
a.2 Structures tétradentates

Pour corréler ce diagramme moléculaire valable pour les ligands $\text{tren}^{\text{R,R'}}$, NN_3 et PN_3 , au diagramme adapté à la description des complexes $[\text{CuTim}^{\text{H,H}}]^+$ et $[\text{CuTp}^{\text{H,H}}]$, deux changements doivent être opérés. D'une part l'éloignement à grande distance de l'atome coordinant situé en position apicale et, d'autre part, la sortie du cuivre hors du plan défini par les trois atomes coordinants restants. Ces deux opérations reviennent donc à abaisser simultanément les paramètres Σ et Ω . Ce faisant, les orbitales précédemment décrites sont perturbées et l'évolution de leur niveau énergétique est la suivante.

- L'orbitale d_{z^2} est fortement stabilisée, en premier lieu du fait de la disparition de l'interaction déstabilisante avec la paire libre du ligand apical et du fait de la diminution de l'interaction des ligands avec le tore de cette orbitale.

- Les orbitales d_{yz} et $d_{x^2 - y^2}$ subissent une certaine stabilisation car les ligands ne sont plus dans l'axe de leurs lobes : le recouvrement antiliant entre ces orbitales diminue et donc les orbitales sont stabilisées.

- A l'inverse les orbitales d_{yz} et d_{xz} se trouvent déstabilisées par effet contraire. Au final elles constituent les orbitales les plus hautes occupées avec lesquelles doit interagir l'orbitale π^* du dioxygène. Lors d'une approche selon l'axe z , l'interaction la plus favorable a donc lieu selon un mode π *side-on* (Figure 14).



approche π

Figure 14 : Orbitale d_{xy} du cuivre impliquée dans l'interaction avec l'orbitale π^* du dioxygène qui conduit au meilleur recouvrement orbitalaire dans une approche de type π .

En résumé, la coordination *side-on* fait intervenir une interaction de type π entre l'orbitale semi-occupée π^* du dioxygène et une orbitale pleine de type d_{xy} du cuivre. La coordination *end-on* résulte quant à elle d'une interaction de type σ entre l'orbitale semi-occupée π^* du dioxygène et l'orbitale d_{z^2} . Le diagramme de Walsh a par ailleurs permis de relier ces deux situations aux paramètres Σ et Ω qui définissent le degré de pyramidalisation de l'atome de cuivre dans le complexe précurseur. Il est donc possible de relier la géométrie

du précurseur au mode de coordination. Si, comme on peut le supposer en première approximation, la différence de gain énergétique résultant purement de l'interaction entre O₂ et le métal dans les coordinations *side-on* ou *end-on* est faible, le choix du mode de coordination est alors imposé par le coût de déformation de la géométrie des précurseurs. Le mode de coordination peut alors être prédit à partir de la seule géométrie du complexe précurseur.

b. Prédire le mode de coordination

Dans le but de déterminer les valeurs limites des angles Σ et Ω qui induisent un basculement en faveur de l'une ou l'autre des deux approches du dioxygène, ces deux paramètres ont été mesurés dans chacun des complexes précurseurs étudiés dans ce travail (Tableau 6).

	Σ	Ω	μ
Modèles précurseurs			
[Cu(NN ₃)] ⁺	359,4	171,8	<i>end-on</i>
[Cu(tren ^{Me,H})] ⁺	357,4	161,7	<i>end-on</i>
[Cu(tren ^{H,H})] ⁺	357,4	160,6	<i>end-on</i>
[Cu(PN ₃)] ⁺	354,6	153,4	<i>end-on</i>
[Cu(Tp ^{H,H})]	296,5	100,4	<i>side-on</i>
[Cu(Tim ^{H,H})] ⁺	286,2	95,9	<i>side-on</i>

Tableau 6 : Somme des trois angles NCuN (Σ) et angle dièdre NCuNN (Ω) dans les complexes précurseurs (en degrés) en parallèle du mode de coordination obtenu (μ).

Ces résultats viennent confirmer l'analyse précédente, à savoir que lorsque le cuivre se rapproche du plan défini par les trois atomes de la base (Σ et Ω augmentent) la coordination *end-on* est privilégiée. A l'inverse, lors de la pyramidalisation du complexe (Σ et Ω diminuent), une coordination *side-on* est préférée.

Entre les deux, une zone d'incertitude pour les paramètres Σ et Ω doit certainement exister bien qu'il soit difficile de l'évaluer quantitativement. De manière très qualitative, il semble raisonnable de proposer comme domaine d'incertitude les intervalles suivants : [300, 330°] pour Σ et [100, 110°] pour Ω . En tout état de cause il est probable que certains

complexes dont les angles caractéristiques sont compris dans ces intervalles puissent accommoder les deux modes de coordination. De faibles variations de l'environnement immédiat du cuivre dans ces complexes seraient alors capables de faire basculer la coordination du mode *end-on* vers le mode *side-on*, et *vice versa*.

A partir de la connaissance de la structure d'un ligand précurseur (par cristallographie par exemple), il devrait donc être possible d'anticiper le mode de coordination du dioxygène dans l'adduit final. Notons au passage que ce raisonnement justifie le recours aux analogies structurales pour supposer le mode de coordination dans des adduits pour lesquels on ne dispose pas directement de structures cristallographiques mais que l'on déduit de la coordination dans des systèmes géométriquement proches. Le cas des ligands $\text{tren}^{\text{R,R}}$ pour lequel des coordinations *end-on* sont supposées par analogie avec l'adduit $[\text{Cu}(\text{TMPA}^{\text{NMe}_2})\text{O}_2]^+$ qui, lui, a été caractérisé cristallographiquement, est typique (Chapitre I).³⁰

L'application de cette règle prédictive au cas des centres actifs de la PHM sera discutée dans la dernière partie de ce Chapitre.

B. Transfert de charge vers O_2

Les spectroscopies RAMAN et Infra Rouge sont, ainsi que nous l'avons rappelé dans le Chapitre I, un moyen de caractériser l'amplitude du transfert de charge du cuivre vers le dioxygène et, de manière concomitante, l'affaiblissement de la liaison $\text{O} - \text{O}$. Alternativement, la mesure de la distance $\text{O} - \text{O}$ permet le même type de caractérisation lorsqu'elle est possible expérimentalement.

Nous avons mentionné par ailleurs les premières tentatives de Cramer *et coll.* pour quantifier ce phénomène.³² Ces travaux pionniers dans le domaine des adduits Cu/O_2 demeurent toutefois qualitatifs et un approfondissement de la connaissance de l'influence des facteurs qui régissent ces phénomènes serait le bienvenu. L'ensemble des adduits obtenus dans la partie précédente constitue de fait une base de données intéressante sur laquelle un travail de compilation peut être réalisé.

En réalité, de manière à procéder par degré de complexité croissant, nous n'examinerons ces systèmes que dans un second temps. En effet, le jeu de tripodes en présence implique la superposition de nombreux facteurs qui auront chacun un effet sur le transfert de charge si bien que les tendances générales qui pourraient être identifiées risquent d'être masquées artificiellement. Pour l'instant nous préférons limiter notre attention au seul ligand $\text{tren}^{\text{H,H}}$ auquel nous faisons subir de petites variations contrôlées. Ainsi les

effets sur le phénomène de rétrodonation pourront être attribués le cas échéant à ces seules perturbations.

1. Expériences numériques

Les perturbations sont de deux sortes. Dans un premier temps nous procédons à la substitution atomique de l'un des atomes coordinant du tripode, tandis que dans un second temps nous employons une technique plus fine consistant à introduire des charges nucléaires fictives sur le ligand de manière à en moduler les capacités donneuses.

a. Substitutions atomiques dans le ligand $\text{tren}^{H,H}$

Partant du ligand $\text{tren}^{H,H}$ trois substitutions ont été opérées sur les différents atomes chélatants en remplaçant l'atome d'azote par un atome de soufre (en position basale) ou par un atome de phosphore (en position basale ou apicale). Nous limitons ici notre discussion au seul mode de coordination triplet *end-on* (Tableau 7).

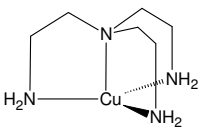
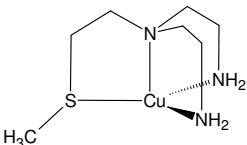
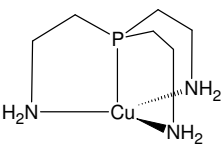
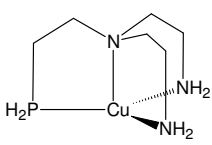
	$[\text{Cu}(\text{tren}^{H,H})\text{O}_2]^+$	$[\text{Cu}(\text{S-tren})\text{O}_2]^+$	$[\text{Cu}(\text{P-tren})\text{O}_2]^+$	$[\text{Cu}(\text{P-tren}')\text{O}_2]^+$
				
d (Cu — N_b)	2,152	2,148	2,301	2,140
d (Cu — N_{ap})	2,224	2,267	-	2,318
d (Cu — X) (X = S ou P)	-	2,411	2,256	2,299
d (O — O)	1,272	1,264	1,285	1,247
d (Cu — O)	2,000	2,046	1,943	2,206
CuOO	112,1	112,5	109,6	112,9
q(Cu)	1,08	0,94	0,99	0,86
q(O₂)	-0,35	-0,29	-0,42	-0,16

Tableau 7 : Coordination du dioxygène dans l'état triplet sur les précurseurs tren substitués. Les distances sont en Å et les angles en degrés.

Avant d'entamer la discussion spécifique à ces quatre ligands, il est utile de rappeler quelques éléments présentés lors du premier Chapitre. Lors de la coordination du dioxygène

sur le centre cuivreux il s'opère un phénomène de rétrodonation des orbitales d pleines du cation métallique vers les orbitales π^* du dioxygène. Du fait de la nature antiliante des orbitales d'accueil, la rétrodonation induit un affaiblissement de la liaison O — O et donc une augmentation de sa longueur. Dans la suite nous prendrons comme référence l'adduit $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,H}})\text{O}_2]^+$ dans lequel la distance d (O — O) vaut 1,272 Å et la charge -0,35 e sur O_2 (+1,08 sur Cu).

Intéressons-nous dans un premier temps à la substitution de l'atome d'azote apical par un atome de phosphore. Cette manipulation résulte en une augmentation du transfert de charge qui semble appréciable : la charge sur le dioxygène s'élève à présent à -0,42 e associée à une longueur de liaison O — O plus élevée (1,285 Å contre 1,272 Å pour le complexe *per-azoté*).

De façon surprenante, la substitution en position basale de l'azote par le phosphore ne permet pas un meilleur transfert de charge, mais induit au contraire une diminution puisque la charge sur le dioxygène vaut alors -0,16 e, en cohérence avec le raccourcissement de la distance O — O (1,247 Å). En fait, la distance Cu — N_{ap} dans le complexe $[\text{Cu}(\text{P-tren}')\text{O}_2]^+$ est significativement plus longue que dans l'analogue N_4 (2,318 contre 2,224 Å). En outre la distance Cu — O_{p} de 2,206 Å, plus longue que pour les autres complexes, semble indiquer une coordination plus faible du dioxygène

Dans l'adduit $[\text{Cu}(\text{S-tren})\text{O}_2]^+$, un transfert de charge intermédiaire est obtenu avec une charge de -0,29 e sur O_2 (d (O — O) = 1,264 Å). Cette valeur est également intermédiaire par rapport à celles optimisées avec les ligands $\text{tren}^{\text{H,H}}$ (1,272 Å) et P-tren' (1,247 Å). Ce comportement doit être mis en parallèle avec celui de la distance Cu — N_{ap} de 2,267 Å qui est également intermédiaire entre les deux distances mesurées pour les ligands $\text{tren}^{\text{H,H}}$ (2,224 Å) et P-tren' (2,318 Å).

L'évaluation des charges NPA sur O_2 et des distances O — O et Cu — N_{ap} laisse entrevoir le rôle de l'interaction entre le cuivre et le ligand apical. Le diagramme de la Figure 15 fournit une explication orbitale à ces différentes tendances. Il s'agit en fait d'un diagramme déjà présenté dans le Chapitre précédent de sorte que le lecteur pourra s'y référer pour en comprendre sa construction que nous ne rappelons pas ici.

Lors des substitutions opérées sur l'un des atomes d'azote situés en position basale (S-tren et P-tren'), on constate l'augmentation de la distance Cu — N_{ap} . Par conséquent l'interaction entre le métal (d_{z^2}) et la paire libre de l'atome d'azote situé en position apicale diminue, ce qui a pour effet d'abaisser énergétiquement l'orbitale **b**. Ce faisant, l'écart énergétique entre les orbitales **b** et la $\pi_z^*(\text{O}_2)$ augmente et implique une diminution de l'interaction. Les orbitales **2** et **4** étant des orbitales de transfert de charge, la rétrodonation

vers le dioxygène diminue de même en concomitance avec l'augmentation de la distance O — O.

Une explication plus complexe peut être proposée pour rationaliser les effets de la substitution de l'atome d'azote apical par le phosphore ($\text{tren}^{\text{H,H}}$ vs. P-tren). Deux effets se superposent et contribuent à exacerber le transfert de charge avec le ligand P-tren. D'une part, les orbitales 3s et 3p du phosphore sont spatialement plus étendues que les orbitales 2s et 2p de l'azote. Pour une distance avec le cuivre du même ordre, l'interaction entre le métal et la paire libre du ligand apical sera donc plus forte avec le phosphore en raison d'un meilleur recouvrement orbitalaire. D'autre part, l'électronégativité de l'azote étant plus grande que celle du phosphore (respectivement 3,0 contre 2,1 dans l'échelle de Pauling)³³ les orbitales 2s et 2p sont plus basses en énergie que les orbitales 3s et 3p du phosphore et interagissent de fait moins avec l'orbitale (d_{z^2}) du cuivre. Ces deux effets sont donc conjugués et induisent l'augmentation de l'interaction métal-ligand apical dans le cas du phosphore. Pour la même raison que précédemment l'orbital **b** est donc davantage déstabilisée et le transfert de charge s'en trouve augmenté.

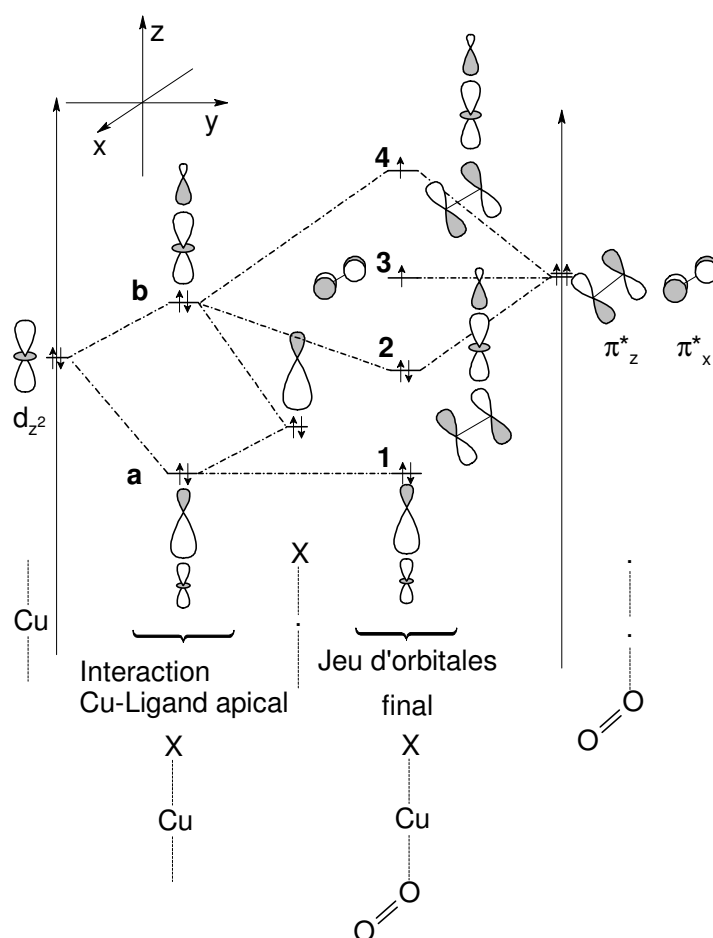


Figure 15 : Diagramme orbitalaire de valence associé à la coordination *end-on* et expliquant l'effet des substitutions atomiques dans le ligand $\text{tren}^{\text{H,H}}$ sur le transfert de charge vers O_2 .

Au final il ressort que le phénomène de rétrodonation dans les ligands de type N_4 peut être résumé de la manière suivante : *plus forte est l'interaction métal-ligand apical, plus fort est le transfert de charge*. Il en résulte que la substitution d'un atome en position basale implique une variation du transfert de charge par effet indirect, tandis que la substitution directement en position apicale induit des effets plus importants.

b. Variation continue

L'inconvénient de la démarche précédente provient de la limitation du panel d'atomes substituables dans le modèle : la substitution de l'atome apical X des ligands tripodes XN_3 par exemple ne peut guère faire intervenir que des atomes trivalents. Dans ces conditions il est difficile de faire ressortir des tendances plus générales sur le phénomène de rétrodonation.

b.1. Technique calculatoire

Une manière alternative de procéder consiste à faire varier artificiellement l'électronégativité des atomes coordonnant le métal de manière à perturber leurs capacités coordinatives. Il est possible d'y parvenir en modifiant par exemple la charge nucléaire des noyaux atomiques. Ce faisant la richesse électronique du cation cuivreux et donc le transfert de charge vers le dioxygène s'en trouvent modifiés. Ce type de procédure a déjà été utilisé avec succès pour modéliser certains effets de substitutions atomiques sur des adduits dérivés des ligands Dk^R et $TACN^{PhOH}$.^{34,35} Bien que l'on perde en représentativité "chimique" cette approche permet d'obtenir des tendances à partir de modèles "théoriques".

Le logiciel GAUSSIAN³⁶ ne permet pas de faire varier directement la charge nucléaire des atomes. Nous avons donc procédé autrement en introduisant dans le calcul un potentiel effectif dont la forme générale est donnée par la Relation 3. L'entier n correspond au nombre d'électrons qui ont un effet d'écran sur la charge nucléaire Z . En annulant les coefficients n et α et en prenant $n' = 1$, la charge nucléaire fictive sur l'atome dont on veut faire varier la charge est imposée par le paramètre c_j . Cette technique a été utilisée dans le travail de thèse d'Elise Dumont pour le développement de la méthode H^* .^{37,38,39,40}

$$V(r) = -\frac{Z-n}{r} + \sum_j c_j r^{n'-2} e^{-\alpha r^2}$$

Relation 3 : Forme générale du potentiel effectif utilisé pour simuler la variation de charge de l'atome d'azote apical dans les complexes dérivés de ligands XN_3 .

b.2. Zoom sur l'interaction $\text{N}_{\text{ap}}\dots$

Nous avons choisi d'étudier les adduits dérivés du ligand tren^{Me1} (Annexe) pour lequel nous avons fait varier la charge nucléaire de l'atome en clef de voûte sur l'intervalle [6,989 ; 7,015] par pas de 0,001. Il convient de noter que la variation de charge sur un atome n'est pas une opération anodine et doit donc être menée avec précaution.[†] Seule la série de coordination singulet *end-on* a été étudiée par optimisation systématique de l'adduit et calcul des fréquences de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$.

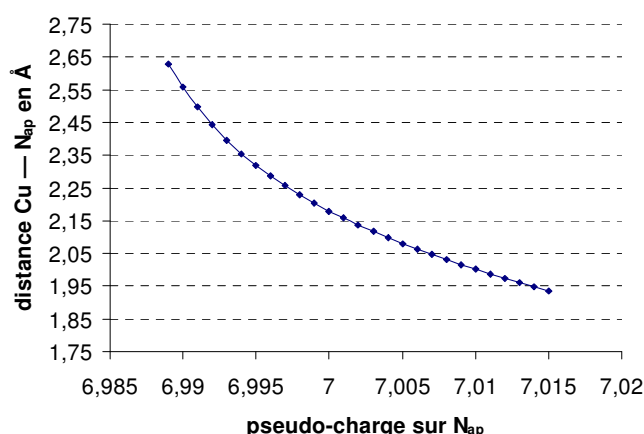


Figure 16 : Effet de la variation de charge nucléaire de l'atome d'azote en clef de voûte sur la distance Cu — N_{cdv} .

Le graphique de la Figure 16 représente la distance Cu — N_{ap} en fonction de la charge nucléaire fictive imposée sur l'atome d'azote apical. Une décroissance monotone mais non linéaire de la distance avec l'augmentation de la charge est constatée. Cette évolution n'est pas due à la répulsion entre noyaux qui induirait un allongement de la distance Cu — N_{ap} . C'est à l'inverse la modulation des effets électroniques qui est bien la source de cette décroissance. En effet une augmentation de la charge fictive $Z(\text{N}_{\text{ap}})$ se

[†] A titre d'illustration de cette mise en garde, l'utilisation de charge fictive au-delà de l'intervalle donné entraîne la dénaturaion du complexe.

traduit par une plus grande électronégativité de l'atome d'azote. En termes orbitales cela implique la contraction de la paire libre de l'atome d'azote et son abaissement énergétique (Figure 15). A géométrie constante, la paire libre interagit donc moins avec le cuivre lorsque la charge fictive augmente. Puisque cette interaction est déstabilisante, le retour à l'équilibre énergétique se fait par rapprochement des deux atomes lors de l'optimisation de géométrie. Il y a donc raccourcissement de la distance Cu — N_{ap}.

b.3. ... puis sur le transfert de charge

Pour évaluer l'impact de la variation de l'interaction entre le cuivre et le ligand apical sur la coordination du dioxygène, plusieurs paramètres géométriques sont examinés et représentés graphiquement (Figure 17).

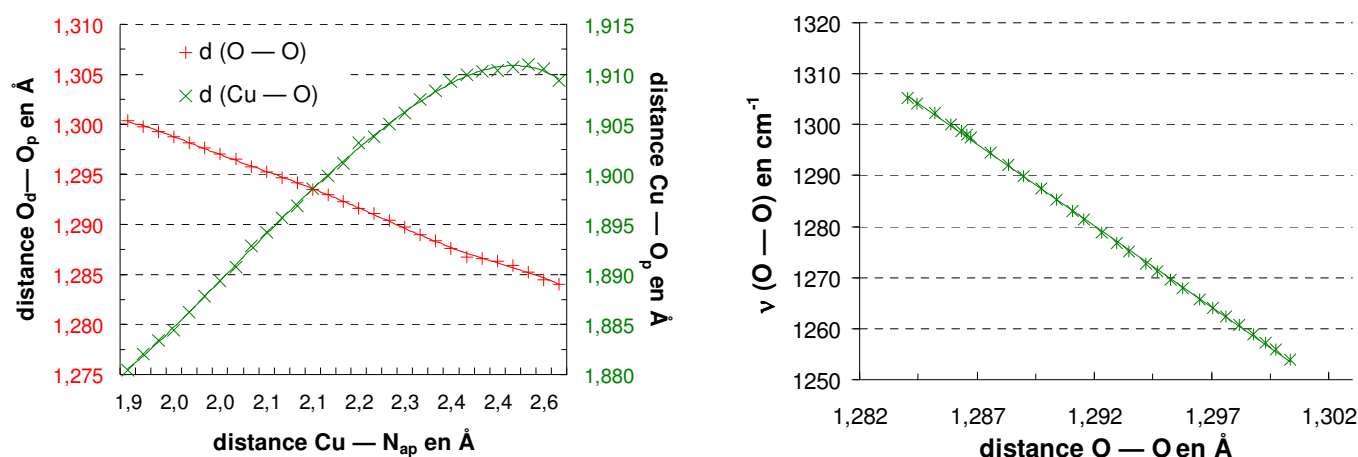


Figure 17 : Distances Cu — O_p, O_p — O_d et fréquence ν(O — O) en fonction de la distance Cu — N_{ap} lors de l'expérience numérique de variation de charge de l'atome d'azote apical du ligand tren^{Me1}.

Il apparaît nettement sur le graphique de gauche que la diminution de la distance Cu — N_{ap} induit une augmentation de la distance O_d — O_p. Cette tendance indique donc une meilleure rétrodonation du cuivre vers le dioxygène, comme le confirme dans le même temps l'augmentation de la charge NPA sur le dioxygène.[†] Elle passe de -0,46 e pour une distance Cu — N_{ap} d'environ 2,65 Å à presque -0,54 e pour les plus courtes distances.

Cette évolution est aisément rationalisable dans le cadre du diagramme orbitalaire de la Figure 15. Puisque les niveaux énergétiques des orbitales π* du dioxygène libre ne sont

[†] Données non figurées.

pas perturbés lors de la variation de charge fictive $Z(N_{ap})$, l'amélioration de l'interaction Cu/O₂ provient de la déstabilisation de l'orbitale d_{z^2} du cuivre en raison de son interaction avec le ligand apical. Au final, nous retrouvons la conclusion à laquelle nous étions parvenus lors des substitutions atomiques sur le ligand tren : *plus forte est l'interaction métal-ligand apical, plus fort est le transfert de charge*. Cette concordance permet au passage de valider *a posteriori* la méthode de variation de la charge nucléaire employée ici dans le cas particulier des adduits Cu/O₂.

De manière intéressante la distance Cu — O_p ne montre pas de comportement monotone avec l'augmentation de la distance Cu — N_{ap}. En effet, celle-ci commence par augmenter puis diminue pour des distances Cu — N_{ap} supérieures à 2,49 Å même si l'évolution reste globalement croissante sur le graphique de la Figure 17. En tout état de cause, la distance Cu — O_p dans la coordination singulet *end-on* est assez sensible aux capacités de donation électronique du ligand. Cette constatation est surprenante dans la mesure où elle semble contredire la conclusion issue d'une étude théorique similaire portant sur un modèle de l'adduit neutre [Cu(Dk^{Me})O₂].^{34,41} Dans ce travail les auteurs font varier simultanément la charge sur les deux atomes d'azote du ligand bidentate Dk^{Me}. L'évolution de la distance O — O est similaire à notre étude, et les conclusions faites également. En revanche les auteurs constatent la relative constance de la distance Cu — O_p avec l'augmentation des capacités donneuses du ligand.

Cette contradiction apparente peut s'expliquer de plusieurs manières. La première est liée à la gamme de distances explorées par les études respectives. Dans la modélisation de l'adduit [Cu(Dk^{Me})O₂], la distance Cu — O_p varie certes dans le même domaine que la nôtre, mais pour des distances inter-oxygènes beaucoup plus grandes (de l'ordre de 1,4 Å environ). Le système présente ainsi un fort caractère peroxyde ($\{Cu(III)/O_2^{2-}\}$) tandis que le modèle [Cu(tren^{Me1})O₂]⁺ présente un caractère superoxyde ($\{Cu(II)/O_2^{\bullet}\}$) prédominant. Le comportement de la distance Cu — O pourrait être différent selon le domaine étudié.

Une seconde explication pourrait provenir du mode de coordination adopté par le système. Dans le cas des ligands Dk^R et Ai^R, il est connu que le dioxygène se lie dans un mode singulet *side-on* sur le complexe cuivreux précurseur.^{3,4} A l'inverse, seule la série *end-on* est étudiée pour l'adduit [Cu(tren^{Me1})O₂]⁺. L'examen de l'ensemble des distances Cu — O du Tableau 5 semble indiquer une plus grande dispersion des valeurs dans le cas de la coordination *end-on* et accredit ainsi l'hypothèse selon laquelle cette distance est davantage sensible à la nature du ligand chélatant dans le mode de coordination *end-on* que dans la coordination *side-on*. Il faut toutefois noter que la différence de dispersion des valeurs dans les deux approches demeure faible.

Le graphique de droite de la Figure 17 indique une relation presque linéaire entre la distance $O_d - O_p$ et la fréquence de vibration $\nu(O - O)$ et confirme la règle selon laquelle l'augmentation de la distance entraîne une diminution de la fréquence de vibration, en cohérence avec un affaiblissement de la liaison inter-oxygène.

De ces deux expériences numériques il a été possible de mettre en exergue le rôle de l'atome d'azote situé en position apicale dans l'amplitude du transfert de charge. Par ailleurs le graphique de droite de la Figure 17 laisse augurer la possibilité de relier précisément la fréquence de vibration à la distance $O_d - O_p$ et donc de franchir un cap dans l'utilisation de l'outil vibrationnel pour les adduits Cu/O_2 . Pour y parvenir nous revenons donc au jeu de tripodes étudié tout au long de ce Chapitre.

2. Construction d'abaques

a. Détermination d'un facteur d'échelle

Dans un souci de travailler avec des valeurs théoriques de vibration $\nu(O - O)$ directement comparables aux valeurs expérimentales, nous avons dans un premier temps déterminé un facteur d'échelle qui permette cette comparaison. Le complexe $[Cu(tren^{Me,Me})]^+$ a été utilisé pour caler les résultats théoriques sur les résultats expérimentaux. Ainsi, la fréquence de vibration $\nu(^{16}O - ^{16}O)_{th}$ a été calculée dans l'adduit triplet. Ensuite, le coefficient a été déterminé de manière à ce que la fréquence théorique corrigée corresponde à la valeur expérimentale (Relation 4).⁴²

$$\nu(^{16}O - ^{16}O)_{exp} = 0,87 \nu(^{16}O - ^{16}O)_{th}$$

Relation 4 : Facteur d'échelle reliant les fréquences de vibration $\nu(^{16}O - ^{16}O)$ théorique et expérimentale.

Ce facteur d'échelle obtenu dans un cas bien documenté est ensuite appliqué à l'ensemble des fréquences de vibration $\nu(^{16}O - ^{16}O)_{th}$ calculées dans ce travail. L'ensemble de ces résultats est reporté dans une table située en Annexe.[†]

[†] En plus des celles obtenues sur l'ensemble des complexes dérivés des ligands tripodes présentés ici, de nombreuses valeurs obtenues avec des jeux de ligands monodentates ont également été utilisées.

b. Relations avec les fréquences ...

La recherche d'une loi empirique reliant la distance inter-oxygène et la fréquence de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$ est motivée par l'allure du graphique de droite de la Figure 17. Une relation linéaire directe entre distance et fréquence peut être proposée (Relation 5) :

$$d(\text{O}-\text{O}) = A \cdot \nu(^{16}\text{O} - ^{16}\text{O}) + B$$

Relation 5 : Régression linéaire simple entre la distance internucléaire et la fréquence de vibration.

Les coefficients A et B peuvent être évalués au moyen d'une régression linéaire sur l'ensemble des valeurs théoriques reportées en Annexe. Le coefficient de corrélation r permet de juger de la qualité de la régression. Les coefficients A et B sont estimés respectivement à $3,84 \cdot 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{\AA}$ et $1,722 \text{ \AA}$ avec un coefficient r de 0,969. Ces valeurs sont proches de celle de l'étude publiée récemment par Cramer *et coll.* dans laquelle le coefficient s'élevait à 0,950.^{32,†} Il convient toutefois de remarquer que cette étude comportait un mélange de données théoriques et expérimentales et que les composés considérés n'appartenaient pas nécessairement à la même famille de composés chimiques. Par exemple, divers métaux comme le cuivre, le cobalt ou le lithium y étaient présents. Dans notre étude, au contraire, les données proviennent d'un ensemble homogène de complexes, ce qui peut expliquer ce meilleur coefficient de régression linéaire.

Alternativement à cette relation simple, la loi empirique de Badger introduite dans le premier Chapitre peut être utilisée (Relation 6).⁴³

$$d(\text{O}-\text{O}) = \frac{C}{\nu^{2/3}} + D$$

Relation 6 : Loi empirique de Badger.⁴³

Dans cette expression, ce sont les paramètres C et D qu'il convient de déterminer. Pour la même série de complexes, une régression linéaire évalue les paramètres C et D à $71,39 (\text{cm})^{3/2} \cdot \text{\AA}$ et $0,628 \text{ \AA}$ avec un coefficient de régression de 0,979. L'ajustement des paramètres est donc un peu meilleur avec la loi empirique de Badger. Ces valeurs sont par

[†] Les auteurs ne reportent pas les valeurs des coefficients A et B.

ailleurs assez proches de celle obtenues par Cramer *et coll.* (respectivement $70,7 \text{ (cm)}^{3/2} \cdot \text{\AA}$ et $0,671 \text{ \AA}$) sur l'ensemble de données expérimento-théoriques précédemment cité.^{32,41}

Il est cependant possible d'aller plus loin dans l'analyse des données théoriques dont la Figure 18 fournit une représentation graphique. Il semble en effet que l'ensemble des points puisse être partitionné en quatre sous-familles dont chacune correspond à la combinaison d'un mode de coordination et d'une multiplicité de spin. Sur chacune de ces quatre sous-familles une régression linéaire a donc été réalisée et donne lieu aux paramètres de régression regroupés dans le Tableau 8.

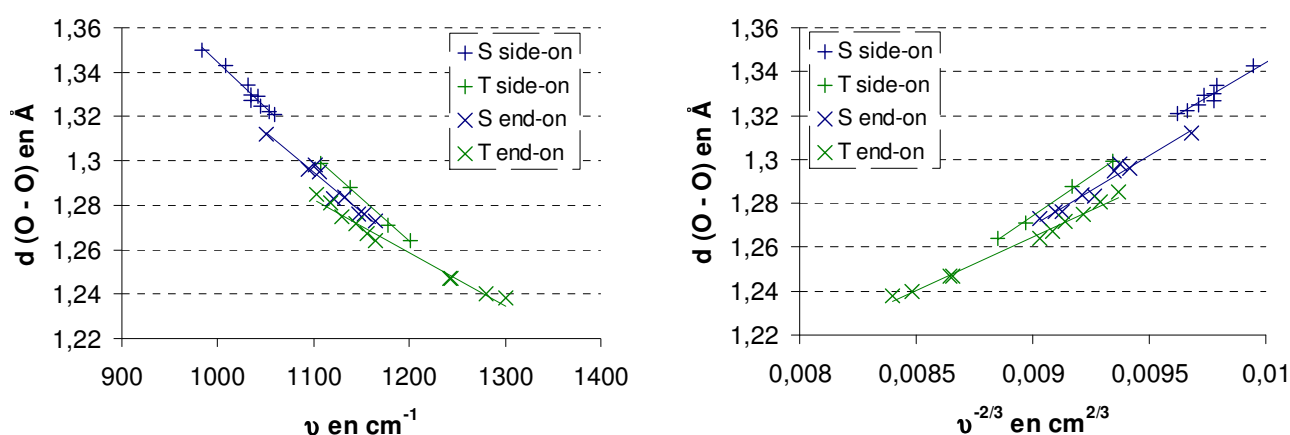


Figure 18 : Représentation graphique des Relations 5 et 6 à partir de l'ensemble des données théoriques obtenues dans ce travail.

	Loi empirique	A (cm.Å) / C ((cm) ^{3/2} .Å)	B (Å) / D (Å)	r
Triplet <i>end-on</i>	directe	$-2,4 \cdot 10^{-4}$	1,546	0,991
	Badger	48,78	0,826	0,995
Triplet <i>side-on</i>	directe	$-3,8 \cdot 10^{-4}$	1,723	0,998
	Badger	72,90	0,618	0,998
Singulet <i>end-on</i>	directe	$-3,6 \cdot 10^{-4}$	1,691	0,983
	Badger	64,02	0,694	0,982
Singulet <i>side-on</i>	directe	$-4,1 \cdot 10^{-4}$	1,749	0,981
	Badger	62,80	0,716	0,980

Tableau 8 : Paramètres des régressions linéaires par sous-groupes pour les deux lois empiriques considérées.

Dans tous les cas, on constate une meilleure qualité des régressions linéaires par rapport à la régression globale précédente puisque les coefficients sont toujours supérieurs à 0,98 pour les singulets et à 0,99 pour les triplets lorsque la régression linéaire globale conduisait à un facteur voisin de 0,96. La performance des deux lois empiriques est comparable et il n'est pas possible de trancher en faveur de l'utilisation de l'une ou de l'autre au seul regard du coefficient de corrélation r .

Outre l'amélioration de l'acuité des régressions linéaires, la partition en sous-ensembles permet de définir des gammes de fréquences de vibration. Ce faisant, le graphique devient un outil permettant de distinguer les modes de coordination à partir de la seule fréquence de vibration. En effet, les fréquences basses, inférieures à $1\,075\text{ cm}^{-1}$, sont associées à des coordinations singulet *side-on*. A l'opposé, les fréquences supérieures à $1\,250\text{ cm}^{-1}$ correspondent davantage à des coordinations triplet *end-on*. Entre ces deux valeurs limites, les singulets *side-on* semblent exclus mais les trois autres coordinations restent possibles. Dans le cas de l'utilisation de ces abaques en complément de mesures expérimentales, une seconde donnée expérimentale est nécessaire telle que l'état de spin (RPE, RMN ou magnétochimie) ou le mode de coordination (structure cristallographique, EXAFS) pour prévoir la distance $d(\text{O} - \text{O})$ ou la fréquence de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$.

c. ... et avec les charges

Un travail similaire peut être engagé avec les charges NPA $q(\text{O}_2)$ calculées sur le dioxygène. Dans ce cas, seule une forme directement proportionnelle entre $q(\text{O}_2)$ et la fréquence de vibration a été recherchée. Une régression linéaire conduit à la Relation 7 avec un facteur r de 0,967. La tendance qui avait été observée avec la distance est de nouveau mise en évidence et la partition en quatre sous-ensembles permet d'améliorer les coefficients de régression linéaire (Tableau 9).

$$q(\text{O}_2) = 1,87 \cdot 10^{-3} \cdot \nu(^{16}\text{O} - ^{16}\text{O}) + 0,93 \quad r = 0,967$$

Relation 7 : Expression liant la charge NPA sur O_2 à la fréquence de vibration.

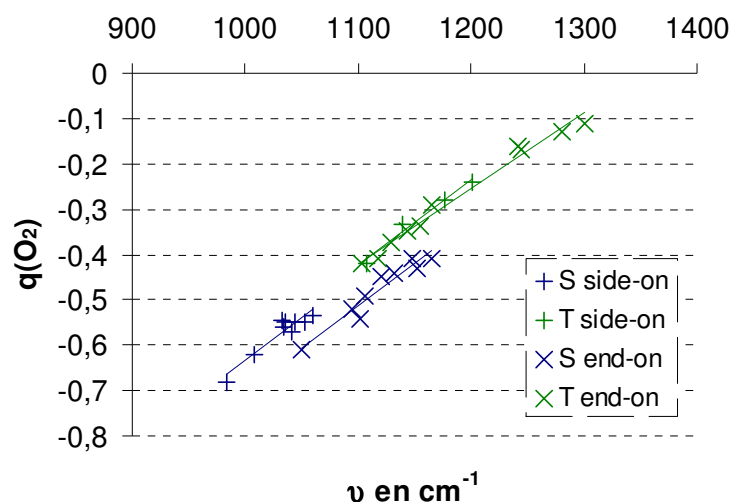


Figure 19 : Evolution de la charge sur O₂ en fonction de la fréquence de vibration ν (O — O).

	m	b	r
Triplet <i>end-on</i>	$1,67 \cdot 10^{-3}$	-2,26	0,991
Triplet <i>side-on</i>	$1,86 \cdot 10^{-3}$	-2,47	0,989
Singulet <i>end-on</i>	$1,85 \cdot 10^{-3}$	-2,55	0,964
Singulet <i>side-on</i>	$1,88 \cdot 10^{-3}$	-2,52	0,939

Tableau 9 : Paramètres des régressions linéaires pour la relation $q(\text{O}_2) = m \cdot \nu(^{16}\text{O} - ^{16}\text{O}) + b$.

La Figure 19 permet de discuter l'amplitude du transfert de charge en fonction de la coordination du dioxygène. Pour un même mode de coordination, le transfert de charge du cuivre vers le dioxygène augmente dans l'état de spin singulet en comparaison de l'état triplet. De même, à état de spin donné, la coordination *side-on* permet un plus grand transfert de charge vers le dioxygène que le mode *end-on*. La conjugaison de ces deux tendances conduit donc à rechercher les coordinations singulet *side-on* pour parvenir aux transferts de charges de plus grande amplitude. Dans les adduits considérés dans ce travail c'est par exemple le cas pour les adduits obtenus avec les ligands $\text{Tp}^{\text{H,H}}$ et PN_3 pour lesquels des longueurs de liaison O — O fortement allongées sont observées (resp. 1,343 et 1,350 Å).

Le graphique de la Figure 19 permet en outre de préciser le rôle des différents facteurs. Puisque les points théoriques se regroupent davantage par couleur (verts et bleus séparés) que par motifs (croix horizontales et obliques mélangées), il semble que l'état de spin prime sur le mode de coordination pour imposer l'amplitude du transfert de charge.

3. Des outils prédictifs

a. Validation

Les tendances dégagées dans les paragraphes précédents sont pleinement validées par divers exemples expérimentaux. Le premier d'entre eux est le complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{iPr,Ada}})\text{O}_2]$ dans lequel la liaison $\text{O} - \text{O}$ vibre à une fréquence de $1\,045\text{ cm}^{-1}$.¹² Il est connu que ce complexe est dans un état singulet de spin grâce à des mesures de magnétochimie.¹² Ces deux éléments conduisent alors à privilégier une coordination *side-on*, comme cela a été confirmé au moyen de calculs théoriques.¹²

Une autre vérification est fournie par les complexes synthétisés avec les ligands anioniques Dk^{R} ($\text{R} = \text{iBu}$ ou Me) et Ak^{Me} . Les adduits engendrés par ces systèmes sont singulets (RPE) et caractérisés expérimentalement par des fréquences de 961, 968 et 974 cm^{-1} .^{3,4} De nouveau, les règles précédentes conduisent à proposer des coordination *side-on* qui ont été vérifiées à partir de mesures cristallographiques.

b. Application

b.1. Réinterprétation de l'adduit historique de Kitajima

Avec ce nouvel outil en main, il semble pertinent de reconsidérer les données expérimentales du complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{iPr,iBu}})\text{O}_2]$. En phase liquide, une fréquence de vibration de $1\,112\text{ cm}^{-1}$ a été reportée, et l'état de spin, singulet, a été déduit d'expériences RMN.² A partir de ces éléments, nous pouvons déduire des abaques précédents que le dioxygène est lié dans une approche *end-on* dans ce complexe avec une distance $\text{O}_\text{d} - \text{O}_\text{p}$ de $1,29\text{ Å}$ (application de la loi de Badger). Cette distance est assez éloignée de la valeur expérimentale initialement reportée ($1,22\text{ Å}$) et qui était issue d'une structure cristallographique.² Une telle distance aurait dû donner lieu à une fréquence de plus de $1\,340\text{ cm}^{-1}$. Il apparaît donc que les données expérimentales entre les phases solide et liquide ne sont pas compatibles. Une explication a été proposée en faisant appel aux possibles mouvements de libration du dioxygène dans la phase solide.³²

Une explication alternative pourrait donc provenir de la sensibilité du mode de coordination à l'environnement immédiat du dioxygène. Ainsi la cristallisation pourrait impliquer un changement du mode de coordination. Ce phénomène pourrait être déterminant pour des complexes précurseurs dont la géométrie peut accommoder les deux modes de coordination. A titre d'illustration, il est intéressant de mentionner le rôle des substituants avec le ligand $\text{Tp}^{\text{R,R'}}$. Le complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{iPr,Ada}})\text{O}_2]$ coordine O_2 en *side-on* ($\nu = 1\,043\text{ cm}^{-1}$)¹² tandis que le complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{iPr,iBu}})\text{O}_2]$ lie O_2 en *end-on* ($\nu = 1\,112\text{ cm}^{-1}$).²

b.2. Un outil prédictif performant

Si les fréquences de vibration sont presque toujours reportées dans les études expérimentales, il n'en va pas de même des structures cristallographiques qui se révèlent parfois très délicates à réaliser expérimentalement. Dans ces conditions, l'utilisation des abaques proposés dans ce travail pourraient constituer un outil d'évaluation indirecte des distances O — O à partir des fréquences de vibration reportées expérimentalement. Pour illustrer cette proposition, nous l'appliquons aux adduits expérimentaux pour lesquels sont reportée la fréquence $\nu(\text{O} - \text{O})$. Pour cela, le mode de coordination du dioxygène dans l'adduit considéré doit être connu (Tableau 10).

Dans le Tableau 10, les informations structurales sont écrites en gras lorsqu'elles sont directement déduites de l'expérience et sont soulignées lorsqu'elles proviennent d'analogies avec des complexes connus par ailleurs. L'application de la loi de Badger permet la comparaison de la distance $d(\text{O} - \text{O})_{\text{Badger}}$ avec la mesure expérimentale $d(\text{O} - \text{O})_{\text{exp}}$ ou dans certains cas avec la distance $d(\text{O} - \text{O})_{\text{th}}$ issue de modélisations théoriques.

Il est important de remarquer que bien que déterminés à partir de calculs de chimie théoriques, les paramètres des régressions linéaires s'affranchissent en partie des problèmes de modélisation, comme la simplification des modèles ou la non prise en compte des effets de solvation. Nous entendons par là que l'estimation de la distance $d(\text{O} - \text{O})_{\text{Badger}}$ est bien celle correspondant au complexe expérimental puisqu'elle est déduite de la fréquence de vibration expérimentale. Cela vient de l'utilisation d'un facteur d'échelle correctif dans nos calculs.

Complexe	coordination	$\nu(\text{O} - \text{O})_{\text{exp.}}$	$d(\text{O} - \text{O})_{\text{exp.}}$	$d(\text{O} - \text{O})_{\text{th.}}$	$d(\text{O} - \text{O})_{\text{Badger.}}$
$[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Pr, tBu}})\text{O}_2]$	N ₃ S² <u>end-on</u>	1112 ²	1,22 ²	-	1,290
$[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Pr, Ada}})\text{O}_2]$	N ₃ S¹² <u>side-on</u>	1045 ¹²	-	1,356 ¹²	1,327
$[\text{Cu}(\text{Dk}^{\text{tBu}})\text{O}_2]$	N ₂ S⁴⁴ <u>side-on</u>	961 ⁴⁴	1,44 ³	1,376 ³	1,361
$[\text{Cu}(\text{Dk}^{\text{Me}})\text{O}_2]$	N ₂ S⁴⁴ <u>side-on</u>	968 ⁴⁴	-	-	1,361
$[\text{Cu}(\text{Ai}^{\text{Me}})\text{O}_2]$	N ₂ S⁴ <u>side-on</u>⁴	974 ⁴	1,392 ⁴	1,358 ⁴	1,355
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{TMG}})\text{O}_2]^+$	N ₄ I <u>end-on</u>³⁰	1117 ³¹	1,280 ³⁰	1,322 ³¹	1,279
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me, Bn}})\text{O}_2]^+$	N ₄ I <u>end-on</u>	1120 ⁴⁵	-	-	1,278
$[\text{Cu}(\text{TACN}^{\text{PhOH}})\text{O}_2]^+$	N ₄ <u>end-on</u>	1121 ⁴⁶	-	T : 1,297, S : 1,308 ³⁵	T : 1,278, S : 1,287
$[\text{Cu}(\text{TPMA}^{\text{NMe2}})\text{O}_2]^+$	N ₄ S⁴⁷ <u>end-on</u>⁴⁷	1121 ⁴⁷	-	-	1,287

Tableau 10 : Application de la loi de Badger aux adduits dont la fréquence expérimentale $\nu(\text{O} - \text{O})$ est connue. En gras : données issues directement de l'expérience. Soulignées : données déduites d'analogies avec des complexes connus par ailleurs.

Outre le cas du ligand historique de Kitajima qui vient d'être discuté, les deux ligands anioniques Dk^{R} et Ai^{Me} illustrent de nouveau l'utilité des abaques. Pour les deux adduits, les mesures expérimentales ont permis la mesure des fréquences de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$ et la détermination des états de spin des adduits par spectroscopie RPE, tous les deux singulets. Les valeurs de distance fournies par application de la loi de Badger sont en bon accord avec les modélisations théoriques. De surcroît, avec le ligand Dk^{Me} , la valeur empirique (1,361 Å) est plus proche de celle fournie par une modélisation théorique (1,376 Å) que de la mesure expérimentale (1,44 Å). Les auteurs de cette étude conjointe expérience-théorie ont d'ailleurs mis en doute la pertinence de la mesure expérimentale en raison de l'important désordre cristallographique de l'échantillon.³ Pour la seconde fois, il apparaît que, connaissant la fréquence de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$, l'application de la loi de Badger permet une meilleure estimation de la distance $d(\text{O} - \text{O})$ que la mesure expérimentale. En outre, cette approche empirique ne nécessite pas de recourir à une modélisation théorique, laquelle est souvent faite sur une version simplifiée du modèle expérimental pour des questions de coût de calcul.

Citons ensuite le complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{TMG}})\text{O}_2]^+$ pour lequel une fréquence de $1\,122\text{ cm}^{-1}$ a été mesurée. Appartenant à la famille tren, un état fondamental triplet est déduit par analogie de structure avec le ligand $\text{tren}^{\text{H,Me}}$. L'application de la loi de Badger conduit à évaluer la distance $\text{O} - \text{O}$ à 1,279 Å, ce qui est en bon accord avec la valeur de 1,280 Å mesurée dans le cristal.³⁰ Dans cet exemple, on constate un meilleur accord avec l'expérience que l'évaluation théorique de 1,322 Å proposée par les auteurs.³¹

La même démarche peut être appliquée au complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me,Bn}})\text{O}_2]^+$ analogue structural de l'adduit $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,Me}})\text{O}_2]^+$ pour lequel seule la fréquence de vibration est connue. L'application de la loi de Badger fournit une valeur de 1,278 Å. A ce jour aucune structure cristallographique n'a été reportée pour ce complexe.⁴⁵

Dans le cas du ligand $\text{TMPA}^{\text{NMe}_2}$, une structure singulet *end-on* a été mise en évidence à partir d'expériences RPE et RAMAN.⁴⁷ Une distance inter-oxygène de 1,287 Å est alors prédite par application de la loi de Badger. Il est intéressant de remarquer que, bien que structuellement proche des ligands tren pour lesquels une coordination triplet est retenue, l'adduit dérivé du ligand TMPA est singulet de spin.⁴⁷ Cette différence traduit certainement la proximité énergétique des deux états de spin si bien que le spin de l'adduit expérimental est susceptible d'être très sensible aux effets d'environnement.

C. Des règles générales

Dans cette partie nous avons donc examiné en détail le phénomène de coordination du dioxygène sur les complexes tripodes cuivreux en termes géométriques. L'étude d'une série homogène a permis d'extraire des règles empiriques gouvernant le mode de coordination du dioxygène en fonction de la géométrie du complexe précurseur. A ce titre il est apparu que la pyramidalisation du cuivre par rapport à ses atomes coordinants joue un rôle clé dans l'orientation *side-on* vs. *end-on*. Dans un second temps un approfondissement des liens entre les différents paramètres caractérisant le transfert de charge du cuivre vers le dioxygène les a transformées en des outils prédictifs capables de seconder efficacement les données expérimentales. De nombreux exemples d'application ont été donnés à cet effet.

Il est amusant de remarquer l'absence de considérations énergétiques dans l'ensemble de ces discussions ; et pour cause, elles ne sont pas apparues comme nécessaires pour dégager les tendances précédemment évoquées. En fait l'examen de ces données est important et complémentaire, et c'est à ce titre qu'elles sont traitées dans la partie suivante.

III. Cu/O₂ : DES ESPECES "SINGULETS COUCHES OUVERTES"

La notion d'activation du dioxygène a été présentée dans le premier Chapitre comme la capacité du centre métallique à rendre le dioxygène réactif pour des réactions d'oxydation. En effet, l'expérience quotidienne montre que la réduction à quatre électrons du dioxygène, si elle est thermodynamiquement favorable n'en reste pas moins cinétiquement lente. Cette lenteur, relative à l'échelle humaine, est heureuse car, dans le cas contraire, cet oxydant puissant ne permettrait pas la vie dans la forme que nous connaissons. Pour utiliser cet élément à des fins oxydatives, les systèmes biologiques utilisent des catalyseurs parmi lesquels les enzymes à cuivre.^{48,49}

L'une des origines physico-chimiques de la lenteur de la réduction du dioxygène tient dans l'état de spin fondamental triplet du dioxygène libre.^{50,51} Puisque les produits organiques sont généralement dans des états de spin singulets, il est nécessaire de procéder au basculement du spin $\alpha \rightarrow \beta$ de l'un des électrons du dioxygène triplet. Cette transformation physique est formellement interdite par les règles de la mécanique quantique, ce qui constitue l'une des origines de la lenteur de la réaction de réduction du dioxygène. Il est souvent considéré que le rôle des centres enzymatiques est de catalyser cette

transformation. Dans le cas de la PHM, cette transition pourrait survenir si la coordination du dioxygène dans un état singulet était plus favorable que dans l'état triplet. Dans cette perspective on conçoit toute l'importance que revêt l'évaluation des écarts énergétiques singulet triplet $\Delta_{S/T}$ dans les adduits Cu/O₂.

A. L'approche SF : une alternative prometteuse

1. De la nécessité de dépasser les approches BS et CASMP2

Le traitement énergétique des adduits Cu_n/O₂ constitue un défi majeur pour le chimiste quanticien en raison du caractère multiconfigurationnel des fonctions d'ondes qui leur sont associées.^{34,52} Dans le cas des adduits Cu/O₂ le caractère biradicalaire de ces espèces a ainsi conduit à l'utilisation de diverses méthodes : principalement symétrie brisée (*broken symmetry*, BS)^{12,35,34,53} ou CASPT2.^{4,54,55,56}

Il s'est néanmoins avéré dans le cas particulier des adduits mononucléaires que l'approche BS ne permettait pas d'obtenir des énergies fiables et donc les écarts $\Delta_{S/T}$. D'un autre côté, il est bien connu que le recours aux méthodes de type CASPT2 est très coûteux en temps de calcul et doit être restreint aux cas ne pouvant être traités autrement. A cela s'ajoute la difficulté de leur mise en pratique résultant par exemple du contrôle rigoureux des espaces actifs lors des cycles d'optimisation de la fonction d'onde. La prise en compte de la corrélation des paires libres du dioxygène est par exemple un aspect particulièrement délicat à traiter.⁵⁷ Ces raisons font que les systèmes modèles étudiés sont simplifiés drastiquement pour rendre les calculs faisables. Dans ce cas se pose la question de l'influence des simplifications structurales opérées sur les valeurs des observables calculées. A titre d'exemple il a été montré que la substitution des cycles imidazoles (modèles de chaîne latérales de résidus histidine) par des groupements NH₃ pouvait conduire à de sérieux artefacts dans la distribution électronique en raison de la différence de nature chimique des ligands (resp. σ -donneur, π -accepteur vs. σ -donneur pur).⁵⁸ Il apparaît au final qu'une méthode alternative permettant une évaluation fiable des écarts adiabatiques $\Delta_{S/T}$ sur des systèmes de taille chimiquement représentative serait bienvenue.

2. Alternatives Spin-Flippantes

Ce besoin d'une méthode alternative nous a conduits à considérer la méthode Spin-Flip proposée récemment par Krylov *et coll.*^{59,60} Cette méthode part d'une considération simple : supposant que la fonction d'onde de l'état triplet est bien calculée en raison de son

caractère monoconfigurationnel, elle peut servir de référence pour obtenir par excitation électronique les fonctions d'ondes de l'état singulet. Ainsi les énergies des états excités triplet (composante $M_s = 0$) et singulet (couche fermée ou ouverte) sont obtenues par excitation d'un électron α dans une orbitale vacante accompagnée d'une inversion de spin $\alpha \rightarrow \beta$. Une description détaillée de cette approche peut être trouvée dans la référence 61.

Initialement implémentée dans le cadre Hartree-Fock (SF-CIS),⁶² la méthode a été prolongée dans le cadre de la DFT dépendante du temps (SF-DFT) et a été employée avec succès dans le traitement de polyradicaux organiques.⁶³ Elle a ensuite été généralisée par Ziegler *et coll.*⁶⁴ En revanche elle n'a jamais fait l'objet à notre connaissance d'applications à des complexes Cu/O₂. Nous avons dans un premier temps effectué une série de tests pour nous assurer de son applicabilité aux adduits mononucléaires. Le logiciel QCHEM a été utilisé pour réaliser ces calculs.⁶⁵

Cette étude théorique a fait l'objet d'une publication au *Journal of Chemical Physics* (**2007**, 128, 035102) reproduite en fin de chapitre.[†] Les principales conclusions de ce travail de validation peuvent être résumées en quatre points :

1- Pourvu que soient utilisées les fonctionnelles hybrides courantes (B3LYP ou B3PW91 par exemple), l'approche SF-DFT fournit des énergies comparables aux valeurs de références expérimentales ou théoriques obtenues au niveau CASPT2.

2- Des optimisations de géométrie incorporant une partie des effets de corrélation dynamique et statique sont possibles dans l'approche SF-DFT.

3- Les géométries des adduits optimisés au niveau DFT dans un cadre standard constituent une excellente approximation des géométries obtenues dans le cadre SF-DFT. Ce dernier point rejoint une conclusion établie précédemment à partir de calculs CASSCF⁴

4- Le troisième point justifie *a posteriori* l'emploi dans ce travail de l'approche DFT dans un formalisme restreint pour optimiser les adduits Cu/O₂, cela en dépit de leur caractère biradicalaire.

B. Applications

1. Ecart singulet-triplet

La méthode Spin-Flip a été employée pour évaluer les écarts adiabatiques singulet-triplet $\Delta_{S/T}$ associés aux adduits obtenus dans ce travail (Tableau 11). Pour chacun des ligands, l'adduit triplet est pris comme référence énergétique.

[†] Ce travail a également été sélectionné pour une publication dans le *Virtual Journal of Biological and Physical Research* (**2007**, 3, 3).

	[Cu(tren ^{H,H})O ₂] ⁺			[Cu(tren ^{H,Me})O ₂] ⁺			[Cu(NN ₃)O ₂] ⁺	
	<i>end-on S</i>	<i>side-on S</i>	<i>end-on T</i>	<i>end-on S</i>	<i>side-on S</i>	<i>end-on T</i>	<i>end-on S</i>	<i>end-on T</i>
Δ _{S/T}	8,83	11,4	0,0	8,21	13,27	0,0	6,87	0,0
q(O ₂)	-0,49	-0,54	-0,35	-0,52	-0,55	-0,38	-0,44	-0,17
	[Cu(PN ₃)O ₂] ⁺			[Cu(Tim ^{H,H})O ₂] ⁺		[Cu(Tp ^{H,H})O ₂]		
	<i>end-on S</i>	<i>side-on S</i>	<i>end-on T</i>	<i>side-on S</i>	<i>side-on T</i>	<i>side-on S</i>	<i>side-on T</i>	
Δ _{S/T}	7,83	6,27	0,0	-2,44	0	-4,37	0	
q(O ₂)	-0,61	-0,68	-0,41	-0,54	-0,33	-0,62	-0,42	

Tableau 11 : Ecarts adiabatiques singulet-triplet $\Delta_{S/T}$ (kcal.mol⁻¹) évalués par la méthode SF-B3LYP, et charges NPA sur le dioxygène.

L'examen des écarts énergétiques conduit à scinder les complexes en deux groupes selon que l'état de spin du complexe fondamental est singulet ou triplet.

D'un côté les adduits [Cu(tren^{H,H})O₂]⁺, [Cu(tren^{H,Me})O₂]⁺, [Cu(NN₃)O₂]⁺ et [Cu(PN₃)O₂]⁺, tous de type XN₃, constituent une première famille pour laquelle l'état triplet est trouvé plus stable. Il semble donc que les adduits obtenus avec ces tripodes ne permettent pas l'activation du dioxygène. A l'intérieur de cette famille des variations de l'écart $\Delta_{S/T}$ sont tout de même observées. Alors que celui-ci avoisine 9 kcal.mol⁻¹ pour le ligand tren^{H,H}, il est réduit à 6,3 kcal.mol⁻¹ avec le ligand PN₃.

D'un point de vue expérimental, le complexe [Cu(TMPA^{NMe2})O₂]⁺ est le seul adduit issu d'un ligand tétradentate pour lequel l'état de spin (singulet) a été déterminé.⁴⁷ Cette donnée indique donc la possibilité d'activer le dioxygène avec ce type de ligand chélatant. Il est donc probable que les effets d'environnement, non pris en compte dans nos calculs en phase gazeuse aient une influence forte sur les écarts singulet-triplet.

Par ailleurs il est intéressant de remarquer l'ordre énergétique des adduits singulets *side-on* et *end-on* selon le tripode considéré. Avec les ligands tren^{H,R} la forme *side-on* est trouvée plus haute en énergie (~4 kcal.mol⁻¹) tandis que la situation inverse est observée avec le ligand PN₃ (1,6 kcal.mol⁻¹). En réalité il n'est pas aisé de proposer une rationalisation du comportement de l'écart énergétique en fonction de la nature du ligand en présence.

La seconde catégorie comprend les adduits issus des ligands $\text{Tp}^{\text{H,H}}$ et $\text{Tim}^{\text{H,H}}$, tous deux de type N_3 . Les formes singlets apparaissent dans les deux cas énergétiquement plus basses que les formes triplets correspondantes.

Il est tentant de rechercher un rapprochement entre l'amplitude du transfert de charge vers le dioxygène et l'écart singulet-triplet. Plusieurs informations pourraient laisser apparaître en filigrane l'existence de ce type de relation. Par exemple si nous comparons les valeurs de $\Delta_{\text{S/T}}$ obtenues pour les deux ligands N_3 , il ressort que l'adduit singulet est plus stabilisé dans le complexe $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{H,H}})\text{O}_2]$ ($\Delta_{\text{S/T}} = -4,37 \text{ kcal.mol}^{-1}$) que dans le complexe $[\text{Cu}(\text{Tim}^{\text{H,H}})\text{O}_2]$ ($\Delta_{\text{S/T}} = -2,44 \text{ kcal.mol}^{-1}$), cette tendance allant dans le même sens que la charge NPA sur le dioxygène (-0,62 contre -0,52 e).

Avec le ligand PN_3 qui induit de plus forts transferts de charges ($q(\text{O}_2) \approx -0,65$) que les ligands $\text{tren}^{\text{H,R}}$ ($q(\text{O}_2) \approx -0,5$), l'écart énergétique entre l'adduit triplet et les adduits singlet est réduit en comparaison des adduits issus des complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,R}})]^+$.

Toutefois le tracé de l'écart énergétique $\Delta_{\text{S/T}}$ en fonction du transfert de charge, rapporté au transfert calculé dans l'adduit triplet révèle l'absence de corrélation (Figure 20) : un nuage de points est obtenu. A titre d'exemple, alors que de très forts transferts de charges ($\Delta q(\text{O}_2) \approx -0,3 \text{ e}$) ne permettent pas d'obtenir une forme singulet fondamentale ($\Delta_{\text{S/T}} > 0$), de plus modestes transferts ($\Delta q(\text{O}_2) \approx -0,2 \text{ e}$) le permettent.

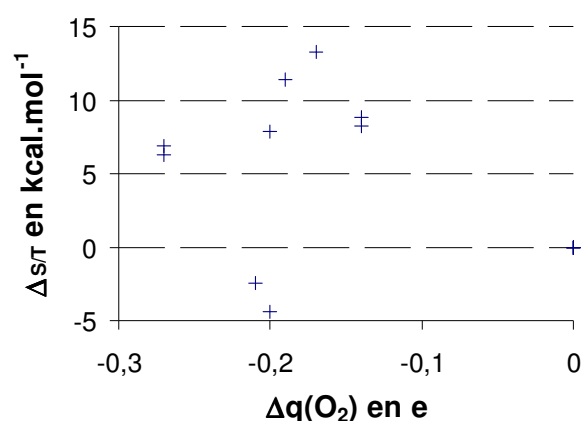


Figure 20 : Absence de corrélation entre écart singulet-triplet et charge sur le dioxygène. $\Delta q(\text{O}_2)$ est défini comme la différence de charge sur O_2 entre les formes singulet et triplet.

Néanmoins cette absence de corrélation apparente ne doit pas annihiler toute tentative de rationalisation des écarts singulet-triplet en fonction des transferts de charge. En

effet il se peut que la non-linéarité des points constatée sur la Figure 20 résulte de la superposition de plusieurs effets contraires. Pour éprouver cette hypothèse, la poursuite des expériences numériques de variation de charge nucléaire fictive entamée dans la seconde partie de ce Chapitre peut constituer un premier pas vers une possible rationalisation.

2. Reprise des expériences numériques

Nous avons donc poursuivi les expériences de variation de charge nucléaire de l'atome d'azote apical dans le complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})\text{O}_2]^+$ (singulet *end-on*) en évaluant l'écart énergétique vertical à l'aide de la méthode Spin Flip.

La Figure 21 indique que l'écart vertical singulet-triplet diminue avec l'augmentation de la distance inter-oxygène, c'est-à-dire avec l'augmentation du caractère superoxyde de l'adduit. Ainsi il apparaît que l'augmentation du transfert de charge vers le dioxygène permet une plus grande stabilisation de l'adduit singulet par rapport à l'état triplet. Cette tendance est de nouveau rationalisable à l'aide du diagramme orbitalaire associé à cette coordination (Figure 15).

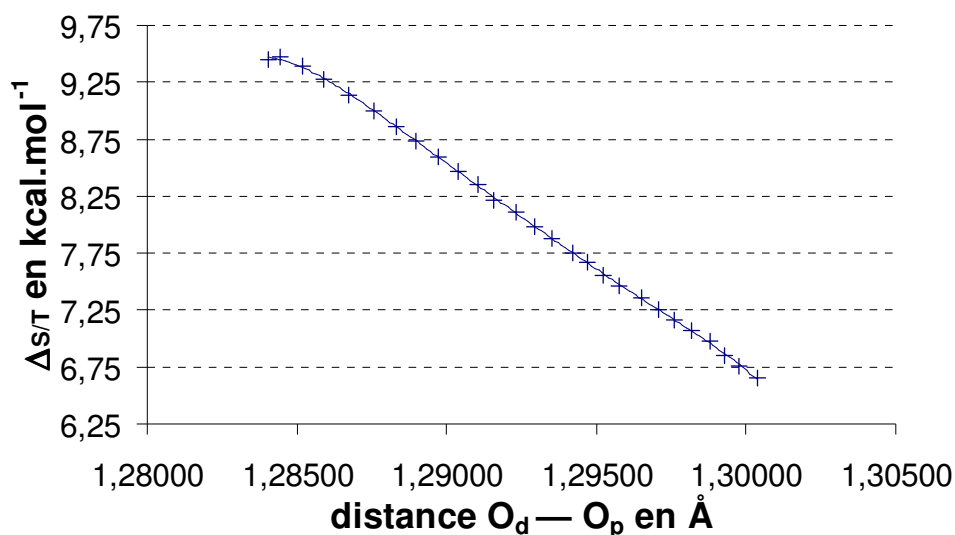


Figure 21 : Ecart vertical Δ_{sT} avec l'augmentation du caractère superoxyde.

Les configurations électroniques des états triplet et singlet sont respectivement $(1)^2(2)^2(3)^1(4)^1$ et $(1)^2(2)^2(3)^2(4)^0$.[†] La différence d'énergie entre les deux formes doit provenir de la position énergétique relatives des orbitales moléculaires **3** et **4** qui sont les seules dont le nombre d'occupation varie en fonction de l'état de spin de l'adduit. Lors de la variation de charge nucléaire de l'atome d'azote apical, il y a variation du niveau énergétique de l'orbitale **4** tandis que l'orbitale **3** reste inchangée. Pour une augmentation de l'interaction cuivre-atome apical, il y a déstabilisation de l'orbitale **4** (p.111). Puisque seul l'état triplet fait intervenir le peuplement de cette orbitale il résulte de cet effet une déstabilisation de l'état triplet et une diminution de l'écart singlet-triplet. Comme par ailleurs l'augmentation de l'interaction cuivre-atome apical implique l'affaiblissement de la liaison O—O, nous retrouvons la tendance de la Figure 21. *Plus le transfert de charge est élevé, meilleure est la stabilisation de l'adduit singlet par rapport à l'adduit triplet.*

Contrairement au graphique de la Figure 20 une tendance presque linéaire a pu être identifiée dans le cas spécifique de la coordination singlet *end-on* de l'adduit $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me}1})]^+$. Ce résultat confirme donc l'hypothèse que nous avons suggérée selon laquelle il existe un lien entre transfert de charge et écart singlet-triplet. Il apparaît néanmoins que cette relation de cause à effet dépend de nombreux paramètres comme le mode de coordination ou encore la nature chimique des atomes coordonnant ...

L'étape suivante de cette ébauche d'analyse consisterait donc à identifier et analyser les différents facteurs qui ont une incidence sur $\Delta_{\text{S/T}}$. Il semble par exemple au vu de la Figure 21 que l'obtention d'un état singlet comme état fondamental pour les ligands de type XN_3 nécessite de forts transferts de charge puisque même pour $d(\text{O}—\text{O}) = 1,30 \text{ \AA}$, l'écart vertical avoisine $6,75 \text{ kcal.mol}^{-1}$ en faveur du triplet. A l'inverse nous avons constaté que dans la famille des adduits *side-on*, pour un transfert de charge similaire, les états singlets étaient favorisés.

Après avoir traité de l'aspect compétitif entre les formes singlet et triplet de la coordination du dioxygène, nous nous intéressons dans les paragraphes suivants à la compétition entre différents ligands, à savoir O_2 et l'acétonitrile qui est souvent le solvant expérimental.

[†] Ce raisonnement est simplificateur car nous ne prenons pas en compte le caractère couche ouverte du singlet. En réalité, le déterminant "couche fermée" étant largement majoritaire (~90%) cette simplification semble raisonnable.

3. L'acétonitrile déplacé ?

a. Problématique et protocole de calcul

La question de l'évaluation du bilan énergétique de la coordination du dioxygène sur les complexes cuivreux est un point important de cette étude. En effet durant la première partie de ce Chapitre, nous avons montré que la fixation de divers ligands sur le métal pouvait être obtenue avec des bilans énergétiques favorables. De ce fait, et selon le bilan d'interaction obtenu avec le dioxygène, il pourrait y avoir compétition entre différents ligands.

Pour tenter de répondre à cette problématique nous avons procédé au calcul du bilan énergétique de la réaction dont l'équation-bilan est donnée sur la Figure 22. Il s'agit de l'équilibre de déplacement de l'acétonitrile par le dioxygène. Pour un tripode donné il convient de ne considérer que l'adduit dioxygéné le plus stable, qu'il soit singulet ou triplet.

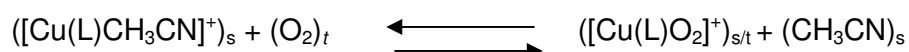


Figure 22 : Bilan énergétique du déplacement O₂ vs. CH₃CN. L désigne le ligand tripode chélatant le métal.

Par conséquent, la détermination rigoureuse des énergies nécessaires pour calculer ce bilan énergétique requiert l'emploi de la méthode SF pour traiter tous les composés. Cependant, les tests effectués au laboratoire ainsi que dans les groupes dont est issue la méthode SF indiquent son échec dans le traitement de petites molécules telles que O₂.^{63,†} En raison de cette impossibilité le calcul du bilan énergétique par la méthode SF-DFT n'est pas possible.

Pour contourner cette difficulté, le bilan énergétique de la Figure 22 est évalué grâce aux énergies fournies par un calcul classique DFT dans le cas de la formation de l'adduit dans l'état triplet (ΔE_t). Le caractère monoconfigurationnel des adduits triplets assure que le bilan ainsi calculé est fiable. Dans le cas où le calcul SF-DFT, précédemment réalisé, indique un état fondamental singulet le bilan énergétique ΔE_t est corrigé de la valeur $\Delta_{S/T}$ obtenue précédemment pour conduire au bilan énergétique corrigé ΔE_{corr} .

[†] De l'aveu des auteurs de la méthode SF-DFT, l'origine de l'incapacité de la méthode à traiter de petites molécules (O₂, N₂, CO ...) reste obscure.⁶³

b. Le tout dans un "mouchoir de poche"

Complexe précurseur	ΔE_t	$\Delta_{S/T}$	ΔE_{corr}
[Cu(tren ^{H,H})] ⁺	1,56	--	1,56
[Cu(tren ^{H,Me})] ⁺	-0,98	--	-0,98
[Cu(PN ₃)] ⁺	0,10	--	0,10
[Cu(NN ₃)] ⁺	2,99	--	2,99
[Cu(Tim ^{H,H})] ⁺	12,93	-2,44	10,49
[Cu(Tp ^{H,H})] ⁺	0,71	-4,37	-3,66

Tableau 12 : Déplacement de l'acétonitrile par le dioxygène. Les énergies sont en kcal.mol⁻¹.

Les données du Tableau 12 sont intéressantes à plusieurs titres. Si nous considérons dans un premier temps les ligands de type XN₃, le calcul SF indique un état de spin triplet fondamental pour les adduits oxygénés engendrés. Les bilans énergétiques sont tous compris dans un intervalle allant de -1 à +3 kcal.mol⁻¹, indiquant de fait une forte compétition entre le dioxygène et l'acétonitrile. La substitution de trois atomes d'hydrogène sur le ligand tren^{H,H} par trois groupements méthyles permet une amélioration du bilan énergétique en faveur de la coordination du dioxygène par 2,5 kcal.mol⁻¹.

Entre ces calculs en phase gazeuse et les systèmes réels, que les tripodes soient greffés ou non sur des calixarènes, il est donc difficile de prévoir le comportement expérimental de ces ligands.

Concernant les deux ligands N₃ la situation est contrastée : dans les deux cas l'état fondamental est singulet mais le bilan énergétique est largement positif avec le ligand Tim^{H,H} (10,5 kcal.mol⁻¹) et négatif avec le ligand Tp^{H,H} (-3,66 kcal.mol⁻¹).

C. Conclusions

Dans cette partie nous nous sommes intéressés à la caractérisation énergétique des adduits mononucléaires Cu/O₂ grâce à l'introduction de la méthode Spin-Flip DFT qui n'avait pas été appliquée à ce jour à de tels systèmes. Grâce à ce nouvel outil méthodologique nous avons mis en évidence la sensibilité de l'écart $\Delta_{S/T}$ à divers paramètres comme la nature chimique des ligands ou encore le mode de coordination. Ainsi est apparue la nécessité de

privilégier des coordinations de type *side-on* pour obtenir la meilleure stabilisation d'adduits singulets. Dans le même temps, il semble, toutes choses égales par ailleurs, que l'augmentation du transfert de charge vers le dioxygène favorise l'état singulet. Enfin, l'examen du déplacement de l'acétonitrile sur le complexe précurseur par le dioxygène a montré la grande compétitivité existant entre ces deux ligands. Cette question devra donc être prise en compte dans les futures études expérimentales.

IV. ALLER-RETOUR ENTRE BIOMIMÉTISME ET BIOCHIMIE

Dans cette dernière partie nous effectuons un retour aux sources biochimiques de ce travail. Plus précisément nous y confrontons les données structurales enzymatiques aux tendances qui ont été extraites du travail théorique.

A. Application des règles prédictives aux centres actifs

Deux aspects de la coordination du dioxygène semblent mériter une attention particulière. Le premier concerne la prédiction du mode de coordination à partir des données cristallographiques de la PHM dans sa forme réduite (Cu_M et Cu_H dans l'état cuivreux), tandis que le second a trait à l'évaluation du transfert de charge dans l'enzyme.

1. Prédiction du mode de coordination

Dans le Tableau 13, nous avons reporté les valeurs des paramètres géométriques Σ et Ω définis p.106 et obtenus sur deux structures cristallographiques de la forme réduite de la PHM (entrées 3PHM et 1YJK de la *Protein Data Bank*).^{16,66} Rappelons que ces paramètres permettent de caractériser le degré de pyramidalisation du cation cuivreux dans le centre actif. Nous avons montré que plus Σ est proche de 360° et Ω de 180° , plus la probabilité d'observer une coordination *end-on* du dioxygène augmente.

Sur le centre Cu_H , les paramètres géométriques vont clairement dans le sens d'une coordination *end-on* puisque les paramètres Σ et Ω sont proches respectivement de 360° et 180° et cela quelle que soit la structure cristallographique considérée. Cette prédiction est conforme avec la géométrie plane en T du centre cuivreux. Toutefois aucune donnée

expérimentale relative à la coordination de O₂ sur ce site n'a pour l'instant confirmé cette possibilité.

	Σ	Ω
Cu_H		
3PHM	354,0	148,0
1YJK	353,5	157,6
Cu_M		
3PHM	317,7	NSCuN: 128,0
3PHM	317,7	NCuNS: 113,0
1YJK	337,7	NSCuN: 128,5
1YJK	337,7	NCuNS 127,2

Tableau 13 : Paramètres Σ et Ω calculés sur les complexes précurseurs de la PHM (entrées 3PHM¹⁶ et 1YJK⁶⁶ de la *Protein Data Bank*).

Sur le centre Cu_M, les paramètres Σ et Ω semblent tomber dans les zones d'incertitude définies dans la seconde partie de ce Chapitre. Il semble par conséquent délicat de prévoir le mode de coordination du dioxygène sur le centre Cu_M, du moins les deux modes de coordination doivent être accommodables par le complexe. Cependant, les deux paramètres sont situés assez haut dans les fourchettes proposées si bien qu'une coordination de type *end-on* devrait être favorisée. Cette remarque est d'autant plus justifiée que le paramètre Σ atteint 337° dans la structure 1YJK, valeur largement supérieure à la borne supérieure proposée pour l'intervalle d'incertitude.

Cette prédiction est pleinement vérifiée par la structure cristallographique de la PHM réduite en présence de dioxygène.¹ Nous avons à plusieurs occasions mentionné que le dioxygène est lié de manière *end-on* dans cette forme précatalytique de l'enzyme. Les règles prédisant le mode de coordination extraites à partir des modèles biomimétiques trouvent donc une vérification expérimentale biochimique.

2. Transfert de charge dans la PHM

Il est inutile de revenir sur l'importance de la question de la réduction partielle du dioxygène dans les adduits Cu/O₂. En revanche il est pertinent de s'y intéresser dans le cas

des centres actifs de la PHM et de chercher à la caractériser. Pour cela nous ne disposons que de la longueur de liaison O — O (1,23 Å) et du mode de coordination (*end-on*).¹

Par application des relations linéaires élaborées dans la seconde partie de ce Chapitre, il est possible d'évaluer les fréquences de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$ selon l'état de spin de l'adduit précatalytique. Cette distance correspondrait à des fréquences de vibration de 1280 et 1316 cm^{-1} respectivement dans les adduits singulet et triplet.

Dans les deux cas, et comme le suggère la faible distance et la haute fréquence de vibration, l'amplitude du transfert de charge reste limitée. Toutefois, une mesure expérimentale assez fine de la fréquence de vibration pourrait permettre de trancher l'état de spin de l'adduit dans la PHM par comparaison avec les valeurs prédites. Cette question est de première importance dans le but d'expliquer l'activation du dioxygène par la PHM : le centre Cu_M est-il capable de catalyser le changement de surface triplet vers singulet du dioxygène ?

B. Synthèse *in silico* d'un tripode biomimétique

Presque arrivés au terme de ce chapitre, la réponse à cette question n'a toujours pas été apportée de manière satisfaisante. Certes les tripodes étudiés dans ce Chapitre ont permis une meilleure appréhension de la coordination de O_2 mais dans une perspective strictement biomimétique les modèles ont été "pollués" par des facteurs n'existant pas dans les enzymes. Par exemple l'atome apical des ligands XN_3 a été identifié comme un élément majeur dont l'interaction avec le cation cuivreux influence les interactions au niveau de dioxygène, alors même que cet atome apical est absent dans le site enzymatique.

Dans cette dernière partie, nous proposons donc un nouveau modèle dont l'objectif est de mimer au mieux la structure du centre actif Cu_M de la PHM. En admettant que nous parvenions à rendre compte des données structurales enzymatiques disponibles nous pourrions alors raisonnablement extrapoler à la PHM d'autres propriétés émanant du modèle théorique. De ce fait notre objectif n'est pas nécessairement de proposer un ligand dont la synthèse soit aisée ou même possible, mais plutôt de concevoir un tripode qui permette de tirer des informations dans un but biochimique.

1. Proposition

Le tripode $\text{Mim}^{\text{N}_2\text{S}}$ retenu comme candidat de mime du centre actif Cu_M est représenté sur la Figure 23. Des complexes de cuivre dérivés de ce ligand ont été étudiés et sont

systématiquement comparés aux données expérimentales ou théoriques disponibles pour le parent biologique.

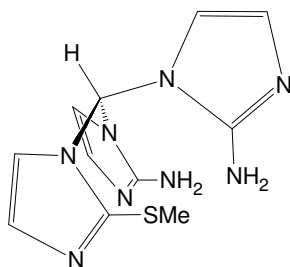


Figure 23 : Proposition de ligand tripode $\text{Mim}^{\text{N}_2\text{S}}$ comme ligand biomimétique du centre Cu_M .

2. Hydratation du complexe précurseur

Nous avons dans un premier temps procédé à l'optimisation du complexe précurseur en présence d'une molécule d'eau, par analogie avec la structure enzymatique. En effet, dans les formes réduites de la PHM, les données expérimentales (EXAFS, RX)^{16,18} et théoriques¹⁹ indiquent que la sphère de coordination du centre Cu_M est complétée par une molécule d'eau et adopte une géométrie tétraédrique autour du cuivre.

Deux structures cristallographiques (entrées 3PHM et 1YJK de la *Protein Data Bank*) et la géométrie issue de la modélisation théorique publiée par Solomon *et coll.*¹⁹ serviront de référence (Chapitre I).[†] Cette dernière structure ainsi que la forme optimisée du complexe $[\text{Cu}(\text{Mim}^{\text{N}_2\text{S}})\text{H}_2\text{O}]^+$ sont représentées sur la Figure 24. Les différents paramètres géométriques relevés dans ces quatre structures sont pour leur part regroupés dans le Tableau 14.

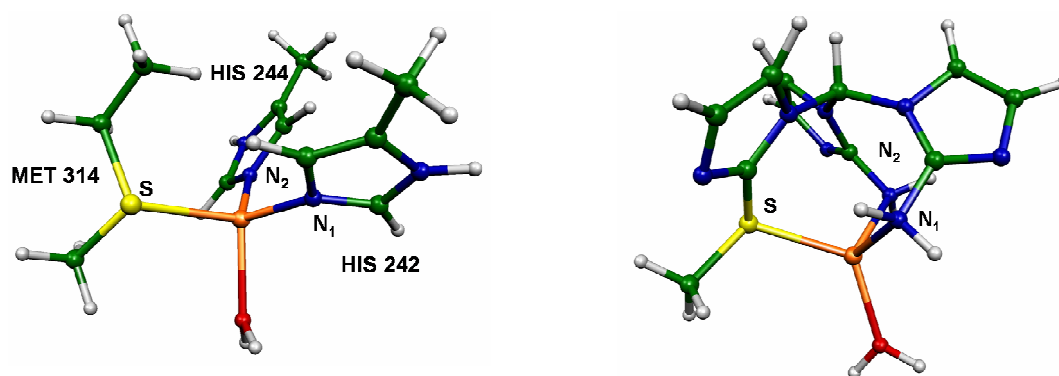


Figure 24 : Précurseur du centre Cu_M dans la forme réduite (à gauche, Solomon *et coll.*)¹⁹ face au modèle biomimétique $[\text{Cu}(\text{Mim}^{\text{N}_2\text{S}})\text{H}_2\text{O}]^+$ (à droite).

[†] Les deux structures cristallographiques diffèrent par le protocole expérimental suivi pour leur obtention. Nous ne discuterons donc pas en détails de l'origine des différences géométriques parfois constatées entre ces deux formes.

	Cu _M PHM			[Cu(Mim ^{N₂S})H ₂ O] ⁺
	3PHM ¹⁶	1YJK ⁶⁶	DFT ¹⁹	DFT
Distances				
Cu — N ₁	2,065	2,060	2,051	2,160
Cu — N ₂	2,246	2,038	2,014	2,183
Cu — S	2,454	2,245	2,528	2,353
Cu — O	1,880	1,960	2,191	2,146
Angles				
N ₁ CuN ₂	108,1	112,6	111,1	106,4
SCuN ₁	101,3	115,5	105,5	101,2
SCuN ₂	108,4	109,6	115,8	101,3
SCuO	122,6	112,8	98,7	122,6
Angles dièdres				
N ₁ SN ₂ O	66,2	58,8	66,9	70,9
N ₁ ON ₂ S	-65,9	-77,2	-73,4	-69,8
N ₂ CuN ₁ S	113,8	127,0	128,2	105,4

Tableau 14 : Comparaison géométrique du centre actif [Cu_MH₂O]⁺ de la PHM et du complexe précurseur [Cu(Mim^{N₂S})H₂O]⁺. Les distances sont en Å et les angles en degrés.

La représentation parallèle des deux centres métalliques de la Figure 24 révèle une similitude forte entre le modèle du centre Cu_M et le modèle biomimétique. Une forme tétraédrique est obtenue comme en témoignent les angles dièdres N₁SN₂O et N₁ON₂S, voisins de ± 70° en accord avec les valeurs mesurées dans les trois structures de référence.

La possibilité de fixer une molécule d'eau sur notre système est également encourageante. En effet, hormis avec les ligands Tp^{H,H} et Tim^{H,H}, nous n'étions pas parvenus à fixer H₂O sur les complexes précurseurs modèles sans profonde modification de la géométrie du tripode (cf. tren^{H,R}, PN₃). Ce succès doit sans doute être relié à la nature tridentate du précurseur, qui peut accepter un quatrième ligand et à la pyramidalisation naturelle du complexe. Il n'est donc pas nécessaire de procéder à des réarrangements structuraux drastiques pour accueillir la molécule d'eau. Ce deuxième point est d'ailleurs à rapprocher de l'angle dièdre N₂CuN₁S qui reflète la pyramidalisation du cuivre par rapport aux atomes coordinants du tripode. Une valeur de 105° dans le modèle biomimétique est assez proche de celles mesurées dans le centre actif bien que celle-ci varie significativement d'une structure de référence à l'autre (de 113 à 128°).

La comparaison des distances et des angles entre les structures du centre Cu_M et le modèle biomimétique indique également une proximité structurale bien que les distances

Cu — N soient un peu plus longues avec le ligand N₂S (2,17 Å contre 2,08 Å en moyenne pour les centres actifs). Cette différence est néanmoins largement inférieure à celle observée entre les deux structures RX.

La distance Cu — S, optimisée à 2,353 Å, se situe dans la moyenne des valeurs enzymatiques pour lesquelles d'importantes variations sont observées d'une structure à l'autre (2,245 à 2,528 Å).

En conclusion de ces comparaisons géométriques systématiques, une grande convergence géométrique se dessine entre le complexe précurseur [Cu(Mim^{N₂S})H₂O]⁺ et le centre actif Cu_M. Cette similitude est particulièrement convaincante avec la géométrie de référence 3PHM. En prévision de la coordination ultérieure du dioxygène, la pyramidalisation du cuivre dans le complexe [Cu(Mim^{N₂S})H₂O]⁺, au même niveau que les complexes enzymatiques, constitue un encouragement à poursuivre dans cette voie.

C. Activation du dioxygène ?

Cette question est finalement le point central de cette partie et pour y répondre nous allons étudier de manière extensive les différents adduits dioxygénés qu'il est possible d'obtenir à partir de ce complexe précurseur.

1. Reproduction de la structure cristallographique

Les structures optimisées des adduits oxygénés dérivés du ligand N₂S sont représentées sur la Figure 25 pour les états de spin singulet et triplet. De manière à alléger l'écriture, les indices "SO" et "EO" sont respectivement utilisés pour libeller les coordinations *side-on* et *end-on*. Nous discuterons les géométries obtenues selon le mode de coordination en commençant par les formes *side-on*.

a. Structures *side-on* : rien de nouveau

Du fait de l'asymétrie de la sphère de coordination offerte au cation par le ligand Mim^{N₂S} plusieurs isomères *side-on* peuvent être obtenus selon la position de l'atome de soufre en position basale ou apicale dans l'adduit [Cu(Mim^{N₂S})(O₂)]⁺. Nous restreindrons toutefois notre attention aux complexes **A**_{SO}, **B**_{SO}, tous deux singulets et au complexe **D**_{SO} triplet. Ces trois complexes exhibent les caractéristiques du mode de coordination t2 qui a

été détaillé dans ce travail, à savoir une coordination du dioxygène dans le plan de la pyramide à base triangulaire et un allongement de la distance Cu — X_{ap} par rapport aux distances Cu — X_b. La comparaison des structures **A**_{SO} et **B**_{SO} est significative. Dans **A**_{SO} la longueur Cu — N₂ vaut 2,034 Å et passe à 2,298 Å dans **B**_{SO} dans lequel l'atome N₂ occupe la position apicale. A l'inverse les distances Cu — N₁ ne varient pas entre ces deux complexes, ce qui est cohérent avec la position basale conservée pour l'atome N₁ (~ 2,04 Å). Il est enfin remarquable de noter que la position de l'atome de soufre, en position axiale ou basale, n'a aucune incidence sur l'amplitude du transfert de charge vers le dioxygène puisque les distances O — O sont trouvées égales dans les deux complexes (1,328 Å).

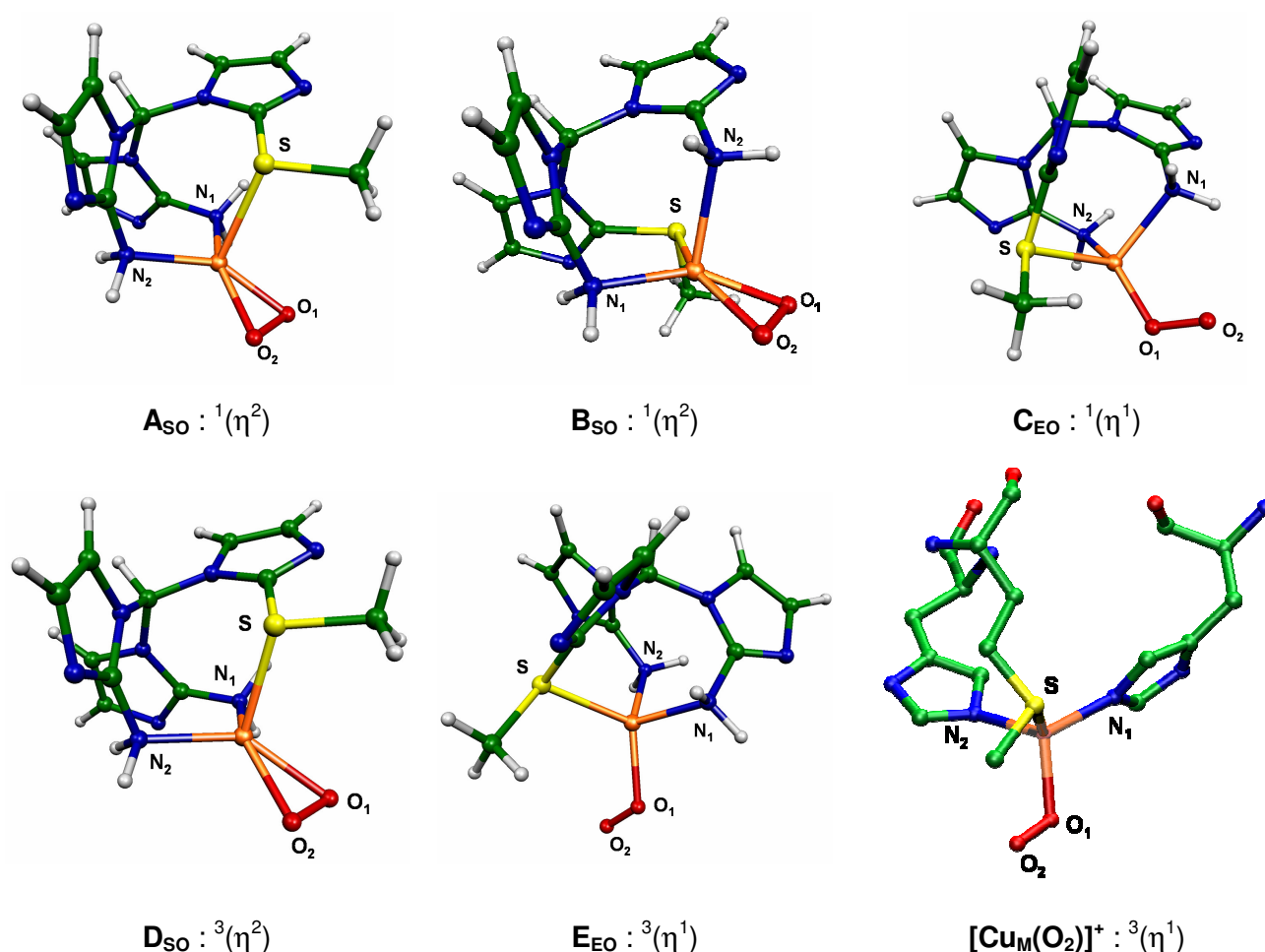


Figure 25 : Comparaison à la structure cristallographique [Cu_M(O₂)]⁺ des adduits [Cu(Mim^{N₂S})(O₂)]⁺ dans les états de spin singulet (haut) et triplet (bas).¹

La comparaison structurale des complexes **A**_{SO} et **D**_{SO} qui ne diffèrent que par l'état de spin est également intéressante car elle indique un comportement variable des distances métal-ligands selon la nature de l'atome coordonnant. Entre **A**_{SO} et **D**_{SO}, les distances Cu — N_b

subissent un léger allongement (0,06 Å) tandis que la distance Cu — S_{ap} subit au contraire un raccourcissement plus prononcé (0,16 Å). Il est néanmoins difficile à ce stade de l'étude d'en tirer d'éventuelles implications quant aux mécanismes d'activation du dioxygène sur ce centre métallique.

Nous pouvons éventuellement rapprocher cette différence de la distance inter-oxygène, plus longue dans l'état singulet (1,328 Å) que dans l'état triplet (1,274 Å) mais qui s'explique par la capacité des adduits singulets à exacerber les transferts de charge vers le dioxygène.

Hormis ces quelques différences, les autres données géométriques regroupées dans le Tableau 15, et notamment les valeurs des angles et des angles dièdres indiquent une convergence géométrique pour les trois adduits *side-on*.

	A_{So} ¹ (η ²)	B_{So} ¹ (η ²)	D_{So} ³ (η ²)	C_{EO} ¹ (η ¹)	E_{EO} ³ (η ¹)	[Cu_M(O₂)]⁺ ³ (η ¹)
Distances en Å						
Cu — N ₁	2,034	2,040	2,100	2,194	2,144	2,110
Cu — N ₂	2,046	2,298	2,104	2,074	2,133	2,125
Cu — S	2,708	2,334	2,549	2,404	2,369	2,270
Cu — O ₁	1,882	1,880	2,089	1,881	2,049	2,106
Cu — O ₂	1,881	1,905	2,088	2,756	2,916	2,783
O ₁ — O ₂	1,328	1,328	1,274	1,268	1,237	1,232
Angles						
N ₁ CuN ₂	101,7	96,8	101,0	97,8	102,8	108,3
SCuN ₁	97,6	104,4	102,5	106,0	108,0	109,4
SCuN ₂	93,2	94,5	96,9	99,6	102,6	113,2
O ₁ CuN ₂	145,8	100,4	139,5	148,9	116,7	103,0
CuO ₁ O ₂	69,4	69,5	72,2	120,8	123,1	110,2
Angles dièdres						
N ₂ CuN ₁ S	94,9	96,4	99,7	102,4	108,0	123,9
O ₁ O ₂ N ₁ N ₂	-0,5	-	-177,9	23,1	-	-
O ₁ O ₂ N ₁ S	-	1,6	-	-	-	-
O ₁ N ₁ N ₂ S			-	60,2	75,6	74,1

Tableau 15 : Coordination du dioxygène sur le complexe [Cu(Mim^{N₂S})]⁺ et sur le centre Cu_M de la PHM.

b. Structure end-on : un nouveau venu !

De même que pour la coordination *side-on*, plusieurs conformères doivent en principe être optimisés dans l'approche *end-on* selon la position relative du dioxygène et de l'atome de soufre. Dans un souci de gain de place, ils ne sont toutefois pas présentés de manière exhaustive ici, et nous limitons notre attention à deux adduits représentatifs : **C_{EO}** et **E_{EO}**. Un premier constat surprenant provient de la différence de la géométrie adoptée par le centre métallique selon l'état de spin qui le caractérise.

La forme singulet exhibe une géométrie qu'il est tentant de qualifier de plan carré fortement déformé (PC, structure **C_{EO}**) comme l'indiquent les angles O₁CuN₁ (101,6°) et O₁CuN₂ (148,9°) qui tendent respectivement vers 90° et 180°, valeurs attendues dans un carré. Le parallèle est vrai avec les angles SCuN₂ (99,6°) et SCuN₁ (106°) bien que moins flagrant, probablement en raison de la rigidité qu'impose le tripode en empêchant l'ouverture complète des angles.

Concernant le système {CuOO}, la distance Cu — O_p de 1,881 Å est similaire aux autres adduits singulets, tandis que l'angle CuOO (120,8°) est pour sa part très légèrement supérieur à ceux observés précédemment (~110° en moyenne pour les singulets *end-on*, cf. Tableau 5). Enfin la distance O_d — O_p de 1,268 Å indique un transfert de charge modéré du cuivre vers le dioxygène conformément au type de coordination singulet *end-on*. En réalité cette valeur se situe dans le bas de la fourchette pour ce mode de coordination (Figure 18) et il faut sans doute l'expliquer par l'absence de ligand apical en position *trans* du dioxygène dont nous avons montré la capacité à renforcer la rétrodonation vers O₂.

Bien que non rencontré jusqu'à présent dans ce travail, ce type d'arrangement géométrique a été reporté dans la littérature pour des complexes composés soit de ligands monodentates^{55,67} soit de ligands tripodes.^{35,56} En fait il semble que l'introduction d'un quatrième ligand en position apicale dans les ligands tétradentates induise la perte de ce type de coordination et l'adoption de géométries de type bipyramide trigonale. La raison de ce changement de géométrie entre les ligands X₄ et X₃ doit provenir de la stabilisation obtenue par transfert de charge en présence d'un ligand apical.

La forme triplet **E_{EO}** relève quant à elle d'une géométrie tétraédrique autour du cation central comme en témoignent diverses caractéristiques géométriques telles que les angles dièdres inter-sommets, proches de 70° ($\phi(\text{O}_1\text{N}_1\text{N}_2\text{S}) = 74,1^\circ$) ou les angles XCuX, proches de 109°. La somme des angles SCuN₂, SCuN₁ et N₁CuN₂ vaut 313° quand une valeur de 327° est à attendre pour un tétraèdre parfait.

Le complexe Cu/O_2 répond localement aux principes établis au long de ce travail. L'état triplet de l'adduit implique une distance $\text{Cu} - \text{O}_p$ de 2,049 Å, plus longue que dans les adduits singulet, tandis que la distance $\text{O}_d - \text{O}_p$ de 1,237 Å implique un très faible transfert de charge. Cette distance est à peine plus longue que dans le dioxygène libre (1,22 Å) suggérant donc une forme mésomère $\{\text{Cu(I)}/\text{O}_2\}$ majoritaire.

A ce jour il n'existe pas, à notre connaissance, d'exemple d'adduit biomimétique exhibant ce type de géométrie. En effet, les ligands tétradentates N_4 habituellement étudiés induisent des géométries de type bipyramide trigonales avec en conséquence un transfert de charge plus important du fait de la présence du ligand en position trans du dioxygène. Quant aux ligands de type N_3 , seule la structure *side-on* de l'adduit $[\text{Cu}(\text{Tp}^{\text{Pr,Ada}})\text{O}_2]$ a été reportée.

Enfin les autres adduits dérivés de ligands anioniques Dk^{R} et Ai^{R} ne peuvent pas conduire à des structures tétraédriques en raison de l'hapacité de ces ligands (N_2).

c. Comparaison enzymatique

Il n'existe qu'une seule preuve expérimentale de la possibilité de l'arrangement tétraédrique pour un jeu de ligand N_3 . Il s'agit du centre actif $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$ de la PHM dans sa forme précatalytique (Figure 25) dont nous nous proposons de comparer la géométrie aux adduits *end-on* C_{EO} et E_{EO} .

La forme singulet (C_{EO}), de géométrie Plan Carré, n'est pas capable de reproduire certaines des caractéristiques géométriques de l'adduit $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$. L'angle SCuN_2 est particulièrement révélateur de la différence de géométrie entre ces deux structures, il vaut près de 150° dans C_{EO} contre 103° dans le centre enzymatique. D'autres paramètres géométriques tels que la somme des angles SCuN_2 , SCuN_1 et N_1CuN_2 (303°) ou encore l'angle dièdre $\phi(\text{O}_1\text{N}_1\text{N}_2\text{S})$ (60°) plaident dans le même sens.

A l'opposé, la forme triplet (E_{EO}) montre une ressemblance frappante avec la structure enzymatique. Une géométrie tétraédrique est obtenue comme en témoignent les divers paramètres géométriques regroupés dans le Tableau 15 et qui sont systématiquement proches de la structure de référence (angles XCuX et angles dièdre $\text{O}_1\text{N}_1\text{N}_2\text{S}$ par exemple). Surtout c'est la reproduction des caractéristiques du système $\{\text{CuOO}\}$ par l'adduit triplet E_{EO} qui est remarquable. La distance $\text{Cu} - \text{O}_p$ vaut respectivement 2,106 et 2,089 Å dans les complexes $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$ et E_{EO} , pour des longueurs de liaison $\text{O} - \text{O}$ de 1,232 et 1,237 Å respectivement. Cette donnée indique un transfert de charge très modéré vers le dioxygène et donc une forme mésomère $\{\text{Cu(I)}/\text{O}_2\}$ majoritaire.

Le contraste entre les formes singulet et triplet de l'adduit $[\text{Cu}(\text{Mim}^{\text{N}_2\text{S}})(\text{O}_2)]^+$ en termes géométriques, et les fortes ressemblances structurales entre l'adduit \mathbf{E}_{EO} et la forme enzymatique $[\mathbf{Cu}_\text{M}(\text{O}_2)]^+$, nous permettent d'attribuer un état de spin triplet à la structure cristallographique de la PHM dans sa forme précatalytique.

Cette proposition peut sembler contradictoire avec le rôle supposé du centre Cu_M comme activateur du dioxygène. En effet si le centre métallique a pour tâche de permettre la transition de spin triplet-singulet, on pourrait s'attendre à observer expérimentalement l'adduit de spin singulet. C'est la raison pour laquelle nous procédons à présent à l'évaluation des écarts relatifs entre les adduits identifiés.

2. Activation du dioxygène

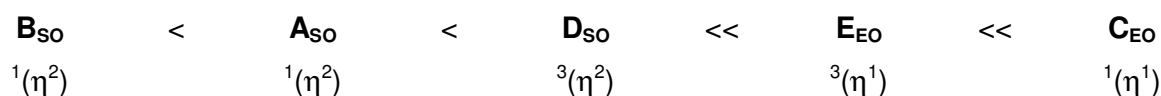
Les résultats sont regroupés dans le Tableau 16 en prenant le composé \mathbf{E}_{EO} comme référence énergétique.

	\mathbf{A}_{SO} $^1(\eta^2)$	\mathbf{B}_{SO} $^1(\eta^2)$	\mathbf{C}_{EO} $^1(\eta^1)$	\mathbf{D}_{SO} $^3(\eta^2)$	\mathbf{E}_{EO} $^3(\eta^1)$
SF-B3LYP	-4,0	-4,4	4,7	-3,8	0,0

Tableau 16 : Ecart énergétique relatif (kcal.mol^{-1}) des isomères de l'adduit $[\text{Cu}(\text{Mim}^{\text{N}_2\text{S}})(\text{O}_2)]^+$. L'énergie du composé \mathbf{E}_{EO} est prise comme référence.

La première donnée qui mérite une attention particulière est l'obtention d'un adduit de spin singulet comme état fondamental (\mathbf{B}_{SO}). Si nous nous intéressons spécifiquement aux adduits singulets, il ressort que les formes *side-on* (\mathbf{A}_{SO} et \mathbf{B}_{SO}) sont plus stables par environ 9 kcal.mol^{-1} que la forme *end-on* (\mathbf{C}_{EO}).

Les formes triplet *side-on* (\mathbf{D}_{SO} , $-3,8 \text{ kcal.mol}^{-1}$) et *end-on* (\mathbf{E}_{EO}) sont pour leur part légèrement plus hautes en énergie que les formes *side-on* singulet. Finalement l'ordre énergétique des adduits peut être schématisé ainsi :



Il convient de remarquer qu'une étude théorique du complexe $[\text{Cu}(\text{TACN}^{\text{PhOH}})\text{O}_2]^+$, aboutit à un ordre énergétique similaire en considérant les isomères $^1(\eta^2)$, $^3(\eta^1)$ et $^1(\eta^1)$.³⁵

Il est tentant de transposer ces résultats énergétiques à la PHM et à la D β M. Il faut néanmoins garder à l'esprit les effets d'environnement du centre catalytique des enzymes, les écarts énergétiques pouvant alors varier sensiblement par rapport aux calculs effectués en phase gazeuse. Cette mise en garde faite, il est pertinent de remarquer la relative proximité énergétique des adduits triplets par rapport aux adduits singulets. On entrevoit ainsi une réconciliation entre la proposition faite dans les paragraphes précédents, relative à l'état de spin triplet de la structure précatalytique et le rôle d'activateur du centre Cu_M. Les isomères $^1(\eta^2)$, $^3(\eta^1)$ et $^3(\eta^2)$ pourraient être quasiment dégénérés dans le système biologique. Ainsi l'obtention cristallographique de l'adduit [Cu_M(O₂)⁺ triplet n'est pas incompatible avec une forme activée singulet, isoénergétique.

Par ailleurs le fait que la forme singulet *end-on* soit largement plus haute en énergie que la forme *side-on* (9 kcal.mol⁻¹) suggère que ce n'est pas cet isomère qui est responsable de l'étape d'attaque du substrat. La forme *side-on* devient alors l'espèce à privilégier dans une optique de réactivité.

De manière quelque peu frustrante le rôle de l'atome de soufre en lien avec sa position relative par rapport au dioxygène n'apparaît pas au vu de l'écart énergétique séparant les adduits **A**_{so} et **B**_{so}. Intuitivement pourtant, l'intervention de la "mollesse" de l'atome de soufre par rapport à l'atome d'azote devrait jouer un rôle dans le processus de coordination du dioxygène ou d'attaque du substrat. Une ébauche de réponse pourrait provenir de l'étude approfondie de la structure électronique de ces deux complexes, par exemple au moyen d'analyse topologique de la fonction ELF.⁵⁸

CONCLUSION

En introduction de ce Chapitre, nous avons souligné le manque de rationalisation des informations expérimentales ou théoriques ayant trait au phénomène de coordination du dioxygène sur les centres mononucléaires Cu/O₂. Parmi les interrogations que l'on était en droit de se poser était la différence de mode de coordination entre certains modèles bio-inspirés et le centre actif de la PHM. D'un point de vue théorique il apparaissait que le manque de synthèse des données expérimentales ou théoriques provenait de la disparité des méthodes dont elles étaient issues. Nous avons donc entrepris une nouvelle étude DFT sur une série homogène de complexes résultant de la complexation du cation Cu(I) par des ligands tri- et tétradentates. Le traitement énergétique des adduits mononucléaires a

nécessité le recours à la méthode Spin-Flip en alternative aux approches de Symétrie Brisée ou CASPT2.

Outre les conclusions tirées tout au long de ce Chapitre, nous retiendrons principalement l'établissement de règles prédictives de la coordination du dioxygène en fonction de la géométrie des complexes précurseurs ou de l'haptacité des tripodes chélatants. Couplées aux abaques reliant fréquences de vibration $\nu(\text{O} - \text{O})$, distances $\text{O} - \text{O}$ et charges NPA sur O_2 , ces règles constituent un puissant outil complémentaire d'analyse des données expérimentales parfois lacunaires. Appliqués aux données enzymatiques, ces outils ont permis la rationalisation du mode de coordination *end-on* observé dans les structures cristallographiques.

L'identification des ressorts sous-tendant le phénomène d'activation du dioxygène a conduit à proposer un modèle biomimétique du centre actif Cu_M reproduisant pour la première fois les structures cristallographiques des formes réduite et oxygénée de la PHM. Entre autres conclusions, un état de spin triplet a été attribué au complexe enzymatique $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$ cristallisé et la forme *end-on* singulet a été écartée comme potentiel responsable de l'attaque du substrat dans l'enzyme. C'est donc l'isomère *side-on* qui apparaît alternativement comme l'espèce oxydante dans ces enzymes. La modélisation de cette étape constitue donc naturellement la suite de ce travail et l'objet du Chapitre III.

ANNEXES AU CHAPITRE II

Theoretical modelling of tripodal CuN₃ and CuN₄ cuprous complexes interacting with O₂, CO or CH₃CN

A. de la Lande, H. Gérard, V. Moliner, G. Izzet, O. Reinaud, O. Parisel,
J. Biol. Inorg. Chem. **2006**, *11*, 593 - 608.

Singlet-triplet gaps in large multireference systems : Spin-flip-driven alternatives for bioinorganic modelling

A. de la Lande, V. Moliner, O. Parisel,
J. Chem. Phys. **2007**, *126*, 035102.

Aurélien de la Lande · Hélène Gérard
Vicent Moliner · Guillaume Izzet · Olivia Reinaud
Olivier Parisel

Theoretical modelling of tripodal CuN_3 and CuN_4 cuprous complexes interacting with O_2 , CO or CH_3CN

Received: 21 October 2005 / Accepted: 3 April 2006 / Published online: 17 May 2006
© SBIC 2006

Abstract Dioxygen binding at copper enzymatic sites is a fundamental aspect of the catalytic activity observed in many biological systems such as the monooxygenases, especially peptidylglycine α -hydroxylating monooxygenase (PHM), in which two mononuclear Cu^{I} sites are involved. Biomimetic models have been developed: dipods, tripods, and, more recently, functionalized calixarenes. The modelling of calixarene systems, although not unreachable for theory yet, requires, however, a number of preliminary investigations to ensure proper calibrations if relevant description of the metal–ligand interaction at the hybrid quantum mechanical/molecular mechanics levels of theory is the aim. In this paper, we report quantum chemistry investigations on a coherent series of representative cuprous tripodal species characterized by (1) monodentate ligands $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ (where ImH is imidazole), $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$, (2) neutral tripodal ligands $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ [where tren is tris(2-aminoethyl)amine], and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$ [where trenMe₃ is tris(2-methylaminoethyl)amine] and (3) a hydrido-tris(pyrazolyl)borate $[\text{CuBH}(\text{Pyr})_3]$. The structures of these complexes, the coordination mode (η^2 side-on or η^1 end-on) of O_2 to Cu^{I} and the charge transfer from the metal to dioxygen have been

computed. For some systems, the coordination by CH_3CN and CO is also reported. Beyond results relative to structural properties, an interesting feature is that it is possible to build from computational results only a set of abacuses linking the $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vibrational frequency of the coordinated O_2 molecule to the O–O bond length or to the net charge of the O_2 moiety. Such abacuses may help experimentalists in distinguishing between the four possible ways of binding O_2 to CuN_3 and CuN_4 cuprous centres, namely (1) end-on triplet states, (2) side-on triplet states, (3) end-on singlet states and (4) side-on singlet states. These abacuses are extended to three tripods obtained by the substitution of one nitrogen atom by either a phosphorus or a sulphur atom. Moreover, it is shown that any factor favouring pyramidalization at copper favours charge transfer and thus coordination of the incoming O_2 moiety. All these allow insight into the coordination mode of O_2 and into the charge transfer from Cu^{I} in site Cu_M of PHM.

Keywords Biomimetic chemistry · Bioinorganic chemistry · Coordination chemistry · Density functional theory · Copper

A. de la Lande · H. Gérard · O. Parisel (✉)
Laboratoire de Chimie Théorique, UMR 7616 CNRS,
Université Pierre et Marie Curie, Paris 6,
Case courrier 137-4, place Jussieu,
75252 Paris Cedex 05, France
E-mail: parisel@lct.jussieu.fr
Fax: +33-1-44274117

V. Moliner
Departament de Ciències Experimentals,
Universitat Jaume I,
Box 224, 12080 Castelló, Spain

G. Izzet · O. Reinaud
Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et
Toxicologiques, UMR 8601 CNRS, Université René Descartes,
Paris 5, 45, rue des Saints-Pères,
75270 Paris Cedex 06, France

Introduction

Dioxygen binding at copper centres is a crucial aspect for the catalytic activity of many biological systems [1–3]. Particularly interesting are the monooxygenases [4] such as dopamine β -monooxygenase ($\text{D}\beta\text{M}$) and peptidylglycine α -hydroxylating monooxygenase (PHM) in which two mononuclear uncoupled Cu^{I} enzymatic sites are involved [5–13]. In order to get a better understanding of the catalytic properties of these cuprous systems, and especially of the nature of the interaction of dioxygen with the metallic centre, biomimetic systems have been developed and shown to efficiently behave as modelling tools. Such an approach offers a powerful alternative to the difficulties encountered by experimental studies performed on native systems [14].

Dipod and tripod ligands coordinated to a Cu^{I} centre have been widely studied as such models in the last few years [12, 14–17]. They have been used to investigate the coordination of O_2 to Cu^{I} and the subsequent formation of O_2^- , HOO^\bullet or HOO^- . However, it must be kept in mind that most dipodal and tripodal cuprous O_2 adducts polymerize and thus cannot be considered as models of mononuclear enzymatic sites.

Alternative approaches have been developed to tackle this problem (Fig. 1). One solution uses more sterically demanding ligands to prevent dimerization [18–25]. Another strategy relies on supramolecular calix[6]arenes complexing Cu^{I} : such compounds exhibit a hydrophobic cavity which constitutes a funnel access to the metallic active centre [26–29]. Provided there is adequate functionalization, such calixarenes are good mimics of the mononuclear active centres of enzymes. The modelling of calixarene systems requires, however, a number of preliminary investigations performed at a high level of calculation to ensure proper calibrations if a relevant description of the metal–ligand interaction at the hybrid quantum mechanical/molecular mechanics (QM/MM) levels of theory is the aim.

We here report theoretical investigations relying on a coherent series of model species representative of classical tripodal systems or of PHM (both active sites). The structures of these cuprous complexes have been optimized and the coordination modes (η^2 side-on vs. η^1 end-on) of O_2 to Cu^{I} in singlet and triplet states have been computed together with the charge transfer from the metal to dioxygen.

The paper is organized as follows. Once the computational methods have been described in the “Computational details” section, we present in the “Results: structural parameters and coordination modes of dioxygen” section the structures of the dioxygen adducts with the selected cuprous complexes. In the “Monodentate ligands” section, we first consider complexes built

from three monodentate ligands in Fig. 2a: $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$, where ImH is imidazole. We then turn to a subset of three tripods (see Fig. 3 for an example) in the “CH(ImH)₃, tren, trenMe₃ precursory complexes” section, namely $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$, and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$, where tren and trenMe₃ are tris(2-aminoethyl)amine and tris(2-methylaminoethyl)amine, respectively. The trenMe₃ complex has been experimentally investigated either as such [23, 24] or as a functionalized part of a calixarene [30] (O. Reinaud, personal communication); it has been shown to bind O_2 . The tren complex does not form a stable dioxygen adduct upon exposure to O_2 [15, 23, 24]. $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ has been considered since it exhibits a structure close to that of Kitajima’s complexes [18, 19] revisited in the “A ‘borate’ model: Kitajima’s complex” and “Validation and immediate applications” sections. The complexation of CO and CH_3CN on these three tripods is also reported (“Behaviour towards CO and acetonitrile” section). Having investigated a large series of O_2 adducts, side-on or end-on coordinated in the triplet or singlet state, the “Looking for insightful trends” section organizes the data into simple rules and abacuses (“Rule 1: predicting the O_2 coordination mode from the precursor structure only” and “Rule 2: correlations between μ , $d(\text{O}-\text{O})$ and $q(\text{O}_2)$ ” sections) and extends the computations to three experimentally unknown tripodal systems (“Extension to other tripods and to PHM” section). The whole set of results is then finally applied to the Cu_H and Cu_M sites of PHM.

Computational details

General framework

All calculations were performed with Gaussian03 [31]. For the density functional theory (DFT) calculations,

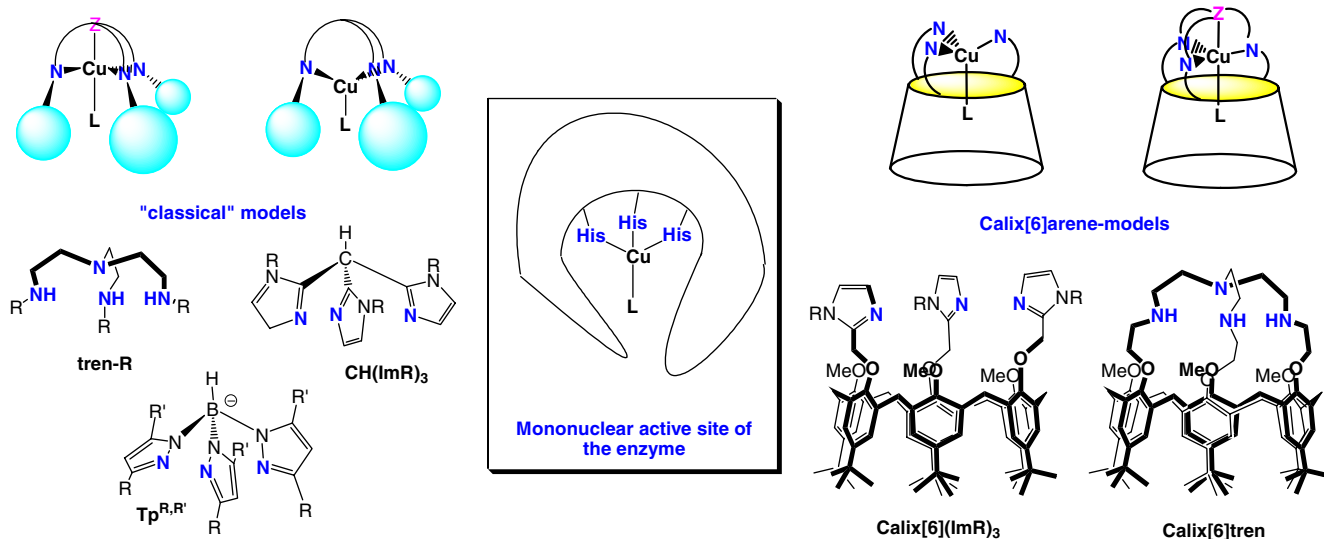


Fig. 1 Principle of biomimetic modelling by calix[6]arenes

Fig. 2 Representative optimized monodentate structures. The *a*, *b*, *c*, *d* and *e* distances are given in Table 1. **a** Precursory cuprous complexes: $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$. **b** O_2 -coordinated complexes: $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4(\text{O}_2)]^+$. *ImH* imidazole

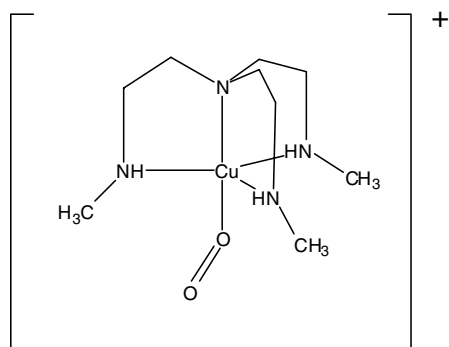
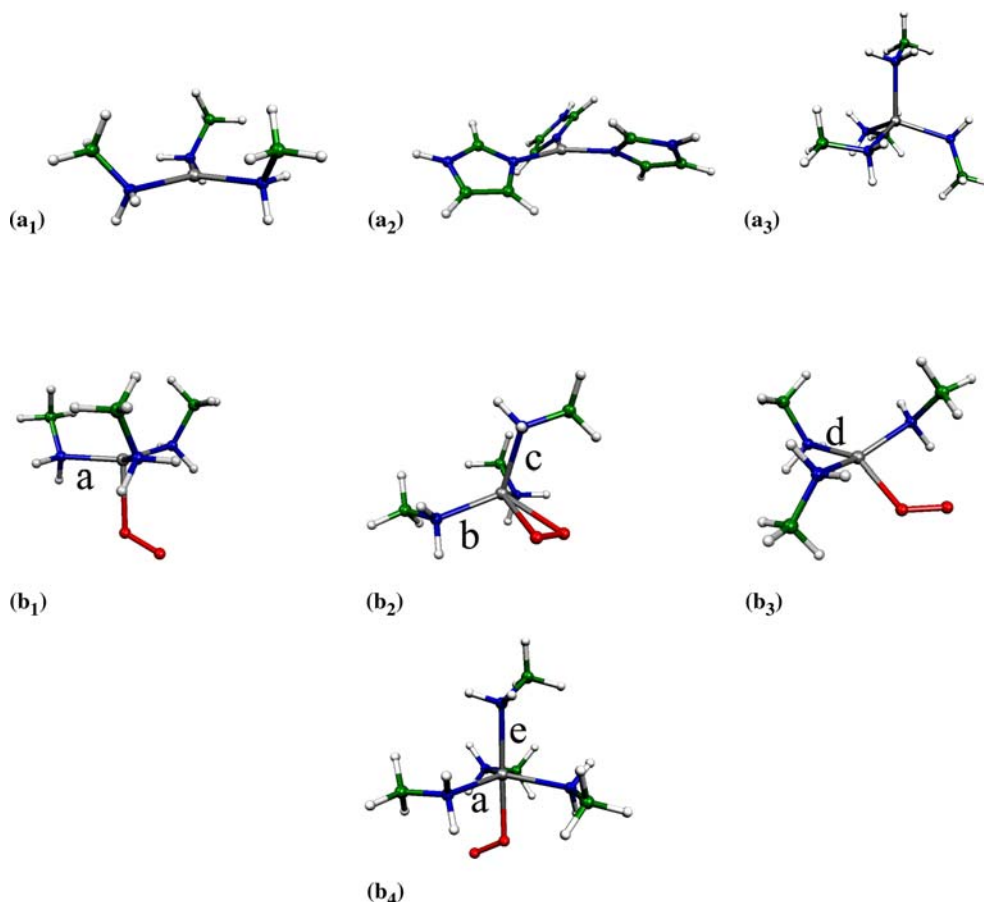


Fig. 3 An example of a cuprous tripod coordinating O_2

the hybrid B3LYP exchange–correlation functional [32–34] was used in all cases. The B3LYP functional has been proven to successfully predict correct association energies of ligands to $\text{Cu}(\text{I})$ [35]. The DZVP2 basis set [36] was employed for all atoms, and was augmented by *f* polarization functions [37] on Cu. A set of *p* diffuse orbitals was added on oxygen (exponent 0.059). Full geometry optimizations were systematically conducted with no symmetry restraints. The nature of the stationary points found, minima or transition states, was assigned using a vibrational analysis performed within the harmonic approximation.

Partial atomic charges were evaluated within the natural bonding orbital (NBO) approach [38–45].

In order to help with structural descriptions, the centre of mass of the O_2 ligand has been named Θ . The colour code for atoms is as follows: green for carbon, blue for nitrogen, red for oxygen, white for hydrogen and pink for heteroatoms such as boron, phosphorus or sulphur.

The CO and CH_3CN cases

When dealing with CO and CH_3CN coordination, the cuprous adducts of which are unambiguously closed-shell singlets, the aforementioned framework for computations could be fully used and the complexation energies ΔE_c were computed according to

$$\Delta E_c = E([\text{Cu}]-\text{L}) - E([\text{Cu}]) - E(\text{L}),$$

where $[\text{Cu}]$ is the Cu^{I} model complex and $[\text{Cu}]-\text{L}$ is the coordinated cuprous model complex, both of them in their optimized geometry. $E(\text{L})$ is the energy of the free ligand.

These values were corrected to account for the zero-point-energy (ZPE) effect: the vibrational frequencies were used as such (no scaling procedure). Here, the effects of the basis set superposition error (BSSE), which

were not considered in previous theoretical studies, were found to be of significant importance: they were determined with the *a posteriori* counterpoise method [46, 47]. The reported complexation energies ΔE are thus given by

$$\Delta E = \Delta E_e + \Delta E_{\text{ZPE}} + \varepsilon_{\text{BSSE}}.$$

Negative values of ΔE indicate a favourable and stabilizing interaction between the cuprous precursor [Cu] and the ligand, CO or CH₃CN, with respect to the two isolated fragments.

The open-shell singlet wayside cross

Upon coordination to O₂, the resulting adducts can be found either in a triplet state or in an open-shell singlet state. It is a well-known weakness of the restricted formalism not to be able to properly account for open-shell singlet states within the Kohn–Sham (KS) framework and to eventually lead to an improper relative localization of such singlet ‘biradicals’ with respect to the corresponding high-spin state [12, 13, 48–51]. Using state-of-the-art levels of *ab initio* chemistry, a proper and rigorous treatment of this problem would require geometry optimizations and energy calculations relying on multireference perturbations or even multireference configuration interaction [52, 53]. Such approaches are, however, too CPU time-consuming for the species investigated here and would then require drastic simplifications of the models. Far from being the panacea when dealing with accurate singlet–triplet gaps, it has been recognized that the standard restricted closed-shell KS/DFT method for biradicals or open-shell singlets provides reliable geometries [12, 48, 54] and, then, vibrational frequencies [55].

It was thus decided to focus our study of O₂ coordination on the determination of the geometry and the vibrational frequencies of triplet and singlet states. Consequently, both triplet and singlet states were computed (geometry optimization plus frequency computations) by means of the restricted open-shell formalism. The restricted formalism ensures a proper description of the triplet state with no artefact due to uncontrollable spin contamination.

Although the accurate determination of the energy gaps between the singlet and the triplet states encountered when coordinating O₂ to the set of metallated ligands retained here is by far not the central purpose of this paper, we have complemented some DFT calculations with complete-active-space self-consistent-field (CASSCF) [56] computations. In this approach, strong emphasis was put on the quality of the orbitals obtained. Namely, we checked very carefully that the CASSCF orbitals obtained had really the chemical sense expected when designing the active space. For Kitajima’s complexes, a 12/8 active space was retained which, for the O₂ adducts, involves the following electrons and orbitals:

$[(3d)^4 (\sigma, \sigma^*)^2 (\pi_x, \pi_y, \pi_x^*, \pi_y^*)^6]$. For the $\text{tren}[\text{CuO}_2]^+$, $\text{trenMe}_3[\text{CuO}_2]^+$ and $\text{CH}(\text{ImH})_3[\text{CuO}_2]^+$ complexes, such a space was not found to be stable with respect to the CASSCF iterations. Chemical relevancy was achieved by turning to an 18/12 active space: $[(3d)^{10} 4s^0 (\sigma, \sigma^*)^2 (\pi_x, \pi_y, \pi_x^*, \pi_y^*)^6]$. In the case of the $[\text{Cu-CH}(\text{ImH})_3]^+$ complex, a CASMP2 [57] energy value is provided.

Results: structural parameters and coordination modes of dioxygen

Monodentate ligands

We first report the complexation of O₂ on Cu^I coordinated by monodentate ligands: $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$. The optimized structures of these three precursory complexes are given in Fig. 2a. The CuN₃ structures exhibit a trigonal planar geometry around the copper cation (Fig. 2a, a₁, a₂), while a tetrahedral geometry is found for the CuN₄ complex (Fig. 2a, a₃).

For each [Cu]–O₂ complex, the geometry optimizations were run from several starting points, either for the singlet or for the triplet state. Two binding modes of O₂, namely η^1 end-on or η^2 side-on, were investigated. Figure 2b displays some representative structures and Table 1 reports some significant structural parameters and the NBO charges.

Structure and coordination

For the $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$ system, the triplet structure is found end-on. Upon complexation with O₂, the local symmetry around the copper cation, initially trigonal planar, becomes trigonal pyramidal: the three nitrogen atoms form the basal plane which includes the copper cation; the coordinated oxygen sits at the top of the pyramid (Fig. 4, left, Fig. 2b, b₁).

The side-on triplet complex (Fig. 2b, b₂) was characterized as a transition state between the two end-on triplet structures, depending on the coordinating oxygen atom, and is associated with an imaginary vibrational frequency of 127i cm^{−1}. A fine analysis of this transition structure shows that the coordination sphere of copper, NNNΘ, is intermediate between a tetrahedron and a trigonal pyramid in which NNΘ is the basal plane (Fig. 4, right).

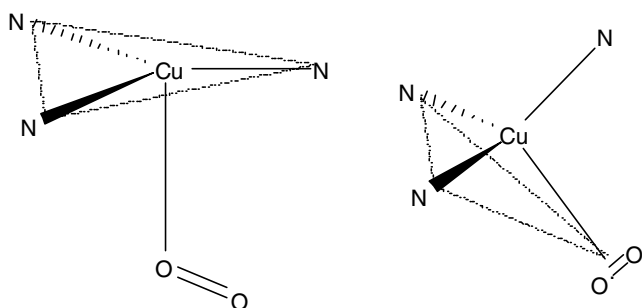
Both the end-on and the side-on singlets are minima: the end-on species exhibits a distorted square-planar geometry (Fig. 2b, b₃), whereas the side-on complex is intermediate between a tetrahedron and a trigonal bipyramid.

Analogous conclusions can be drawn for $[\text{Cu}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ regarding the singlet and the triplet states: the same coordination modes are obtained. The side-on triplet is a transition state relative to end-on geometries

Table 1 Characteristic distances (Å) computed for the $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$ dioxygen adducts

	Cu–N	Cu–O	O–O	Cu–O–O	$q(\text{Cu})$	$q(\text{O}_2)$
$[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3(\text{O}_2)]^+$						
End-on triplet	2.090 (a)	2.355	1.230	118.6	0.88	–0.11
Side-on triplet (TS)	2.086 (b)/2.144 (c)	2.221	1.264	73.5	1.00	–0.24
End-on singlet	2.089 (d)	1.961	1.276	122.9	1.02	–0.43
Side-on singlet	2.035 (b)/2.260 (c)	1.900	1.325	69.7	1.2	–0.55
$[\text{Cu}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$						
End-on triplet	2.030 (a)	2.193	1.240	118.1	0.98	–0.13
Side-on triplet (TS)	2.029 (b)/2.103 (c)	2.169	1.271	75.0	1.10	–0.28
End-on singlet	2.032 (a)	1.936	1.273	124.7	1.15	–0.41
Side-on singlet	1.981 (b)/2.207 (c)	1.892	1.329	69.8	1.27	–0.57
$[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4(\text{O}_2)]^+$						
End-on triplet	2.162 (a)/2.211 (e)	2.166	1.267	117.2	1.04	–0.33
End-on singlet	2.156 (a)/2.132 (e)	1.968	1.298	112.5	1.13	–0.54

The distances indicated by *a*, *b*, *c*, *d* and *e* are defined in Fig. 2. The Cu–N distances, *a* and *b*, were obtained by averaging on the Cu–N bond lengths in the complex. The Cu–O distances for side-on systems are averages over the two Cu–O bond lengths. Natural bonding orbital (NBO) charges are given for the $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ and $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$ dioxygen adducts. The charge on O_2 is the sum of the charges on each oxygen atom
ImH imidazole, *TS* transition state

**Fig. 4** Generic structures for triplet end-on (*left*) and triplet or singlet side-on (*right*) for O_2 adducts of CuN_3 systems

and is characterized by an imaginary vibrational frequency of $102i \text{ cm}^{-1}$. It is to be pointed out that the end-on structures exhibit three equal Cu–N bond lengths, whereas the side-on geometries have two short Cu–N bonds and one long Cu–N bond (Table 1).

For the $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4]^+$ complex, only the end-on binding mode was investigated. Both spin states, triplet (Fig. 2b, b_4) and singlet, are trigonal bipyramids.

Charge transfer from Cu^{I} to O_2

The charge transfer from [Cu] to O_2 occurring upon O_2 coordination was estimated using NBO charges (Table 1): the value of this transfer is of great importance since the modelled biomimetic tripod complexes are expected to reproduce the experimentally observed oxidation of Cu^{I} into Cu^{II} [3, 14, 15, 18].

The end-on triplet adducts of CuN_3 present very poor charge transfer: $q(\text{O}_2) \approx -0.12$ (Table 1). There is no significant difference for the charge on O_2 between aliphatic ($[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3(\text{O}_2)]^+$) and aromatic ($[\text{Cu}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$) ligands for a given coordination. The triplet

side-on binding mode decreases this value by 0.12 and a transfer of -0.24 is obtained. As seen from Table 1, singlet complexes having side-on geometries present the highest charge transfer towards O_2 , about 0.55, which thus get closer to a superoxide moiety.

The examination of the NBO charges in $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_4(\text{O}_2)]^+$ shows that adding one supplementary nitrogen ligand on the Cu^{I} complex has a significant effect on the charge transfer: it is increased by -0.22 when compared with the triplet $[\text{Cu}(\text{MeNH}_2)_3(\text{O}_2)]^+$ end-on system, and amounts now to -0.33 .

$\text{CH}(\text{ImH})_3$, tren and tren Me_3 precursory complexes

The main problem encountered when using monodentate ligands in the theoretical, and also experimental, modelling is that the resulting complexes exhibit a too high flexibility to be considered as relevant biomimetic models of enzymatic sites, which generally experience strong constraints imposed by the protein skeleton. This consideration led us to consider rigidified models. The coordination of O_2 was then studied on the three precursory complexes presented in Fig. 5. The ligand involved in $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ is tridentate, whereas those occurring in $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$ can be seen as tetradentate entities because of the apical nitrogen atom.

Structure and coordination

For $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$, opposite to the previous model $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ for which the computation of the two coordination modes was always possible whatever the spin state, only a side-on adduct could be optimized despite many attempts. This is in strong contrast to the monodentate model; the side-on triplet is not a transi-

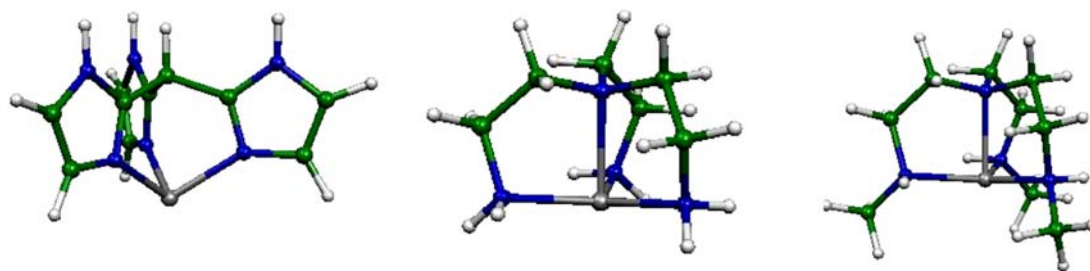


Fig. 5 Optimized structures of aromatic and aliphatic tripodal complexes: $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$. *tren* tris(2-aminoethyl)amine, *trenMe*₃ tris(2-methylaminoethyl)amine

tion state. The tripod complex $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ thus imposes a side-on coordination to O_2 for both spin states. It appears that the lack of flexibility of the ligands in $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ forbids the precursory complex from adopting a trigonal structure susceptible to relaxation towards a trigonal pyramidal structure (Fig. 4, left) upon complexation. The dioxygen adduct thus adopts the intermediate structure depicted in Fig. 4 (right).

The floppier *tren* and *trenMe*₃ ligands adopt trigonal pyramidal geometries: in the triplet state, the geometry optimizations lead, for both ligands, to end-on structures. All attempts to converge towards the triplet side-on complexes failed. It is interesting to point out that a large increase of the Cu–apical N bond length is observed for the *tren* singlet side-on species with respect to the precursory complex: it increases, for example, from 2.17 to 2.71 Å (distance *f* in Table 2) in $[\text{Cu}(\text{tren})(\text{O}_2)]^+$. In this coordination mode, the *tren* ligands, which behave before complexation as N_4 ligands, rather behave as N_3 ligands upon the formation of the dioxygen adduct.

This set of ligands was thus an especially valuable opportunity to evaluate the impact of this flexibility on the binding ability of O_2 to tripodal metal fragments. Considering the $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ fragment, the CASSCF

(−6.94 kcal mol^{−1}) and the CASMP2 (−4.62 kcal mol^{−1}) calculations indicate that the coordination of O_2 is favoured as the side-on singlet state (Table 2, Fig. 6). CASSCF calculations also show that the most favourable coordination mode for the *tren* and *trenMe*₃ cuprous complexes is end-on, although a singlet side-on structure appears close in energy (Table 2): the end-on structure is found to be more stable by 2.0 kcal mol^{−1}. The substitution of three hydrogen atoms by three methyl groups on the amine function reinforces the end-on singlet–triplet gap by 2.4 kcal mol^{−1}: the methyl groups are thus responsible for a more pronounced donation to the metal centre, which will favour electronic donation towards O_2 .

The singlet side-on adduct has been computed for the closely related ligand [tris(tetrahydroguano)trien] and was found to be 7 kcal mol^{−1} above the end-on structure [22]. This result is in fair agreement with our CASSCF computations (3.7 kcal mol^{−1} for the *trenMe*₃ adduct and 1.43 kcal mol^{−1} for the *tren* adduct).

Charge transfer from Cu^I to O_2

In the absence of O_2 , the charge on Cu^I amounts to +0.84 in $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ and to +0.95 in $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$.

Table 2 Singlet–triplet gap [$E(\text{S})-E(\text{T})$, CASSCF, kcal mol^{−1}], binding mode of O_2 , and Cu–N, Cu–O and O–O distances (Å) in both singlet and triplet states for the three tripodal adducts

Spin state	$[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$		$[\text{Cu}(\text{tren})(\text{O}_2)]^+$			$[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$		
	S	T	S	S	T	S	S	T
$E(\text{S})-E(\text{T})$	−6.94 ^a	0.0	−12.98	−11.55	0.0	−15.40	−11.67	0.0
Binding mode	Side-on	Side-on	End-on	Side-on	End-on	End-on	Side-on	End-on
Cu–N	1.983 (b) 2.365 (c)	2.051 (b) 2.230 (c)	2.146 (a) 2.179 (e)	2.065 (b) 2.291 (c) 2.711 (f)	2.152 (a) 2.224 (e)	2.157 (e) 2.164 (e)	2.186 (b) 2.379 (c) 2.661 (f)	2.179 (a) 2.213 (e)
Cu–O	1.861	2.027	1.983	1.917	2.000	1.890	1.917	1.988
O–O	1.334	1.228	1.295	1.321	1.272	1.296	1.322	1.275
Cu–O–O	68.0	71.1	106.0	70.0	112.1	112.1	69.8	114.6
$q(\text{Cu})$	1.28	1.17	1.14	1.21	1.08	1.16	1.23	1.11
$q(\text{O}_2)$	−0.54	−0.33	−0.49	−0.54	−0.35	−0.52	−0.55	−0.37

The *a*, *b*, *c*, *e* and *f* distances are defined in Fig. 6. The reported Cu–N distances, *a* and *b*, were obtained by averaging the Cu–N bond lengths in the complex. The Cu–O distances for side-on systems are averages over the two Cu–O bond lengths
tren tris(2-aminoethyl)amine, *trenMe*₃ tris(2-methylaminoethyl)amine

^aThe CASMP2 value amounts to −4.62 kcal mol^{−1}

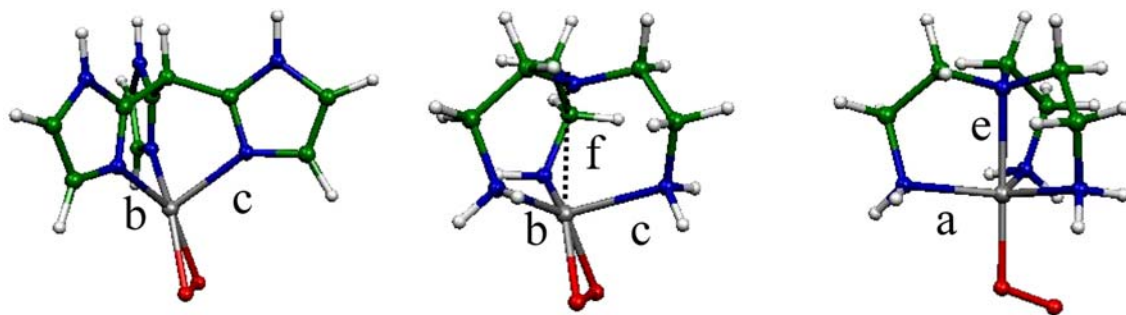


Fig. 6 Examples of coordination modes of O_2 to tripod complexes: side-on for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$, side-on for $[\text{Cu}(\text{tren})(\text{O}_2)]^+$ and end-on for $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$. The a , b , c , e and f distances are given in Table 2

These results suggest that the overall charge transfer towards Cu^+ is, as expected, larger for amines than for ImH. Whereas amines are only σ -donors, ImH acts as a σ -donor but also as a π -acceptor subject to back-donation. The tren cuprous complexes are thus to be regarded as better candidates for a charge transfer towards O_2 than $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$.

In the oxygen adducts, the charges on O_2 are significant and vary between -0.34 and -0.55 (Table 2). The singlet states exhibit large charges on O_2 : they are in the range from -0.49 to -0.55 . Quite notably, for the triplet states, $q(\text{O}_2)$ is relatively insensitive to the nature of the ligand and, thus, to the coordination mode of O_2 : it amounts to -0.33 , -0.35 and -0.37 for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren})(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$, respectively. These results are consistent with the tendencies found for the monodentate models. The charges on O_2 and Cu are found to be very close when comparing the tripod models and their monodentate analogues for the same coordination mode.

Behaviour towards carbon monoxide and acetonitrile

The complexation of carbon monoxide and acetonitrile to the metallated $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$, $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$ tripods was also investigated. Such interest was motivated by the fact that copper enzymes are usually investigated by means of both their O_2 and their CO adducts. When using biomimetic models such as tripods or calixarenes, O_2 , of course, and also CO and nitriles are used: these have the advantage of being redox nonreactive ligands [58]. Additionally, these ligands will allow further investigations on the impact of the flexibility of the tripod ligand on the binding ability of the metal fragment. We report in Table 3 the computed complexation energies (all closed-shell singlet states) with two different approaches.

On the one hand, the full geometry optimizations provide for all tripods ΔE values in favour of the CO and CH_3CN complexation with a significantly larger binding energy for the latter. On the other hand, the

Table 3 Complexation energies (ΔE and ΔE_e) and interaction energies (IE) for three metallated tripods interacting with CO and CH_3CN (kcal mol^{-1})

	$[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$	$[\text{Cu}(\text{tren})]^+$	$[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$
Precursor $d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{ap}})$	—	2.262	2.256
CO			
ΔE	−25.7	−7.1	−6.6
ΔE_e	−34.9	−15.9	−14.8
$\Delta\Phi$	7.24	38.23	32.23
IE	−35.0	−26.0	−22.7
$d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{ap}})$	—	2.749	2.604
$d(\text{Cu}-\text{C}_{\text{CO}})$	1.823	1.873	1.878
$d(\text{C}-\text{O})$	1.146	1.147	1.147
$\nu(^{12}\text{C}-^{16}\text{O})$	2,179 (2,114)	2,160 (2,095)	2,155 (2,090)
$\nu(\text{Cu}-^{12}\text{C}_{\text{CO}})$	430 (417)	349 (338)	346 (336)
$\nu(\text{Cu}-^{14}\text{N}_{\text{ap}})$	206 (200) ($\text{Cu}-\text{CH}$)	370 (3159)	373 (362)
CH_3CN			
ΔE	−25.9	−9.6	−8.7
ΔE_e	−32.6	−15.6	−14.5
$\Delta\Phi$	7.14	32.11	30.16
IE	−35.2	−22.7	−21.5
$d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{ap}})$	—	2.656	2.595
$d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{NCMe}})$	1.907	2.028	2.031
$d(\text{C}-\text{N}_{\text{NCMe}})$	1.162	1.163	1.163
$\nu(^{12}\text{C}-^{14}\text{N})_{\text{NCMe}}$	2,366 (2,295)	2,350 (2,279)	2,349 (2,278)
$\nu(\text{Cu}-^{14}\text{N}_{\text{NCMe}})$	285 (276)	184 (178)	182 (176)
$\nu(\text{Cu}-^{14}\text{N}_{\text{ap}})$	144 (140) ($\text{Cu}-\text{CH}$)	222 (215)	293 (284)

$\Delta\Phi$ (degrees) is the variation of one (NCuNN) dihedral angle upon the complexation, $d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{ap}})$ is the apical distance (Fig. 7) in angstroms. The vibrational frequencies are given in cm^{-1} ; values in parentheses were obtained by applying a standard scaling factor of 0.97

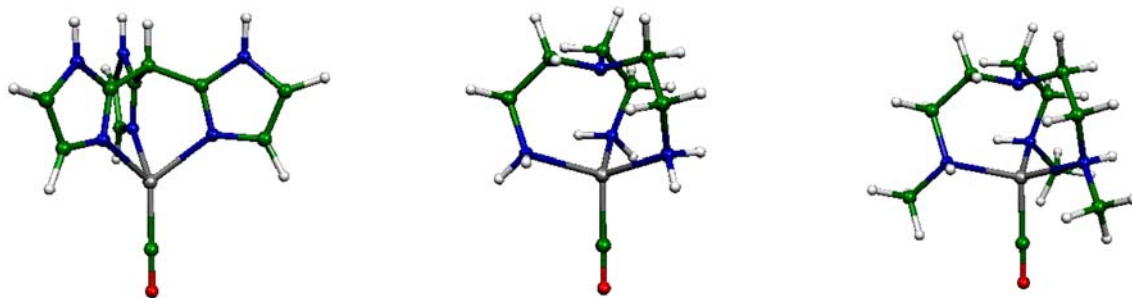


Fig. 7 Coordination of CO to $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$, $[\text{CuCH}(\text{tren})]^+$ and $[\text{CuCH}(\text{trenMe}_3)]^+$

affinity of CO or CH_3CN appears stronger for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ than for $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ or $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$.

The variation $\Delta\Phi$ of one (NCuNN) dihedral angle upon complexation allows monitoring of the rearrangement of the complex between the starting geometry and the CO or CH_3CN adduct. It appears (Fig. 7) that the coordination of CO and CH_3CN on $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ is tetrahedral at Cu. No significant reorganization of the geometry with respect to the starting metallated tripod occurs ($\Delta\Phi = 7.2^\circ$). In contrast, the $[\text{Cu}(\text{tren})\text{L}]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)\text{L}]^+$ complexes (L is CO or CH_3CN) experience a strong reorganization ($\Delta\Phi = 30\text{--}38^\circ$, Table 3) and get a tetrahedral geometry: the initial Cu–N_{ap} bond lengths increase significantly when ligand L binds.

The energetic cost of such a reorganization may explain the difference in ΔE observed between $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{L})]^+$ and the two tren complexes. To check this hypothesis, we calculated the interaction energy (IE) according to

$$\text{IE} = E([\text{Cu}]-\text{L})_{\{\text{geom}([\text{Cu}]-\text{L})\}} - E([\text{Cu}])_{\{\text{geom}([\text{Cu}]-\text{L})\}} - E(\text{L})_{\{\text{geom}([\text{Cu}]-\text{L})\}}.$$

Namely, we here consider the energy of the fragments, [Cu] and L, in the geometry found in the fully optimized [Cu]–L complex. As expected, and because the fragments are not in their own minimum-energy structure, the IE is larger than ΔE (Table 3). The difference between these two quantities is largest for the two tren tripods and confirms the previous analysis: these two tripods are subject to strong structural deformations upon the complexation of CO or CH_3CN .

Table 3 also reports the $\nu(^{12}\text{C}-^{16}\text{O})$ vibrational frequencies. Our computed values for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3\text{CO}]^+$, 2,114 cm^{-1} for $\nu(\text{O}-\text{O})$ and 417 cm^{-1} for $\nu(\text{CuC})$, compare very favourably with a number of closely related (ImH vs. pyrazolyl, Pyra) complexes recently reported: $[\text{CuCH}(3,5\text{-}i\text{-Pr}_2\text{Pyra})_3\text{CO}]^+$ (2,107 and 449 cm^{-1}), $[\text{CuCH}(3,5\text{-Me}_2\text{Pyra})_3\text{CO}]^+$ (2,113 cm^{-1}), $[\text{CuCH}(3\text{-PhPyra})_3\text{CO}]^+$ (2,104 cm^{-1}) and $[\text{CuCH}(3\text{-}t\text{-BuPyra})_3\text{CO}]^+$ (2,100 cm^{-1}) [59–61].

Although somewhat higher than the experimental values reported for related tris(ImH)CuCO complexes (2,080–2,086 cm^{-1}) and tris(His)CuCO enzyme sites (2,043–2,063 cm^{-1}), the computed value of 2,114 cm^{-1}

for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{CO})]^+$ interestingly compares well also with that reported for the calix[6](ImR)₃ system (2,092–2,102 cm^{-1}) [27].

The only experimental value available for a tren environment stems from the tren-capped calixarene system, for which a lower-energy vibration (2,075 cm^{-1}) when compared with the calix[6](ImR)₃ has been observed [58]. A very similar feature is found in our calculations: the theoretical values for the tren systems (2,090 or 2,095 cm^{-1}) are approximately 20 cm^{-1} lower in energy when compared with those for $\text{CH}(\text{ImH})_3$, as experimentally measured with ligands providing the same environment (second coordination sphere controlled by the calixarene core) around the metal centre.

It is commonly accepted that the $\nu(\text{C}-\text{O})$ value is a reflection of the Cu–(CO) bond [62]. A strong σ -donation from CO to an electronically poor Cu(I) centre will lead to a high value, while a strong π -back-donation from an electronically rich Cu(I) centre to CO will lower it. The fact that the vibrational frequencies are lower for the tren complexes than for the $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{L})]^+$ adduct reflects a better σ -donation with ImH and a better π -back-donation in the case of tren. This is consistent with the strong donor ability of the latter that enriches the metal centre, thus weakening the σ -character of the Cu–(CO) bond but increasing the π -back-donation from Cu(I). With a π -acceptor such as ImH, the converse situation occurs: strong σ -donation from CO to Cu, and weak π -back-donation from Cu to CO.

However, the IE values presented in Table 3 show a stronger Cu–(CO) bond with $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ compared with $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ or $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)]^+$. It follows that the complexation energy of CO on either the tris(ImH) complex or the tren complexes (and maybe both) is governed by the σ -donation.

A ‘borate’ model: Kitajima’s complex

Historically, the first constrained cuprous complex forming a stable 1:1 [Cu]–O₂ adduct was synthesized by Kitajima et al. [18] in 1994. The tripod used was the tris(3-*tert*-butyl-isopropyl-1-Pyra)hydroborate ($\text{Tp}^{i\text{-Pr}, t\text{-Bu}}$). The cuprous complex formed with this ligand is particularly rich in electrons and is assumed to form and

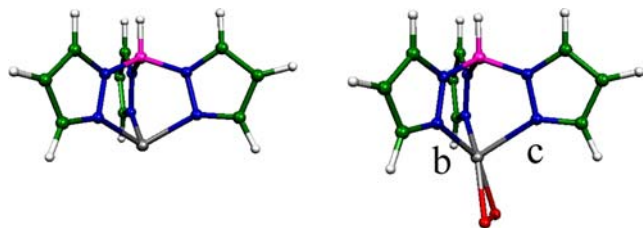


Fig. 8 Structure of the precursor $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3]$ complex (left) and a side-on O_2 adduct (right). The b and c distances are given in Table 4. *Pyra* pyrazolyl

stabilize a superoxo complex. We investigated the chelation by O_2 through the modelling of this tripod by a tris(1-Pyra)hydroborate ligand (Tp) (Fig. 8).

Only side-on geometries could be optimized using the B3LYP functional for both triplet and singlet states. No end-on geometries were obtained despite several attempts. These binding modes and multiplicities are consistent with those observed previously with the strongly constrained $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ adduct: the architecture of the neutral $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3]$ complex is very close to that of $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ and a side-on binding mode is expected.

CASSCF computations give the singlet side-on adduct $4.28 \text{ kcal mol}^{-1}$ lower than the side-on triplet (Table 4). Experimentally, Kitajima's complex has been reported to be diamagnetic in both the liquid and the solid phases [18]. It has been modelled by the same complex as in this paper but using a different basis set (polarized triple-zeta quality basis set for Cu, 6-31G* for other atoms) and different functionals (BP86, B3LYP, 'B38HFP86', a series that corresponds to increasing weight of exact Hartree–Fock exchange and thus favours triplet states) [19]: it was concluded that the BP86 functional was appropriate to account for the experimentally observed singlet ground state, and a calculated triplet–singlet gap of $2.12 \text{ kcal mol}^{-1}$ was found in favour of the

singlet side-on state. The current CASSCF calculations support these DFT and experimental results.

Looking for insightful trends

Rule 1: predicting the O_2 coordination mode from the precursor structure only

As seen throughout this paper, two coordination modes (Fig. 9) are possible when O_2 is interacting with a closed-shell cation, namely Cu^{I} . In both cases, the half-filled π^* orbital of O_2 plays the role of an acceptor orbital interacting with the filled d orbitals at the metal. Indeed, σ -donation from the O_2 lone pairs to the empty $4s$ of Cu^{I} can be neglected for two reasons. First, owing to both the high electronegativity of oxygen and to the absence of s/p mixing in the molecular orbital diagram, the O_2 σ lone pairs are very low lying with respect to the copper $3d$ orbitals; the first orbital allowing σ -interaction with copper would thus be $\pi_{\text{O-O}}$ in an η^2 fashion. Second, the already high lying $4s$ orbital at Cu is further destabilized by interaction with the ligands coordinated at the metal in the tripod. The first coordination mode, a bent end-on Cu–O–O structure, corresponds to σ -bonding involving a d_{z^2} -like orbital of the metallic cation. The second one relies on an η^2 side-on hapticity associated with π -bonding: it involves a d_{xz} -like orbital of the metal. The side-on structure is symmetrically bonded to the metal, which allows the metal–ligand π -interaction to be maximized, whereas the σ bond occurs in a bent arrangement maximizing σ -like-bonding interaction.

The choice between the σ and π coordination modes can be fully explained by means of a D_{3h} – C_{3v} correlation diagram relying on a frontier orbital analysis. We here recall that in the metallated fragment the $3d$ orbitals are all filled (Cu^+ cation); it will then interact as a donor toward the $\pi_{\text{O-O}}^*$ half-filled orbital of the O_2 fragment.

In an idealized D_{3h} planar geometry, the $3d$ orbitals of the $\text{Cu}^{\text{I}}\text{L}_3$ fragment order as follows:

1. Orbitals d_{xy} and $d_{x^2-y^2}$ (E' symmetry) are highly destabilized by their interaction with the L ligands.

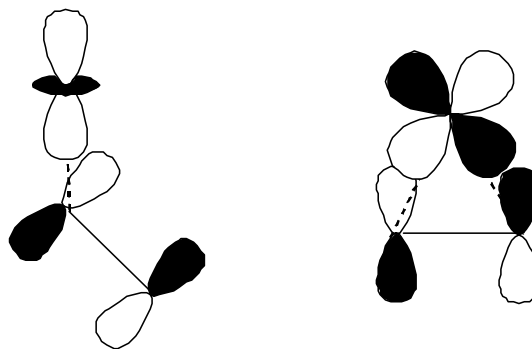


Fig. 9 Orbital interaction in the end-on and side-on structures

Table 4 Geometries and charges for $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$

	B3LYP geometries	
	Singlet	Triplet
$E(\text{S})-E(\text{T})$	–4.28	0.0
$d(\text{Cu}-\text{N})$	Side-on	Side-on
	1.962 (b)	2.021 (b)
	2.281 (c)	2.196 (c)
$d(\text{Cu}-\text{O})$	1.861	2.029
$d(\text{O}-\text{O})$	1.343	1.300
$\text{Cu}-\text{O}-\text{O}$ (degree)	68.9	71.6
$q(\text{Cu})$	1.31	1.21
$q(\text{O}_2)$	–0.62	–0.42

All distances are in angstroms. The singlet–triplet gap $[E(\text{S})-E(\text{T})]$ was computed at the CASSCF level of theory using the B3LYP geometries. The b and c distances are defined in Fig. 8. The Cu–O distances for are averages over the two Cu–O bond lengths. *Pyra* pyrazolyl

They are the two highest-occupied orbitals. However, they both lie within the σ_h plane and will thus interact by means of a δ -overlap with a z -incoming fragment such as O_2 . They will not be considered further as such an overlap is in general very weak and more efficient overlaps usually occur.

- The d_{z^2} orbital (A_1' symmetry) is slightly antibonding with the in-plane L ligands owing to its torus. It can however σ -interact with a fragment coming along the z -axis.
- Orbitals d_{xz} and d_{yz} (E'' symmetry) are nonbonding for the L ligands but can π -interact with O_2 coming in along the z -axis. In such a D_{3h} symmetry (Fig. 10, left), interaction with O_2 should then take place with the highest-occupied orbital of bonding symmetry, namely the A_1' d_{z^2} orbital: this will result in a σ -type interaction being most efficient for an end-on geometry.

When reducing to C_{3v} symmetry, the metal– L_3 antibonding interactions of E' symmetry, as well as the interactions with the d_{z^2} orbital, are decreased since the L_3 ligands no longer point directly towards the maximum probability lobes (Fig. 10, right). On the opposite, the metal E'' orbitals are destabilized by the pyramidalization. Consequently, the E'' metal orbitals become

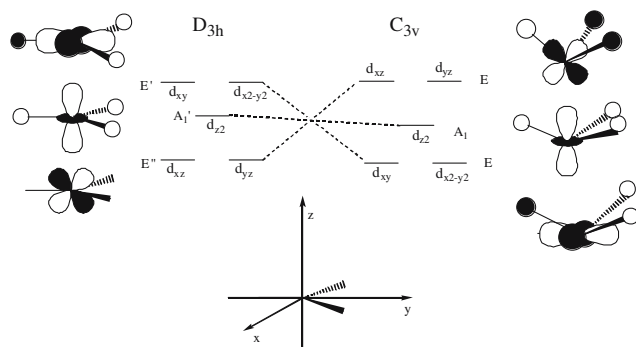


Fig. 10 D_{3h} – C_{3v} correlation diagram for metal-centred orbitals of an ML_3 fragment

the highest-occupied orbitals and are now the most appropriately suited to interact with the incoming O_2 fragment: a π -bond can develop and leads to a side-on structure. Since O_2 can accommodate coordination in both symmetries with no clear-cut a priori preference, it will most probably prefer the arrangement minimizing the energetical cost of the distortion of the metallated tripod.

Consequently, it is possible to predict the O_2 coordination mode from optimization of the metal fragment alone. Table 5 collects the coordination mode of O_2 (μ) for a set of adducts (lowest singlet and lowest triplet) together with two angular parameters characterizing the level of pyramidalization at Cu^I in the *precursor moiety*.

When Cu^I goes out of the plane defined by the three nitrogen atoms, the geometry becomes closer to a tetrahedron: both Σ and Ω decrease. Inspection of these quantities shows that end-on coordination is to be expected when Ω is roughly over 120° and Σ is over 330° . Lower values lead to side-on coordination. The intermediate domain seems to correspond to Ω between 100 and 110° and to Σ between 300 and 330° . Any factor favouring the withdrawing of the three nitrogen atoms bound will make copper more pyramidal and, then, decrease Σ and Ω .

Pyramidalization at the metal, as observed in Table 5 and characterized by decreased values of the Σ and Ω angles, results in variations within the energy levels of the $3d$ orbitals as shown in the following and illustrated in Fig. 10.

Rule 2: correlations between μ , $d(O-O)$ and $q(O_2)$

Drawing up abacuses

Raman spectroscopy is usually employed to estimate the superoxide character of dioxygen coordinated to copper complexes by deriving the $d(O-O)$ bond length from the observed $\nu(O-O)$ vibrational frequency [63]. An alternative is the ‘direct’ crystallographic measurement of

Table 5 Sum of the three (NCuN) valence angles involving the equatorial ligands (Σ) and the NCuNN dihedral angle (Ω) (degrees) for the precursory complexes, and the observed coordination mode (μ) in the dioxygen adducts

Pyra pyrazolyl, *PHM* peptidyl-glycine α -hydroxylating mono-oxygenase

	Σ	Ω	μ
Precursory complexes (computed)			
$[Cu(MeNH_2)_3]^+$	359.9	178.3	End-on
$[Cu(ImH)_3]^+$	360.0	178.5	End-on
$[Cu(trenMe_3)]^+$	357.4	161.7	End-on
$[Cu(tren)]^+$	357.4	160.6	End-on
$[Cu(MeNH_2)_4]^+$	327.2	119.2	End-on
$[CuBH(Pyra)_3]$	296.5	100.4	Side-on
$[CuCH(ImH)_3]^+$	286.2	95.9	Side-on
Substituted $trenMe_3$ (computed)			
S- <i>tren</i>	358.4	NCuNS: 166.6	End-on
P- <i>tren</i>	357.9	NCuNN: 165.7	End-on
(P- <i>tren</i>)'	358.3	NCuNP: 165.2	End-on
PHM (experimental)			
$Cu_A (= Cu_H)$	354.0	148.0	–
$Cu_B (= Cu_M)$	317.7	NSCuN: 128.0	End-on
$Cu_B (= Cu_M)$	317.7	NCuNS: 113.0	End-on

Table 6 Summary of the O–O bond lengths, $q(\text{O}_2)$ charges (NBO) and $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vibrational frequencies for compounds investigated in the present work

Precursory complex	Binding mode (computed)	$d(\text{O}-\text{O})$ (Å)	$q(\text{O}_2)$	$\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ (cm^{-1})
[Cu(MeNH ₂) ₃] ⁺	Side-on singlet	1.325	−0.55	1,050
	Side-on triplet (TS)	1.264	−0.24	1,207
	End-on singlet	1.276	−0.43	1,159
	End-on triplet	1.238	−0.11	1,306
[Cu(MeNH ₂) ₄] ⁺	End-on singlet	1.298	−0.54	1,107
	End-on triplet	1.267	−0.34	1,161
[Cu(ImH) ₃] ⁺	Side-on singlet	1.329	−0.57	1,047
	Side-on triplet (TS)	1.271	−0.28	1,183
	End-on singlet	1.273	−0.41	1,171
	End-on triplet	1.240	−0.13	1,286
[CuBH(Pyra) ₃]	Side-on singlet	1.343	−0.62	1,013
	Side-on triplet	1.299	−0.42	1,113
[CuCH(ImH) ₃] ⁺	Side-on singlet	1.334	−0.54	1,037
	Side-on triplet	1.288	−0.33	1,145
[Cu(tren)] ⁺	Side-on singlet	1.321	−0.54	1,065
	End-on singlet	1.295	−0.49	1,112
	End-on triplet	1.272	−0.35	1,150
[Cu(trenMe ₃)] ⁺	Side-on singlet	1.322	−0.55	1,058
	End-on singlet	1.296	−0.52	1,100
	End-on triplet	1.275	−0.37	1,135

O–O bond lengths, provided the complex can be crystallized. Complementarily theoretical calculations give access to model complexes which can be investigated either in their triplet or in their singlet state, or even, in many cases, in both their possible side-on and end-on conformations. The set of closely related species studied in this paper provides a number of computed $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vibrational frequencies, NBO charges on the coordinated O₂ moiety and O–O bond lengths (Table 6).

In an attempt to rationalize all the previous structural results, we first determined a scaling factor allowing the computational results to match the available experimental data. This preliminary step was achieved by comparing the calculated vibrational frequency of O₂ in the [Cu(trenMe₃)(O₂)]⁺ complex to that experimentally reported for the [Cu(trenMe₆)(O₂)]⁺ complex [23, 25]. This leads to

$$\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})_{\text{exp}} = 0.87\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})_{\text{theor}}.$$

The accordingly scaled $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ frequencies were then plotted for all structures reported previously as a function of the O–O bond length (Fig. 11) and as a function of the NBO charge on O₂ (Fig. 12).

In both cases, near-linear relationships emerge; the correlation factors amount to $R=0.970$ for $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vs. $d(\text{O}-\text{O})$, and $R=0.961$ for $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vs. $q(\text{O}_2)$. Our values compare very favourably with those obtained recently: $R=0.950$ for $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vs. $d(\text{O}-\text{O})$ and $R=0.910$ for $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vs. the Mayer O–O bond order [63]. These correlations were based on a set of either experimental measurements or theoretical calculations for a set of metal–O₂ compounds not necessarily belonging to the same chemical families.

As seen from Figs. 11 and 12, our set of values splits into four well-defined subclasses, each of them giving rise to a particular and fine correlation (Table 7). These four sets correspond to:

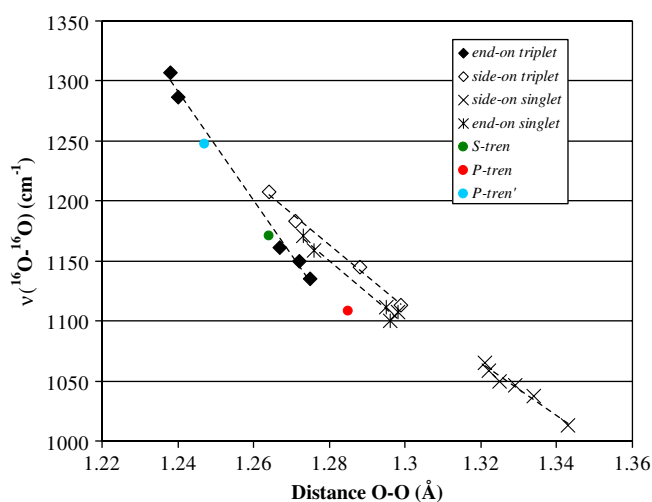


Fig. 11 Correlation of the vibrational frequency $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ (cm^{-1}) with the O–O bond length (Å) with respect to the spin state and the binding mode of the dioxygen adduct. The scaling procedure is detailed in the text. The data are given in Table 6

1. End-on triplet states
2. Side-on triplet states
3. End-on singlet states
4. Side-on singlet states.

The correlation factors amount respectively to $R=0.997$, 0.998 , 0.989 and 0.988 for the $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vs. $d(\text{O}-\text{O})$ plot. Such high correlations in the first cases may provide a useful way to estimate the coordination mode and spin multiplicity of dioxygen adducts to tripods. For example, compounds exhibiting a ‘low’ (less than $1,075 \text{ cm}^{-1}$) experimental $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vibrational frequency are expected to be singlet side-on species and to allow high NBO charge transfer, whereas it can be similarly suggested that compounds exhibiting

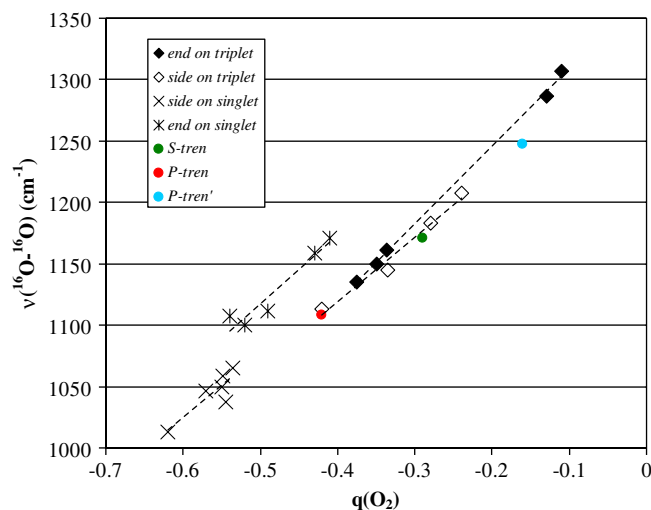


Fig. 12 Correlation of the vibrational frequency $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ (cm^{-1}) with the natural bonding orbital $q(\text{O}_2)$ charge with respect to the spin state and the binding mode of the dioxygen adduct. The scaling procedure used is detailed in the text. The data are given in Table 6

Table 7 Parameters for the linear regressions: $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ (cm^{-1}) = $m \times d(\text{O}-\text{O})$ (\AA) + b

	m ($\text{cm}^{-1}\text{\AA}^{-1}$)	b (cm^{-1})	R
End-on triplet	-4,538	6,919	0.997
Side-on triplet	-2,612	4,506	0.998
End-on singlet	-2,670	4,568	0.989
Side-on singlet	-2,174	3,935	0.988

$\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O}) > 1,250 \text{ cm}^{-1}$ will rather be end-on triplets. In the intermediate range, from $1,075$ to $1,250 \text{ cm}^{-1}$, side-on singlet structures are likely to be excluded, but three remaining sets of possible structures cannot be discriminated. In these cases, a second experimental parameter is required, such as electron paramagnetic resonance (EPR), NMR or magnetochemistry data, to discriminate between singlet and triplet states, or a crystallographic structure to get an estimate of the O–O bond length.

Validation and immediate applications

This predictive rule is supported by at least two external experimental examples:

1. The $\text{Tp}^{\text{Ad},i\text{-Pr}}\text{CuO}_2$ complex, where $\text{Tp}^{\text{Ad},i\text{-Pr}}$ is tris (3-adamantyl-5-isopropyl-1-Pyra)hydroborate, is experimentally characterized by $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O}) = 1,043 \text{ cm}^{-1}$, is known to be a singlet from NMR and magnetochemistry measurements; it has been modelled using the Tp tripod (see the “A ‘borate’ model: Kitajima’s complex” section) and was computed to be side-on [19].

2. The L^1CuO_2 and L^2CuO_2 complexes, where L^1 and L^2 are bis(2,6-diisopropylphenyl)-substituted β -diketimines, are characterized by experimental $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ values of 968 and 961 cm^{-1} , respectively, and are known to be singlet states from EPR measurements and to be side-on from crystallography [20, 21, 48].

With these new tools at hands, it seems interesting to revisit the $\text{Tp}^{i\text{-Pr},t\text{-Bu}}\text{CuO}_2$ complex. In the liquid phase, a $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ frequency of $1,112 \text{ cm}^{-1}$ has been reported and this complex is known to be a singlet from NMR measurements [18]. From the previous abacuses (Fig. 11), it can be deduced that it might be an end-on singlet with a O–O bond length of slightly less than 1.30 \AA , i.e. far from the 1.22 \AA distance reported from crystallographic measurements [18]. Applying the abacuses to such a small value of 1.22 \AA provides frequencies larger than $1,280 \text{ cm}^{-1}$: consequently, it can be concluded that the crystallographic measurements in the solid phase and the vibrational frequency in the liquid phase do not seem compatible. A possible explanation of such a bond length difference between the liquid and the solid phases has been proposed in terms of a libratory motion of the O_2 ligand in a side-on structure [63]. Another explanation may come from sensitivity to the microenvironment: crystallization from a solvent phase may induce a change in the coordination mode. This might be especially true for adducts having a precursor ‘borderline’ with respect to rule 1 as seems to be the case for borate ligands (Table 5). An illustration of that point is given by the sensitivity to the nature of the substituents linked to the Pyra moieties, namely adamantyl for $\text{Tp}^{\text{Ad},i\text{-Pr}}\text{CuO}_2$ ($\nu = 1,043 \text{ cm}^{-1}$, side-on singlet) but *tert*-butyl for $\text{Tp}^{i\text{-Pr},t\text{-Bu}}\text{CuO}_2$ ($\nu = 1,112 \text{ cm}^{-1}$).

A final application concerns the $[\text{Cu tris}(N\text{-benzyl-}N\text{-methylaminoethyl)amine}]^+$ dioxygen adduct [25]. If we admit, in the absence of other data, that this species is an end-on singlet, as found for the related tren and trenMe_3 considered in this paper, then the experimental $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ frequency of $1,120 \text{ cm}^{-1}$ coupled to the abacuses suggests that the O–O bond length is approximately 1.29 \AA .

Extension to other tripods and to PHM

Heteroatom substitution on $[\text{Cu}(\text{tren})]^+$ precursor metallated tripods

Structural descriptions and charge transfers In order to check the ability of our abacuses to deal with complexes having coordinating atoms other than nitrogen, we supplemented our investigations by studying the triplet state of the O_2 adducts to three unknown cuprous complexes. The tripodal ligands chosen are structurally analogous to the previous tren but involve the substitution of one nitrogen atom by either phosphorus or sulphur (Fig. 13). To our knowledge, no report dedicated to these systems has been published previously.

Fig. 13 Substituted tren: $[\text{Cu}(\text{S-tren})]^+$ (left), $[\text{Cu}(\text{P-tren})]^+$ (middle) and $[\text{Cu}(\text{P-tren}')^+]$ (right)

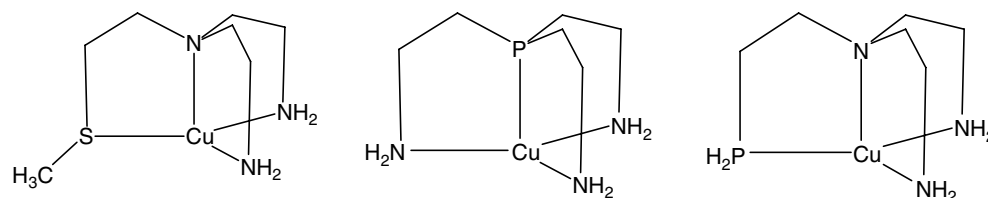


Table 8 Structural parameters and complexation energy for the formation of the dioxygen adducts on the substituted tren complexes

	$[\text{Cu}(\text{S-tren})(\text{O}_2)]^+$	$[\text{Cu}(\text{P-tren})(\text{O}_2)]^+$	$[\text{Cu}(\text{P-tren}')(\text{O}_2)]^+$
Spin state	Triplet	Triplet	Triplet
ΔE_c (kcal mol ⁻¹)	-5.42	-13.41	-2.56
ΔE (kcal mol ⁻¹)	+0.15	-7.72	+2.22
μ	End-on	End-on	End-on
$d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{eq}})$ (Å)	2.411	2.301	2.140
$d(\text{Cu}-\text{N}_{\text{ap}})$ (Å)	2.267	—	2.318
$d(\text{Cu}-\text{X})$ (Å) (X is S or P)	2.411	2.256	2.299
$d(\text{O}-\text{O})$ (Å)	1.264	1.285	1.247
$d(\text{Cu}-\text{O})$ (Å)	2.046	1.943	2.206
Cu-O-O (degrees)	112.5	109.6	112.9
$\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ (cm ⁻¹)	1,346 (1,306)	1,274 (1,236)	1,434 (1,391)
$q(\text{Cu})$	0.94	0.99	0.86
$q(\text{O}_2)$	-0.29	-0.42	-0.16

Values in parentheses were obtained by applying a standard scaling factor of 0.97

The Σ and Ω parameters associated with these precursors are reported in Table 5. As all are larger than 350 and 160° respectively, rule 1 predicts end-on coordination with O_2 . This is confirmed from the full geometry optimization of the structure of the dioxygen adducts (Table 8): end-on structures are obtained in trigonal bipyramidal arrangements.

Especially interesting is $[\text{Cu}(\text{P-tren})(\text{O}_2)]^+$, in which a phosphorus atom is located at the apical position. The $q(\text{O}_2)$ charge amounts to -0.42, which indicates that this complex makes a strong charge transfer towards O_2 . This value is the largest found among the species investigated in this work within the end-on triplet subset. Such a high value is corroborated by the particularly long O-O bond and the low value of the $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ vibrational frequency. It is noticeable that the P-Cu bond length amounts to 2.22 Å in the precursor and to 2.25 Å in the oxygen adduct. These bond lengths are close to those encountered in the corresponding analogous per-nitrogenous tripod, 2.26 and 2.22 Å.

Quite notably, putting the phosphorus ligand in an equatorial location as in $[\text{Cu}(\text{P-tren}')(\text{O}_2)]^+$ does not favour the charge transfer: $q(\text{O}_2) = -0.16$. Indeed, the P-Cu bond length amounts to 2.23 Å in the precursor and to 2.30 Å in the O_2 adduct. At the same time, the Cu-N_{ap} distance increases significantly since it amounts to 2.32 Å, which is significantly longer than in the N_3N analogue. Finally, putting a sulphur atom at this position leads to a medium value of $q(\text{O}_2) = -0.29$. This is consistent with a Cu-N_{ap} value of 2.27 Å, intermediate between that in the complex with a basal P and that in the case of a basal N.

Such variations of the $q(\text{O}_2)$ charge when playing with the (N, S, P) triad and with the location of the heteroatoms stimulate experiments currently under

way in our laboratory, but also require some kind of analysis.

Comprehensive orbital interpretations As shown in the “Rule 1: predicting the O_2 coordination mode from the precursor structure only” section, charge transfer towards O_2 in the end-on coordination mode occurs via the interaction of the filled d_{z^2} orbital with the half-filled $\pi_{\text{O}-\text{O}}^*$ orbital. In the presence of an apical ligand, the A_1' d_{z^2} orbital shown in Fig. 10 is destabilized owing to a four-electron interaction with the apical lone pair (orbitals 1i and 2i in Fig. 14). This destabilization decreases the energy gap between the d_{z^2} orbital and the $\pi_{\text{O}-\text{O}}^*$ orbital. Consequently, the interaction between 2i and $\pi_{\text{O}-\text{O}}^*$, which results in the 2o and 3o orbitals, is increased with respect to the direct interaction between the A_1' and the $\pi_{\text{O}-\text{O}}^*$ orbital obtained in the absence of any apical ligand. This is expected to increase charge transfer towards O_2 .

This orbital explanation accounts by itself for the effect of the (N, S, P) triad in a basal position. When progressing along this triad, the apical N-Cu bond length increases, as mentioned before, so the Cu-N apical interaction decreases and lowers the energy of the 2i orbital. The larger the 2i- $\pi_{\text{O}-\text{O}}^*$ gap, the smaller the 2o orbital destabilization, and, then, the smaller the charge transfer towards O_2 .

A slightly more complex scheme is at stake when describing the consequences of replacing N by P in the apical position. Indeed, two effects are involved. First, since the 3s and 3p orbitals of the P atom both have a larger spatial expansion than the 2s and 2p orbitals of the N atom, the overlap with the 3d and 4s orbitals of Cu^{I} is enhanced. Second, as a simple result arose from electronegativity considerations, the 3s and 3p orbitals

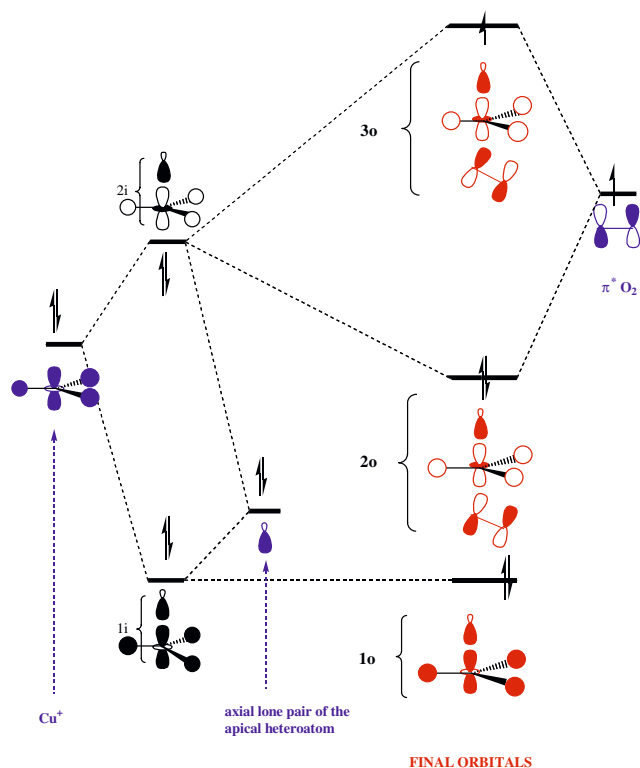


Fig. 14 Orbital interactions leading to charge transfer towards O_2 . Note that the second π^*_{O-O} orbital has not been considered as it can only develop δ or π overlaps with the metallated complex

of P are higher in energy than the N counterparts, which also favours their interaction with the d_{z^2} orbitals as they are energetically closer in the case of P (Fig. 15). These two effects result in a stronger, more covalent, and thus more destabilizing, interaction of the apical ligand

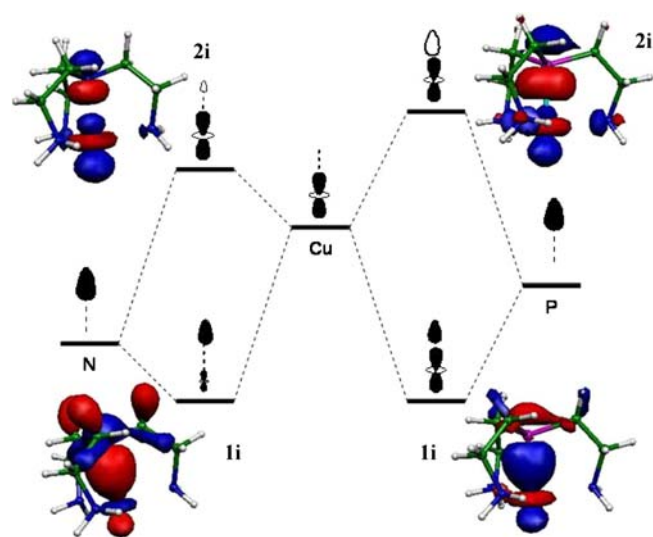


Fig. 15 Electronic isodensities showing interactions between the copper atom and the apical lone pair: apical nitrogen (left) and apical phosphorus (right)

with the d_{z^2} orbital. This is clearly evidenced from the electronic isodensities shown in Fig. 15. The resulting highest occupied molecular orbital (orbital 2i in Fig. 14) is much higher in energy in the case of an apical P, and thus is much more adapted to strong donation to the O_2 ligand.

These trends can be summarized in a single sentence: the greater the Cu–apical atom interaction, the greater the charge transfer. Substitution on a basal ligand only seems to modify the donation to O_2 because of indirect effects on geometrical parameters at the apical atom: direct electronic effects from the basal heteroatom on the metal do not seem to be the factor governing the charge transfer.

Inclusion into abacuses The points imaging the $d(O-O)$ vs. $\nu(^{16}O-^{16}O)$ and the $\nu(^{16}O-^{16}O)$ vs. $q(O_2)$ relationships are reported in Figs. 11 and 12, respectively. Very interestingly, these three complexes, which have a different first coordination sphere from those used to establish the abacuses, rather follow the linear regressions obtained for end-on triplets, especially for the distance–frequency correlation. The abacuses very certainly could be refined, but our results show that those presented in Figs. 11 and 12 can be used now.

Application to PHM

Table 5 is supplemented by structural data relative to PHM and taken from the Protein Data Bank file 3PHM [64, 65]. It is to be recalled here that site Cu_H (Cu_A) of PHM is made of three histidine residues chelating Cu^I . Site Cu_M (Cu_B) involves two histidine residues and one methionine residue.

Rule 1 clearly predicts an end-on structure for the dioxygen adduct on site Cu_A as Σ and Ω are higher than 350 and 140°, respectively. However, no experimental data are available for O_2 complexing that site.

For site Cu_M , the situation is more subtle. In view of the values of Σ and Ω , and considering the transition domain defined in the “**Rule 1: predicting the O_2 coordination mode from the precursor structure only section**” (Ω ranging between 100 and 110° and Σ between 300 and 330°), it should be concluded that rule 1 cannot discriminate between an end-on and a side-on coordination. It should, however, be kept in mind that Cu_M exhibits an N_2S coordination, not taken into account for the determination of that rule of thumb. The two parameters are, however, rather high within the transition domain: an end-on coordination should thus be favoured. This prediction is confirmed experimentally by the crystallographic structural determination of the adduct: O_2 binds Cu_M end-on [9]. It is in full agreement with some recent calculations [12, 66] but disagrees with the prior predictions by Chen and Solomon [67]. Moreover, the value computed for the $(CuOO)$ valence angle, 112.5° for $[Cu(S-tren)(O_2)]^+$, is in very good agreement with that deduced from crystallographic measurements (110°).

To the best of our knowledge, there is no EPR study on site Cu_M of PHM. However, measurements on the closely related D β M indicate that the O₂ adduct should be a singlet [68, 69]. This multiplicity is in agreement with the ab initio modelling recently reported by Gherman et al. [12] but not with that by reported Kamashi et al. [66].

As we have shown that the end-on abacuses can be used also for N₂S species, it is possible to use the crystallographic value of $d(\text{O}-\text{O})=1.23 \text{ \AA}$ to estimate $\nu(^{16}\text{O}-^{16}\text{O})$ and $q(\text{O}_2)$ for both spin states. For the triplet state, a vibrational frequency of $1,337 \text{ cm}^{-1}$ is found using the regressions given in Table 7. Such a value implies a very low charge transfer towards O₂ (less than 0.1 as seen from Fig. 12). For the more probable singlet state, a frequency of $1,284 \text{ cm}^{-1}$ is expected, together with a slightly higher charge transfer towards O₂ amounting to about 0.22.

As pointed out by Prigge et al. [9], “The geometry of molecular oxygen bound to PHM is a bent η^1 end-on Cu^{II}-superoxyde (or Cu^I-dioxygen) complex”. The present set of calculations and the analysis made from them fully support the first point of this conclusion and give preference to a Cu^I-dioxygen complex at site Cu_M.

Conclusions

We have reported a carefully designed theoretical investigation on a consistent series of species representative of tripods usually used as biomimetic models of PHM. Our study focused on the coordination mode (η^2 side-on vs. η^1 end-on) of O₂ to Cu^I tripodal systems, in triplet and singlet states, and on the vibrational frequency of the O–O stretching mode of the coordinated dioxygen moiety. As a coherent set of complexes was retained and investigated by means of a well-defined and constant computational procedure, it was possible to evidence good correlations between the values of this frequency and the coordination mode, on one hand, and the spin state of the adducts, on the other. It is expected that such correlations, which complement an analogous relationship proposed recently [63], will help in the interpretation of experimental results obtained by coordinating dioxygen to CuN₃ and CuN₄ complexes, or even to new tripodal systems since these abacuses have been shown to apply also to CuN₃S or CuN₃P complexes. Compiling all the results obtained allows us to recover the experimentally recently determined binding mode of O₂ in PHM at site Cu_M and to conclude that it should be a bent η^1 end-on Cu^I-dioxygen complex.

Moreover, it is shown that any factor favouring the withdrawing of the three basal atoms, and thus the pyramidalization at copper(I), favours charge transfer and thus coordination of the incoming O₂ moiety. Controlling pyramidalization at copper when designing new ligands should allow modulation of O₂ coordination, thus inducing a controlled charge transfer. This point was rationalized and illustrated by means of a molecular

orbital analysis. A direct link can be made to the structure of the cuprous active sites of PHM, which are known to be pyramidal.

The next step of the computational modelling should be to investigate larger systems by taking the second coordination sphere into account in order to get insight into the solvation of these tripods and into the role of exchanges between the solvent and the coordinated ligand, O₂, CO and CH₃CN. The role of the cavity in the solvated metallated biomimetic calixarenes must also be investigated in order to get a better understanding of their structure and reactivity.

Deriving thermodynamic properties and taking solvation effects into account requires an important computational effort if ab initio techniques are used. This can be done, however, using dynamics simulations that are undertaken either within classical, possibly polarizable, MM or hybrid classical/quantum (QM/MM) approaches [66, 70–72]. The present quantum calculations are expected to help in establishing the reliability of such dynamical approaches and may also be of interest to refine, and even estimate, some parameters required by these techniques to properly describe interactions with the Cu^I cation.

Acknowledgements The geometry optimizations and the numerical vibrational calculations reported in this paper were performed at IDRIS (Orsay, France) and CINES (Montpellier, France) national supercomputing centres. The analytical vibrational calculations were performed at the CCRE of the University Pierre et Marie Curie (Paris, France). The CASSCF and CASMP2 calculations were run at the CRIHAN (Saint-Etienne-du-Rouvray, France) regional supercomputing centre thanks to a dedicated CPU grant.

References

1. Chen P, Solomon EI (2004) *Proc Natl Acad Sci USA* 101:13105
2. Solomon EI, Chen P, Metz M, Lee S-K, Palmer AE (2001) *Angew Chem Int Ed Engl* 40:4570
3. Mirica LM, Ottenwaelder X, Stack TDP (2004) *Chem Rev* 104:1013
4. Klinman JP (1996) *Chem Rev* 96:2541
5. Stewart LC, Klinman JP (1988) *Annu Rev Biochem* 57:551
6. Eipper BA, Stoffers DA, Mains RE (1992) *Annu Rev Neurosci* 15:57
7. Evans JP, Ahn K, Klinman JP (2003) *J Biol Chem* 278:49691
8. Eipper BA, Milgram SL, Husten EJ, Yun HY, Mains RE (1993) *Protein Sci* 2:489
9. Prigge ST, Eipper BA, Mains RE, Amzel LM (2004) *Science* 304:864
10. Jaron S, Blackburn NJ (1999) *Biochemistry* 38:15086
11. Prigge ST, Mains RE, Eipper BA, Amzel LM (2000) *Cell Mol Life Sci* 57:1236
12. Gherman BF, Heppner DE, Tolman WB, Cramer CJ (2006) *J Biol Inorg Chem* 11:197
13. Aboeella NW, Gherman BF, Hill LMR, York JT, Holm N, Young VG Jr, Cramer CJ, Tolman WB (2006) *J Am Chem Soc* 128:3443
14. Lewis EA, Tolman WB (2004) *Chem Rev* 104:1047
15. Schindler S (2000) *Eur J Inorg Chem* 11:2311
16. Karlin KD, Fox S, Nanthakumar A, Muthy NN, Wei N, Obias HV, Martens CF (1995) *Pure Appl Chem* 67:289
17. Johansson AJ, Blomberg MRA, Siegbahn PER (2006) *Inorg Chem* 45:1491

18. Fujisawa K, Tanaka M, Moro-Oka Y, Kitajima N (1994) *J Am Chem Soc* 116:12079
19. Chen P, Root DE, Campochiaro C, Fujisawa K, Solomon EI (2003) *J Am Chem Soc* 125:466
20. Spencer DJE, Aboelella NW, Reynolds AM, Holland PL, Tolman WB (2002) *J Am Chem Soc* 124:2108
21. Aboelella NW, Lewis EA, Reynolds AM, Brennessel WW, Cramer CJ, Tolman WB (2002) *J Am Chem Soc* 124:10660
22. Schatz M, Raab V, Foxon SP, Brehm J, Schneider S, Reiher M, Holthausen MC, Sundermeyer J, Schindler S (2004) *Angew Chem Int Ed Engl* 43:4360
23. Weitzer M, Schindler S, Brehm G, Schneider S, Hörmann E, Jung B, Kaderli S, Zuberbühler AD (2003) *Inorg Chem* 42:1800
24. Becker M, Heinemann FW, Schindler S (1999) *Chem Eur J* 5:3124
25. Komiyama K, Furutachi H, Nagamoto S, Hashimoto A, Hayashi H, Fujinami S, Suzuki M, Kitagawa T (2004) *Bull Chem Soc Jpn* 77:59
26. Rondelez Y, Bertho G, Reinaud O (2002) *Angew Chem Int Ed Engl* 41:1044
27. Rondelez Y, Sèneque O, Rager M-N, Duprat AF, Reinaud O (2000) *Chem Eur J* 6:4218
28. Sèneque O, Champion M, Douziech B, Giorgi M, Rivière E, Journaux Y, Le Mest Y, Reinaud O (2002) *Eur J Inorg Chem* 2007
29. Izzet G, Douziech B, Prangé T, Tomas A, Jabin I, Le Mest Y, Reinaud O (2005) *Proc Natl Acad Sci USA* 102:6831
30. Jabin I, Reinaud O (2003) *J Org Chem* 68:3416
31. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Montgomery JA Jr, Vreven T, Kudin KN, Burant JC, Millam JM, Iyengar SS, Tomasi J, Barone V, Mennucci B, Cossi M, Scalmani G, Rega N, Petersson GA, Nakatsuji H, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Klene M, Li X, Knox JE, Hratchian HP, Cross JB, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Ayala PY, Morokuma K, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Zakrzewski VG, Dapprich S, Daniels AD, Strain MC, Farkas O, Malick DK, Rabuck AD, Raghavachari K, Foresman JB, Ortiz JV, Cui Q, Baboul AG, Clifford S, Cioslowski J, Stefanov BB, Liu G, Liashenko A, Piskorz P, Komaromi I, Martin RL, Fox DJ, Keith T, Al-Laham MA, Peng CY, Nanayakkara A, Challacombe M, Gill PMW, Johnson B, Chen W, Wong MW, Gonzalez C, Pople JA (2003) *Gaussian 03, revision B.2*. Gaussian, Pittsburgh
32. Lee C, Yang W, Parr RG (1988) *Phys Rev B* 37:785
33. Michlich B, Savin A, Stoll H, Preuss H (1989) *Chem Phys Lett* 157:200
34. Becke AD (1993) *J Chem Phys* 98:5648
35. Ducéré J-M, Goursot A, Berthomieu D (2005) *J Phys Chem A* 109:400
36. Godbout N, Salahub DR, Andzelm J, Wimmer E (1992) *Can J Chem* 70:560
37. Ehlers AW, Böhme M, Dapprich S, Gobbi A, Höllwarth A, Jonas V, Köhler KF, Stegmann R, Veldkamp A, Frenking G (1993) *Chem Phys Lett* 208:111
38. Glendening ED, Reed QE, Carpenter JE, Weinhold F *NBO version 3.1*
39. Carpenter JE, Weinhold F (1988) *J Mol Struct (THEOCHEM)* 169:41
40. Carpenter JE (1987) PhD thesis, University of Wisconsin
41. Foster JP, Weinhold F (1980) *J Am Chem Soc* 102:7211
42. Reed AE, Weinhold F (1983) *J Chem Phys* 78:4066
43. Reed AE, Weinhold F (1985) *J Chem Phys* 83:1736
44. Reed AE, Weinstock RB, Weinhold F (1985) *J Chem Phys* 83:735
45. Reed AE, Curtiss LA, Weinhold F (1988) *Chem Rev* 88:899
46. Simon S, Duran M, Dannenberg JJ (1996) *J Chem Phys* 105:11024
47. Boys SF, Bernardi F (1970) *Mol Phys* 19:553
48. Aboelella NW, Kryatov SV, Gherman BF, Brennessel WW, Young VG Jr, Sarangi R, Rybak-Akimova EV, Hogson KO, Hedman B, Solomon EI, Cramer CJ, Tolman WB (2004) *J Am Chem Soc* 126:16896
49. Gherman BF, Cramer CJ (2004) *Inorg Chem* 43:7281 and supplementary material
50. Kinsinger CR, Gherman BF, Gagliardi L, Cramer CJ (2005) *J Biol Inorg Chem* 10:778
51. Cramer CJ, Wloch M, Piecuch P, Puzzarini C, Gagliardi L (2006) *J Phys Chem A* 110:1991
52. Rode MF, Werner H-J (2005) *Theor Chem Acc* 114:309
53. Piquemal J-P, Pilmé J (2006) *J Mol Struct (THEOCHEM)* 764:77
54. Cramer CJ, Squires RR (1999) *Org Lett* 1:215
55. Bérces A, Ziegler T (1995) *J Phys Chem* 99:11417
56. Roos BO (1987) In: Lawley KP (ed) *Ab initio methods in quantum chemistry*, vol II. Wiley, New York
57. McDouall JJ, Peasley K, Robb MA (1988) *Chem Phys Lett* 148:183
58. Izzet G (2004) PhD thesis, Université Paris XI-Orsay
59. Fujisawa K, Ono T, Ishikawa Y, Amir N, Miyashita Y, Okamoto K-I, Lehnert N (2006) *Inorg Chem* 45:1698
60. Dias HVR, Kim H-J, Lu H-L, Rajeshwar K, de Tacconi NR, Derecskei-Kovacs A, Marynick DS (1996) *Organometallics* 15:2994
61. Dias HVR, Kim H-J (1996) *Organometallics* 15:5374
62. Lupinetti AJ, Fau S, Frenking G, Strauss SH (1997) *J Phys Chem A* 101:9551
63. Cramer CJ, Tolman WB, Theopold KH, Rheingold AL (2003) *Proc Natl Acad Sci USA* 100:3635
64. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE (2000) *Nucleic Acids Res* 28(1):235
65. Prigge ST, Kolhekar AS, Eipper BA, Mains RE, Amzel LM (1999) *Nat Struct Biol* 6:976
66. Kamachi T, Kihara N, Shiota Y, Yoshizawa K (2005) *Inorg Chem* 44:4226
67. Chen P, Solomon EI (2004) *J Am Chem Soc* 126:4991
68. McCracken J, Desai PR, Papadopoulos NJ, Villafranca JJ, Peisach J (1988) *Biochemistry* 27:4133
69. Brenner MC, Klinman JP (1989) *Biochemistry* 28:4664
70. Gao J, Truhlar DG (2002) *Annu Rev Phys Chem* 53:467505
71. Garcia-Viloca M, Gao J, Karplus M, Truhlar DG (2004) *Science* 303:186
72. Marti S, Roca M, Andrés J, Moliner V, Silla E, Tuñón I, Bertrán J (2004) *Chem Soc Rev* 33:99

Singlet-triplet gaps in large multireference systems: Spin-flip-driven alternatives for bioinorganic modeling

Aurélien de la Lande, Vicent Moliner, and Olivier Parisel

Citation: *The Journal of Chemical Physics* **126**, 035102 (2007);

View online: <https://doi.org/10.1063/1.2423010>

View Table of Contents: <http://aip.scitation.org/toc/jcp/126/3>

Published by the *American Institute of Physics*

Articles you may be interested in

[General formulation of spin-flip time-dependent density functional theory using non-collinear kernels: Theory, implementation, and benchmarks](#)

The Journal of Chemical Physics **136**, 204103 (2012); 10.1063/1.4714499

[Spin-flip time dependent density functional theory applied to excited states with single, double, or mixed electron excitation character](#)

The Journal of Chemical Physics **133**, 114104 (2010); 10.1063/1.3479401

[Multireference quantum chemistry through a joint density matrix renormalization group and canonical transformation theory](#)

The Journal of Chemical Physics **132**, 024105 (2010); 10.1063/1.3275806

[The radical character of the acenes: A density matrix renormalization group study](#)

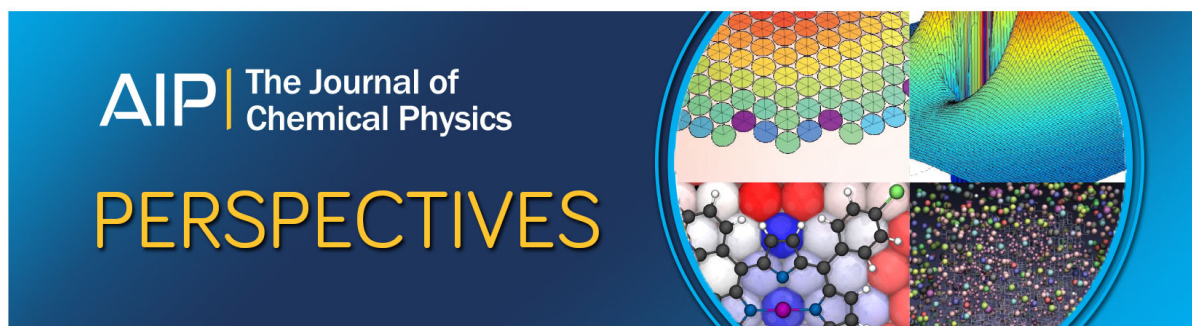
The Journal of Chemical Physics **127**, 134309 (2007); 10.1063/1.2768362

[The spin-flip approach within time-dependent density functional theory: Theory and applications to diradicals](#)

The Journal of Chemical Physics **118**, 4807 (2003); 10.1063/1.1545679

[Perspective: Found in translation: Quantum chemical tools for grasping non-covalent interactions](#)

The Journal of Chemical Physics **146**, 120901 (2017); 10.1063/1.4978951



Singlet-triplet gaps in large multireference systems: Spin-flip-driven alternatives for bioinorganic modeling

Aurélien de la Lande

Laboratoire de Chimie Théorique, UMR 7616 CNRS/UPMC, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Case courrier 137– 4, place Jussieu, F. 75252 Paris Cedex 05, France and Departament de Ciències Experimentals, Universitat Jaume I, Box 224, 12080 Castello, Spain

Vicent Moliner

Departament de Ciències Experimentals, Universitat Jaume I, Box 224, 12080 Castello, Spain

Olivier Parisel^{a)}

Laboratoire de Chimie Théorique, UMR 7616 CNRS/UPMC, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Case courrier 137– 4, place Jussieu, F. 75252 Paris Cedex 05, France

(Received 10 October 2006; accepted 22 November 2006; published online 17 January 2007)

The proper description of low-spin states of open-shell systems, which are commonly encountered in the field of bioinorganic chemistry, rigorously requires using multireference *ab initio* methodologies. Such approaches are unfortunately very CPU-time consuming as dynamic correlation effects also have to be taken into account. The broken-symmetry unrestricted (spin-polarized) density functional theory (DFT) technique has been widely employed up to now to bypass that drawback, but despite a number of relative successes in the determination of singlet-triplet gaps, this framework cannot be considered as entirely satisfactory. In this contribution, we investigate some alternative ways relying on the spin-flip time-dependent DFT approach [Y. Shao *et al.* J. Chem. Phys. **118**, 4807 (2003)]. Taking a few well-documented copper-dioxygen adducts as examples, we show that spin-flip (SF)-DFT computed singlet-triplet gaps compare very favorably to either experimental results or large-scale CASMP2 computations. Moreover, it is shown that this approach can be used to optimize geometries at a DFT level including some multireference effects. Finally, a clear-cut added value of the SF-DFT computations is drawn: if pure *ab initio* data are required, then the electronic excitations revealed by SF-DFT can be considered in designing dramatically reduced zeroth-order variational spaces to be used in subsequent multireference configuration interaction or multireference perturbation treatments.

© 2007 American Institute of Physics. [DOI: 10.1063/1.2423010]

I. INTRODUCTION

Density functional theory¹ (DFT) has now become the most widely used theoretical approach to deal with large-size molecular systems as it provides correlated results for computational costs comparable to the Hartree-Fock (HF) approach. Taking a large part of dynamic correlation into account, it appears as an alternative to multireference configuration interactions (MRCIs) or multireference perturbations (MRPTs) in some cases and is thus routinely used when modeling organic, organometallic, or inorganic chemistry systems.^{2–6}

In principle, DFT can deal with every kind of electronic structures, provided, however, the exact unknown functional would be used. Approximating the exact functional and using the Kohn-Sham (KS) formalism,⁷ as is usually done, intrinsically precludes some systems to be addressed due to the monodeterminantal character of the KS determinant, a

feature which, formally, cannot account for nondynamic correlation. Two-electron singlet diradicals,⁸ and more generally any open-shell system not in its highest spin state, are some of the species that cannot, *a priori*, be properly described this way. Such systems are by far not anecdotic as they are frequently encountered in bioinorganic chemistry.^{9–12} Let us mention, for example, the case of monooxygenase such as dopamine β -monooxygenase (D β M) (Refs. 13–15) or peptidylglycine α -hydroxylating monooxygenase (PHM),^{13–18} in which a Cu^I center interacts with dioxygen to end up with either the high-spin triplet or a low-spin singlet, or tyrosinase,^{19,20} a “torture track” for theory,²¹ in which two Cu^I centers interact with dioxygen.^{22–25}

Using a restricted open-shell DFT formalism allows describing the triplet states of such systems correctly, whereas the description of the singlet states, which might exhibit a more or less pronounced multiconfigurational character, requires, in all-day computations, using an unrestricted formalism (U-DFT) sometimes coupled to broken-symmetry techniques (BSKS),^{26–31} the energy of which are usually corrected.^{32–34} The BSKS procedure can, however, lead to artifacts and its use is still a matter of debates.^{35–37} Moreover, the estimate of the singlet-triplet gaps deduced from BSKS

^{a)} Author to whom correspondence should be addressed.

Electronic mail: parisel@lct.jussieu.fr; URL: <http://www.lct.jussieu.fr>;

Fax: 00 33 1 44 27 41 17.

computations might sometimes be questionable, or risky, since the nonbroken wave function is sometimes obtained.^{8,35,38}

The low- or intermediate-spin states must be monodeterminantal if aiming at using restricted DFT as such although some procedures have been developed to estimate multiplet energies.^{32,39–44} However, there is unfortunately no general way to *a priori* estimate this monodeterminantal character except, maybe, by comparison to known very closely related species, an hazardous procedure, however. The only way to get an estimate of the single-reference character is to perform dedicated CI, multiconfiguration self-consistent field (MC-SCF), or complete active space self-consistent field (CASSCF) calculations.⁴⁵ If the multiconfigurational character is established, then a proper *ab initio* treatment, if required, should rely on MRPT or MRCI computations.^{45–47} However, such computations are not only difficult to undertake but also too CPU-time consuming: they usually require drastic simplifications of the models investigated,⁴⁸ which can distort the subtle electronic structures involved in bioinorganic processes.⁴⁹

There is thus a real need to have a procedure at hand, even not perfect, capable to provide eventually improvable, but at least reliable, estimates of singlet-triplet gaps for such *a priori* multireference systems.

In this contribution, we focus on the spin-flip^{50–53} time-dependent DFT [SF-(TD)DFT] approach recently proposed by Shao *et al.*,⁵⁴ a procedure further generalized by Wang and Ziegler^{55,56} and will apply this methodology to three complexes relevant to bioinorganic chemistry, namely, $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$, $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$, and $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$. We,⁵⁷ as other research groups,^{8,35,36,38,58–61} have already investigated these systems which can now be seen as well-documented bioinspired models for the cuprous active sites of the PHM enzyme.

This paper outlines as follows. First, some methodological details are presented (Sec. II). Then, the singlet-triplet gaps are computed and compared to those obtained by other techniques (Sec. III A). Having recognized the reliability of the SF-DFT approach and after a short discussion about spin contamination, we turn to two applications: geometry optimizations (Sec. III C) and the design of zeroth-order multireference variational spaces (Sec. III D).

II. METHODOLOGY

A. The spin-flip approach

The spin-flip (SF) approach aims at describing multideeterminantal low-spin states using excitations from a single reference configuration. As illustrated on Fig. 1, top and bottom for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$, respectively, a triplet state—here the $M_s = +1$ component—is taken as the reference. Its high-spin character ensures that it is properly described by a single-reference method. $M_s = 0$ states are obtained by spin-flip excitations of one electron from the reference toward a virtual orbital. The $M_s = 0$ components of triplet and singlet (close- and open-shell) excited states⁶² can thus be obtained.

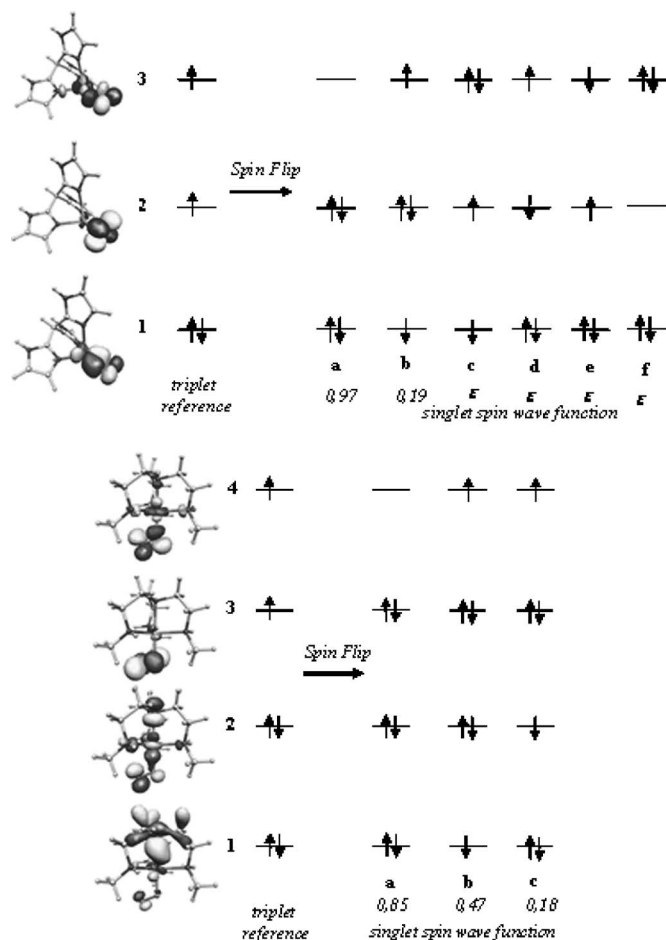


FIG. 1. Illustrations of the spin-flip approach. Top: the four electrons and the three Kohn-Sham molecular orbitals involved in the SF-B3LYP description of the lowest singlet state of the *side-on* complex $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$. Bottom: the six electrons and the four Kohn-Sham molecular orbitals involved in the SF-B3LYP description of the lowest singlet state of the *end-on* complex $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$.

Initially developed within the SCF or the CIS(D) frameworks,^{50,51} the SF approach has been merged with DFT through time-dependent density functional theory within the Tamm-Dancoff approximation,^{54–56} a procedure that has been successfully applied to the description of (poly)radicals,^{54,56,63} and to that of some transition-metal compounds.^{64–66} A detailed discussion of the differences occurring between TD-DFT and SF-(TD)DFT can be found in Refs. 54–56 and will not be developed further here.

B. Computational details

The DZVP2 basis set has been employed for all atoms.⁶⁷ A set of *p* diffuse functions was added on oxygen and nitrogen.^{68,69}

Except for Sec. III C, the geometries considered to evaluate the adiabatic singlet-triplet gaps come from B3LYP optimizations.⁵⁷

The CASSCF and CASMP2 calculations were done according to the scheme implemented in GAUSSIAN03.^{70,71} The notation (*n*, *m*) will be used to label an active space characterized by *n* electrons in *m* active orbitals.

The QCHEM 2.1 package was used to run all DFT com-

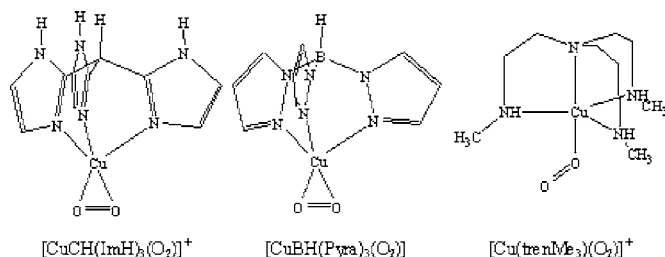


FIG. 2. Three copper-dioxygen adducts investigated in this paper that span various chemical situations encountered when modeling mononuclear copper sites.

putations, including the SF ones that were considered within the time-dependent DFT framework.^{54,72} The following functionals have been used: BP86,^{73,74} BLYP,^{73,75,76} B3LYP⁷⁷ [20% HF+8% Slater⁷⁸+72% Becke⁷³ for exchange and 19% VWN⁷⁹+81% LYP^{75,76} for correlation], and the 50/50 functional (50% Hartree-Fock+8% Slater+42% Becke for exchange and 19% VWN+81% LYP for correlation). Note that the three later functionals exhibit an increasing weight of exact Hartree-Fock exchange for a given correlation functional. The calculations have been supplemented by results obtained considering the B3PW91 functional.^{77,80–82} B3LYP is certainly the most widely used functional nowadays, although not perfect,⁸³ but B3PW91 is sometimes preferred in some cases.^{84–87}

III. RESULTS, DISCUSSION, AND APPLICATIONS

A. Validation

$[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$. We first consider the two *side-on* adducts depicted on Fig. 2. Both $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3]^+$ and $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3]$ bind O_2 side-on in either a triplet or a singlet state. Table I gathers the singlet-

triplet gaps defined as $E(S) - E(T)$, obtained from DFT, both in the restricted or unrestricted formalisms, together with those given by multideterminantal methods. The active spaces for CASSCF(18,12) and CASSCF(12,8) can be, respectively, schemed as⁵⁷

$$[(3d)^{10}4s^0(\sigma, \sigma^*)^2(\pi_x, \pi_y, \pi_x^*, \pi_y^*)^6],$$

$$[(3d)^4(\sigma, \sigma^*)^2(\pi_x, \pi_y, \pi_x^*, \pi_y^*)^6].$$

The σ and π orbitals are related to the O_2 moiety and the $3d$ and $4s$ orbitals to the metal cation: the five $3d$ orbitals are considered in the first case, only two are retained in the second case.

For $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ the CASMP2(18,12) value (−4.62 kcal/mol) for the singlet-triplet gap will be taken as the reference. For $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$, the reference will be the experimental value of -4.29 ± 0.86 kcal/mol derived from magnetochemistry measurements on a very closely related complex.⁵⁸ This value is close to that provided by a CASSCF(12,8) computation (−4.28 kcal/mol).⁵⁷

As anticipated, the restricted formalism R-DFT (R-B3LYP) fails to properly evaluate the singlet-triplet gaps for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$: for these two oxygenated adducts, the singlet states are always under stabilized due to the intrinsic monodeterminantal character of the restricted wave functions.

Using broken symmetry (BS-UB3LYP) for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ improves the energy of the singlet states and reduces the gap with respect to the restricted approach. It now amounts to 7.03 kcal/mol. Nevertheless, this value remains far from those issued from CASSCF or CASMP2 computations, namely, −6.94 and −4.62 kcal/mol, respectively.

TABLE I. Adiabatic singlet/triplet gaps (kcal/mol): $E(S) - E(T)$. The active spaces (n, m) generate the following number of determinants for a singlet state: 6 for (4,3), 10 for (6,4), 406 for (12,8), and 48400 for (18,12).

	$[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$	$[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$	$[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$
Binding mode	Side-on	Side-on	End-on
R-B3LYP	14.31	9.20	19.67
BS-UB3LYP	7.03	... ^a	14.09
SF-BP86	−18.03	−19.85	−5.26
SF-BLYP	−16.93	−17.66	−4.50
SF-B3LYP	−2.44	−4.37	8.21
SF-B3PW91	−3.34	−5.36	7.75
SF-50/50	7.36	5.10	4.73
CASSCF (4,3)	−2.93	−0.45	...
CASMP2 (4,3)	−8.21	−6.06	...
CASSCF (6,4)	−2.07
CASMP2 (6,4)	5.98
CASSCF (12,8)	...	−4.28 ^b	...
CASSCF (18,12)	−6.94 ^b	...	−0.49
CASMP2 (18,12)	−4.62 ^b
Experimental	...	−4.29 ± 0.86 ^c	...

^aAll attempts to obtain the broken-symmetry energy failed as the restricted wave function was systematically recovered.

^bFrom Ref. 57.

^cFrom Ref. 58. Gap reported for the related $[\text{CuTp}^{\text{Ad},i\text{Pr}}(\text{O}_2)]$ complex. $\text{Tp}^{\text{Ad},i\text{Pr}}$ stands for tris (3-adamantly-5-isopropyl-1-pyrazolyl)hydroborate.

We now turn to the SF-DFT results. They exhibit a strong functional dependence. Using BP86, the singlet-triplet gaps amount to -18.03 and to -19.85 kcal/mol for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$, respectively. BLYP provides very similar values. Both these nonhybrid functionals clearly overstabilize the singlet states with respect to the reference values or to experimental data.

At variance, the 50/50 functional seems to favor the triplet states. For both adducts, this overstabilization leads to locate the triplet states as the fundamental, in opposite to CASSCF/CASMP2 computations and to the available experimental data.

The other hybrid functionals provide, however, clearly better balanced results. For $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$, the gaps obtained amount to -2.44 kcal/mol (SF-B3LYP) and to -3.34 kcal/mol (SF-B3PW91), thus predicting the singlet coordination to be the most favorable and providing values within the same range of energy as those obtained from the CASMP2(18,12) calculation:⁵⁷ -4.62 kcal/mol.

For $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$, the SF-hybrid-DFT computations also provide good qualitative and quantitative predictions. The singlet state is stabilized by -4.37 kcal/mol (SF-B3LYP) or by -5.36 kcal/mol (SF-B3PW91) with respect to the triplet state. Such values are in almost perfect agreement with those obtained either from CASSCF(12,8) computations (-4.28 kcal/mol)⁵⁷ or from experiment (-4.29 ± 0.86 kcal/mol).⁵⁸

$[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$. The third adduct investigated, $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$, completes the series and provides an example of *end-on* coordination (Fig. 2). For that system, no experimental data are available, and all attempts to run the CASMP2(18,12) perturbation felt due to a strong divergence of the perturbation part, a feature sometimes encountered.⁸⁸

Both R-B3LYP and BS-UB3LYP gaps appear unrealistic: a value of 14.09 kcal/mol is recovered at the latter level, far from the -0.49 kcal/mol provided by the CASSCF(18,12) computations. The SF approach provides results that are more balanced. However, both SF-BP86 and SF-BLYP predict a singlet ground state (-5.26 and -4.50 kcal/mol, respectively), whereas increasing the exact Hartree-Fock exchange by using either SF-B3LYP, SF-B3PW91, or SF-50/50 favors the triplet state (8.21 , 7.75 , and 4.73 kcal/mol respectively). If we follow the tendencies observed previously for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$ we should trust these three calculations and conclude that the triplet state is the ground state for that species, and that the singlet-triplet gap amounts to several kcal/mol. Another argument, external, supports that conclusion. The singlet or triplet character of a number of various *end-on* O_2 adducts has been reported recently.³⁵ For an anionic set of ligands, the singlet-triplet gaps were in a range of 3 – 5 kcal/mol. For a neutral ligand set $(\text{N}_3)(\text{H}_2\text{O})$, the gaps even rose to 9.19 kcal/mol, still in favor of a triplet ground state. Our SF-hybrid-DFT results appear thus fully consistent with this work. Corroboration will be provided in Sec. III D.

Preliminary conclusion. Gathering all SF-DFT calculations reveals a dependency of the T/S gap with respect to the percentage of exact exchange in the functional used: increas-

ing the weight of that quantity favors the triplet state. Such a behavior has been reported previously when using the standard DFT approach.⁵⁸

Nevertheless, we have studied three chemically different species, providing examples of neutral or cationic, aliphatic, or aromatic precursory copper (I) complexes binding O_2 in a side-on or end-on mode. It appears that the SF-DFT methodology provides a quantitative and trustworthy energetics when compared to experimental or large-size MRPT gaps if using the B3LYP or B3PW91 functionals. It thus represents a clear alternative to the broken-symmetry approach that fails to describe triplet-singlet gaps in mononuclear copper-dioxygen complexes exhibiting a strong superoxide character,⁸ or to the highly CPU-demanding MRPT or MRCI approaches.

B. Spin contamination

The BS-UDFT calculations performed on the singlet states exhibit a high spin contamination. $\langle S^2 \rangle$ amounts to about 0.6 for both $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$ and $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$. Such large values of spin contamination for singlet BS wave functions describing copper-dioxygen adducts have already been observed.⁸ Of course, $\langle S^2 \rangle$ computed with the single KS determinant and the KS orbitals is not a true measure of the exact $\langle S^2 \rangle$ of the DFT density³¹ as $\langle S^2 \rangle$ cannot be evaluated from the sole one-particle density due to the bielectronic nature of the operator. We moreover recall that the spin contamination is not a usable indicator to evaluate the quality of unrestricted wave functions:^{89,90} larger values of $\langle S^2 \rangle$ than those expected indicate that the improvement of the energetic is, at least partly, an intrinsic artifact. Keeping these limitations in mind, we note, however, that the SF-B3LYP and SF-B3PW91 wave functions are not highly spin contaminated. The highest spin contamination for the singlet states was obtained for $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$ and never exceeded 0.15 . As we have performed the SF-DFT computations using restricted orbitals, the spin contamination invoked in these calculations originates from a completely different reason than those implied in unrestricted formalisms. Here, such a small contamination might be explained in terms of spin completeness of the excitation set spanned by the SF formalism considered. In the presently used framework of SF-DFT, which involves only single excitations, the set of excitations does not span a complete spin set. As seen from Fig. 1 (top), configurations b ($1^\beta 2^\alpha \beta 3^\alpha$) and c ($1^\beta 2^\alpha 3^\alpha \beta$) are not balanced by their spin counterparts ($1^\alpha 2^\alpha \beta 3^\beta$) and ($1^\alpha 2^\beta 3^\alpha \beta$) since these two configurations are not reachable by spin-flip excitations from the triplet reference. This results in a spin polarization that may lead to the contamination of the wave function.⁹¹ In practice, at least for the cases investigated here, the non-spin-complete configurations, responsible for spin contamination, have a nondominant weight in the full SF-DFT wave function: this explains why the departure of $\langle S^2 \rangle$ from its expected value is weak and why spin contamination does not strongly affect the energies.

TABLE II. Geometry optimization of singlet $[\text{Cu}(\text{tren})(\text{O}_2)]^+$. Distances are in Å and angles in degrees. ΔE_{opt} is the energy gain during the SF optimization (kcal/mol). The end-on structure is lower by 2.2 kcal/mol than the side-on one.

	Side-on		End-on	
	R-B3LYP	SF-B3LYP	R-BLYP	SF-B3LYP
ΔE_{opt}	...	-0.05	...	-0.13
Cu-O	1.917	1.913	1.893	1.883
O-O	1.321	1.322	1.295	1.309
Cu-N	2.291/2.065	2.297/2.068	2.135	2.132 ^a
Cu-N _{ap}	2.711	2.697	2.179	2.163
CuOO	70.0	69.4	106.0	106.2

^aAveraged over the three equatorial Cu-N bond lengths.

C. Application: Geometry optimizations

In many cases and works, a general procedure to deal with the singlet-triplet gap of the copper-dioxygen adducts is to consider geometries optimized at the restricted or unrestricted DFT levels. Then, single point calculations (MRCI, MRPT, or other) can be performed to get reliable adiabatic or vertical gaps. A more proper treatment would, in fact, require the geometry optimizations to be performed at the multireference level. However, CASSCF optimized geometries have been shown to be less reliable than the DFT ones⁸ and CASMP2 optimizations are, most of the time, not reachable for systems of such size (a few systems of small size have been reported).^{47,92} There is, however, no alternative to using DFT for geometry optimizations and it has always been considered that using restricted DFT and even using unrestricted DFT would provide useable geometries for the systems investigated here or their analogs.^{35,57,93,94}

We will take advantage of the appealing possibility of SF-DFT to optimize such adducts. In order to explore this point, we here have considered the $[\text{Cu}(\text{tren})(\text{O}_2)]^+$ adduct in its two possible coordination modes, end-on and side-on. We first have optimized the structures of the singlet states at the R-B3LYP level, and then the optimizations were performed at the SF-B3LYP level using the R-B3LYP structures as pre-optimized structures. Some essential structural parameters are reported in Table II.

In both the side-on and the end-on coordination modes, the SF-DFT optimizations of the singlet states do not lead to any drastic geometric changes with respect to the R-B3LYP geometries. This is, globally, corroborated by the small energetic gains achieved within the optimization procedures. Such a result thus comforts the fact that R-DFT optimized singlet states can be considered as reliable. In the present case, there is a clear explanation for that point. As seen from the inspections of the SF-B3LYP wave functions (Fig. 1), the weight of the leading, close-shell, determinant amounts to 90% for the side-on adduct, and still amounts to 77% for the end-on adduct. As far as the leading determinant(s) will be close-shell, R-DFT optimizations appear reliable. However, in view of the weak increase of computational costs turning from R-DFT to SF-DFT, the later approach may be encouraged. The same conclusions can be drawn for the determination of vibrational frequencies.⁹⁵

D. Application: designing zeroth-order variational spaces for MRCI or MRPT calculations

In this last section, we will present another appealing application of SF-DFT computations, namely, using the SF-DFT procedure as a potentially powerful tool to build reference CASSCF or MCSCF spaces designed to further MRCI or MRPT treatments. Indeed, the electrons and the set of molecular orbitals, occupied and virtual, involved in the excitations appearing in the SF-DFT wave functions can be expected to span a minimal relevant variational active space. If we focus on CASSCF computations, there are three usual ways of building active spaces: (a) considering the highest M occupied orbitals, the n associated electrons, and the M' lowest virtual orbitals; (b) considering the natural occupations of the occupied and virtual orbitals; (c) considering chemically meaningful orbitals, namely, those orbitals, the occupied and the corresponding virtual ones, associated with electrons involved into the chemical or physicochemical processes investigated. Approach (a) implies some arbitrariness; it is also risky as the orbital energy sorting within the whole set of orbitals can be extremely dependent, especially for the virtual ones, on the way they have been initially obtained. Approach (b) very certainly is the most efficient in order to get the lowest total energy of the system under study; it suffers the drawback that determining natural occupation numbers prerequisites a large-size MCSCF, CASSCF, or CI calculation. Approach (c) certainly remains the most chemically satisfying one as it is expected to ensure the continuity of the active space with respect to any previously analyzed chemical or physicochemical process.^{96,97} It has the drawback not necessarily being friendly to the variation theorem: those orbitals and electrons considered as chemically relevant are not necessarily those that will help in decreasing the CASSCF energy. A commonly encountered problem comes from lone pairs.^{98,99}

None of these approaches can thus be considered as a panacea. Consequently, any way of designing an efficient but “small enough” zeroth-order variational space for further MRCI or MRPT calculations seems thus welcomed. Indeed, some purely *ab initio* approaches have already tackled that problem.¹⁰⁰⁻¹⁰⁶ In this section, we will illustrate how SF-DFT computations can help in designing such a space. The starting idea is very simple: as SF-DFT computations are not the limiting CPU-time step if aiming at performing a pure high-level *ab initio* multireference correlated computation, then, let us first perform a SF-DFT computation and retain in the zeroth-order space to be built only those electrons and orbitals involved in the final SF-DFT wave functions. We have here applied this idea to the three dioxygen adducts investigated previously.

For the side-on coordination, the SF excitations lead to consider the CASSCF space spanned by four electrons in three orbitals (Fig. 1, top), which results in a six-determinant expansion for the singlet state, for example, to be compared to the 48 400 determinant basis for the (18,12) wave function or to the 406 determinant expansion generated by the (12,8) space. The singlet state is then predicted (CASMP2) to be lower than the triplet by 8.21 kcal/mol for $[\text{CuCH}(\text{ImH})_3(\text{O}_2)]^+$: this result is consistent with both the

CASSCF(18,12) and CASMP2(18,12) calculations. We also notice a full agreement between the two CASSCF wave functions, namely, (4,3) and (18,12) in terms of the leading configurations. These configurations are also those provided by the SF computations. For the $[\text{CuBH}(\text{Pyra})_3(\text{O}_2)]$ complex, the situation is similar: the gaps obtained from a CASMP2(4,3) computation amounts to -6.06 kcal/mol, close to CASSCF(12,8) value of -4.28 kcal/mol (Ref. 57) and to the experimental gap (-4.29 ± 0.86 kcal/mol) (Ref. 58) obtained for the closely related substituted complex $[\text{CuTp}^{\text{Ad,iPr}}(\text{O}_2)]$. The end-on adduct observed with the $[\text{Cu}(\text{trenMe}_3)(\text{O}_2)]^+$ complex behaves as well (Fig. 1, bottom). The SF-driven CASMP2(6,4) computation predicts the triplet state to be more stable than the singlet by 5.98 kcal/mol. This value is in nice agreement with our SF-DFT results and with recent *ab initio* calculations,³⁵ in which end-on structures are found to have a triplet ground state associated with *S/T* gaps amounting to a few kcal/mol. For the singlet state, the (6,4) wave function expands over ten determinants only.

These results fully validate using SF-DFT main excitations to design drastically reduced active spaces. Being smaller, such variational spaces are more controllable and the second-order perturbation corrections that can be applied next may be more tractable and less subject to unpredictable divergences. Moreover, this way of doing avoids the chemical models to be dramatically simplified.

IV. CONCLUSIONS

In this work, we have applied the spin-flip approach within the framework of time-dependent-density-functional-theory to calculate singlet-triplet gaps in copper (I) dioxygen adducts taken as well-documented examples. A very interesting alternative to more classical multiconfigurational approaches has emerged.

For side-on complexes, SF-DFT coupled to the B3LYP or B3PW91 functionals predicts the same relative stability as the more expensive CASSCF or CASMP2 computations or as the experimental results. For end-on complexes, the method is also in good agreement with the three functionals considered, namely, 50-50, B3LYP and B3PW91. The approach allows recovering the triplet state as the ground state.

Although the possibility of using SF computations to avoid a broken-symmetry framework and large-scale multi-reference computations is intrinsically promising, our results point out for some clear-cut added value of the SF approach. First, it can be used to perform “CPU-cheap” geometry optimizations on large multireference systems, and consequently frequency calculations, taking into account the multideterminantal character of the systems investigated. Second, the leading excitations of the SF wave functions can be considered in designing reduced active spaces if pure *ab initio* computations (MRCI or MRPT) are required.

ACKNOWLEDGMENTS

The CASSCF and CASMP2 calculations have been performed at the CRIHAN regional supercomputing center (F. 76800 Saint-Etienne-du-Rouvray, France). The authors

greatly acknowledge H. Gérard (LCT) and J.-P. Piquemal (LCT) for stimulating discussions, together with L.-H. Jolly (LCT) for technical assistance.

- ¹W. Kohn, Rev. Mod. Phys. **71**, 1253 (1998).
- ²S. Niu and M. B. Hall, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **100**, 353 (2000).
- ³J. F. Harrison, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **100**, 679 (2000).
- ⁴J. Baker and P. Pulay, J. Comput. Chem. **10**, 1184 (2003).
- ⁵N. E. Schultz, Y. Zhao, and D. G. Truhlar, J. Phys. Chem. A **109**, 11127 (2005).
- ⁶F. Furche and J. P. Perdew, J. Chem. Phys. **124**, 044103 (2006).
- ⁷W. Kohn and L. J. Sham, Phys. Rev. **140**, A1133 (1965).
- ⁸B. F. Gherman and C. J. Cramer, Inorg. Chem. **43**, 7281 (2004) and supplementary material.
- ⁹F. Neese, JBIC, J. Biol. Inorg. Chem. **11**, 702 (2006) and references therein.
- ¹⁰P. E. M. Siegbahn, JBIC, J. Biol. Inorg. Chem. **11**, 695 (2006) and references therein.
- ¹¹A. Ghosh, JBIC, J. Biol. Inorg. Chem. **11**, 671 (2006); **11**, 712 (2006) and references therein.
- ¹²L. Noodleman and W.-G. Han, JBIC, J. Biol. Inorg. Chem. **11**, 674 (2006) and references therein.
- ¹³J. P. Klinman, J. Biol. Chem. **281**, 3013 (2006).
- ¹⁴J. P. Klinman, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **96**, 2541 (2006).
- ¹⁵L. C. Stewart and J. P. Klinman, Annu. Rev. Biochem. **57**, 551 (1988).
- ¹⁶B. A. Eipper, D. A. Stoffers, and R. E. Mains, Annu. Rev. Neurosci. **15**, 57 (1992).
- ¹⁷B. A. Eipper, S. L. Milgram, E. J. Husten, H. Y. Yun, and R. E. Mains, Protein Sci. **2**, 489 (1993).
- ¹⁸A. Crespo, M. A. Martí, A. E. Roitberg, L. M. Amzel, and D. A. Estrin, J. Am. Chem. Soc. **128**, 12817 (2006).
- ¹⁹H. Decker, T. Schweikardt, and F. Tuczek, Angew. Chem., Int. Ed. **45**, 4546 (2006).
- ²⁰Y. Matoba, T. Kumagai, A. Yamamoto, H. Yoshitsu, and M. Sugiyama, J. Biol. Chem. **281**, 8981 (2006).
- ²¹C. J. Cramer, M. Wloch, P. Piecuch, C. Pizzarini, and L. Gagliardi, J. Phys. Chem. A **110**, 1991 (2006).
- ²²J. P. Klinman, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **96**, 2541 (1996).
- ²³E. I. Solomon, U. M. Sundaram, and T. E. Machonkin, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **96**, 2563 (1996).
- ²⁴L. M. Mirica, X. Ottenwaelde, and T. D. P. Stack, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **104**, 1013 (2004).
- ²⁵S. Schindler, Eur. J. Inorg. Chem. **11**, 2311 (2000).
- ²⁶L. Noodleman and D. A. Case, Adv. Inorg. Chem. **38**, 423 (1992).
- ²⁷L. Noodleman, C. Y. Peng, D. A. Case, and J.-M. Mouesca, Coord. Chem. Rev. **144**, 199 (1995).
- ²⁸V. N. Staroverov and E. R. Davidson, J. Am. Chem. Soc. **122**, 186 (2000).
- ²⁹D. A. Hrovat, J. A. Duncan, and W. T. Borden, J. Am. Chem. Soc. **121**, 169 (1999).
- ³⁰E. R. Davidson, Chem. Phys. Lett. **284**, 301 (1998).
- ³¹A. A. Jarzecki and E. R. Davidson, J. Phys. Chem. A **102**, 4742 (1998).
- ³²T. Ziegler, A. Rauk, and E. J. Baerends, Theor. Chim. Acta **43**, 261 (1977).
- ³³K. Yamaguchi, F. Jensen, A. Dorigo, and K. N. Houk, Chem. Phys. Lett. **149**, 537 (1988).
- ³⁴H. Isobe, Y. Takano, Y. Kitagawa, T. Kawakami, S. Yamanaka, K. Yamaguchi, and K. N. Houk, Mol. Phys. **100**, 717 (2002).
- ³⁵B. F. Gherman, D. E. Heppner, W. B. Tolman, and C. J. Cramer, JBIC, J. Biol. Inorg. Chem. **11**, 197 (2006).
- ³⁶P. Chen and E. I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. **126**, 4991 (2004).
- ³⁷C. Adamo, V. Barone, A. Bencini, R. Broer, M. Filatov, N. M. Harrison, F. Illas, J.-P. Malrieu, and I. de P. R. Moreira, J. Chem. Phys. **124**, 107101 (2006).
- ³⁸C. R. Kinsinger, B. F. Gherman, L. Gagliardi, and C. J. Cramer, JBIC, J. Biol. Inorg. Chem. **10**, 778 (2005).
- ³⁹C. Daul and A. Goursot, Int. J. Quantum Chem. **29**, 779 (1986).
- ⁴⁰C. Daul, Int. J. Quantum Chem. **52**, 867 (1994).
- ⁴¹A. C. Stückl, C. A. Daul, and H. U. Güdel, Int. J. Quantum Chem. **61**, 579 (1997).
- ⁴²T. Mineva, A. Goursot, and C. Daul, Chem. Phys. Lett. **350**, 147 (2001).
- ⁴³M. Atanasov and C. A. Daul, C. R. Chim. **8**, 1421 (2005).
- ⁴⁴A. Borel and C. A. Daul, J. Mol. Struct.: THEOCHEM **762**, 93 (2006).

- ⁴⁵ See, for example: *Ab Initio Methods in Quantum Chemistry*, Advances in Chemical Physics, edited by K. P. Lawley (Wiley, New York, 1987), Pts. I and II.
- ⁴⁶ *Recent Advances in Multireference Methods*, edited by K. Hirao (World Scientific, Singapore, 1999).
- ⁴⁷ M. F. Rode and H.-J. Werner, *Theor. Chem. Acc.* **114**, 309 (2005).
- ⁴⁸ For an example: J.-Y. Hasegawa, K. Pierloot, and B. O. Roos, *Chem. Phys. Lett.* **335**, 503 (2001).
- ⁴⁹ For example, modeling an imidazole moiety, a σ -donor and π -acceptor ligand, by NH_3 , σ donor only, can lead to severe artifacts. See the case of tyrosinase: J.-P. Piquemal and J. Pilmé, *J. Mol. Struct.: THEOCHEM* **764**, 77 (2006).
- ⁵⁰ A. I. Krylov, *Chem. Phys. Lett.* **338**, 375 (2001).
- ⁵¹ A. I. Krylov, *Chem. Phys. Lett.* **350**, 522 (2001).
- ⁵² A. I. Krylov and C. D. Sherrill, *J. Chem. Phys.* **116**, 3194 (2002).
- ⁵³ L. V. Slipchenko and A. I. Krylov, *J. Chem. Phys.* **117**, 3694 (2002).
- ⁵⁴ Y. Shao, M. Head-Gordon, and A. I. Krylov, *J. Chem. Phys.* **118**, 4807 (2003).
- ⁵⁵ F. Wang and T. Ziegler, *J. Chem. Phys.* **121**, 12191 (2004).
- ⁵⁶ F. Wang and T. Ziegler, *J. Chem. Phys.* **122**, 074109 (2005).
- ⁵⁷ A. de la Lande, H. Gérard, V. Moliner, G. Izzet, O. Renaud, and O. Parisel, *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.* **11**, 593 (2006).
- ⁵⁸ P. Chen, D. E. Root, C. Campochiaro, K. Fujisawa, and E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 466 (2003).
- ⁵⁹ N. W. Aboelella, B. F. Gherman, L. M. R. Hill, J. T. York, N. Holm, V. G. Young, Jr., C. J. Cramer, and W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 3445 (2006).
- ⁶⁰ M. Schatz, V. Raab, S. P. Foxon, J. Brem, S. Schneider, M. Reiher, M. C. Holthausen, J. Sundermeyer, and S. Schindler, *Angew. Chem., Int. Ed.* **43**, 4360 (2004).
- ⁶¹ A. J. Johansson, M. R. A. Blomberg, and P. E. R. Siegbahn, *Inorg. Chem.* **45**, 1491 (2006).
- ⁶² Note that the adjective “excited” here refers to electronic excitations from the reference configuration, not necessarily from the true ground state.
- ⁶³ J. Guan, F. Wang, T. Ziegler, and H. Cox, *J. Chem. Phys.* **125**, 044314 (2006).
- ⁶⁴ F. Wang, T. Ziegler, E. van Lenthe, S. van Gisbergen, and E. J. Baerends, *J. Chem. Phys.* **122**, 204103 (2005).
- ⁶⁵ F. Wang and T. Ziegler, *J. Chem. Phys.* **123**, 154102 (2005).
- ⁶⁶ F. Wang and T. Ziegler, *J. Chem. Phys.* **123**, 194102 (2005).
- ⁶⁷ N. Godbout, D. R. Salahub, J. Andzelm, and E. Wimmer, *Can. J. Chem.* **70**, 560 (1992).
- ⁶⁸ R. Krishnam, J. S. Binkley, R. Seeger, and J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **72**, 650 (1980).
- ⁶⁹ P. M. W. Gill, B. G. Johnson, J. A. Pople, and M. J. Frisch, *Chem. Phys. Lett.* **197**, 499 (1992).
- ⁷⁰ M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel *et al.*, GAUSSIAN 03, Revision A.1, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 2003.
- ⁷¹ J. J. McDouall, K. Peasley, and M. A. Robb, *Chem. Phys. Lett.* **148**, 183 (1988).
- ⁷² J. Kong, C. A. White, A. I. Krylov *et al.*, Q-CHEM 2.0, a high-performance *ab initio* electronic structure program; *J. Comput. Chem.* **21**, 1532 (2001).
- ⁷³ A. D. Becke, *Phys. Rev. A* **38**, 3098 (1998).
- ⁷⁴ J. P. Perdew, *Phys. Rev. B* **33**, 8822 (1986).
- ⁷⁵ C. Lee, W. Yang, and R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **37**, 785 (1988).
- ⁷⁶ B. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, and H. Preuss, *Chem. Phys. Lett.* **157**, 200 (1989).
- ⁷⁷ A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98**, 5648 (1993).
- ⁷⁸ J. C. Slater, *Quantum Theory of Molecules and Solids*, The Self-Consistent Field for Molecules and Solids (McGraw-Hill, New York, 1974), Vol. 4.
- ⁷⁹ S. H. Vosko, L. Wilk, and M. Nusair, *Can. J. Chem.* **58**, 1200 (1980).
- ⁸⁰ J. P. Perdew, in *Electronic Structure of Solids '91*, edited by P. Ziesche and H. Eschrig (Akademie, Berlin, 1991).
- ⁸¹ A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98**, 1372 (1993).
- ⁸² J. P. Perdew and Y. Wang, *Phys. Rev. B* **45**, 13244 (1992).
- ⁸³ See, for a recent example, M. D. Wodrich, C. Corminboeuf, and P. von Ragué Schleyer, *Org. Lett.* **8**, 3631 (2006).
- ⁸⁴ T. A. Wesolowski, O. Parisel, Y. Ellinger, and J. Weber, *J. Phys. Chem. A* **101**, 7818 (1997).
- ⁸⁵ H. Gérard, E. Clot, C. Giessner-Prettre, K. G. Caulton, E. R. Davidson, and O. Eisenstein, *Organometallics* **19**, 2291 (2000).
- ⁸⁶ H. Gérard, E. R. Davidson, and O. Eisenstein, *Mol. Phys.* **100**, 533 (2002).
- ⁸⁷ D. Laurencin, R. Villanneau, H. Gérard, and A. Proust, *J. Phys. Chem. A* **110**, 6345 (2006).
- ⁸⁸ P. E. M. Siegbahn, *Faraday Discuss.* **124**, 289 (2003).
- ⁸⁹ P. Cassam-Chenaï and G. S. Chandler, *C. R. Acad. Sci. (Paris) II* **314**, 755 (1992).
- ⁹⁰ P. Cassam-Chenaï and G. S. Chandler, *Int. J. Quantum Chem.* **46**, 593 (1993).
- ⁹¹ J. S. Sears, C. D. Sherrill, and A. I. Krylov, *J. Chem. Phys.* **118**, 9084 (2003).
- ⁹² J. Hasegawa, K. Pierloot, and B. O. Roos, *Chem. Phys. Lett.* **335**, 503 (2001).
- ⁹³ N. W. Aboelella, S. V. Kryatov, B. F. Gherman *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 16896 (2004).
- ⁹⁴ C. J. Cramer and R. R. Squires, *Org. Lett.* **1**, 215 (1999).
- ⁹⁵ A. Bérces and T. Ziegler, *J. Phys. Chem.* **99**, 11417 (1995).
- ⁹⁶ O. Parisel and Y. Ellinger, *Chem. Phys.* **189**, 1 (1994).
- ⁹⁷ O. Parisel and Y. Ellinger, *Chem. Phys.* **205**, 323 (1996).
- ⁹⁸ A. D. McLean, B. H. Lengsfeld, J. Pacansky, and Y. Ellinger, *J. Chem. Phys.* **83**, 3567 (1985).
- ⁹⁹ O. Parisel, Y. Ellinger, and C. Giessner-Prettre, *Chem. Phys. Lett.* **250**, 178 (1996).
- ¹⁰⁰ B. Huron, J.-P. Malrieu, and P. Rancurel, *J. Chem. Phys.* **58**, 5745 (1973).
- ¹⁰¹ J. Miralles, O. Castell, R. Caballol, and J.-P. Malrieu, *Chem. Phys.* **172**, 33 (1993).
- ¹⁰² M. Reguero, R. Caballol, J.-L. Heully, and J.-P. Malrieu, *Chem. Phys. Lett.* **265**, 621 (1997).
- ¹⁰³ V. M. García, M. Reguero, and R. Caballol, *Theor. Chem. Acc.* **98**, 50 (1997).
- ¹⁰⁴ J. Cabrero, N. Ben-Amor, and R. Caballol, *J. Phys. Chem. A* **103**, 6220 (1999).
- ¹⁰⁵ J. Cabrero, C. de Graaf, E. Bordas, R. Caballol, and J.-P. Malrieu, *Chem.-Eur. J.* **9**, 2307 (2003).
- ¹⁰⁶ J. Pitarch-Ruiz, J. Sanchez-Marin, and D. Maynau, *J. Comput. Chem.* **23**, 1157 (2002).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ "Dioxygen Binds End-On to Mononuclear Copper in a Precatalytic Enzyme Complex", S. T. Prigge, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **2004**, 304, 864 - 867.
- ² "A Monomeric Side-On Superoxocopper(II) Complex: $\text{Cu}(\text{O}_2)(\text{HB}(3\text{-tBu-5-}i\text{Prpz})_3)$ ", K. Fujisawa, M. Tanaka, Y. Moro-oka, N. Kitajima, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 12079 - 12080.
- ³ "Snapshots of Dioxygen Activation by Copper: The Structure of a 1:1 Cu/O_2 Adduct and its Use in Syntheses of Asymmetric Bis(μ -oxo) Complexes", N. W. Aboelella, E. A. M. Reynolds, W. W. Brennessel, C. J. Cramer, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 10660-10661.
- ⁴ "Characterization of a 1:1 $\text{Cu}-\text{O}_2$ Adduct Supported by an Anilido-Imine Ligand", A. M. Reynolds, D. F. Gherman, C. J. Cramer, W. B. Tolman, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 6989-6997.
- ⁵ "First C_{3v} -Symmetrical Calix[6](aza)crown", I. Jabin, O. Reinaud, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 3416 - 3419.
- ⁶ "A Novel Receptor Based on a C_{3v} -Symmetrical PN_3 -Calix[6]cryptand", X. Zeng, N. Hucher, O. Reinaud, I. Jabin, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 6886 - 6889.
- ⁷ "Calix[6]tren and Copper(II) : A third Generation of Funnel Complexes on the way to Redox Calixzymes", G. Izzet, B. Douziech, T. Prangé, A. Tomas, I. Jabin, Y. Le Mest, O. Reinaud, *PNAS* **2005**, 102, 6831 - 6836.
- ⁸ "Insights into the Binding Properties of a Cuprous Ion Embedded in the Tren Cap of a Calix[6]arene and Supramolecular Trapping of an Intermediate", G. Izzet, X. Zeng, H. Akdas, J. Marrot, O. Reinaud, *Dalton Trans.* **2007**, 771 - 780.
- ⁹ Pour le ligand NN_3 , O. Reinaud, communication personnelle.
- ¹⁰ "Modèles Supramoléculaires de Cupro-Enzymes à Sites Monomoléculaires. Synthèse, Caractérisation et Réactivité de Complexes Basés sur des Calix[6]Arènes", G. Izzet, 2004. Thèse de Doctorat de l'Université d'Orsay (Paris 11).
- ¹¹ "Reaction Behaviour of Copper(I) and Copper(II) Salts Towards $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2-2)_3$ — the Solid State Structures of $\{[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2-2)_3]\text{CuOClO}_3\}\text{ClO}_4$, $\{[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2-2)_3]\text{Cu}\}\text{ClO}_4$, $[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2-2)_3]\text{CuONO}_2$ and $[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2-2)_3]_2(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2\text{H}^+\text{NO}_3^-2)]\text{CuONO}_2$ ", M. Leschke, M. Melter, B. Walfort, G. Huttner, H. Lang, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2004**, 630, 2022 - 2030.
- ¹² "Spectroscopic and Electronic Structure Studies of the Diamagnetic Side-on Cu^{II} -Superoxo Complex $\text{Cu}(\text{O}_2)[\text{HB}(3\text{-}i\text{Prpz})_3]$: Antiferromagnetic Coupling versus Covalent Delocalization", P. Chen, D. R. Root, C. Campochiaro, K. Fujisawa, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 466 - 474.
- ¹³ "Reversible Binding of Dioxygen by the Copper(I) Complex with Tris(2-dimethylaminoethyl)amine (Me_6tren) Ligand", M. Becker, F. W. Heinemann, S. Schindler, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 11.
- ¹⁴ O. Reinaud, communications personnelles.
- ¹⁵ "First Insights into the Electronic Properties of a $\text{Cu}(\text{II})$ Center Embedded in the PN_3 Cap of a Calix[6]arene-Based Ligand", G. Izzet, X. Zeng, D. Over, B. Douziech, J. Zeitouny, M. Giorgi, I. Jabin, Y. Le mest, O. Reinaud, *Inorg. chem.* **2007**, 46, 375 - 377.
- ¹⁶ "Amidation of Bioactive Peptides : the Structure of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase", S. T. Prigge, A. S. Kolhekar, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **1997**, 278, 1300 - 1305.

- ¹⁷ "New Insights into Copper Monooxygenases and Peptide Amidation: Structure, Mechanism and Function", S. T. Prigge, R. E. Mains, B. A. Eipper, L. M. Amzel, *Cell. Mol. Life. Sci.* **2000**, 57, 1 236 - 1 259. Ainsi que les références incluses.
- ¹⁸ "Major Changes in Copper Coordination Accompany Reduction of Peptidylglycine Monooxygenase : Implications for Electron Transfer and the Catalytic Mechanism", N. J. Blackburn, F. C. Rhames, M. Ralle, S. Jaron, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 341 - 353.
- ¹⁹ "Oxygen Activation by the Noncoupled Binuclear Copper Site in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase. Reaction Mechanism and Role of the Noncoupled Nature of the Active Site", P. Chen, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4991 - 5000.
- ²⁰ "Structural Investigations on the Coordination Environment of the Active-Site Copper Centers of Recombinant Bifunctional Peptidylglycine α -Amidating Enzyme", J. S. Boswell, B. J. Reedy, R. Kulathila, David Merkler, N. J. Blackburn, *Biochemistry* **1996**, 35, 12241 - 12250.
- ²¹ "Does Superoxide Channel between the Copper Centers in Peptidylglycine Monooxygenase? A New Based on Carbon Monoxide Reactivity", S. Jaron, N. J. Blackburn, *Biochemistry* **1999**, 38, 15086 - 15096.
- ²² "Carbonmonoxy Dopamine β -Hydroxylase, Structural Characterization By Fourier Transform Infrared, Fluorescence, And X-Ray Absorption Spectroscopy", T. M. Pettingill, R. W. Strange, N. J. Blackburn, *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 16996 -17003.
- ²³ "Structural and Electronic Differences of Copper(I) Complexes with Tris(pyrazolyl)methane and Hydrotris(pyrazolyl)borate Ligands", K. Fujisawa, T. Ono, Y. Ishikawa, N. Amir, Y. Miyashita, K. -I. Okamoto, N. Lehnert, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 1698 - 1713.
- ²⁴ "Investigation of the Electronic and Geometric Effects of Trifluoromethyl Substituents on Tris(pyrazolyl)borate Ligands Using Manganese(I) and Copper(I) Complexes", H. V. R. Dias, H. -J. Kim, *Organometallics* **1996**, 15, 2994 - 3003.
- ²⁵ "Novel Tris(pyrazolyl)borates Bearing Perfluoroalkyl Pigtails. Syntheses and Characterization of the Sodium and Copper(I) Complexes of $[HB(3-(R)Pz)_3]$ ($R = C_2F_5, C_3F_7$; $Pz =$ Pyrazolyl)", H. V. R. Dias, H. -J. Kim, K. Rajeshwar, N. R. de Tacconi, A. Derecskei-Kovacs, D. S. Marynick, *Organometallics* **1996**, 15, 5374 - 5379.
- ²⁶ "Biomimetic Copper(I)-CO Complexes: A Structural and Dynamic Study of a Calix[6]arene Based Supramolecular System", Y. Rondelez, O. Sénèque, M.-N. Rager, A.F. Duprat, O. Reinaud, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 4218 - 4226.
- ²⁷ "Electrochemical Behavior of the Tris(pyridine)—Cu Funnel Complexes : An Overall Induced-Fit Process Involving an Entatic State through a Supramolecular Stress", N. Le Poul, M. Campion, G. Izzet, B. Douziech, O. Reinaud. Y. Le Mest, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 5280 - 5281.
- ²⁸ O. Reinaud, communications personnelles.
- ²⁹ "Theoretical Analysis of the Bonding between CO and Positively Charged Atoms", A. J. Lupinetti, S. Fau, G. Frenking, S. H. Strauss, *J. Phys. Chem. A* **1997**, 11, 9551 - 9559.
- ³⁰ "Crystallographic Characterization of a Synthetic 1:1 End-On Copper Dioxygen Adduct Complex", C. Würtele, E. Gaoutchenova, K. Harms, M. C. Holthausen, J. Sundermeyer, S. Schindler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3867-3869.
- ³¹ "Combined Spectroscopic and Theoretical Evidence for a Persistent End-On Copper Superoxo Complex", M. Schatz, V. Raab, S. P. Foxon, G. Brehm, S. Scheinder, M. Reiher, M. C. Holthausen, J. Sundermeyer, S. Schindler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4360 - 4363.

- ³² "Variable Character of O — O and M — O Bonding in side-on (η^2) 1:1 metal complexes of O₂", C. J. Cramer, W. B. Tolman, K. H. Theopold, A. L. Rheingold, *PNAS* **2003**, *100*, 3635 - 3640.
- ³³ "Tables de Chimie, un Mémento pour le Laboratoire", J. Tonneau, **1991**, De Boeck-Wesmael, ISBN 2-8041-1491-5.
- ³⁴ "Modeling the Peroxide/Superoxide Continuum in 1:1 Side-on Adducts of O₂ with Cu", *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 7281 - 7283. Ainsi que les 'Supplementary Materials'
- ³⁵ "How Useful Are Vibrational Frequencies of Isotopomeric O₂ Fragments for Assessing Local Symmetry? Some Simple Systems and the Vexing Case of a Galactose Oxidase Model", C. R. Kinsinger, B. F. Gherman, L. Gagliardi, C. J. Cramer, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 778 - 789.
- ³⁶ Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- ³⁷ "Utilisation de Charges Nucléaires Fictives pour l'Etude des Effets Electroniques de Substituants : la Méthode H*. Application pour l'Etude des Effets Inductifs Purs et pour la Comparaison des Effets Inductifs et Mésomères sur des Grandeurs Spectroscopiques ou de Réactivité." E. Dumont, **2006**, thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie curie (Paris 6).
- ³⁸ "The H* Method : Hydrogen Atoms with a Fictitious Nuclear Charge. A Versatile Theoretical Tool for Study of Atom and Group Properties as Substituents : Electronegativity and Partition of σ and π Contributions", E. Dumont, P. Chaquin, *J. Mol. Structure (Theochem)* **2004**, *680*, 99 - 106.
- ³⁹ "Diels-Alder reaction : a Theoretical Comprehensive Study of Inductive Substituent Effects Using the H* Method", E. Dumont, P. Chaquin, *J. Mol. Struct.(Theochem)* **2006**, *758*, 161 - 167
- ⁴⁰ "Investigation of Pure Inductive Effects on Benzene Ring by ¹³C NMR Chemical Shifts. A Theoretical Study Using Fictitious Nuclear Charges of Hydrogen Atoms ("H* method")", E. Dumont, P. Chaquin, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *435* (4-6), 354 - 357.
- ⁴¹ "Mononuclear Cu — O₂ Complexes: Geometries, Spectroscopic Properties, Electronic Structures, and Reactivity", C. J. Cramer, A. B. Tolman, *Acc. Chem. Res.* ASAP DOI 10.1021/ar700008c.
- ⁴² "Reversible Binding of Dioxygen by the Copper(I) Complex with Tris(2-dimethylaminoethyl)amine (Me₆tren) Ligand", M. Weitzer, S. Schindler, G. Brehm, S. Schneider, E. Hörmann, B. Jung, S. Kaderli, A. D. Zuberbühler, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 1800 - 1806.
- ⁴³ "The Relation Between the Internuclear Distances and the Forces Constants of Molecules and Its Application to Polyatomic Molecules", A. M. Badger, *J. Chem. Phys.* **1935**, *3*, 710 - 714.
- ⁴⁴ " β -Diketiminato Ligand Backbone Structural Effects on Cu(I)/O₂ Reactivity: Unique Copper—Superoxo and Bis(μ -oxo) Complexes", D. J. E. Spencer, N. W. Aboeella, A. M. Reynolds, P. L. Holland, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2108 - 2109.
- ⁴⁵ "Dioxygen Reactivity of Copper(I) Complexes with Tetradentate Tripodal Ligand Having Aliphatic Donors : Synthesis, Structures, and Properties of Peroxo and Superoxo Complexes", K. Komiyama,

H. Furutachi, S. Nagatomo, A. Hashimoto, H. Hayashi, S. Fujinami, M. Suzuki, T. Kitagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2004**, 77, 59 - 72.

⁴⁶ *Copper(I)-phenolate Complexes as Models of the Reduced Active Site of Galactose Oxidase: Synthesis, Characterization, and O₂ Reactivity*", B. A. Jazdzewski, A. M. Reynolds, P. L. Holland, V. G. Young Jr, S. Kaderli, A. D. Zuberbühler, W. B. Tolman, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2003**, 8, 381-393.

⁴⁷ *"A 1:1 Copper-Dioxygen Adduct is an End-On Bound Superoxo Copper(II) Complex which Undergoes Oxygenation Reactions with Phenols"*, D. Maiti, H. C. Fry, J. S. Woertink, M. A. Vance, E. I. Solomon, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 264-265.

⁴⁸ *"Multicopper Oxidases and Oxygenases"*, E. I. Solomon, U. M. Sundaram, T. E. Machonkin, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2563 - 2605. Ainsi que les références incluses.

⁴⁹ *"Mechanisms Whereby Mononuclear Copper Proteins Functionalize Organic Substrates"*, J. P. Klinman, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2 541 - 2 561. Ainsi que les références incluses.

⁵⁰ *"Activation of Triplet Dioxygen by Glucose Oxidase : Spin—Orbit Coupling in the Superoxide Ion"*, R. Prabhakar, Per E. M. Siegbahn, B. F. Minaev, H. Ågren, *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106, 3742 - 3750.

⁵¹ *"Spin Transition during H₂O₂ Formation in the Oxidative Half-Reaction of Copper Amine Oxidases"*, R. Prabhakar, Per E. M. Siegbahn, B. F. Minaev, H. Ågren, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 13882 - 13892.

⁵² *"Theoretical Study of the Interconversion of O₂-Binding Dicopper Complexes"*, M. Flock, K. Pierlot, *J. Chem. Phys. A* **1999**, 103, 95 - 102.

⁵³ *"X-Ray Absorption Edge Spectroscopy and Computational Studies on LCuO₂ Species : Superoxide—Cu^{II} versus Peroxide—Cu^{III} Bonding"*, R. Sarangi, N. W. Aboeella, K. Fujisawa, W. B. Tolman, B. Hedman, K. O. Hodgson, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 8266 - 8296.

⁵⁴ *"Dioxygen Activation at a Single Copper Site : Structure, Bonding, and Mechanism of Formation of 1:1 Cu—O₂ Adducts"*, N. W. Aboeella, S. V. Kryatov, B. F. Gherman, W. W. Brennessel, V. G. Young Jr, R. Sarangi, E. V. Rybak-Akimova, K. O. Hodgson, B. Hedman, E. I. Solomon, C. J. Cramer, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 16896 - 16911.

⁵⁵ *"Models for Dioxygen Activation by the Cu_B site of Dopamine β-Monooxygenase and Peptidylglycine α-Hydroxylating Monooxygenase"*, B. F. Gherman, D. E. Heppner, W. B. Tolman, C. J. Cramer, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 197 - 205.

⁵⁶ *"Effects of Thioether Substituents on the O₂ Reactivity of β-Diketiminato-Cu(I) Complexes : Probing the Role of the Methionine Ligand in Copper Monooxygenase"*, N. W. Aboeella, B. F. Gherman, L. M. R. Hill, J. T. York, N. Holm, V. G. Young Jr., C. J. Cramer, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 3445 - 3459.

⁵⁷ *"The Electroaffinity of O₂ by DFT and Coupled MCSCF/perturbation approaches. A Computational Experiment"*, O. Parisel, Y. Ellinger, C. Giessner-Prettre, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, 250, 178 - 186.

⁵⁸ *"Comments on the Nature of the Bonding in Oxygenated Dinuclear Copper Enzyme Models"*, J. -P. Piquemal, J. Pilmé, *J. Mol. Struct. : THEOCHEM*, **2006**, 764, 77 - 86.

⁵⁹ *"Size-Consistent Wave Functions for Bond-Breaking : the Equation-of-Motion Spin-Flip Model"*, A. I. Krylov, *Chem. Phys. Lett.* **2001**, 338, 375 - 384.

⁶⁰ *"Spin-Flip Equation-of-Motion Coupled-Cluster Electronic Structure Method for a Description of Excited States, Bond Breaking, Diradicals, and Triradicals"*, A. I. Krylov, *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 83 - 91.

-
- ⁶¹ "Electronic Structure Calculation of Open-Shell Molecules", L. V. Slipchenko, **2005**, PhD Thesis, University of Southern California. <http://www.rcf.usc.edu/~krylov>
- ⁶² "Spin-Flip Configuration Interaction : an Electronic Structure Model that is Both Variational and Size-Consistent", A. I. Krylov, *Chem. Phys. Lett.* **2001**, 350, 522 - 530.
- ⁶³ "The Spin-Flip Approach within Time-Dependent Density Functional Theory : Theory and Applications to Diradicals", Y. Shao, M. Head-Gordon, A. I. Krylov, *J. Chem. Phys.* **2000**, 118, 4807 - 4817.
- ⁶⁴ "Time-Dependent Density Functional Theory Based on a Noncolinear Formulation of the Exchange-Correlation Potential", F. Wang, T. Ziegler, *J. Chem. Phys.* **2004**, 121, 12191 - 12196.
- ⁶⁵ "Advances in Methods and Algorithms in a Modern Quantum Chemistry Program Package", Y. Shao, L. Fusti-Molnar, Y. Jung, J. Kussmann, C. Ochsenfeld, S. T. Brown, A. T. B. Gilbert, L. V. Slipchenko, S. V. Levchenko, D. P. O'Neill, R. A. Distasio Jr., R. C. Lochan, T. Wang, G. J. O. Beran, N. A. Besley, J. M., Herbert, C. Y. Lin, T. Van Voorhis, S. H. Chien, A. Sodt, R. P. Steele, V. A. Rassolov, P. E. Maslen, P. P. Korambath, R. D. Adamson, B. Austin, J. Baker, E. F. C. Byrd, H. Dachsel, R. J. Doerksen, A. Dreuw, B. D. Dunietz, A. D. Dutoi, T. R. Furlani, S. R. Gwaltney, A. Heyden, S. Hirata, C.-P. Hsu, G. Kedziora, R. Z. Khaliulin, P. Klunzinger, A. M. Lee, M. S. Lee, W. Liang, I. Lotan, N. Nair, B. Peters, E. I. Proynov, P. A. Pieniazek, Y. M. Rhee, J. Ritchie, E. Rosta, C. D. Sherrill, A. C. Simmonett, J. E. Subotnik, H. L. Woodcock III, W. Zhang, A. T. Bell, A. K. Chakraborty, D. M. Chipman, F. J. Keil, A. Warshel, W. J. Hehre, H. F. Schaefer III, J. Kong, A. I. Krylov, P. M. W. Gill, M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, 8, 3172 - 3191
- ⁶⁶ "The Catalytic Copper of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase also Plays a Critical Structural Role", X. Siebert, B. A. Eipper, R. E. Mains, S. T. Prigge, N. J. Blackburn, L. M. Amzel, *Biophys. J.* **2005**, 89, 3312 - 3319.
- ⁶⁷ "Theoretical Modelling of tripodal CuN_3 and CuN_4 Cuprous Complexes Interacting with O_2 , CO or CH_3CN ", A. de la Lande, H. Gérard, V. Moliner, G. Izzet, O. Reinaud, O. Parisel, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 593 - 608.

CHAPITRE III

TROISIEME ETAPE : ATTAQUE DE LA LIAISON C — H

INTRODUCTION	183
I. DES MODELES BIO-INSPIRES PAS SI INERTES QUE CELA	184
A. Des systèmes bi- aux mono-nucléaires	184
B. L'inertie comme comportement général	185
C. Le calixtren comme substrat d'oxydation	187
D. Parallèle biochimique	191
II. TRAVAIL PRELIMINAIRE	192
A. Définir les modèles	193
B. Stabilité relative des espèces	194
III. CHEMINS DE REACTIONS	200
A. Du saturé à l'insaturé	201
B. Concilier chemins réactionnels et bilans thermodynamiques	220
C. Implications expérimentales, perspectives	222
IV. ALLER-RETOUR ENTRE BIOMIMETISME ET BIOCHIMIE	224
A. Un mécanisme ionique dans les enzymes?	224
B. Transposition énergétique ?	227
CONCLUSION	232
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	234

TROISIEME ETAPE : ATTAQUE DE LA LIAISON C — H

INTRODUCTION

Dans le chapitre précédent, nous avons cherché à mieux cerner la coordination du dioxygène sur des complexes cuivreux pris comme modèles de centres actifs monomoléculaires enzymatiques ou calixaréniques. L'analyse d'un grand nombre de structures a permis de faire ressortir les grandes lignes directrices gouvernant ce phénomène. Des conclusions relatives à l'activation du dioxygène ont été dégagées. Considérant que notre objectif atteint, il est légitime de s'intéresser à présent à l'étape suivante du mécanisme d'hydroxylation, à savoir l'activation ou l'attaque de la liaison C — H à partir de ces adduits Cu/O₂.

Dans la PHM comme dans le DβM, la troisième étape proposée, après la coordination du dioxygène, est la réaction d'abstraction d'un atome d'hydrogène du substrat par l'espèce [Cu_MO₂]⁺.^{1,2,3} Dans la proposition de mécanisme présentée dans le premier Chapitre les produits de cette réaction sont d'une part un anion hydroperoxyde coordiné au centre cuivrique Cu_M(II) et d'autre part le substrat sous forme carboradicalaire (Figure 1).

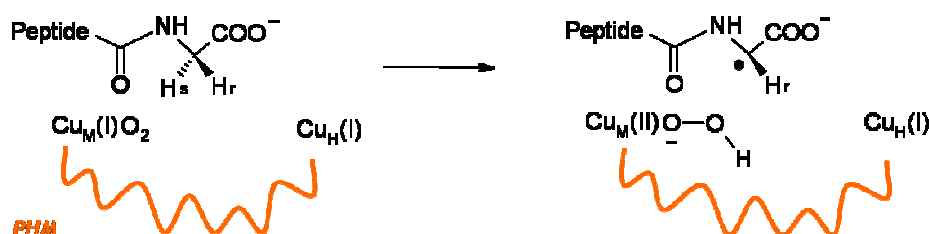


Figure 1 : Etape d'activation de la liaison C_α — H_s dans la PHM (représentée par le serpent).¹

En dépit de son succès dans la préparation d'adduits Cu/O₂,[†] l'approche biomimétique n'a pour l'instant pas permis de reproduire leurs capacités oxydatives. Hormis quelques cas exceptionnels que nous détaillerons par la suite, la plupart des adduits synthétisés se révèlent inertes face aux substrats d'oxydation. Ainsi, du fait de l'absence de données expérimentales sur les systèmes bio-inspirés, peu d'études théoriques ont été engagées sur l'activation de liaisons C — H par les adduits Cu/O₂. Cet état de fait contraste avec les adduits enzymatiques [Cu_MO₂]⁺ de la PHM ou la DβM qui ont fait l'objet d'études

[†] Tout au long de ce travail la notation Cu/O₂ désigne un complexe cuivreux sur lequel est fixé une molécule de dioxygène. Si les autres ligands complexant sont électriquement neutres l'édifice total à une charge + I.

théoriques détaillées ces dernières années.^{4,5,6,7} Cependant de nombreuses questions restent en suspens comme par exemple la hauteur des barrières énergétiques théoriques qui surestiment toujours de plusieurs kilocalories par mole la valeur expérimentale. Par ailleurs, bien qu'utilisant des techniques calculatoires fines (de type DFT/MM), ces études conduisent parfois à des conclusions en porte-à-faux avec les données expérimentales.⁸ Par exemple, à l'exception de l'étude publiée par Solomon *et coll.*⁷ les travaux référencés plus haut conduisent tous à écarter l'espèce cuivre-superoxo comme responsable de l'activation du peptide en dépit du fait qu'elle apparaît de plus en plus crédible au fil des études biochimiques.^{9,10} Enfin il est instructif de remarquer que ces études se sont davantage focalisées sur l'aspect énergétique des réactions en délaissant parfois l'effet de la nature des ligands ou de l'environnement des centres métalliques. Au final il ressort qu'une caractérisation approfondie de la réactivité des adduits mononucléaires présente un intérêt certain.

Dans une première partie, nous présenterons l'état de l'art expérimental des réactions d'attaque de liaisons aliphatiques C — H par des complexes $[\text{CuO}_2]^+$. En effet, même si, comme nous venons de le préciser, la plupart des adduits biomimétiques sont inertes vis-à-vis des substrats d'oxydation, quelques rares exemples indiquent cependant la possibilité de ces réactions. Plus particulièrement, nous insisterons sur les résultats expérimentaux obtenus avec un calix[6]arène sur lequel a été greffé le ligand $\text{tren}^{\text{H,H}}$. Ces expériences ont montré l'insertion d'un atome d'oxygène dans le ligand. Ce résultat expérimental constituera le fondement expérimental de la modélisation théorique entreprise dans les troisième (bilans thermodynamiques) et quatrième (mécanisme) parties. Enfin la dernière partie sera consacrée à l'examen des implications expérimentales de cette modélisation dans une perspective enzymatique (PHM ou D β M).

I. DES MODELES BIO-INSPIRES PAS SI INERTES QUE CELA

A. Des systèmes bi- aux mono-nucléaires

Initiées au début des années 1990, de nombreuses études ont porté sur la caractérisation des capacités réactives des adduits dinucléaires Cu_2/O_2 dans des processus intra- ou intermoléculaires. Ces travaux ont révélé un très grand nombre d'exemples présentant les potentialités oxydatives des adduits étudiés. L'hydroxylation aromatique, la N-déalkylation ou encore la sulfoxydation des ligands chélatants constituent des exemples typiques des réactions engendrées par les adduits Cu_2/O_2 .^{11,12}

B. L'inertie comme comportement général

Lorsque l'on s'intéresse au pendant mononucléaire de ces activités d'oxydation, force est de constater la rareté des données expérimentales ou théoriques concernant la capacités des adduits Cu/O_2 à catalyser l'attaque de liaisons $\text{C} - \text{H}$, même si les systèmes enzymatiques parents plaident en faveur de cette possibilité. En fait la plupart des adduits mononucléaires se sont révélés inertes ou n'ont pas encore fait l'objet d'investigations poussées.^{11,13} Certains indices expérimentaux laissent toutefois apparaître des potentialités réactives. Par exemple partant des adduits neutres $[\text{Cu}(\text{Dk}^{\text{R}})\text{O}_2]$, Tolman *et coll.* ont constaté que, bien que généralement non réactifs, l'oxydation du ligand pouvait être obtenue si le composé $[\text{Cu}(\text{MeCN})_4]\text{O}_3\text{SCF}_3$ était ajouté en petite quantité dans le milieu (Figure 2).¹⁴ Cette réaction est intéressante car elle montre le caractère oxygénatif du processus (accompagné d'une migration du groupement isopropyle du cycle aromatique) et donc la possibilité pour l'adduit de départ de promouvoir ce type de réaction.^{14,†}

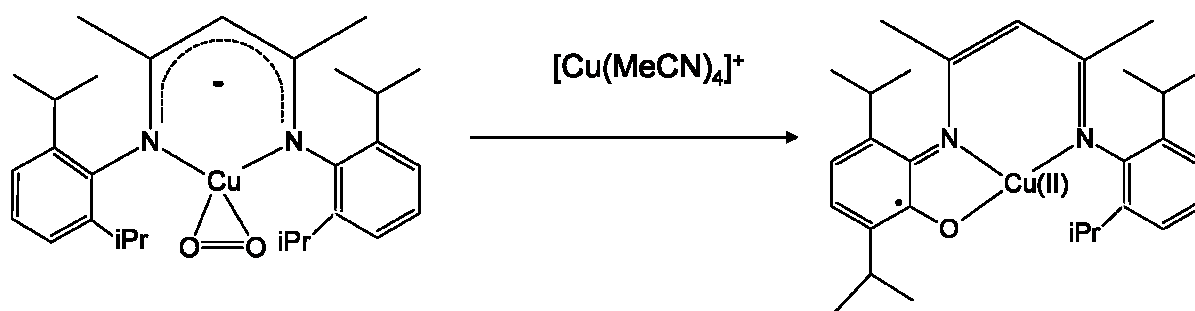


Figure 2 : Oxygénation intramoléculaire du ligand Dk^{Me} en présence de $[\text{Cu}(\text{MeCN})_4]\text{O}_3\text{SCF}_3$.¹⁴

Récemment Cramer *et coll.* ont cherché au moyen de calculs théoriques à établir certaines tendances relatives à la capacité des adduits mononucléaires à catalyser des réactions d'abstraction d'hydrogène.¹⁵ L'une des conclusions importantes de ce travail est la mise en évidence de la difficulté croissante des adduits à promouvoir l'activation des liaisons $\text{C} - \text{H}$ à mesure qu'augmente le transfert de charge du cuivre vers le dioxygène. Selon les auteurs, plus l'adduit de départ présente un fort caractère peroxyde plus haute est la barrière d'activation de rupture de la liaison hydrogénée. Ainsi à partir du complexe $[\text{Cu}(\text{Dk}^{\text{R}})\text{O}_2]$ présentant un fort caractère $\text{Cu}(\text{III})/\text{peroxyde}$ ($d(\text{O} - \text{O}) \approx 1,4 \text{ \AA}$), la barrière d'activation est évaluée à 36 kcal.mol^{-1} en moyenne selon le substrat oxydé.¹⁵

[†] Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études mécanistiques approfondies, les auteurs soupçonnent le passage par un intermédiaire binucléaire lors du processus.

Les auteurs font au final un constat d'équilibre sur l'amplitude du transfert de charge vers le dioxygène : pour activer une liaison C — H, un adduit biomimétique doit présenter un caractère donneur modéré de manière à permettre la coordination du dioxygène tout en conservant sa capacité oxydative. Les adduits bio-inspirés présentant un fort caractère superoxyde devraient constituer de meilleurs candidats à l'oxydation des liaisons C — H que les adduits de type peroxyde.¹⁵

Une publication récente portant sur le complexe $[\text{Cu}(\text{TMPA}^{\text{NMe}_2})]^+$ semble confirmer les conclusions de l'étude théorique.¹⁶ En partant d'un mélange réactionnel contenant l'adduit mononucléaire $[\text{Cu}(\text{TMPA}^{\text{NMe}_2})\text{O}_2]^+$, l'introduction de substrats aromatiques induit la formation d'un certain nombre de produits dont l'analyse a confirmé le caractère oxygénant du/des processus (Figure 3). Pour l'instant aucune étude poussée des mécanismes mis en jeu dans ces réactions n'a été reportée si bien que la possibilité de passage par un intermédiaire binucléaire n'est pas totalement à exclure. Cependant, si nous passons outre cette éventualité, ces expériences indiquent la possibilité pour l'adduit $[\text{Cu}(\text{TMPA}^{\text{NMe}_2})\text{O}_2]^+$ d'induire l'attaque de liaisons C — H aromatiques. Qui plus est, bien que cet adduit n'ait pas été caractérisé structuellement, la fréquence de vibration $\nu(\text{O} — \text{O})$ (1121 cm^{-1}) indique un transfert de charge modéré comme le montre la distance $\text{O} — \text{O}$ ($1,287 \text{ \AA}$) estimée à partir des lois de Badger du Chapitre précédent. L'adduit présente donc un fort caractère superoxyde.

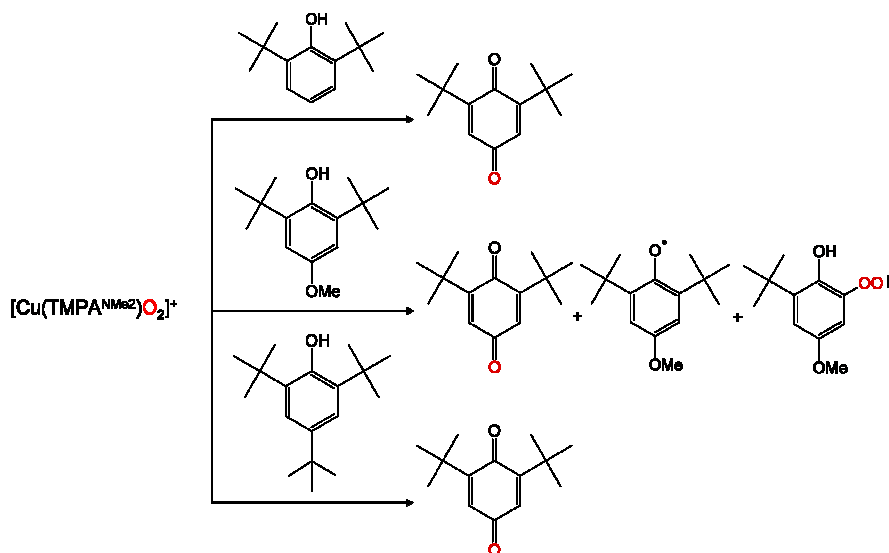


Figure 3 : Réactivité expérimentale de l'adduit $[\text{Cu}(\text{TMPA}^{\text{NMe}_2})\text{O}_2]^+$ face à divers substrats organiques.¹⁶

Suivant cette logique, les adduits dérivés des complexes de ligands $\text{tren}^{\text{R,R'}}$ devraient exhiber des comportements voisins pourvu que soit empêchées les réactions de dimérisation (Chapitre II). C'est donc assez naturellement que l'examen des capacités oxydatives des

adduits dérivés des ligands calixarènes a été entamé puisque le risque de dimérisation des complexes est faible avec ces ligands.

C. Le calixtren comme substrat d'oxydation

Parmi les résultats expérimentaux portant sur la chimie des calix[6]arènes métallés, une expérience a retenu notre attention d'une manière particulière. Elle a trait au complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$ qui, lors du bullage de dioxygène dans le milieu réactionnel témoigne d'un fort comportement auto-oxydant. Au vu des paragraphes précédents, cette donnée est particulièrement intéressante.

Les données expérimentales ainsi que les interprétations qui constituent l'objet des pages qui suivent font pour la plupart partie des travaux de thèse effectués par G. Izzet.¹⁷

1. Oxydation rapide

a. Introduction de dioxygène

Lors du bullage de dioxygène dans une solution contenant le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$, à basse température, la solution vire instantanément de l'incolore au bleu vert.¹⁷ Le retour à température ambiante n'entraîne pas de décoloration. Ces deux données suggèrent l'oxydation irréversible du cation métallique.

Le spectre UV-Visible du mélange final est par ailleurs différent du spectre du complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^{2+}$ obtenu indépendamment. Il faut donc conclure de cette expérience que la présence de dioxygène ne conduit pas seulement à l'oxydation du cation cuivreux mais également à l'altération du ligand. En outre, puisque les spectres RPE des deux complexes cuivriques sont différents, il semble que l'oxydation du substrat survienne au niveau de la sphère de coordination du métal, donc de la partie cryptante du calixtren.

Ainsi il apparaît que la présence de dioxygène a induit d'une manière plus ou moins directe la transformation chimique du calixtren au niveau de sa partie cryptante. Enfin il est remarquable de relever l'inertie du ligand calixtren vis-à-vis du dioxygène ou de l'ion superoxyde (introduit sous forme de sel KO_2) s'il n'est pas métallé par un cation $\text{Cu}(\text{I})$. La présence du cuivre est donc indispensable à la réaction de dégradation observée.

b. Caractérisation expérimentale

b.1. Suivi radicalaire

Les réactions avec le dioxygène faisant intervenir l'oxydation à un électron du cuivre en présence de dioxygène, la formation de radicaux dans le milieu est envisageable. La réaction a ainsi été suivie dans le temps par spectrométrie RPE en présence d'un piège à radical, le BMPO (5-tert-butoxycarbonyl 5-méthyl-1-pyrroline N-oxide) dont le mode d'action est rappelé sur la Figure 4.

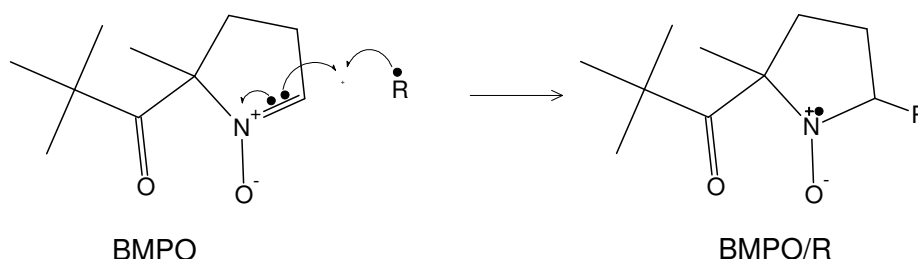


Figure 4 : Piégeage d'un radical R^\bullet par le BMPO.

Cette expérience a permis la mise en évidence et la caractérisation de deux espèces radicalaires dont les concentrations évoluent au cours du temps à partir de l'introduction de dioxygène. La première des deux espèces correspond à l'adduit $\text{BMPO}/\text{O}_2^\bullet$ dont la concentration croît continuellement entre zéro et quinze minutes. Cette espèce provient en principe du piégeage de l'ion superoxyde par le BMPO. A partir de quinze minutes, sa concentration chute continuellement.

La seconde espèce dont la concentration ne cesse de croître tout au long de l'expérience a été identifiée comme étant l'adduit $\text{BMPO}/\text{HOO}^\bullet$. Cette espèce est simplement l'acide conjugué de l'adduit $\text{BMPO}/\text{O}_2^\bullet$ si bien qu'il pourrait résulter soit de sa protonation soit du piégeage d'un radical hydroperoxyde. La première proposition permettrait d'expliquer la disparition de l'adduit $\text{BMPO}/\text{O}_2^\bullet$ à partir de quinze minutes mais pose la question de la présence de donneurs de protons dans le milieu réactionnel. Puisque ces expériences ont été réalisées dans des solvants aprotiques (acétonitrile), des espèces acides doivent être recherchées. L'eau apparaît comme une proposition raisonnable dans la mesure où sa présence est toujours avérée à l'état de traces dans les conditions expérimentales retenues.¹⁸

Au final, il ressort de ces expériences de suivi radicalaire une libération du radical anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$. Cet élément cadre bien avec l'oxydation du cation métallique puisqu'il

s'agit d'une réaction d'échange d'un seul électron entre le cation Cu(I) et le dioxygène. Cependant cette seule réaction ne permet pas de rendre compte de l'oxydation du ligand au niveau de sa partie chélatante. D'autres expériences de caractérisation ont donc été menées.

b.2. Et la dégradation du ligand ?

Le spectre de masse du mélange contenant le ligand sans métal montre l'existence de pics à $m/z = M+14$, $+28$ ou $+44$ (M est la masse molaire du ligand initial). La proportion relative des massifs dépend des conditions expérimentales (température, présence de ligands coordinants) mais le pic à $M+14$ demeure toujours important et pourrait correspondre à l'insertion d'oxygène accompagnée de la perte de deux atomes d'hydrogène. Cette hypothèse a d'ailleurs été confirmée grâce à la répétition de la manipulation en présence de dioxygène marqué $^{18}\text{O}_2$. Un pic à $M+16$ est alors observé.¹⁸ Ces éléments expérimentaux permettent donc de conférer à la réaction une fonction oxygénative à partir d'oxygène moléculaire. En outre puisque la présence du cuivre est indispensable pour observer la réaction, il convient de conférer cette propriété à l'adduit Cu/O₂ et non au superoxyde seul.

Enfin les spectres IR montrent l'apparition de deux bandes d'absorption absentes du spectre du ligand initial à 1601 et 1262 cm⁻¹.¹⁷ Les auteurs suggèrent la formation d'une fonction nitrone dans le produit majoritaire par comparaison aux signatures IR caractéristiques de cette fonction (C = N : 1620 à 1540 cm⁻¹ et N — O : 1280 à 1067 cm⁻¹, Figure 5). Notons que cette proposition est conforme aux résultats de spectrométrie de masse puisque la présence de cette fonctionnalisation donnerait lieu à un pic à $m/z = M + 14$.

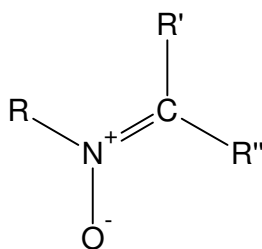


Figure 5 : Fonction nitrone proposée comme fonctionnalisation dans le ligand calixtren dégradé.

2. Interprétation synthétique

Ces résultats ont fait l'objet d'une interprétation détaillée dans la thèse de G. Izzet et nous ne reprenons ici que les principales conclusions.¹⁷ En présence de dioxygène, le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$ subit d'une part une oxydation que l'on peut qualifier de « simple », c'est-à-dire sans altération du ligand et, d'autre part, une oxydation orientée vers le calixarène.

La première est rapide et constitue la principale réaction à basse température. Elle s'accompagne du relargage du radical anion superoxyde dans le milieu. Par ailleurs puisque le cation Cu(II) ne permet pas la coordination de O_2 , il est probable qu'une fois oxydé, le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^{2+}$ soit une espèce inerte vis-à-vis d'une nouvelle molécule de dioxygène. La libération du superoxyde en solution à partir du précurseur $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$ est une donnée expérimentale remarquable en comparaison des manipulations effectuées avec des complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{R,R'}})]^+$ qui n'ont jamais, à notre connaissance, témoigné de ce comportement. La principale différence entre les ligands tripodes "nus" et les calixarènes réside dans la présence d'une couronne de fonctions éther au niveau du petit col. De là pourrait découler cette différence de comportement.¹⁷ Cet effet pourrait être de nature cinétique en aidant à l'expulsion du radical anion superoxyde de la cavité. Il pourrait également être de nature thermodynamique par stabilisation du cation Cu(II) grâce au champ électrostatique créé par les atomes d'oxygène de la couronne. Les deux effets peuvent bien sûr coexister.

La seconde réaction, plus lente, indique une oxydation tournée vers le ligand, et plus particulièrement vers sa partie cryptante. En accord avec les données expérimentales (spectrométrie de masse et IR), les auteurs ont proposé la présence d'une fonction nitrone au niveau de l'amine coordinant le métal. Des fonctionnalisations alternatives répondant au critère massique (fonctions amide ou carbonyle) ont toutefois été écartées en raison de l'absence de bande d'absorption de forte intensité autour de 1660 cm^{-1} (C=O).

La formation d'une fonction nitrone devrait s'accompagner de formation d'eau qui pourrait alors participer à la protonation de l'adduit $\text{BMPO/O}_2^{\bullet-}$ et contribuer à expliquer sa disparition au cours du temps au profit de sa base conjuguée.

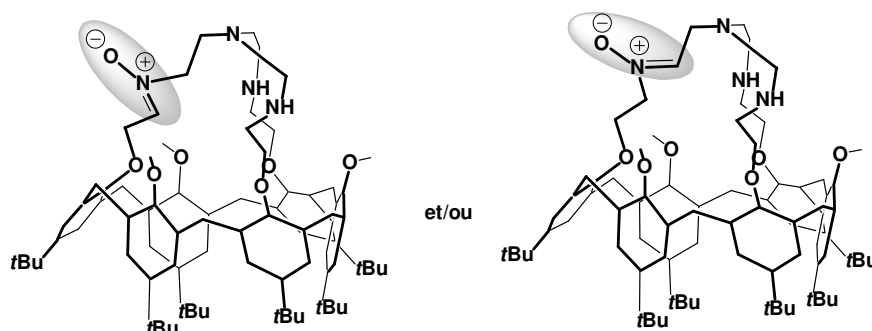


Figure 6 : Produits de dégradation du ligand proposés par G. Izzet (reproduit avec autorisation).¹⁷

Un point intéressant est l'état d'oxydation final du métal dans ce deuxième processus. Les auteurs suggèrent un état Cu(II) pour le complexe. Cependant, la présence d'un pic à $M+28$ sur le spectre de masse incline à privilégier une réactivité dans laquelle le métal jouerait un rôle catalytique et terminerait la réaction au même stade d'oxydation cuivreux. En effet, si la réaction devait s'achever sur un état d'oxydation cuivrique, il ne pourrait y avoir de nouvelle coordination du dioxygène ni de seconde oxydation du ligand sur l'un des bras intacts restant. Ce raisonnement n'est en fait valable qu'en l'absence dans le milieu de réducteur capable de réduire d'éventuels cations cuivriques. En outre comme le fait remarquer G. Izzet la formation d'une fonction nitronne et d'une molécule d'eau fait intervenir un échange à quatre électrons.¹⁷ Ces quatre électrons, nécessaires pour réduire totalement le dioxygène sont formellement apportés par l'atome de carbone en position α de l'amine (2 électrons) et par l'atome d'azote (2 électrons). De ce point de vue, l'électron provenant d'une éventuelle oxydation à un électron du cation cuivreux paraît superflu.

Ces résultats, sans précédents dans le domaine de la réactivité des adduits Cu/O₂ mononucléaires, constituent donc une base expérimentale solide pour atteindre l'objectif poursuivi dans ce Chapitre. En effet, bien qu'ayant démontré leur capacité d'incorporation d'un atome d'oxygène dans une liaison hydrogénée, les mécanismes chimiques sous-jacents restent obscurs pour l'instant. Il existe donc un espace dans lequel une modélisation théorique pourrait apporter des éléments de réponse pour expliquer l'oxydation de ces modèles bio-inspirés.

D. Parallèle biochimique

L'analogie entre la réactivité du calixtren et la réaction se déroulant dans la PHM ou dans la D β M est tentante en dépit de différences notoires entre les systèmes. D'une part, en

terme de nature des produits obtenus, dans le système enzymatique, ce n'est pas une fonction nitrone qui est obtenue mais une fonction hydroxylique. Et dans l'hydroxylation du peptidylglycine (PHM) la fonction peptique n'est pas altérée. D'autre part l'activation de la liaison C — H est à la base du processus biologique tandis que, dans le cas du "substrat" calixtren, les auteurs privilégient l'attaque de la liaison N — H. Il faut toutefois remarquer que c'est un argument de proximité qui a conduit à privilégier l'attaque de cette liaison. En réalité, il peut être appliqué identiquement à la liaison C — H qui devrait donc être aussi considérée. Enfin, il apparaît que, dans les deux substrats et dans le modèle, les fonctions chimiques des réactifs n'ont rien de commun. Dans les substrats de la PHM, il s'agit d'un résidu glycine, en position α d'une fonction peptidique qui est attaqué alors que dans la dopamine, substrat naturel de la D β M, la liaison aliphatique activée se trouve en position α d'un noyau aromatique. Le calixtren est encore différent, puisqu'il implique une fonction amine qui, de surcroît, est coordonnée au métal.

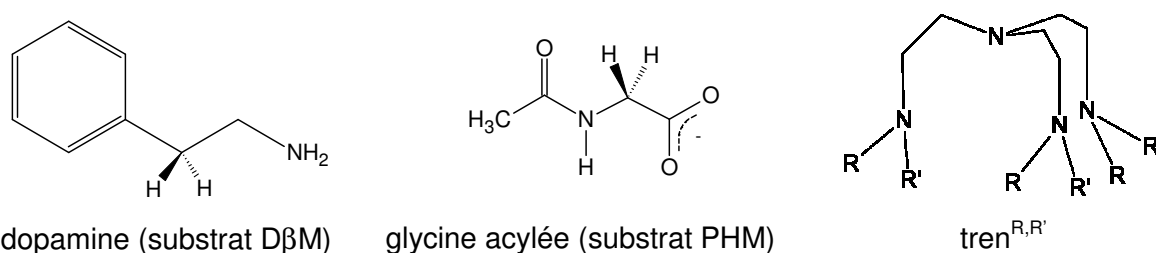


Figure 7 : Substrat de la D β M et de la PHM et « auto-substrat » du calixtren.

Il n'en reste pas moins que l'adduit [Cu(calixtren)O₂]⁺ est quasiment le seul exemple de complexe mononucléaire montrant une capacité oxygénative sur les fonctions N — H ou/et C — H. Pour rechercher et pointer d'éventuelles analogies avec les systèmes enzymatiques, il convient donc d'entreprendre une étude poussée des mécanismes réactionnels qui ont lieu dans le système biomimétique. C'est cette étude que nous nous proposons d'entreprendre dans la suite de ce Chapitre.

II. TRAVAIL PRELIMINAIRE

Avant de rechercher les mécanismes chimiques des réactions observées expérimentalement, ce problème de réactivité peut être étudié d'un point de vue thermodynamique. Dans cette partie, après avoir défini un modèle d'étude et un protocole de calcul, plusieurs bilans thermodynamiques sont calculés de manière à fournir une base de réflexion à l'étude mécanistique effectuée dans la partie suivante.

A. Définir les modèles

1. Un chapeau asymétrique

Avec pour objectif de modéliser les réactions précédemment décrites avec le ligand calixtren, le tripode $\text{tren}^{\text{Me,H}}$ apparaît comme un candidat naturel. Nous avons néanmoins opté pour une version tronquée de celui-ci en remplaçant deux des trois groupements méthyles par des atomes d'hydrogène. C'est donc le ligand présenté sur la Figure 8 et appelé tren^{Me1} qui servira de modèle pour la réaction de dégradation. Nous avons cependant vérifié sur certaines des étapes réactionnelles présentées dans la suite que les deux modèles conduisaient qualitativement aux mêmes résultats.

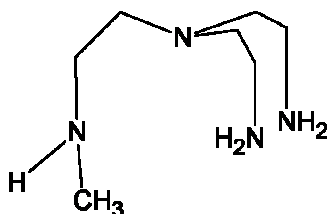


Figure 8 : Modèle du ligand utilisé pour étudier théoriquement la réactivité des adduits Cu/O_2 .

3. Méthode de calcul

L'étude théorique de la réactivité des adduits oxygénés comporte les mêmes difficultés que celles rencontrées dans la caractérisation de ces adduits. Bien sûr, l'adduit $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})\text{O}_2]^+$ présente un caractère biradicalaire, mais les espèces qui seront engendrées risquent de présenter également cette caractéristique. Les états de transition sont par ailleurs des exemples typiques d'espèces multiconfigurationnelles puisque les liaisons chimiques y sont souvent dans des états de rupture ou de formation partielle, ce qui peut être source de dégénérescences, notamment dans les processus homolytiques.^{19,20}

Pour remédier à ces difficultés, la même démarche que précédemment a été suivie. La recherche des extrema énergétiques, intermédiaires de réaction et états de transition, est réalisée selon une approche classique DFT. Puis dans un second temps, l'approche Spin-Flip TD-DFT est employée pour obtenir des données énergétiques fiables à partir desquelles seront discutés les différents chemins en compétition.^{†,21}

[†] Le protocole de calcul, identique à celui employé dans le Chapitre II est détaillé en Annexe.

B. Stabilité relative des espèces

Deux points importants ressortent des manipulations expérimentales. La première est la libération du radical anion superoxyde et l'oxydation du cation de l'état +I à +II. La seconde est l'oxydation du ligand, au cours d'un processus catalytique, dans le sens où le processus laisse intact le degré d'oxydation du cation métallique. Les implications thermodynamiques de ces deux options sont discutées dans les pages qui suivent.

1. Relargage de l'anion superoxyde

La libération du radical anion superoxyde est une donnée très intéressante dans la mesure où, à notre connaissance, elle n'a jamais été décrite dans la littérature à partir de complexes cuivreux mononucléaires. Nous avons donc cherché à évaluer le bilan énergétique de sa formation.

Partant dans un premier temps d'une équation bilan simple (première ligne du Tableau 1), le bilan énergétique est très largement défavorable à la forme cuivrique avec une différence d'énergie de l'ordre de + 223 kcal.mol⁻¹.[†] Il est donc probable que les espèces chimiques invoquées dans cette équation ne reflètent pas les espèces en présence dans le milieu. Par exemple le complexe cuivrique, seulement stabilisé dans ce premier bilan par le ligand tren^{Me1}, pourrait se voir stabilisé davantage si une coordination supplémentaire lui permettait d'adopter une géométrie alternative. En effet, il est connu que les complexes de cuivre II préfèrent les géométries de type Plan Carré, pyramidale à base carré ou encore bipyramidale à base triangulaire aux géométries pyramidales à base triangulaire. Il convient de même de s'interroger sur la différence de stabilité des ions en présence entre les phases gazeuse et liquide. Ce point risque d'être particulièrement important pour rendre compte de la solvation de l'anion superoxyde.

Trois bilans énergétiques supplémentaires ont été évalués. Les deux premiers ne diffèrent du précédent que par l'adjonction d'un ligand exogène complexant le cation cuivrique. A cet effet, deux molécules, l'eau et l'acétonitrile ont été sélectionnées du fait de leur présence avérée dans le milieu réactionnel. Le dernier calcul est une amélioration du précédent et prend en compte des effets de solvation *via* un continuum d'acétonitrile.

[†] Le terme bilan énergétique fait ici référence à la différence d'énergie électronique entre les produits et les réactifs.

Equilibre considéré		Bilan énergétique
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+ + \text{O}_2$	$\rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^{++} + \text{O}_2^{\bullet-}$	223,9
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+ + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	$\rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})(\text{H}_2\text{O})]^{++} + \text{O}_2^{\bullet-}$	200,2
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+ + \text{O}_2 + \text{CH}_3\text{CN}$	$\rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})(\text{CH}_3\text{CN})]^{++} + \text{O}_2^{\bullet-}$	181,9
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+ + \text{O}_2 + \text{CH}_3\text{CN}$	$\rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})(\text{CH}_3\text{CN})]^{++} + \text{O}_2^{\bullet-}$ avec PCM	9,8

Tableau 1 : Bilans énergétiques (kcal.mol⁻¹) de la formation de l'anion superoxyde en fonction des possibilités de stabilisation des produits (ou des réactifs si continuum).

Par rapport au bilan énergétique initial, les résultats valident les hypothèses précédentes : la coordination du cation cuivrique selon une géométrie de type bipyramide trigonale par adjonction d'un ligand externe, ainsi que la solvation des espèces, induisent une amélioration du bilan énergétique vers la production d'anion superoxyde. Pour ce qui est de la coordination du cation cuivrique la molécule d'acétonitrile permet le meilleur bilan énergétique en comparaison de la molécule d'eau (181,9 contre 200,2 kcal.mol⁻¹). Mais c'est la prise en compte des effets de solvation qui permet de s'approcher du basculement de l'équilibre (9,8 kcal.mol⁻¹). Cet effet spectaculaire met en lumière l'importance de décrire correctement les effets d'environnement lors de l'évaluation du bilan énergétique de réactions qui voient changer l'ionicté des réactifs. Dans le cas des calixarènes, la couronne de fonctions éther au niveau du petit col doit donc avoir un rôle décisif dans la stabilisation du complexe cuivrique et la libération du radical anion superoxyde.

Cela étant, il apparaît que l'oxydation du cation cuivreux pour aboutir au ralongage de l'anion superoxyde ne semble pas hors de portée pour le système. Pour évaluer plus rigoureusement le bilan énergétique dans le système réel, de nouveaux calculs prenant explicitement en compte les effets d'environnement semblent devoir être menés. Ils seront abordés dans les chapitres suivants.

2. A quoi doit-on s'attendre ?

a. Espèces chimiques

Alternativement à la réaction d'oxydation directe du cation cuivreux, nous nous intéressons à présent aux bilans énergétiques liés à la dégradation du ligand chélatant. Comme nous l'avons mentionné plus haut, les données expérimentales conduisent à

envisager la formation d'une fonction nitrone au cours du processus d'oxydation de l'un des bras du ligand calixtren. Dans le cadre de cette modélisation à partir du ligand tren^{Me1} , nous appellerons tren^{Ntr} le ligand fonctionnalisé par la fonction nitrone. La formation de cette fonction chimique s'accompagne vraisemblablement de celle d'une molécule d'eau (Figure 9).

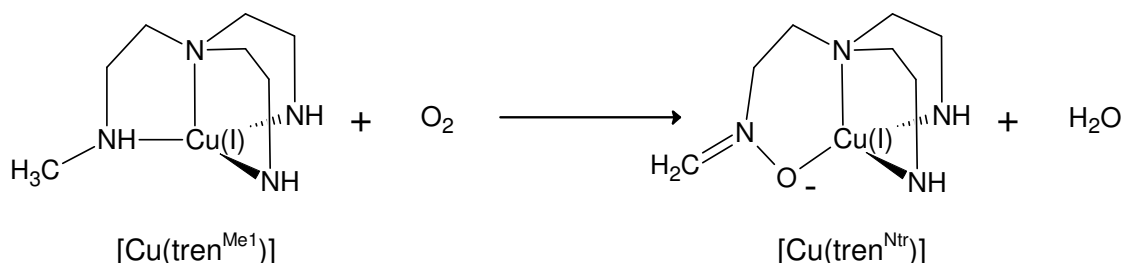


Figure 9 : Equation bilan de la réaction de formation d'une fonction nitrone à partir du ligand tren^{Me1} .

Deux cas sont envisageables selon que la molécule d'eau est coordonnée ($[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})\text{H}_2\text{O}]^+$) ou non ($[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})]^+$) au cation (Figure 10, haut). En réalité, outre cette fonctionnalisation, une fonction oxaziridine, analogue semi-azoté d'un époxyde, peut également être considérée. Deux modes de coordination au cuivre sont alors envisageables : par l'atome d'azote ($[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{OxaN}})]^+$) ou par l'atome d'oxygène ($[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{OxaO}})]^+$). De nouveau, il convient d'envisager la possibilité de fixation de la molécule d'eau au Cu(I).

Au total six complexes cuivreux sont de potentiels produits d'oxydation du ligand initial et il est donc souhaitable d'évaluer leur stabilité relative.

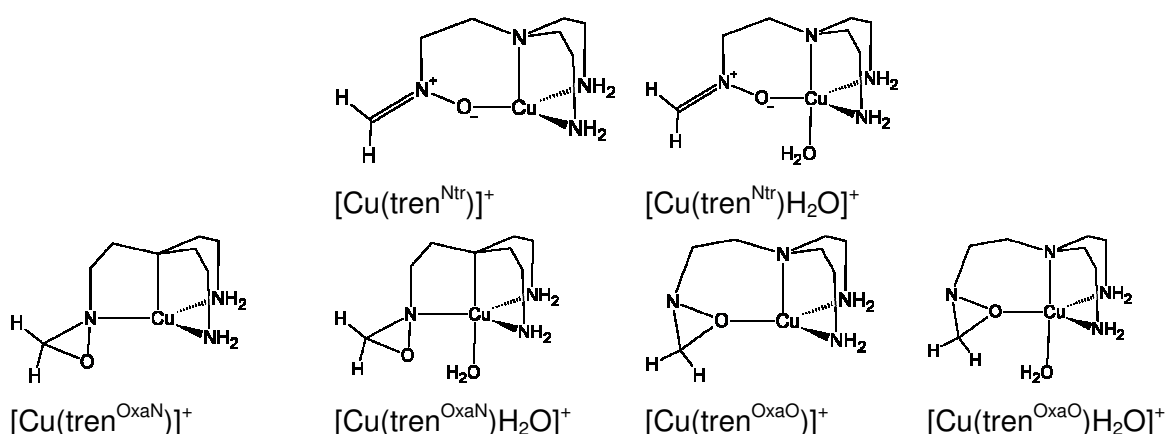


Figure 10 : Six espèces dérivées du complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+$ répondant aux données expérimentales de dégradation du complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$.

b. Stabilité relative

Dans le Tableau 2 sont répertoriées les énergies des six espèces définies ci-dessus en prenant comme référence d'énergie la somme de l'énergie du complexe $[\text{Cu(I)}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+$ et du dioxygène libre pris dans son état fondamental triplet. Ce sont donc des différences d'énergie qui sont reportées entre le complexe intact et O_2 d'un côté et le complexe dégradé et H_2O de l'autre. Deux grandeurs énergétiques ont été calculées. ΔE est l'énergie électronique, corrigée de l'énergie de point zéro, tandis que ΔG est une estimation de la différence d'enthalpie libre calculée dans l'approximation harmonique et dans le cadre de la thermodynamique statistique.

	ΔE	$\Delta G(298\text{K})$
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})]$	-39,1	-38,7
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{OxaN}})]^+$	-27,1	-26,0
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{OxaO}})]$	-22,5	-22,4
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})\text{H}_2\text{O}]^+$	-45,2	-37,9
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{OxaN}})\text{H}_2\text{O}]$	-32,7	-24,5
$[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{OxaO}})\text{H}_2\text{O}]$	-31,3	-22,3

Tableau 2 : Stabilité relative (kcal.mol^{-1}) des produits d'oxydation du ligand tren^{Me1} .

Considérons dans un premier temps les formes dans lesquelles la molécule d'eau n'est pas coordonnée au cuivre. Les différences d'énergie électronique comme d'enthalpie libre donnent des résultats similaires, ce qui est assez logique puisque nous comparons l'énergie de deux systèmes de même molécularité : d'un côté le complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+$ et O_2 dissociés, et de l'autre le cation cuivreux complexé par le ligand dégradé et H_2O , également dissociés. Il n'y a donc pas de contribution entropique majeure d'association lors du calcul de ΔG dans ce cas là, donc peu de différence entre ΔE et ΔG .

Il apparaît que la forme nitrone est de loin la plus stable des trois possibilités avec une stabilisation de près de 40 kcal.mol^{-1} par rapport au ligand initial. Les formes oxaziridine, bien que plus stables que l'amine initiale, le sont moins que la forme nitrone (~ 25 vs. 40 kcal.mol^{-1}). Entre la coordination par l'atome d'azote ou par l'atome d'oxygène, il apparaît que la première option est légèrement favorisée. Ce point peut éventuellement être rationalisé en considérant la mollesse respective des atomes d'oxygène et d'azote. Ce dernier étant plus "mou" que l'oxygène, son interaction avec le cation cuivreux "mou" est plus favorable.

La coordination de la molécule d'eau semble également favorisée au regard des énergies électroniques. L'ordre de stabilité précédemment décrit est inchangé mais nous constatons que les deux coordinations de l'oxaziridine sont maintenant quasi iso-énergétiques. Pour chaque système, la comparaison des énergies électroniques entre les formes aqueuses et non aqueuses indique que la coordination de l'eau est favorisée par environ 7 kcal.mol⁻¹ selon les systèmes. Cependant, par nature, cette différence d'énergie ne prend pas en compte les effets entropiques qui sont défavorables dans une réaction d'association à cause de la perte d'entropie translationnelle dans le produit. Ainsi l'examen des variations d'enthalpie libre indique que les valeurs se rapprochent fortement des valeurs ΔG des espèces non complexées. Comme on pouvait s'y attendre, la prise en compte des effets entropiques est nécessaire pour évaluer énergétiquement la coordination de l'eau. Par ailleurs il apparaît que cette coordination est défavorable thermodynamiquement puisque les valeurs de ΔG sont moins favorables dans le cas où la molécule d'eau est complexée. De ce point de vue, nous retrouvons le résultat du Chapitre précédent dans lequel nous étions parvenus à une conclusion similaire pour les ligands de la famille des tren^{R,R'} pour lesquels la fixation de H₂O n'était pas favorable dans l'état cuivreux.

Au final il ressort que la forme nitrone sans molécule d'eau est la plus stable des espèces envisagées dans ces paragraphes. C'est un résultat qui va dans le sens des propositions expérimentales. Toutefois, comme nous pouvons le constater sur la Figure 10, la formation de ces complexes implique souvent une forte déformation du ligand au niveau du bras qui porte la nouvelle fonction chimique. Cela est particulièrement le cas pour les complexes [Cu(tren^{Ntr})]⁺ et [Cu(tren^{OxaO})]⁺ et il est logique de s'interroger sur la transférabilité des calculs effectués en phase gazeuse au complexe modèle qu'est le calixtren. En d'autres termes, il se pourrait que l'ordre énergétique des espèces du Tableau 2 soit perturbé dans le système calixarénique. Il convient donc de ne pas écarter les formes autres que la nitrone par la suite. C'est la raison pour laquelle, nous avons cherché à caractériser ces différentes espèces.

c. Caractérisation infrarouge

Nous avons cherché à identifier les signatures caractéristiques de ces fonctions chimiques. Pour cela, nous avons évalué les fréquences de vibration à la fois pour les complexes de la Figure 10, mais également pour de petites molécules modèles (Tableau 3).

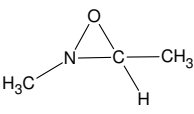
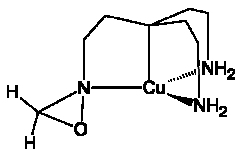
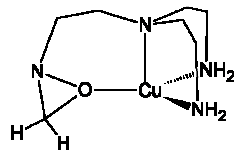
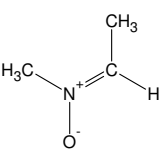
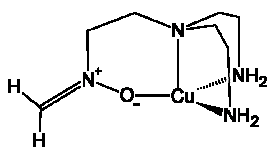
Liaison	Mouvement	Molécule Modèle		
				
N — O	élongation	705 (10,5); <i>1,6345</i>	683 (21,3)	697 (16,1)
CNO	respiration	912 (11,5); <i>1,1463</i>	951 (10,8)	946 (22,9)
				
N — O	élongation	1300 (142,0) <i>3,7110</i>	1072 (67,3) <i>1,5223</i>	
C = N	élongation	1664 (93,1) <i>10,1500</i>	1655 (157,6) <i>8,3439</i>	

Tableau 3 : Evaluation des fréquences caractéristiques des fonctions chimiques nitron et oxaziridine. Les fréquences sont exprimées en cm^{-1} , les intensités IR, entre parenthèses, en kM.mol^{-1} et les constantes de force, en italique, en mDy.Å^{-1} .

Intéressons-nous dans un premier temps à la fonctionnalisation en nitron. Dans le modèle organique comme dans le complexe, deux fréquences de vibration typiques ressortent de l'ensemble des modes accessibles. Dans le composé organique l'analyse des mouvements par atome conduit à attribuer la vibration à 1300 cm^{-1} au mouvement d'élongation de la liaison N — O. Celle à 1664 cm^{-1} est pour sa part attribuable à la double liaison C = N. Pour les deux bandes ainsi prévues en spectroscopie IR, les intensités associées sont supérieures à 93 kM.mol^{-1} , valeurs élevées en comparaison des autres bandes calculées. Dans le complexe, nous retrouvons ces deux bandes mais on constate un fort déplacement vers les basses fréquences de la bande caractéristique de la liaison N — O (1072 contre 1300 cm^{-1}). Cet affaiblissement de la liaison, confirmé par la diminution de la constante de force associée ($1,5223$ contre $3,7110 \text{ mDy.Å}^{-1}$), peut être attribué à l'interaction Cu — O présente dans le complexe. En effet, la liaison métal-oxygène entraîne une diminution de la densité électrostatique autour de l'oxygène. Puisque dans la fonction nitron, la liaison N — O comporte une forte composante électrostatique, la diminution de la densité électronique autour de l'atome d'oxygène induit une diminution de la force de liaison. Les intensités IR demeurent élevées dans le complexe cuivreux par rapport au composé organique.

Ces vibrations caractéristiques sont en accord d'une part avec les valeurs tabulées (p. 189) et d'autre part avec l'interprétation du spectre IR du composé de dégradation issu de l'oxygénation du complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$. La bande observée à 1601 cm^{-1} avait été attribuée à l'élongation de la double liaison $\text{C} = \text{N}$, et celle à 1262 cm^{-1} à la liaison $\text{N} - \text{O}$. Par rapport à notre calcul en phase gazeuse, la liaison $\text{N} - \text{O}$ semble moins affaiblie dans l'environnement calixarène puisque la fréquence de vibration associée est plus élevée.

Concernant la fonctionnalisation oxaziridine de la molécule, la situation est un peu différente. Dans le composé organique, deux fréquences de vibration, respectivement attribuées à l'élongation de la liaison $\text{N} - \text{O}$ (705 cm^{-1}) et à un mouvement de respiration du cycle NCO (912 cm^{-1}), sont obtenues. Cependant les intensités associées sont assez faibles et avoisinent la dizaine de kM.mol^{-1} . Dans les complexes, et quel que soit l'atome lié au métal, nous retrouvons ces deux vibrations avec des intensités légèrement supérieures (autour de 18 kM.mol^{-1}). Elles n'atteignent toutefois pas les intensités calculées pour la fonction nitron.

Ainsi, bien que ces calculs aient été réalisés en phase gazeuse dans l'approximation harmonique, il ressort que les signatures caractéristiques de la fonction oxaziridine sont plus difficilement détectables que celles de la fonction nitron. Cette assertion est en accord avec la difficulté à trouver des données relatives à la fonction oxaziridine dans les tables de bandes IR. Par ailleurs, cela pourrait expliquer pourquoi, si le mélange issu de la manipulation d'oxygénation contient une partie de calixtren ainsi fonctionnalisé, celui-ci n'est pas détecté en spectroscopie IR. En d'autres termes le spectre expérimental du mélange ne permet pas d'écarter la possibilité d'une fonction oxaziridine et les deux fonctions nitron ou oxaziridine pourraient coexister dans le milieu.

Les bilans thermodynamiques ont mis en évidence l'existence de fonctionnalisations énergétiquement favorables du ligand $\text{tren}^{\text{Me}^1}$ en accord complet avec les données expérimentales. L'étape ultérieure est l'identification des chemins réactionnels menant à ces espèces.

III. CHEMINS DE REACTIONS

L'angle d'attaque selon lequel est abordée cette modélisation théorique est donc la compréhension de la (des) réaction(s) de dégradation du ligand ayant lieu lors de l'introduction de dioxygène.

A. Du saturé à l'insaturé

La coordination du dioxygène sur le complexe précurseur $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+$ est de type *end-on*, en accord avec les résultats obtenus avec les ligands $\text{tren}^{\text{R,R'}}$ (Chapitre II). En partant du ligand tren^{Me1} qui est un composé saturé, la première étape du mécanisme doit permettre la création d'une insaturation dans le ligand. A première vue il est possible d'y parvenir par attaque des liaisons C — H ou N — H, toutes deux situées à proximité des atomes d'oxygène : $d(\text{O}_d - \text{C}) \approx d(\text{O}_d - \text{N}) \approx 3,15 \text{ \AA}$ (Figure 11).

En réalité selon l'attaque envisagée, celle de la liaison N — H ou celle de la liaison C — H, un isomère particulier de l'adduit $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})\text{O}_2]^+$ doit être considéré pour minimiser la distance entre l'atome d'oxygène O_d et l'atome d'hydrogène visé. Dans le cas de l'attaque de la liaison azotée, c'est l'adduit de gauche de la Figure 11 qui présente la géométrie optimale, la distance $\text{O}_d - \text{N}$ valant 3,152 Å contre 3,384 Å dans l'adduit de droite. C'est la situation inverse qui se produit pour l'attaque de la liaison C — H. Nous considérerons l'un ou l'autre des adduits comme produit de départ selon la liaison visée. Comme on peut s'y attendre ces deux isomères sont quasi isoénergétiques.

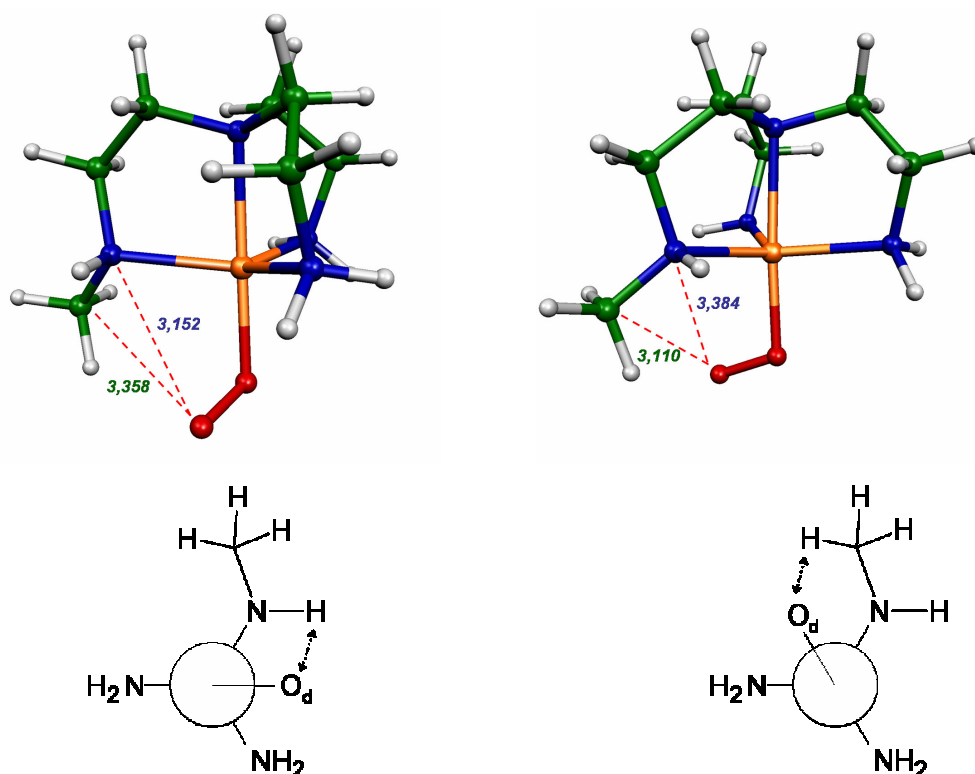


Figure 11 : Projections de Newman des adduits de départ $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})\text{O}_2]^+$ vues selon la liaison $\text{O}_p - \text{Cu}$ (le code de couleur est détaillé en Annexe).

En principe l'attaque des liaisons hydrogénées à partir de l'atome d'oxygène proximal est également envisageable et devrait être testée dans une étude complète de réactivité. Il est toutefois apparu au cours de l'étude que ce type de transfert est très coûteux énergétiquement ($\sim 50 \text{ kcal.mol}^{-1}$ par rapport à l'énergie des adduits). Il ne sera donc plus considéré dans la suite de ce travail.

Une troisième alternative émerge de la considération de l'état de spin du complexe. L'étude des surfaces d'énergie potentielle associées aux deux états de spin est indispensable pour au moins deux raisons. La première est due à l'écart singulet-triplet $\Delta_{S/T}$ calculé en phase gazeuse (de l'ordre de 9 kcal.mol^{-1} en faveur du triplet). Puisque l'état fondamental est triplet, la réactivité à partir de cet adduit doit être étudiée. Par ailleurs, puisque les produits de dégradation sont de spin singulet dans l'état fondamental, une transition de spin a lieu au cours du mécanisme entre les réactifs et les produits. Sans chercher à localiser précisément l'intersection des deux surfaces, il est nécessaire de localiser les intermédiaires de réaction dans les deux états de spin de manière à localiser la zone de transition.

Au final, quatre voies doivent être explorées selon la nature de la liaison rompue (azotée ou carbonée) ou l'état de spin (singulet ou triplet). Dans un premier temps nous traiterons les chemins triplets en nous attachant à décrire leurs caractéristiques géométriques et électroniques. Le cas singulet sera identiquement traité dans un second temps. Ces voies réactives seront ensuite mises en compétition d'un point de vue énergétique.

1. Chemin triplet : H-abstraction

a. Description géométrique

Dans cette sous-partie, nous considérons donc l'attaque de la liaison N — H ou C — H par l'atome d'oxygène distal sur une surface de spin triplet. Comme expliqué précédemment, deux adduits, **A_B** et **A_C**, sont considérés selon la liaison visée.

a.1. Deux voies parallèles

Le transfert de l'hydrogène de la liaison N — H_N (resp. C — H_C) sur l'atome d'oxygène distal est représenté sur la Figure 12. Un certain nombre de paramètres

géométriques nécessaires à la description des chemins réactionnels ainsi que les charges NPA et les densités de spin sont pour leur part regroupés dans le Tableau 4. Seule l'étape de transfert de l'atome d'hydrogène est représentée puisque aucune voie d'évolution ultérieure n'a pu être identifiée. Il ressort une grande similitude entre les deux chemins réactionnels, si bien qu'ils sont décrits conjointement dans les lignes qui suivent.

Dans les deux cas, l'état de transition est tardif. Ainsi, dans l'état de transition **TS(A_C-C)[†]**, la distance O — H vaut 1,112 Å, valeur très proche de celle déterminée dans le produit **C** (0,974 Å, Tableau 4). Cette caractéristique est d'avantage marquée avec l'attaque de la liaison N — H : $d(\text{O} - \text{H}) = 1,001 \text{ Å}$ dans **TS(A_B-B)** contre 0,973 Å dans **C**. De manière cohérente, le degré d'allongement des distances rompues au cours des processus indique la rupture quasitotale au niveau de l'état de transition. La liaison C — H est par exemple fortement allongée dans **TS(A_B-B)** (1,505 Å), quant à la liaison N — H, sa longueur dans **TS(A_C-C)** (1,947 Å) indique sa rupture complète.

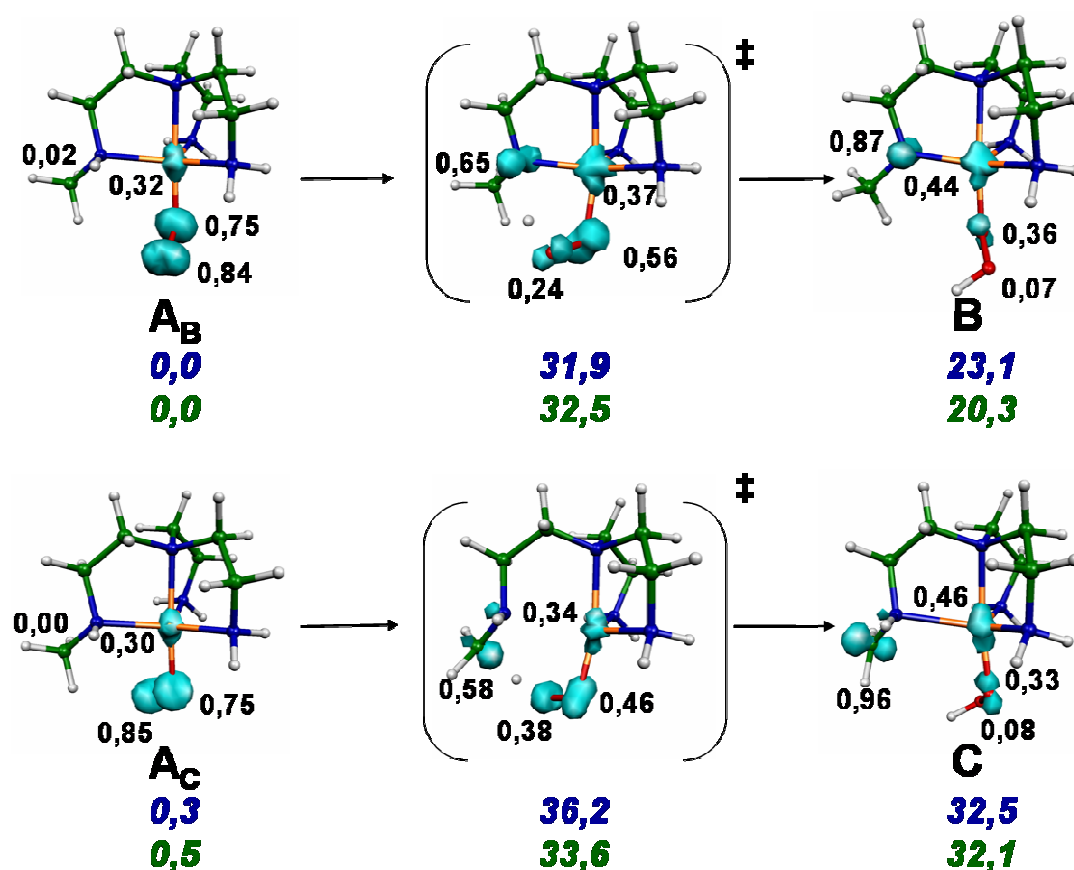


Figure 12 : Attaque d'une liaison N — H (haut) et C — H (bas) par l'adduit $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me}1})\text{O}_2]^+$ sur la surface triplet. Les densités de spin sont reportées en noir, les énergies (kcal.mol^{-1}) UB3LYP en bleu et les énergies SF - B3LYP en vert.

[†] Dans ce travail un état de transition entre un réactif **R** et un produit **P** est génériquement noté **TS(R-P)**.

	Activation N — H _N : X = N			Activation C — H _C : X = C		
	A _B	TS(A _B -B)	B	A _C	TS(A _C -C)	C
distances						
d (O — O)	1,273	1,371	1,428	1,270	1,370	1,428
d (X — H _{N/C})	1,020	1,947	3,851	1,091	1,505	3,274
d (H _{N/C} — O)	3,309	1,001	0,973	2,882	1,112	0,974
d (Cu — O _p)	1,993	1,988	1,926	2,010	1,901	1,895
d (Cu...N)	2,168	2,071	1,994	2,174	2,480	2,328
d (N — C)	1,484	1,458	1,444	1,484	1,419	1,416
densités de spin						
Cu	0,32	0,37	0,44	0,30	0,34	0,46
O _p	0,75	0,56	0,36	0,75	0,46	0,33
O _d	0,84	0,24	0,07	0,85	0,38	0,08
X	0,02	0,65	0,87	0,00	0,58	0,96
charges NPA						
q(Cu)	1,05	1,13	1,20	1,04	1,08	1,18
q(O _p)	-0,22	-0,32	-0,49	-0,22	-0,41	-0,52
q(O _d)	-0,12	-0,36	-0,48	-0,11	-0,36	-0,47
q(X)	-0,84	-0,66	-0,50	-0,35	-0,27	-0,18
q(H _{N/C})	0,40	0,49	0,49	0,23	0,39	0,49

Tableau 4 : Distances (Å), densités de spin et charges partielles NPA (e) pour le chemin de réaction sur la surface triplet.

L'analyse des densités de spin reportées sur la Figure 12 permet de suivre le caractère biradicalaire des espèces au cours du processus de transfert. Il est remarquable de constater qu'à aucun moment n'apparaît de densité de spin sur l'hydrogène. Le transfert de l'espèce "H" ne s'effectue donc pas sous forme d'un atome d'hydrogène. Les densités de spin sur les atomes d'azote (0,87 dans **B**) et de carbone (0,96 dans **C**) indiquent quant à elles de forts caractères radicalaires sur ces atomes et donc la rupture homolytique des liaisons N — H_N ou C — H_C. Au final il ressort que le transfert ainsi décrit est d'avantage assimilable à un transfert de proton couplé au transfert d'un électron qu'à une abstraction d'hydrogène.

En accord avec la remarque sur le caractère tardif de l'état de transition, les densités de spin sur les atomes d'azote et de carbone dans les états de transition **TS(A_B-B)** (0,65) et **TS(A_C-C)** (0,58) indiquent déjà un fort caractère radicalaire.

Dans les deux cas de figure, le transfert de l'atome d'hydrogène permet la formation d'une liaison O — H. Les densités de spin sur l'atome d'oxygène *distal* indiquent sans ambiguïté la perte du caractère radicalaire tout au long du processus. Elles passent de 0,85 dans les adduits à 0,07 dans les produits. Il y a donc formellement appariement des deux électrons H^\bullet et O_d^\bullet .

Le second électron du biradical est localisé sur l'atome métallique et sur l'atome d'oxygène *proximal*. Au cours des deux processus, nous observons une augmentation de la densité de spin sur l'atome de cuivre et une diminution sur l'atome d'oxygène *proximal* ce qui indique l'augmentation du caractère radicalaire de l'atome de cuivre et la diminution de celui de l'atome d'oxygène. Cela traduit un plus fort caractère cuivrique, confirmé par les charges NPA qui passent de 1,01 e à 1,20 e sur le métal. Cette dernière valeur est celle habituellement obtenue par cette approche pour les cations formellement cuivriques.

Globalement le dioxygène subit donc une réduction à deux électrons au cours de ces processus comme en témoigne l'augmentation progressive de la distance $O_d - O_p$ qui passe de 1,27 Å (**A_B** et **A_C**) à 1,37 Å (**TS(A_B-B)** et **TS(A_C-C)**) et enfin à 1,43 Å dans les produits **B** et **C**.

Tous les paramètres étudiés jusqu'à présent ont montré des évolutions similaires pour la rupture des liaisons N — H ou C — H. Seule la distance Cu — N présente un comportement singulier lors de la rupture de la liaison C — H. Son évolution n'est pas monotone : elle commence par augmenter entre **A_C** (2,174 Å) et **TS(A_C-C)** (2,480 Å) pour diminuer entre **TS(A_C-C)** et **C** (2,328 Å). A l'inverse, lors de la *primo* attaque de la liaison N — H, la distance Cu — N diminue continuellement (2,168; 2,071 et 1,994 Å). Ce comportement contraire au principe de moindre mouvement peut être imputé à la coordination de l'atome d'azote dans **TS(A_C-C)** qui induit une tension dans le cycle $O_d - O_p - Cu - N - C - H$. Cet écart au postulat de Hammond devrait entraîner une augmentation de la barrière énergétique pour la formation de **C** en comparaison de **B**. Nous vérifierons ce point par la suite.

a.2. Une description familière au chimiste

L'ensemble de ces données permet de proposer une représentation formelle du processus (Figure 13). Dans les deux cas, il y a réduction à deux électrons du dioxygène grâce à l'apport conjoint d'un électron par rupture homolytique de la liaison N — H (resp.

C — H) et par le métal Cu(I). Cette étape laisse donc un ion hydroperoxyde HOO^- , un aminoradical (resp. un carboradical) et un ion Cu(II).

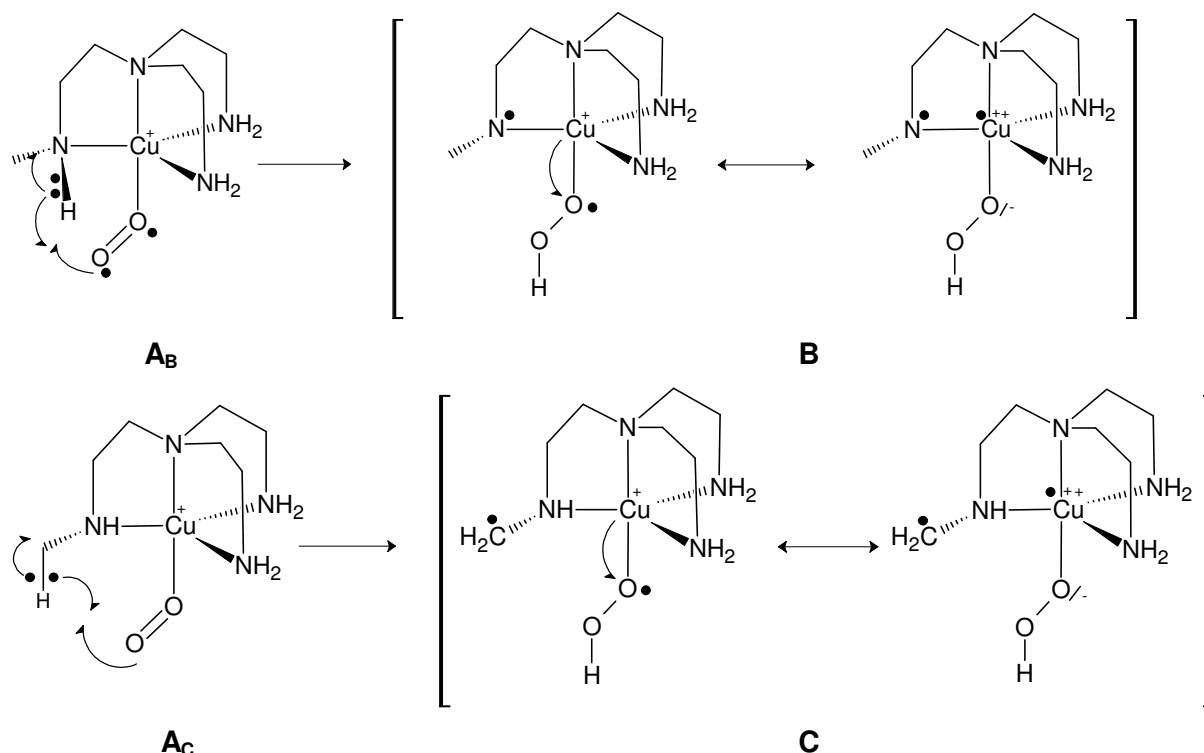


Figure 13 : Représentations formelles des ruptures homolytiques des liaisons N — H_N (haut) et C — H_C (bas) par les adduits de spin triplet.

b. Description énergétique

Les espèces considérées étant de spin triplet, elles sont essentiellement monoconfigurationnelles. En conséquence les approches DFT ou SF-DFT (Figure 12), fournissent des valeurs d'énergie comparables, l'adduit **A_B** étant pris comme référence énergétique.

Les deux réactions sont endoénergétiques par plus de 20 kcal.mol⁻¹, le produit **B** étant plus stable que le produit **C** par 10 kcal.mol⁻¹ environ. Les barrières énergétiques sont quant à elles supérieures à 30 kcal.mol⁻¹ dans les deux cas et cela quelle que soit la méthode de calcul employée. Comme pour la stabilité relative des produits, nous constatons que l'état de transition menant à **C** est plus haut en énergie (36,2 kcal.mol⁻¹ par le calcul B3LYP) que celui conduisant au produit **B** (31,9 kcal.mol⁻¹). Ce résultat confirme l'analyse faite précédemment à propos du comportement de la liaison Cu — N, contraire au postulat de Hammond. La barrière énergétique du transfert à partir de la liaison C — H est plus

importante et peut être expliquée par la contrainte géométrique dans l'état de transition **TS(A_C-C)**.

La mise en compétition énergétique des deux chemins triplet conduit à favoriser l'attaque de la liaison N — H_N et la formation du produit **B**. Puisqu' aucune voie d'évolution ultérieure n'a pu être identifiée suite à cette première étape, l'évolution du composé **B** n'offre qu'une alternative : soit le retour en arrière avec reformation de l'adduit, processus associé à une barrière de seulement 8,8 kcal.mol⁻¹, soit la transition vers une surface singulet.

2. Surface singulet

a. Descriptions géométrique et électronique

Nous abordons à présent l'examen des capacités réactives des adduits de spin singulet. Dans un premier temps c'est l'attaque de la fonction amine qui sera examinée et nous poursuivrons notre étude par celle de la liaison C — H .

a.1. Initiation par rupture de la liaison N — H_N

i. Formation d'une fonction imine

En partant de l'adduit **A_D**, analogue de l'adduit triplet **A_B** précédent, le transfert de l'hydrogène de la liaison N — H_N vers l'atome d'oxygène distal est obtenu avec un état de transition moins tardif que dans le cas triplet (Figure 14). En effet, dans l'état de transition **TS(A_D-D)**, la distance O — H vaut 1,167 Å alors qu'elle s'élevait à 1,001 Å dans l'analogue triplet **TS(A_B-B)** (Tableau 5). L'avancement de la rupture de la liaison N — H_N y est également plus faible : d (N — H) = 1,349 Å contre 1,947 Å.

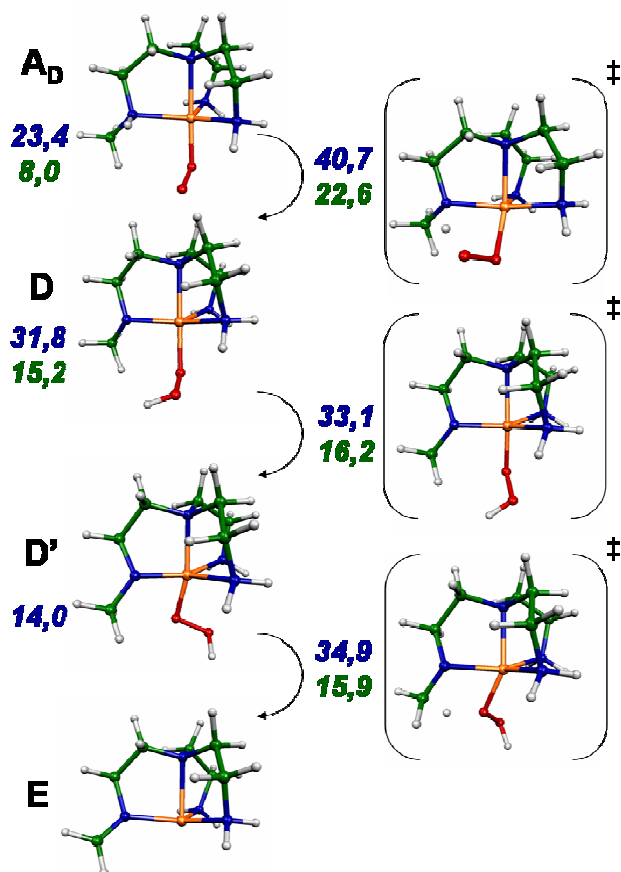


Figure 14 : Schéma réactionnel singulet débutant par l'attaque de la fonction amine. Les énergies, exprimées en kcal.mol^{-1} , sont issues alternativement du calcul R-B3LYP (bleu) ou SF-B3LYP (vert).

A l'inverse du cas triplet, une voie d'évolution du produit **D** a été identifiée *via* un réarrangement de géométrie du complexe qui passe d'une forme bipyramide trigonale à une forme pyramide à base carrée (**D'**). Ce changement peut être mis en évidence par la variation des angles NCuN de la base de la bipyramide **D**. A partir d'une valeur de $116,5^\circ$, l'un d'eux se rapproche de 180° ($155,1^\circ$) dans **D'**, tandis que les deux autres ($103,7$ et $137,7^\circ$) diminuent significativement au cours du réarrangement ($101,6$ et $98,9^\circ$).

Cette nouvelle géométrie **D'** permet le transfert d'un second atome hydrogène depuis le groupement méthyle vers l'atome d'oxygène *proximal* *via* l'état de transition **TS(D'-E)**. Cette étape conduit à la formation du complexe **E** et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène non liée au cation métallique. Le ligand résultant présente une fonctionnalisation imine comme en témoigne la distance C — N qui passe de $1,450$ à $1,376$ Å dans l'état de transition puis à $1,280$ Å dans **E**.

	A_D	TS(A_D-D)	D	D'	TS(D'-E)	E
distances						
O _d — O _p	1,296	1,369	1,417	1,429	1,436	1,454
N — H _N	1,021	1,349	3,208	-	-	-
C — H _C	-	-	-	1,104	1,260	-
H _N — O _d	3,001	1,167	0,975	0,974	0,975	0,975
HC — O _p	-	-	-	2,316	1,369	0,975
Cu — O _p	1,892	1,930	1,866	1,864	1,945	-
Cu...N	2,150	1,991	1,926	1,927	2,059	2,001
N — C	1,484	1,469	1,455	1,450	1,376	1,280
charges NPA						
Cu	1,12	1,20	1,25	1,25	1,16	
O _p	-0,28	-0,37	-0,45	-0,49	-0,46	
O _d	-0,22	-0,38	-0,45	-0,47	-0,58	
N	-0,83	-0,77	-0,68	-	-	-
C	-	-	-	-0,38	-0,33	
H _N	0,40	0,47	0,50	-	-	-
H _C	-	-	-	0,22	0,36	

Tableau 5 : Description géométrique et charges NPA de la réaction initiée par l'attaque de la liaison N — H_N sur la surface singulet. Les distances sont en Å.

Ce second transfert d'hydrogène a lieu au moyen d'un état de transition précoce (d (C — H_C) = 1,260 Å et d (O_p — H_C) = 1,369 Å dans **TS(D'-E)**), suggérant une transition énergétiquement favorable dans le cadre du postulat de Hammond. Nous reviendrons sur ce point par la suite.

ii. Discussion formelle

En considérant le premier transfert comme étant celui d'un proton, un décompte formel des électrons dans l'espèce **D** conduit à considérer qu'un amidure et un anion hydroperoxyde stabilisent un cation Cu(III). Cependant l'analyse des charges NPA joue en faveur d'une structure de type Cu(II)/aminoradical qui apparaît particulièrement lors de la comparaison des charges du groupe {N; O_p; Cu} entre l'espèce singulet **D** {-0,68; -0,45; 1,25} et l'espèce triplet **B** {-0,66; -0,49; 1,20}. La similitude des deux jeux de charges plaide en

faveur d'une description chimique similaire. En conséquence un chemin réactionnel formel similaire à celui proposé pour la voir triplet peut être proposé (Figure 15).

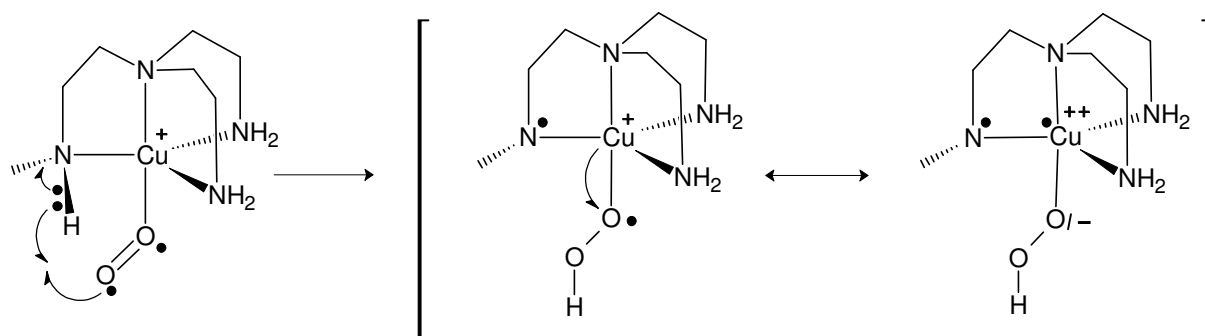


Figure 15 : Description de l'étape de rupture homolytique de la liaison N — H_N sur la surface singlet.

iii. Caractère biradicalaire du chemin

En raison du caractère biradicalaire des espèces mentionnées ci-dessus, un calcul SF-B3LYP a été entrepris dans le but d'estimer le caractère multiconfigurationnel de la fonction d'onde de l'espèce **D** (Figure 16). Il en ressort que, bien que non négligeable, le caractère couche ouverte (11% du poids total de la fonction d'onde) reste minoritaire tandis que la configuration principale correspond à l'appariement de deux électrons sur la HO du système orbitalaire. La forme de cette orbitale permet de justifier l'écriture Cu(II)/aminoradical proposée plus haut (Figure 16). En effet loin d'être purement localisée sur l'atome d'azote, orbitale qui correspondrait à une formulation Cu(III)/amidure, la HO est composée d'un mélange de caractère azoté et cuivré. Le second déterminant dans l'ordre d'importance (6% de la fonction d'onde) consiste en l'excitation d'un électron vers la BV, majoritairement métallique, et ne joue pas non plus en faveur d'une écriture Cu(III)/amidure.

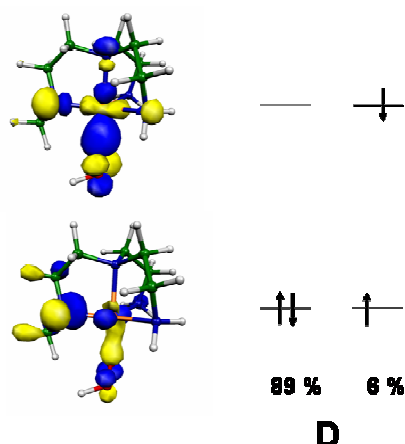


Figure 16 : Mise en évidence du faible caractère multidéterminantal de la fonction d'onde singlet décrivant l'espèce D au moyen d'un calcul SF-B3LYP.

Les mêmes conclusions concernant la nature électronique de l'espèce **D** sont transposables à **D'** qui ne diffère que par la géométrie du complexe. Il est à noter qu'à l'exception des adduits de départ, ces deux espèces sont les premières dont nous ayons établi le caractère singulet couches ouvertes. Si la question de l'utilisation d'un formalisme DFT restreint pour optimiser les géométries a été tranchée dans le cas des adduits Cu/O₂, il n'en va pas de même pour les complexes **D** et **D'**. Nous avons donc procédé à l'optimisation de géométrie de l'espèce **D** avec la méthode SF-DFT. Plusieurs paramètres géométriques caractéristiques du système sont analysés et reportés dans le Tableau 6. Il apparaît que les deux approches (DB3LYP ou SF-B3LYP) fournissent des géométries similaires : les variations de distance, principalement Cu — N et Cu — O, demeurent toujours inférieures à 0,012 Å. Ce résultat n'est pas surprenant au regard du poids du déterminant à couches fermées qui représente 89% de la fonction d'onde totale. Comme cela avait été constaté pour les adduits Cu/O₂, tant que le déterminant à couches fermées reste majoritaire, l'utilisation du formalisme DFT classique fournit des géométries acceptables. Cela valide donc le protocole calculatoire employé dans cette étude de réactivité pour localiser les intermédiaires réactionnels.

	R B3LYP	SF-B3LYP
ΔE_{opt}	-	0,3
Cu — N	1,926	1,938
Cu — O _p	1,866	1,854
O _d — O _p	1,417	1,414
C — N	1,455	1,452

Tableau 6 : Comparaison des géométries du composé D par les méthodes R-B3LYP et SF - B3LYP. ΔE (kcal.mol⁻¹) représente le gain énergétique lors du processus d'optimisation. Les distances sont données en Å.

a.2. Activation de la liaison C — H_C

i. Un état de transition tardif

La dernière voie réactive à examiner est l'attaque de la liaison C — H_C sur la surface singulet (Figure 17). L'état de transition entre l'adduit **A_F**, analogue singulet de l'espèce triplet **A_C**, et le produit **F** est assez tardif puisque la liaison O — H_C y est presque complètement formée (1,087 Å) (Tableau 7). Il est remarquable de constater la très grande similitude avec

l'analogie triplet (passage de **A_C** vers **C**) : les différences géométriques sont de l'ordre de 0,01 Å à l'état de transition.

La distance C — H_C dans **TS(A_F-F)** est assez similaire à celle reportée dans la littérature lors de la modélisation la réaction de la PHM (1,495 vs. ~1,6 Å).⁷ Par ailleurs le paramètre ξ_{TS} , défini à la géométrie de l'état de transition comme la différence entre les longueurs des liaisons C — H_C et O — H_C, permet la comparaison avec d'autres travaux. Il s'avère que la valeur issue de notre étude ($\xi_{TS} = 0,41$ Å) est proche de deux études théoriques, l'une portant sur la PHM ($\xi_{TS} = 0,38$ Å dans une approche DFT/MM)⁶ et l'autre portant sur l'attaque de liaison C — H du méthane à partir du complexe [Cu(Dk^{Me})O₂] ($\xi_{TS} = 0,45$ Å).¹⁵ En revanche la valeur obtenue dans ce travail contraste avec deux autres études théoriques portant sur la modélisation de la D β M au moyen de calculs DFT et DFT/MM ($\xi_{TS} = 0,16$ et 0,13 Å respectivement) et qui indiquent un état de transition nettement moins tardif.^{4,5}

ii. **F** est une espèce ionique

Intéressons-nous à la description du produit de réaction **F**. La distance C — N, 1,342 Å, y est bien plus courte que dans la fonction amine de départ (**A_F**) et également plus courte que dans l'espèce radicalaire **C** (1,484 Å). Ces différences suggèrent une description carbocationique de l'espèce **F** et non radicalaire. Cette hypothèse est confirmée par l'évolution de la charge NPA sur l'atome de carbone, puisqu'elle passe de -0,36 à +0,19 e entre les composés **A_F** et **F**, alors qu'elle s'élevait -0,18 e dans le carboradical **C**. Le carbocation est stabilisé par délocalisation de la paire libre de l'azote qui perd ainsi sa capacité de coordination. Au final l'espèce **C** peut être décrit formellement comme la superposition de deux formes mésomères, un carbocation et un iminium.

La distance séparant l'atome d'oxygène *distal* du carbocation est étonnement courte : une distance C...O_d de l'ordre de 1,740 Å est mesurée. Il convient de noter que plusieurs optimisations de géométrie réalisées en faisant varier grandement les géométries de départ conduisent toutes à ce type d'arrangement. Cette distance est trop grande pour conférer un caractère covalent à l'interaction entre l'atome de carbone et l'oxygène. Il semble plus raisonnable d'envisager une interaction électrostatique entre le carbocation/iminium et la paire libre de l'atome d'oxygène *distal*.

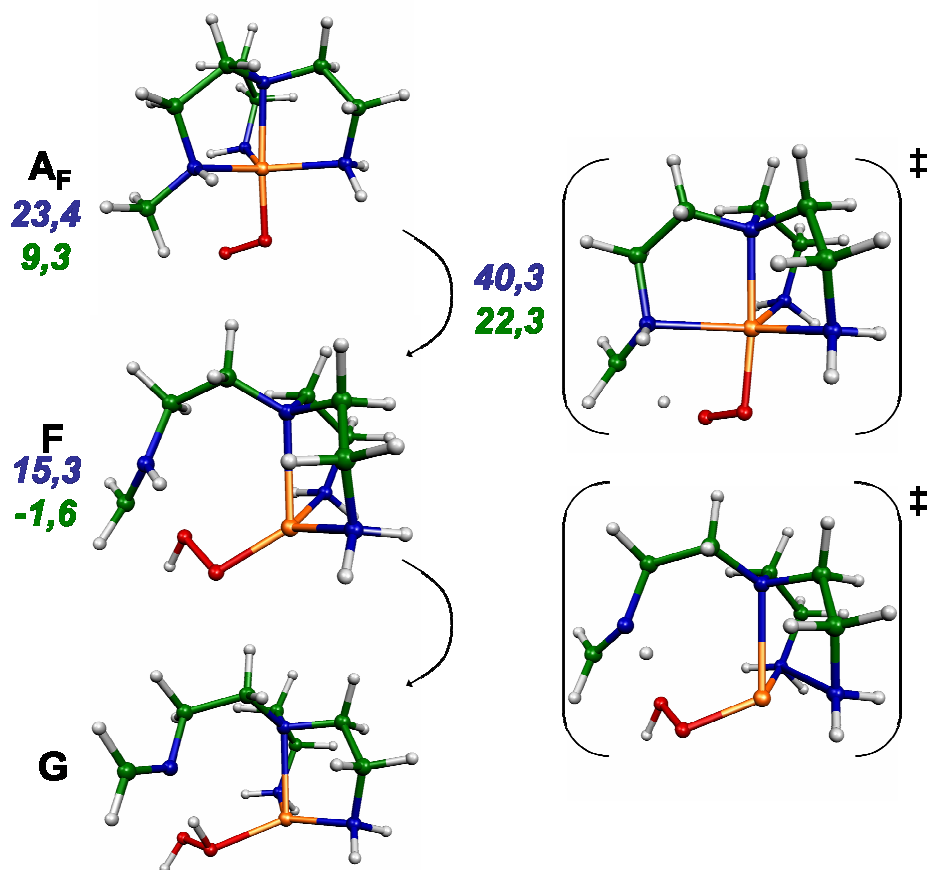


Figure 17 : Activation de la liaison C — H_c par l'adduit [Cu(tren^{Me1})O₂]⁺. Les énergies sont exprimées en kcal.mol⁻¹, en bleu pour le calcul B3LYP et en vert pour le calcul SF-B3LYP.

	A _F	TS(A _F -F)	F
distances			
d (O _p — O _d)	1,292	1,375	1,503
d (C — H _c)	1,090	1,495	2,250
d (H _c — O _d)	2,569	1,087	0,977
d (Cu — O _p)	1,903	1,895	1,957
d (Cu...N)	2,144	2,232	3,375
d (N — C)	1,484	1,388	1,342
charges NPA			
Cu	1,11	1,03	0,82
O _p	-0,28	-0,47	-0,64
O _d	-0,20	-0,38	-0,47
C	-0,36	-0,23	0,19
H _c	0,24	0,40	0,53

Tableau 7 : Paramètres géométriques (Å) et charges NPA lors du passage de A_F vers F.

iii. Représentation formelle du processus

Comme pour les réactions précédentes nous tentons ici de fournir une représentation formelle du processus. Nous venons de constater que l'atome de carbone subit une oxydation à deux électrons, lesquels permettent de réduire le dioxygène à l'état de peroxyde. De fait, comme précédemment, la distance $O_p - O_d$ passe de 1,292 à 1,503 Å entre **A_F** et **F**. Les charges NPA sur les deux atomes d'oxygène indiquent par ailleurs un enrichissement électronique de ces atomes. Quant au cation métallique il subit une réduction et peut être considéré comme un cation cuivreux comme l'indique la charge NPA qui passe de 1,11 e (**A_F**) à 0,82 e (**F**).

Formellement, cette première étape consiste donc en la réduction à deux électrons du dioxygène grâce à l'apport formel des deux électrons de la liaison C — H_C (Figure 18).

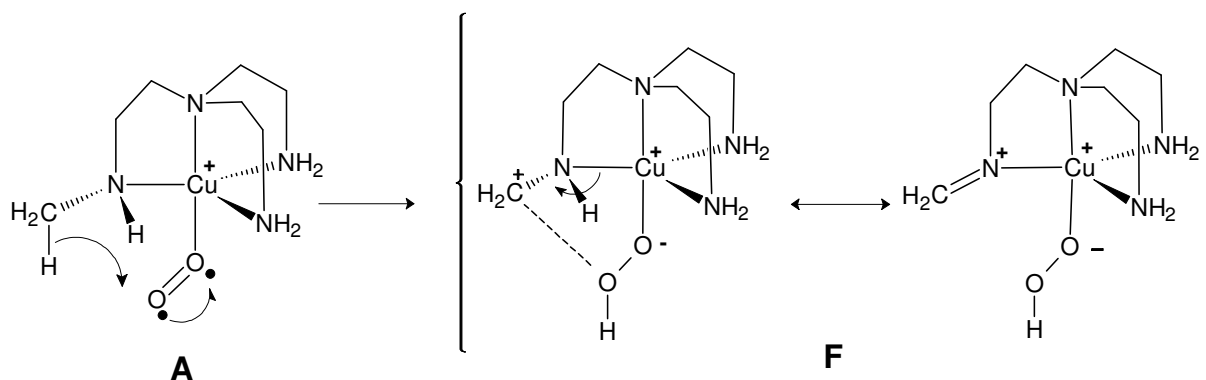


Figure 18 : Représentation formelle du processus de rupture de la liaison C — H_C par l'adduit [Cu(tren^{Me1})O₂]⁺ (représenté ici dans la forme mésomère {Cu(I)/O₂}).

iv. Devenir de l'espèce F

La géométrie de l'espèce **F** présente une orientation idéale pour le transfert d'un second atome d'hydrogène depuis la liaison N — H_N vers l'atome d'oxygène *proximal* pour conduire à l'espèce **G** (Figure 17). Cette seconde étape permet de fait la formation de peroxyde d'hydrogène et d'une fonction imine au niveau du tripode. Les deux chemins singulets, qu'ils débutent par la rupture de la liaison N — H_N ou de la liaison C — H_C, aboutissent à la formation des mêmes produits de réactions en deux étapes.

Une différence notoire existe tout de même entre les espèces **E** et **G**. Alors que dans le composé **E** la formation de la fonction imine est concomitante à la décooordination du peroxyde d'hydrogène, dans le processus de formation de l'espèce **G**, H₂O₂ reste coordonné

au métal. Il s'établit en outre une liaison hydrogène avec la paire libre de la fonction imine. La géométrie de type pyramide trigonale de **G** n'est pas sans rappeler celle observée lors de la coordination de molécules d'eau sur les complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{R,H}})]^+$ (Chapitre II). La coordination de la molécule d'eau n'est possible que moyennant la décooordination de l'un des bras du tripode de manière à conserver une coordinance de quatre pour le cation cuivreux. Il s'établit en outre une liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène lié au cuivre et la paire libre de l'atome d'azote qui a subi la décooordination.

b. Considérations thermodynamiques et cinétiques

b.1. De la présence de H_2O_2 dans le milieu réactionnel

Nous venons de mettre en évidence deux voies d'accès à la formation de peroxyde d'hydrogène débutant par l'attaque de la liaison $\text{C} - \text{H}_\text{C}$ ou bien de la liaison $\text{N} - \text{H}_\text{N}$. Elles mènent respectivement aux complexes **G** et **E** qui contiennent chacun une fonction imine. A partir du ligand aminé de départ et du dioxygène non coordonné, le bilan énergétique de la formation du complexe imine et du peroxyde est favorable par 9 kcal.mol^{-1} (Figure 19).

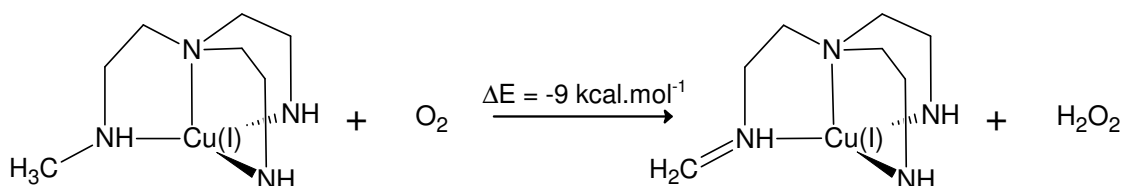


Figure 19 : Equation-bilan de la réduction du dioxygène sur le complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+$. La valeur énergétique est donnée sans corrections entropiques.

Puisque **E** et **G** ne diffèrent que par la coordination du peroxyde d'hydrogène, la question de l'évaluation énergétique de sa décooordination est importante. A partir de l'espèce **G**, celle-ci est défavorable par $8,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ mais la prise en compte des effets entropiques indique un équilibre favorable par $3,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (ΔG). De ce fait, si la cinétique globale de la réaction débutant par l'attaque de la liaison $\text{C} - \text{H}_\text{C}$ le permet, il faut s'attendre au relargage de peroxyde d'hydrogène.

L'étape suivante de la caractérisation énergétique des chemins passe par leur mise en concurrence de manière à déterminer la voie la moins coûteuse en terme de barrière d'activation.

b.2. Barrière du transfert de l'hydrogène

i. Quatre chemins en compétition

Quatre chemins ont donc été identifiés. Puisqu' aucune voie d'évolution à partir des espèces de spin triplet **B** ou **C** n'a pu être obtenue la seule évolution possible pour ces espèces consiste soit au retour en arrière et à la régénération des adduits **A_B** et **A_C**, soit à la transition vers la surface singulet. Ainsi la concurrence entre les chemins triplet et singulet trouve son origine dans la première étape de la réaction.

La barrière d'activation a donc été évaluée pour les quatre voies d'activation selon l'approche SF.[†] Les résultats sont reportés dans le Tableau 8 et représentés graphiquement sur la Figure 20. L'adduit **A_B** est pris comme référence énergétique.

	Adduits A	TS
Triplet / N — H vers B	0,0	32,5
Triplet / C — H vers C	0,5	33,6
Singulet / N — H vers D	8,0	22,6
Singulet / C — H vers F	9,3	22,3

Tableau 8 : Compétition entre quatre chemins sur la première étape d'attaque. Energies SF-B3LYP (kcal.mol⁻¹).

Intéressons-nous dans un premier temps au positionnement relatif des adduits. Les espèces de spin triplet sont plus stables d'environ 8 kcal.mol⁻¹ que leurs analogues singulets. Ces écarts singulet-triplet sont sensiblement identiques à ceux calculés au Chapitre II pour les adduits [Cu(tren^{R,H})O₂]⁺ dans leurs conformations *end-on*. Au niveau des états de transition, il y a inversion de la stabilité des chemins singulets et triplets. Cette inversion abaisse la barrière d'activation des chemins singulets qui deviennent compétitifs par 10 kcal.mol⁻¹ (Figure 20). Ces calculs indiquent par ailleurs que le croisement de surfaces singulet-triplet a lieu *avant* l'état de transition.

[†] Nous avons vérifié la capacité de la méthode SF-B3LYP à évaluer les barrières mises en jeu dans ce travail par comparaison avec les résultats fournis par d'autres approches théoriques (CASMP2, BS-DFT). Dans un souci de concision, nous ne reportons pas ces tests dans le présent manuscrit.

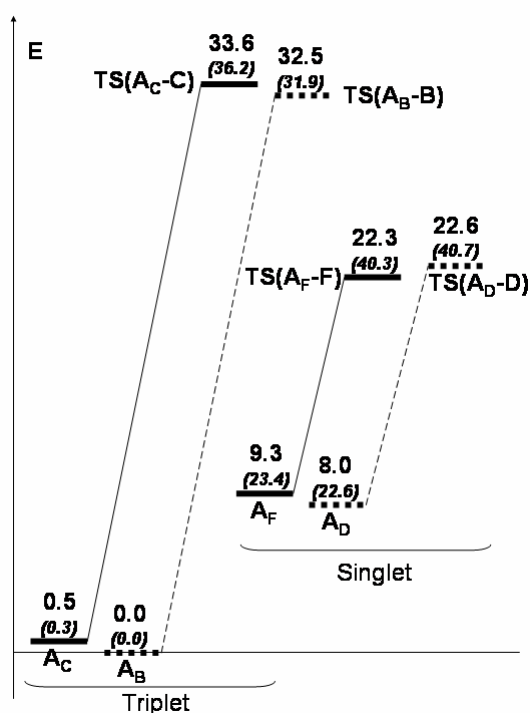


Figure 20 : Compétition entre les quatre chemins sur la première étape des chemins réactionnels.

Par rapport aux adduits de spin singulet les barrières d'activation s'élèvent à 13,0 et 14,6 kcal.mol⁻¹ respectivement pour l'attaque des liaisons C — H_C et N — H_N. Ces barrières indiquent donc clairement la possibilité d'activation de liaisons hydrocarbonées par des complexes de type superoxo. Pour la rupture de la liaison C — H la barrière d'activation est très proche de plusieurs valeurs reportées dans la littérature. Ainsi une enthalpie de 13 kcal.mol⁻¹ a été proposée pour la PHM à partir de données expérimentales²² tandis que des barrières légèrement plus élevées ont été publiées à partir de modélisations théoriques. Pour la PHM ces valeurs théoriques avoisinent 14 kcal.mol⁻¹ (modèles en phase gazeuse des centres actifs) ou 20 kcal.mol⁻¹ (DFT/MM) selon les études.^{6,7} Elles sont du même ordre pour la DβM : soit 17 kcal.mol⁻¹ (modèles en phase gazeuse des centres actifs) ou 23 kcal.mol⁻¹ (DFT/MM).^{4,5}

ii. Caractère superoxyde et rupture de la liaison C — H

Ces résultats sont intéressants puisqu'ils confirment les hypothèses faites par Cramer *et coll.* sur la meilleure efficacité des adduits de type superoxo pour rompre les liaisons hydrocarbonées.¹⁵ Cette prédiction reste cependant qualitative dans la mesure où elle n'est fondée que sur ce seul exemple. Nous souhaitons aller plus en avant dans la compréhension de l'influence du taux de transfert de charge initial vers le dioxygène sur la barrière

énergétique de rupture de la liaison C — H. Pour y parvenir nous avons repris le même type d'expérience numérique que dans le Chapitre II qui consiste à faire varier la charge nucléaire des atomes du ligand chélatant pour modifier les capacités donneuses du complexe. En pratique nous avons repris l'étape de rupture de la liaison C — H_C (surface singulet) en faisant varier la charge de l'atome d'azote en clef de voûte du ligand tren^{Me1} (de 6,9917 e à 7,015 e). Dans ces calculs nous ne nous intéresserons pas à la stabilité des produits de réaction mais seulement à la barrière énergétique du processus. Ainsi seuls les adduits et les états de transition ont été optimisés. L'évolution de la barrière en fonction de la distance O_d — O_p dans les adduits est représentée sur la Figure 21.

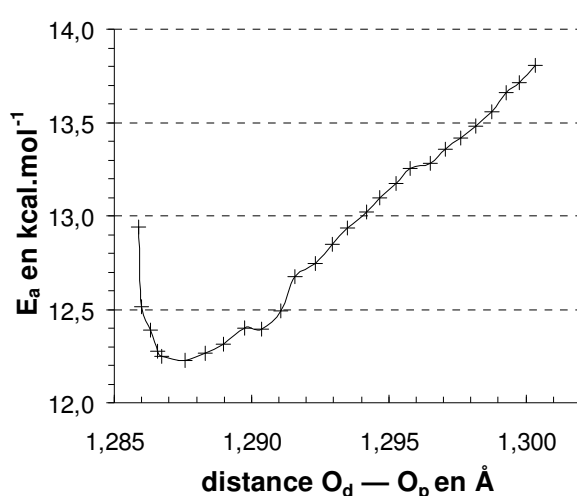


Figure 21 : Mise en évidence d'un taux de transfert de charge optimal pour rompre la distance C — H dans le complexe singulet *end-on* [Cu(tren^{Me1})O₂]⁺ au regard de l'énergie d'activation E_a.

Deux informations importantes émergent de ce graphique. La première confirme l'hypothèse établie par Cramer *et coll.* à savoir que plus le transfert de charge diminue, et donc la distance O — O, plus facile est la rupture de la liaison C — H.¹⁵

La seconde information réside dans la limite à la diminution que trouve la barrière d'activation avec la diminution du transfert de charge initial vers le dioxygène. Il existe en effet une distance O_d — O_p optimale pour opérer le transfert de l'atome d'hydrogène du groupement méthyle vers le dioxygène. Dans le cas du ligand tren^{Me1} et pour l'adduit de départ dans une conformation *end-on*, cette distance est évaluée à 1,287 Å.

L'existence de ce minimum est cohérent si l'on considère que, comme les adduits de type peroxyde, les adduits de type oxyde (forme mésomère limite Cu(I)/O₂ majoritaire) sont inaptes à promouvoir ces réactions avec des énergies raisonnables. Dans ce cas l'adduit considéré qui résulte de la superposition pondérée des trois formes mésomères {Cu(I)/O₂},

$\{\text{Cu(II)}/\text{O}_2^{\bullet}\}$ et $\{\text{Cu(III)}/\text{O}_2^{2-}\}$ sera d'autant plus capable de catalyser la rupture de la liaison C — H que le poids de la forme superoxyde sera important.

La mise en évidence de l'existence d'une relation entre hauteur de barrière d'activation et distance O — O ouvre des perspectives excitantes dans la conception de modèles biomimétiques. D'un point de vue théorique il sera sans doute fructueux de réaliser une étude similaire pour une coordination *side-on* du dioxygène. Par ailleurs il est probable que la variation de la sphère de coordination du cation cuivre induise une modulation de la valeur de la distance optimale. Un examen sous ce nouveau jour de la sphère du centre Cu_M de la PHM et de la D β M pourrait alors conduire à des conclusions expliquant la raison de la présence du résidu méthionine. Cette conclusion vaut également dans le choix des chapeaux des calixarènes. A titre d'exemple, les chapeaux PN_3 ou NN_3 induiront certainement des comportements oxydatifs très différents à cause de la différence de capacité donneuse des atomes positionnés en clef de voûte (P vs. N).

Suite à cette digression centrée sur la hauteur des barrières d'activation des liaisons C — H, revenons à présent à la modélisation de la réactivité du complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})\text{O}_2]^+$. La Figure 20 montre bien que les ruptures des liaisons azotée ou carbonée sont totalement compétitives. Ainsi une éventuelle différenciation de ces deux chemins ne peut provenir que des étapes ultérieures.

b.3. Estimation énergétique des voies d'évolution

Suite à l'activation de la liaison C — H_C , nous avons mentionné que le produit **F** évolue sans barrière vers le produit final **G**. La facilité de cette étape provient d'une part de la stabilité de l'imine formée et d'autre part de la géométrie de l'espèce **F**, idéale pour le second transfert. Par conséquent, l'étape limitante pour ce processus demeure la première étape d'attaque de la liaison C — H.

Dans l'autre cas, celui de l'attaque de la liaison N — H_N , l'évolution de l'espèce **D** mérite une attention particulière en raison du caractère singulet couches ouvertes de ce composé. Les données énergétiques SF-B3LYP reportées sur la Figure 14 indiquent que les étapes pour aller du complexe **D** au produit **E** et au peroxyde d'hydrogène ne présentent que de faibles barrières en comparaison de celle de la première étape. La première étape d'activation demeure donc l'étape cinétiquement déterminante si bien que les deux processus singulets sont pleinement compétitifs.

B. Concilier chemins réactionnels et bilans thermodynamiques

1. Trois fonctionnalisations en concurrence

Les mécanismes qui ont été présentés sont encourageants car ils ont permis la création d'une insaturation dans le ligand tren^{Me1} . Les processus aboutissent à la formation d'une fonction imine et à la libération d'une molécule de peroxyde d'hydrogène. Cela étant, ces chemins réactionnels n'ont pas conduit, comme nous l'escomptions, à l'insertion d'un atome d'oxygène dans le ligand.

Les calculs effectués dans la deuxième partie de ce Chapitre ont montré que la fonctionnalisation du ligand par une fonction nitrone est largement favorable par rapport à la fonction amine du ligand de départ. En effet une différence énergétique de $-39,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ sépare les complexes $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})]^+$.[†] Les isomères contenant la fonction oxaziridine sont également formés selon des processus dont les bilans énergétiques sont favorables ($-22,5$ et $-27,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ selon la coordination par les atomes d'oxygène ou d'azote). En revanche la fonctionnalisation imine n'est pas la plus favorable puisque le bilan énergétique de sa formation à partir du ligand initial n'est que de $-10 \text{ kcal.mol}^{-1}$. L'identification de voies réactionnelles permettant de passer de la fonction imine aux produits d'insertion d'atome d'oxygène doit donc être recherchée.

2. Vers la formation de la nitrone

La suite de cette modélisation consiste donc à rechercher d'éventuels produits d'évolution des espèces **E** et **G** identifiées précédemment. Mais comme nous souhaitons restreindre notre attention aux réactions monomoléculaires, seul nous intéressera ici le devenir de l'espèce **G**.

A partir de l'espèce **G** deux voies d'évolution ont été identifiées. La première correspond à la décooordination du peroxyde d'hydrogène pour conduire au produit **H** (partie gauche de la Figure 22). La barrière d'énergie associée à cette transformation est de $5,8 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Le produit conservant une interaction $\text{H}_2\text{O}_2 \cdots \text{tren}^{\text{Me1}}$ permet d'envisager l'oxydation de l'imine par le peroxyde d'hydrogène sans assistance du cation Cu(I) .

[†] Par abus de langage puisque cette valeur correspond en fait au bilan énergétique de l'équilibre : $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})]^+ + \text{O}_2 \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})]^+ + \text{H}_2\text{O}$.

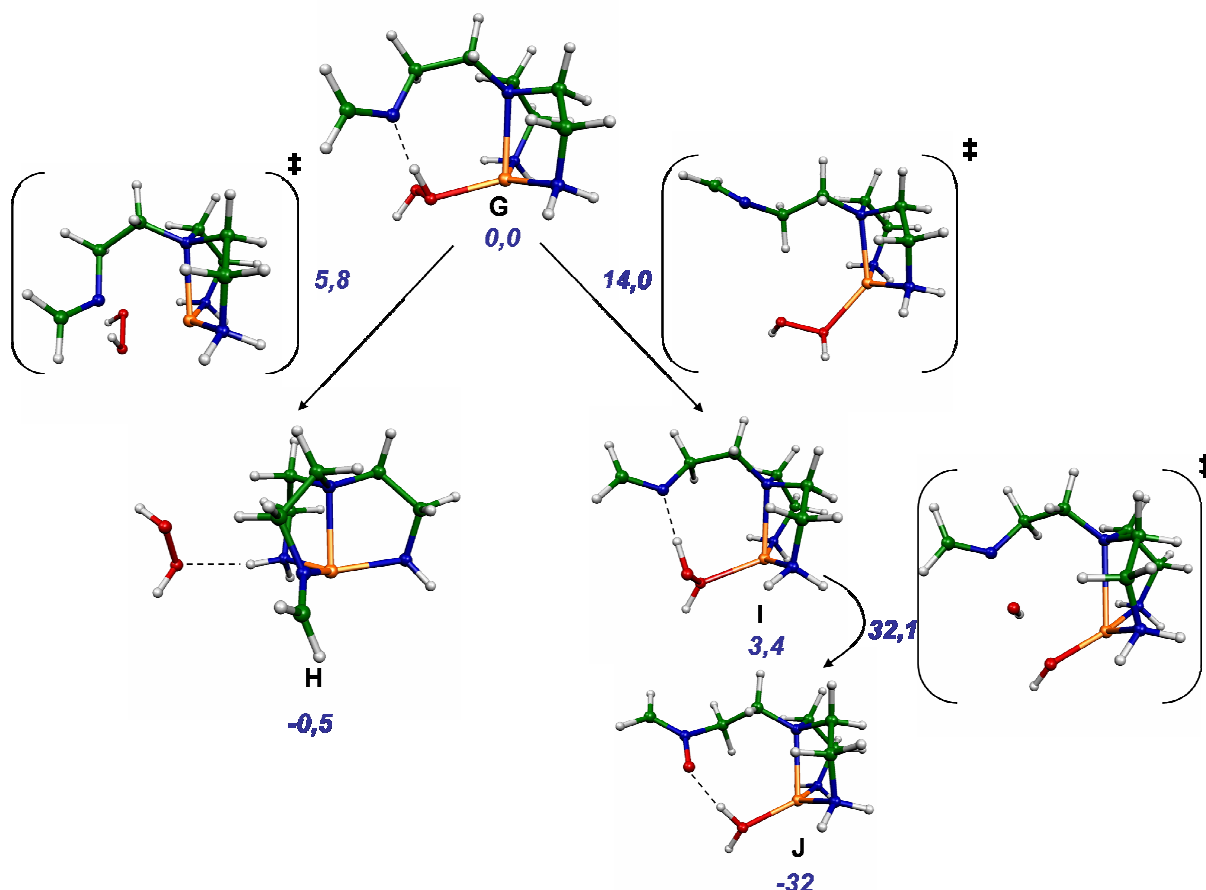


Figure 22 : Evolution de l'espèce G vers la décooordination du peroxyde d'hydrogène ou la formation d'une fonction nitrone. L'espèce G est prise comme référence énergétique.

La seconde voie permet d'insérer un atome d'oxygène dans le tripode par rupture de la liaison peroxydique. Cette insertion procède en réalité en deux étapes. Dans la première le peroxyde d'hydrogène subit une rotation autour de son centre de masse, rotation qui a pour effet de déplacer la liaison hydrogène entre la fonction imine et l'atome d'oxygène. Dans **G**, c'est l'atome d'oxygène *proximal* qui participe à la liaison hydrogène, tandis que dans le produit **I** c'est l'atome d'oxygène *distal* qui établit cette interaction. Cette étape est légèrement défavorable énergétiquement ($\Delta E = 3,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$) avec une barrière s'élevant à $14,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Dans une seconde étape, la formation de la fonction nitrone **J** a lieu lors d'un processus fortement exothermique ($\Delta E = -35,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$) mais associé à une énergie d'activation élevée ($28,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$). La hauteur de cette barrière semble surprenante et contraire au postulat de Hammond qui associerait une faible barrière d'activation à une telle exothermicité. La nécessité de rompre la liaison hydrogène dans **I** peut constituer un début d'explication à la hauteur de la barrière. En fait il semble surtout que le coût énergétique pour accéder à l'état de transition provienne du caractère tardif de l'état de transition. Dans **TS(I-**

J), la liaison O — O est déjà rompue (1,924 Å) tandis que la liaison N — O n'a pas encore commencé à se former (1,799 Å).

La mise en concurrence de ces deux possibilités plaide indéniablement en faveur de la décoordination du peroxyde d'hydrogène. La fonction nitronne ne devrait pas être formée selon cette voie réactive.

C. Implications expérimentales, perspectives

1. Des résultats encourageants

Le moment semble venu d'effectuer un rapprochement entre la modélisation en phase gazeuse que nous venons de détailler et les données expérimentales qui en constituent les fondements.

Lors de la présentation des résultats expérimentaux nous avons mentionné que l'insertion d'un atome d'oxygène était avérée du fait de l'apparition d'un pic à M+14 en spectroscopie de masse. Il a en outre été suggéré, à partir de mesures de spectroscopie Infra-Rouge, que les processus réactifs ont permis la formation d'une fonction nitronne.

A partir de la modélisation théorique fondée sur le ligand tren^{Me1} en phase gazeuse nous sommes parvenus à former une fonction imine mais la fonction nitronne est apparue inaccessible à cause des barrières énergétiques à franchir pour y parvenir. Ces résultats suggèrent donc la présence dans le milieu d'un ligand calixtren dont l'un des bras présente une fonctionnalisation de type imine ($\text{Calixtren}^{\text{Imi}}$). Pourtant l'absence de pic à M-2 sur les spectres de masse indique l'absence de la fonctionnalisation imine dans le milieu réactionnel. Si le ligand $\text{Calixtren}^{\text{Imi}}$ est malgré tout formé, il doit subir une dégradation rapide dans le milieu pour ne pas apparaître en spectroscopie de masse.

Il convient toutefois de rappeler que les bilans thermodynamiques effectués en phase gazeuse confortent les propositions expérimentales puisque la fonctionnalisation par la fonction $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Imine}})]^+$ est nettement moins favorable que les processus amenant à l'insertion d'un atome d'oxygène dans le modèle (par exemple $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Ntr}})]^+$).

Ce travail constitue donc un ensemble encourageant pour la modélisation des réactions se déroulant expérimentalement lors du bullage de dioxygène dans un mélange contenant le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$. La poursuite de ce travail pourrait prendre plusieurs orientations selon le but recherché.

2. Horizons méthodologiques et chimiques

Sous réserve que les schémas identifiés en phase gazeuse soient transférables à la chimie se déroulant dans le système réel, l'action du dioxygène sur le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$ conduit à libération de peroxyde d'hydrogène dans le milieu et à la formation du complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren}^{\text{Imi}})]^+$. Par ailleurs les bilans thermodynamiques effectués en vue de juger la possibilité de libérer le radical anion superoxyde et le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^{++}$ ont montré que cette voie était possible.

Au final c'est un grand nombre d'espèces différentes qui devraient co-exister dans le milieu. En ce qui concerne les oxydants, trois espèces (O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$ ou H_2O_2) devraient entrer en concurrence pour réagir avec différents complexes à cuivre ($[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$, $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^{++}$ ou $[\text{Cu}(\text{calixtren}^{\text{Imine}})]^+$).

Outre l'attaque des bras du calixarène, il conviendrait d'étudier également l'oxydation d'autres régions du ligand, par exemple les groupes méthyléniques reliant les noyaux aromatiques et dont les atomes d'hydrogène ne sont pas très éloignés de l'atome d'oxygène *distal* (Figure 23).

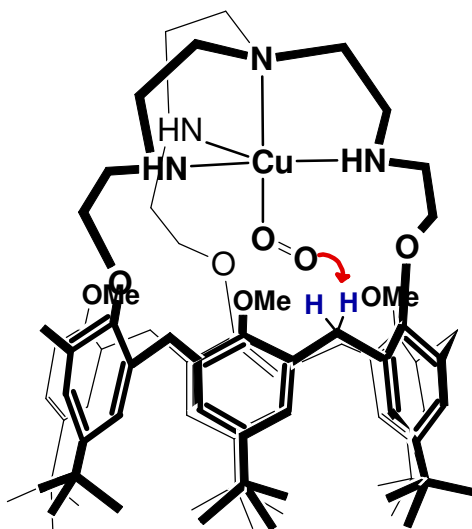


Figure 23 : Proximité de l'atome d'oxygène *distal* et des atomes d'hydrogène des espaceurs méthyléniques.

On voit donc bien la difficulté que pourrait prendre la poursuite de cette étude si l'on souhaitait reproduire les résultats expérimentaux.

En fait la poursuite *in extenso* de ces propositions ne saurait constituer un objectif raisonnable pour la suite de ce travail de thèse. Nous avons pris le parti dans le reste de ce travail de nous recentrer sur les résultats déjà obtenus mais nous avons cherché à les

affiner. En effet dans un souci d'améliorer le niveau de modélisation du ligand expérimental il serait bon de se tourner vers des méthodes plus élaborées prenant explicitement en compte l'ensemble du calixtren. Dans ce cas, les méthodes hybrides QM/MM constituent les outils de choix pour ce type de modélisation. Loin de constituer un simple raffinement de la modélisation en phase gazeuse présentée ici, l'emploi de telles méthodes paraît inéluctable. En effet de nombreuses structures (**TS(A_C-C)**, **F**, **G**, **I**, **J**...) montrent de fortes distorsions du ligand tripode par exemple lors de l'allongement la longueur des liaisons Cu — N. Les contraintes stériques imposées par le petit col du calixtren ont très certainement une influence déterminante de ce point de vue. Par ailleurs la présence des six atomes d'oxygène des fonctions éthers à proximité du dioxygène devrait être prise en compte en raison des effets électrostatiques qu'ils ne manquent sans doute pas d'engendrer.

La réponse à ces interrogations trouvera sa place dans le Chapitre suivant qui est consacré spécifiquement à l'utilisation de méthodes hybrides QM/MM dans le traitement de la coordination du dioxygène sur le complexe [Cu(Calixtren)]⁺ solvaté. Pour l'heure, nous aimerions attirer l'attention du lecteur sur les conséquences mécanistiques de la présente modélisation sur les systèmes biochimiques.

IV. ALLER-RETOUR ENTRE BIOMIMÉTISME ET BIOCHIMIE

De même que dans le Chapitre traitant de la coordination du dioxygène nous avons transposé les comportements mis en évidence dans les modèles théoriques aux centre actifs de la PHM et de la DβM, nous tentons une démarche similaire concernant la réactivité de l'adduit [Cu_M(O₂)]⁺. En effet outre son intérêt dans la modélisation du comportement réactif du calixtren, notre étude théorique renferme des éléments ayant trait aux capacités oxydatives des adduits Cu/O₂. L'établissement d'analogies entre les modèles étudiés en profondeur et les systèmes enzymatiques constitue donc un exercice particulièrement excitant pour le chimiste. C'est donc à cette prolongation biochimique du mécanisme réactionnel qu'est consacrée la dernière partie de ce Chapitre.

A. Un mécanisme ionique dans les enzymes?

Dans un premier temps, la démarche la plus simple consiste à identifier les similitudes entre notre travail et les informations portant sur les enzymes et issues de travaux expérimentaux ou théoriques.

1. Ce qui peut être transposé

a. L'adduit triplet inopérant pour activer le substrat

Un premier élément encourageant est lié à l'état de spin de l'adduit capable de promouvoir la réaction de rupture de la liaison C — H. Il est en effet ressorti de notre étude la nécessité de procéder par une réaction sur la surface singulet puisque les barrières énergétiques associées au premier transfert d'hydrogène y étaient plus basses de 10 kcal.mol⁻¹ en comparaison de celles associées aux surfaces triplets. Nous retrouvons dans ce résultat la conception habituelle de la catalyse enzymatique procédant par activation du dioxygène : le centre métallique a pour rôle de faciliter la transition de spin triplet-singulet avant l'étape d'attaque du substrat. A notre connaissance seule une étude théorique s'est intéressée à ce point dans la PHM.⁶ Les auteurs de cette étude ont évalué à environ 25 kcal.mol⁻¹ la barrière énergétique sur la surface triplet, à comparer aux 32 kcal.mol⁻¹ obtenues dans ce travail.

b. Surface singulet : de multiples points de comparaison

Sur la surface singulet, deux chemins parallèles ont été établis. Il est toutefois nécessaire de rappeler que la question de la compétition entre C — H et N — H ne se pose pas dans les enzymes. Dans la dopamine, substrat de la DβM, il n'y a pas d'atome d'azote en position α de la liaison hydroxylée. Quant aux substrats de la PHM, tels qu'ils sont positionnés dans les structures cristallographiques, la fonction amide est trop éloignée du centre Cu_M pour envisager une *primo* attaque de la fonction amide. Seule la partie traitant de la rupture de la liaison C — H peut donc faire l'objet de comparaison entre systèmes bio-inspirés et biochimiques.

Au cours de la description du processus de dégradation du ligand tren^{Me1}, nous avons remarqué la similitude géométrique de la première phase de rupture de la liaison C — H_C avec deux études théoriques de la PHM, l'une portant sur des modèles de centres actifs en phase gazeuse, l'autre procédant à un traitement DFT/MM de l'ensemble de la protéine. Un état de transition tardif est obtenu ($\xi_{TS} \approx 0,4$)⁶ en accord parfait avec notre modélisation expérimentale ($\xi_{TS} \approx 0,41$).

La situation semble plus contrastée dans le cas de la comparaison avec deux études portant sur la DβM qui prévoient un état de transition plus précoce.^{4,5}

D'un point de vue énergétique l'estimation de la barrière d'activation dans le modèle [Cu(tren^{Me1})O₂]⁺ (13 kcal.mol⁻¹) incite également à poursuivre notre démarche d'extrapolation.

En réalité nous espérons que l'emploi de la méthode SF permet une estimation énergétique du processus plus fine que l'approche BS utilisée dans les études précédemment mentionnées et dont les faiblesses pour les complexes à cuivre mononucléaires ont été reconnues.^{23,24} De toutes les études théoriques, l'estimation de la barrière d'activation issue de ce travail est la plus basse et la plus proche de l'enthalpie d'activation expérimentale évaluée dans la PHM (13 kcal.mol⁻¹).²² A l'exception de l'étude publiée par Solomon *et coll.*⁷ les théoriciens ont systématiquement écarté la voie d'oxydation par les adduits Cu/O₂ sur la base de barrières d'activation jugées trop hautes (17 kcal.mol⁻¹ au minimum) et ont préféré des oxydants alternatifs (c.f. Chapitre I). Il est pertinent de rappeler que les dernières expériences biochimiques suggèrent pourtant que c'est bien l'espèce cuivre/superoxo qui est responsable de l'activation de la liaison C — H dans les enzymes.^{8,9,10} Notre modélisation confirme pleinement cette possibilité.

2. Justification de la stéréosélectivité

Nous pouvons donc proposer comme intermédiaire de réaction dans les enzymes une espèce similaire à l'espèce **F**. Les intermédiaires enzymatiques consisteraient donc en un cation Cu_M cuivreux lié à un anion hydroperoxyde. Dans cette proposition le produit issu de l'attaque du substrat revêt un caractère carbocationique.

La nature ionique de l'intermédiaire proposé peut surprendre de prime abord car il est généralement accepté que l'espèce intermédiaire issue de la réaction de rupture de la liaison C — H est de type radicalaire. En réalité si le caractère anionique du substrat dans les enzymes a clairement été écarté, il n'en va pas de même de la proposition cationique qui a seulement été qualifiée de "*highly unlikely*".²⁵

Deux conséquences de cette nature cationique du substrat plaident en faveur de cette proposition. La première est qu'elle résout la difficile question de la stabilité de l'intermédiaire radicalaire initialement proposé. En effet il est connu que l'étape cinétiquement limitante de la PHM est ultérieure à l'étape de rupture de la liaison C — H.^{26,27} Par conséquent le produit de cette étape doit présenter une durée de vie suffisante pour que se fasse l'étape suivante, ce qui semble peu compatible avec les connaissances accumulées sur la chimie radicalaire en présence de cations cuivriques.^{28,29}

Une autre conséquence découle de l'établissement de la liaison électrostatique dans **F** entre le carbocation et l'atome d'oxygène *distal*. Transposée à l'intermédiaire enzymatique, cette conformation singulière permettrait de bloquer la configuration absolue de l'atome de

carbone C_{α} . La stéréospécificité de la réaction serait alors justifiable. Dans le cas d'un intermédiaire radicalaire (c.f. par exemple l'espèce **C**) dont la durée de vie doit être non négligeable, comme nous venons de le remarquer, le calcul conduit à un caractère plan autour de l'atome de carbone C_{α} . Si l'intermédiaire enzymatique était de nature radicalaire, l'origine de la stéréospécificité de la réaction devrait résider dans un autre facteur que celui-là.

B. Transposition énergétique ?

1. De l'adéquation du ligand tren^{Me1} à modéliser les substrats

Si la nature électronique de l'espèce **F** est raisonnablement extrapolable aux enzymes, il n'en va pas de même des énergies respectives. En effet de nombreux facteurs sont susceptibles de faire varier la stabilité relative de l'adduit $[\text{Cu}_M(\text{O}_2)]^+$ par rapport à l'intermédiaire de réaction.

Nous pouvons obtenir une idée de la stabilité relative des intermédiaires entre le modèle tren^{Me1} et les substrats enzymatiques. Pour ce faire, nous avons calculé les énergies de dissociation des processus homo- et hétérolytiques définis sur la Figure 24 pour quatre molécules modèles. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 9.

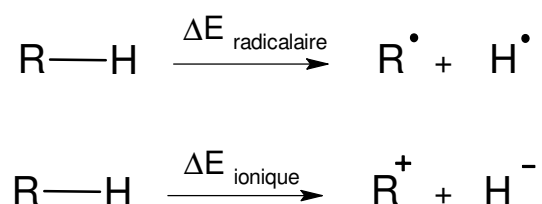


Figure 24 : Processus de rupture homolytique (haut) et hétérolytique (bas) d'une liaison R — H.

Les processus de rupture homolytique apparaissent moins coûteux énergétiquement que les processus hétérolytiques. Toutefois ces résultats ne préjugent en rien de leur compétitivité respective dans les milieux réactionnels enzymatiques. En effet de multiples facteurs comme la formation concomitante de nouvelles liaisons ou encore les effets d'environnement sont susceptibles d'influencer fortement ces valeurs "brutes".

En revanche la comparaison des modèles pour un même type de processus est pertinente. De ce point de vue, il ressort que le modèle du ligand tren est un bon modèle du substrat de la dopamine. Quelle que soit la rupture de liaison envisagée, les énergies associées sont similaires pour les deux molécules (environ 95 et 250 kcal.mol^{-1} ,

respectivement pour les ruptures homo- et hétérolytique). En revanche, l'amine ne reproduit pas bien le processus d'arrachage de l'hydrure qui a lieu sur le substrat de la PHM. Une différence $\Delta(\Delta E_{\text{ionique}})$ de $73,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ entre les deux molécules est constatée. Il est bien plus difficile d'arracher un hydrure sur la dopamine que sur le substrat de la PHM.

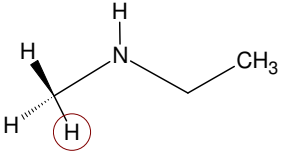
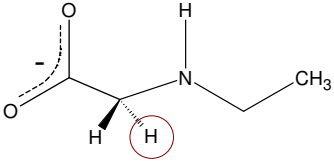
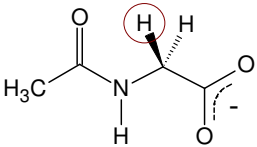
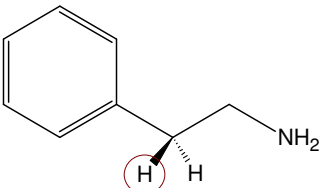
	formule chimique	$\Delta E_{\text{radicalaire}}$	$\Delta E_{\text{ionique}}$
modèle du ligand tren		97,8	249,7
modèle du ligand trenCOO ⁻		92,5	142,8
glycine acylée (substrat PHM)		93,5	176,0
dopamine (substrat DβM)		91,5	255,5

Tableau 9 : Coûts énergétiques des ruptures homo- et hétérolytiques de liaisons C — H dans les substrats de la PHM et de la DβM et dans leurs modèles. Les énergies sont en kcal.mol^{-1} . L'atome d'hydrogène (ou l'hydrure) arraché est entouré.

Cette différence entre les deux substrats est surprenante au vu des capacités de stabilisation de la forme carbocationique dans les deux molécules. Dans la dopamine, la présence du cycle aromatique devrait permettre une forte stabilisation du carbocation mais la stabilisation engendrée implique la perte de l'aromaticité du cycle benzénique.

Dans le peptide, le carbocation est stabilisé par délocalisation de charge par la terminaison carboxylate et par la fonction amide. Il apparaît donc que cette stabilisation dans le substrat de la PHM est nettement supérieure à celle induite par un noyau benzylique dans la dopamine. En comparant cette tendance au modèle tren, il ressort que la stabilisation par le doublet de l'amine dans le tren est énergétiquement équivalente à la stabilisation aromatique dans la dopamine.

Nous avons complété notre étude avec un modèle *tren* sur lequel a été greffée une terminaison carboxylate. Dans ce cas, l'énergie de formation du carbocation est nettement abaissée par rapport au modèle *tren* et se rapproche de celle du peptide (respectivement 142,8 contre 176 kcal.mol⁻¹). Cette évolution est donc imputable à la stabilisation du carbocation par la terminaison carboxylate.

De l'ensemble de ces calculs il ressort que l'espèce cationique intermédiaire dans la PHM ou dans la DβM pourrait effectivement avoir une durée de vie compatible avec les données expérimentales.

b. Seconde étape : transfert électronique

b.1. Injection d'électron

Arrivé à l'espèce **F**, il s'avère que le parallèle entre modèle bioinspiré et biochimique ne peut pas être poursuivi. Un décompte des nombres d'oxydation formels permet d'en comprendre la raison. Dans notre modélisation, comme dans son extrapolation biochimique, la première étape permet la réduction à deux électrons du dioxygène, les deux électrons étant apportés par l'atome de carbone qui termine sous forme cationique ce qui explique l'état cuivreux du métal dans l'espèce **F**. Dans le modèle [Cu(*tren*^{Me1})]⁺, la seconde étape n'est qu'une simple réaction acide-base entre l'anion hydroperoxyde et la fonction amine située en position α du carbocation. En fait, pour compléter la réduction de l'anion hydroperoxyde, deux électrons sont nécessaires. Le cation cuivreux ne pouvant fournir qu'un électron et aboutir à l'état cuivrique, il ne semble pas d'un grand secours dans le modèle bioinspiré. Finalement la réduction complète de l'hydroperoxyde n'est obtenue que moyennant l'oxydation à deux électrons de l'atome d'azote dans les fonctions nitrone ou oxaziridine.

A l'inverse dans la PHM ou dans la DβM, puisque deux cations cuivreux sont présents, ils pourraient apporter chacun un électron et compléter la réduction de l'espèce intermédiaire hydroperoxyde. Il est raisonnable de penser que l'étape suivant l'activation du substrat, c'est-à-dire l'attaque de la liaison C — H, est celle du transfert électronique du centre Cu_H vers le centre Cu_M (cf. Chapitre I).¹ Nous avons donc procédé à la simulation de ce phénomène en injectant un électron supplémentaire dans le composé **F** et en optimisant la géométrie du complexe **F**⁻ résultant. Le processus d'optimisation conduit spontanément à la rupture de la liaison O — O et à la formation d'une nouvelle espèce (**P**) représentée sur la Figure 25. Cette expérience numérique a permis l'hydroxylation du bras du ligand *tren*^{Me1} et la formation d'un complexe Cu(II)/O²⁻.

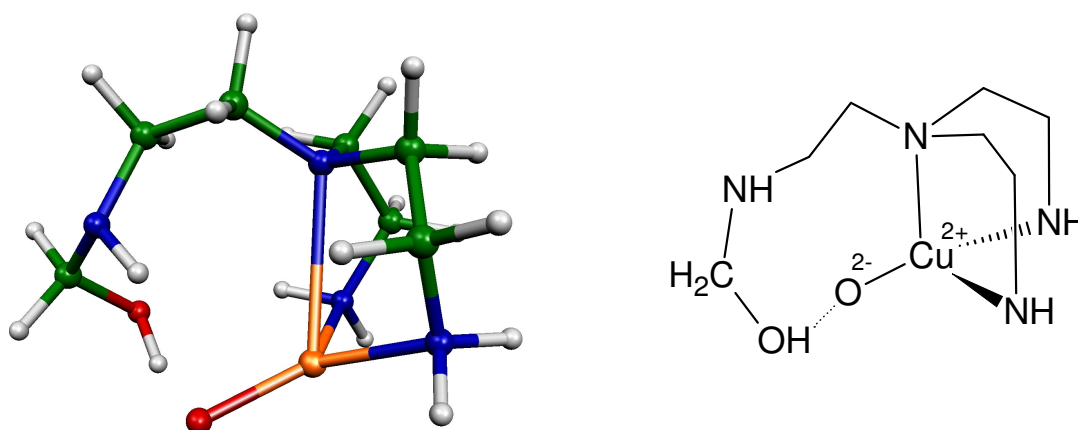


Figure 25 : Complexe $[\text{Cu(II)}(\text{tren}^{\text{Me1OH}})\text{O}^{2-}]$ (**P**) résultant de l'injection d'un électron dans le composé **F**.

b.2. Bilan thermodynamique

L'évaluation énergétique de l'injection d'un électron dans le système n'est pas triviale : la comparaison des énergies des espèces **F** et **P** n'a pas de sens en raison de la variation du nombre d'électrons dans le système. Pour contourner cette difficulté, nous avons procédé au calcul de bilans énergétiques de réactions simulant le transfert électronique entre un donneur et un accepteur d'électron. L'accepteur est donc l'espèce **F** qui devient après transfert électronique et protonation l'espèce **HP**. Pour jouer le rôle d'acide deux molécules ont été testées : l'eau et un cation hydronium. Le donneur d'électron choisi est le complexe $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ qui conduit au complexe $[\text{Cu}(\text{ImH})_3\text{H}_2\text{O}]^{++}$ après transfert électronique et stabilisation par une molécule d'eau. Le choix de ce modèle trouve sa justification par comparaison avec la structure du centre Cu_H des enzymes, coordonné par trois résidus histidine et qui passe d'une géométrie trigonale en T dans l'état cuivreux à une géométrie Plan Carré dans l'état cuivrique (cf. Chapitre I). Les deux bilans énergétiques reportés dans le Tableau 10 ont été calculés en présence d'un continuum de solvation (eau).

Equilibre considéré		bilan énergétique
$[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+ + \text{F} + 2 \text{H}_2\text{O}$	$\rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{ImH})_3\text{H}_2\text{O}]^{++} + \text{HP} + \text{HO}^-$	-102
$[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+ + \text{F} + \text{H}_2\text{O} + \text{H}_3\text{O}^+$	$\rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{ImH})_3\text{H}_2\text{O}]^{++} + \text{HP} + \text{H}_2\text{O}$	-170

Tableau 10 : Equilibres thermodynamiques (kcal.mol^{-1}) simulant le transfert électronique entre le donneur $[\text{Cu}(\text{ImH})_3]^+$ et l'accepteur **F**.

Il ressort de ces bilans que le processus de transfert d'électron dans l'espèce **F** est largement favorable quel que soit l'acide considéré pour protoner le composé **P**. Il convient toutefois de ne tirer de ces calculs qu'un renseignement qualitatif car ces énergies seront à l'évidence grandement modifiées dans les systèmes réels dans lesquels les effets d'environnement jouent un rôle important. Rappelons par ailleurs que la distance séparant les deux centres métalliques dans les enzymes est de l'ordre de la dizaine d'angströms. Une bonne description de ce phénomène de transfert électronique à longue distance ne peut pas passer outre la prise en considération de l'aspect cinétique du processus. Ces questions seront l'objet du Chapitre V.

3. Reformulation du mécanisme enzymatique

La transposition de ce schéma de réaction aux enzymes est particulièrement excitante car elle incline à considérer que l'étape de transfert électronique permet à elle seule de compléter la phase oxydative du cycle catalytique. Ainsi, sous réserve de la pertinence de cette analogie, un cycle catalytique simplifié par rapport à celui présenté dans le Chapitre I peut désormais être proposé (Figure 26).

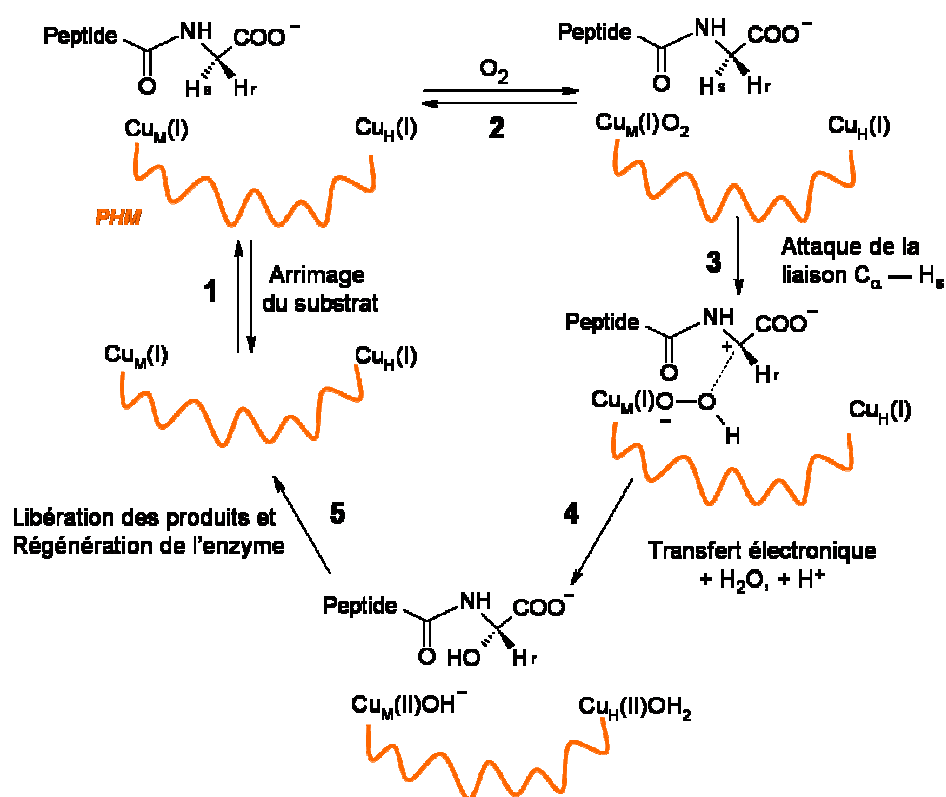


Figure 26 : Proposition de simplification du mécanisme enzymatique proposé initialement par Klinman *et coll.* (Cas de la PHM).¹

La première partie de la phase oxydative du mécanisme (fixation des substrats, étapes 1 et 2) ne change pas par rapport au mécanisme originellement proposé par Klinman *et coll.*¹ La troisième étape voit de nouveau la rupture de la liaison C_α—H_s mais pour conduire à un substrat cationique faisant face à un anion hydroperoxyde, lui-même lié au centre cuivreux Cu_M(I). Formellement cette étape permet la réduction à deux électrons du dioxygène et l'oxydation à deux électrons de l'atome de carbone du substrat. L'établissement d'une liaison électrostatique entre l'atome d'oxygène *distal* et le carbocation permet de figer la configuration absolue de ce dernier pour contrôler la stéréospécificité de la réaction. Dans ce schéma, le transfert électronique à longue distance du centre Cu_H vers la sphère réactive permet ensuite de déclencher en une seule étape la réduction à deux électrons de l'anion hydroperoxyde par apport simultané d'un électron de la part de chacun des deux cations cuivreux. La rupture de la liaison peroxydique lors de cette étape permet la formation du produit hydroxylé attendu.

Une mise en garde relative aux sphères de coordination des cations cuivriques résultant doit être faite. Sur ce schéma nous avons considéré que les centres cuivriques Cu_M et Cu_H étaient complexés respectivement par un anion hydroperoxyde et une molécule d'eau. Cette proposition particulière n'est cependant aucunement impérative. L'étude théorique publiée par Solomon *et coll.* a montré que le centre actif Cu_M(II) était probablement stabilisé par un anion hydroperoxyde et une molécule d'eau en complément des résidus protéiques (HIS 242, HIS 244 et MET 314) (c.f. Chapitre I).

Enfin dans une dernière étape, il y a libération des produits de réaction. Là encore cette étape formelle pourrait contenir une succession de plusieurs étapes, mais cette restriction était déjà valable dans le mécanisme originel. L'enzyme est finalement régénérée dans la seconde phase du mécanisme selon un processus "*ping-pong*".

CONCLUSION

Au commencement de ce Chapitre nous avons fait le constat du faible nombre d'études expérimentales ou théoriques relatives aux capacités oxydatives des adduits bio-inspirés mononucléaires. D'un point de vue calculatoire seule une étude pointait du doigt les adduits de type peroxyde en tant que mauvais candidats, les auteurs suggérant de se tourner vers des adduits au caractère superoxyde plus prononcé.¹⁵ Cet état de fait contrastait avec l'existence de plusieurs études théoriques fines sur les systèmes enzymatiques parents. Toutefois la plupart de ces études évacuaient l'adduit Cu/O₂ comme

responsable de la rupture de la liaison C — H du substrat,^{4,5,6} en dépit de données biochimiques arguant en sa faveur.^{2,7,8,9}

Grâce aux résultats expérimentaux obtenus sur le complexe [Cu(calixtren)]⁺, nous avons entrepris une étude de réactivité à partir d'un modèle en phase gazeuse de la partie cryptante du ligand calixtren. Pour cela nous avons étudié les possibilités d'oxydation des liaisons C — H et N — H par transfert de l'atome d'hydrogène (sous forme anionique ou radicalaire) vers l'un ou l'autre des deux atomes d'oxygène. L'aspect énergétique a pour sa part été abordée au moyen de l'approche Spin-Flip. Il est ressorti que la *primo* attaque constitue l'étape déterminante à l'intérieur de tous les chemins réactifs identifiés. Par ailleurs, il a été montré que la réactions sur les surfaces singulets était compétitive par au moins 10 kcal.mol⁻¹ en comparaison des surfaces triplets. Enfin, les données énergiques ont montré que les deux chemins débutant par l'attaque des liaisons C — H ou N — H étaient totalement compétitifs. Cela dit, notre étude conclut dans les deux cas à la formation d'une fonction imine sur le bras du ligand et à la libération de peroxyde d'hydrogène.

La suite de ce travail de modélisation pourrait prendre plusieurs directions. La première pourrait consister à rechercher des voies réactives énergétiquement accessibles et conduisant aux fonctions chimiques incorporant un atome d'oxygène. Nous avons pour notre part choisi de nous recentrer sur les processus déjà mis à jour mais en améliorant leur description. Ainsi au cours du Chapitre IV, nous aurons à cœur de reprendre les étapes de coordination du dioxygène et d'attaque de la liaison C — H au moyen de méthodologies hybrides DFT/MM pour prendre en compte explicitement l'environnement particulier du cation métallique dans le calixtren.

Par ailleurs, un autre résultat essentiel est l'extrapolation biochimique qu'il a été possible de réaliser à partir de la modélisation du complexe [Cu(tren^{Me1})]⁺. Un mécanisme ionique simplifié du fonctionnement des monooxygénases a été proposé. Le nouveau cycle catalytique permet de justifier la stéréospécificité du processus. Quant au transfert électronique à longue distance, il a été suggéré qu'il permette de compléter la réduction du dioxygène et la formation du produit hydroxylé attendu par apport formel d'un électron de la part de chacun des cations cuivreux. Il reste toutefois à caractériser plus précisément ce phénomène dans les enzymes, par exemple en identifiant un chemin viable pour ce transfert à longue distance. Cette question sera l'objet du dernier Chapitre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ "Evidence That Dioxygen and Substrate Activation Are Tightly Coupled in Dopamine β -Monooxygenase", J. P. Evans, K. Ahn, J. P. Klinman, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 49691 - 49698.
- ² "The Hydrogen Peroxide Reactivity of Peptidylglycine Monooxygenase Supports a Cu(II)-Superoxo Catalytic Intermediate", A. T. Bauman, E. T. Yukl, K. Alkevich, A. L. McCormack, N. J. Blackburn, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 4190 - 4198.
- ³ "The Copper-Enzyme Family of Dopamine β -Monooxygenase and Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase : Resolving the Chemical Pathway for Substrate Hydroxylation", J. D. Klinman, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 3013 - 3016.
- ⁴ "Computational Exploration of the Catalytic Mechanism of Dopamine β -Monooxygenase : Modeling of Its Mononuclear Copper Active Sites", T. Kamachi, N. Kihara, Y. Shiota, K. Yoshizawa, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 4226 - 4236.
- ⁵ "Catalytic Mechanism of Dopamine β -Monooxygenase Mediated by a Cu(III)-Oxo", K. Yoshizawa, N. Kihara, Y. Shiota, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 3034 - 3041.
- ⁶ "The Catalytic Mechanism of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase Investigated by Computer Simulation", A. Crespo, M. A. Marti, A. E. Roitberg, L. M. Amzel, D. A. Estrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 12817 -12828.
- ⁷ "Oxygen Activation by the Noncoupled Binuclear Copper Site in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase. Reaction Mechanism and Role of the Noncoupled Nature of the Active Site", P. Chen, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4991 - 5000.
- ⁸ "Advances in Studying Bioinorganic Reaction Mechanisms: Isotopic Probes of Activated Oxygen Intermediates in Metalloenzymes", J. Roth, *Curr. Op. Chem. Biol.* **2007**, 11, 142 - 150.
- ⁹ "Dioxygen Binds End-On to Mononuclear Copper in a Precatalytic Enzyme Complex", S. T. Prigge, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **2004**, 304, 864 - 867.
- ¹⁰ "The Hydrogen Peroxide Reactivity of Peptidylglycine Monooxygenase Supports a Cu(II)-Superoxo Catalytic Intermediate", A. T. Bauman, E. T. Yukl, K. Alkevich, A. L. McCormack, N. J. Blackburn, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 4190 - 4198.
- ¹¹ "Oxidant Types in Copper-Dioxygen Chemistry: the Ligand Coordination defines the Cu_n-O_2 Structure and Subsequent Reactivity", L. Q. Hatcher, K. D. Karlin, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, 9, 669 - 683, et références incluses
- ¹² "Thioether Sulfur Oxygenation from O_2 or H_2O_2 reactivity of Copper Complexes with Tridentate $N_2S_{thioether}$ Ligands", Y. Lee, D.-H. Lee, A. A. Narducci Sarjeant, L. N. Zakharov, A. L. Rheingold, K. D. Karlin, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 10098 - 10107, et références incluses.
- ¹³ "Mononuclear Cu — O_2 Complexes: Geometries, Spectroscopic Properties, Electronic Structures, and Reactivity", C. J. Cramer, A. B. Tolman, *Acc. Chem. Res.* **2007**, 40, 601 - 608.
- ¹⁴ "Reactivity of a 1:1 Copper-Oxygen Complex: Isolation of a Cu(II)-o-Iminosemiquinonato Species", A. M. Reynolds, E. A. Lewis, N. W. Aboelella, Q. B. Tolman, *Chem Commun.* **2005**, 2014 - 2016.
- ¹⁵ "Characterization of the Structure and Reactivity of Monocopper-Oxygen Complexes Supported by β -Diketiminato and Anilido-Imine Ligands", B. F. Gerhman, W. B. Tolman, C. J. Cramer, *J. Comput. Chem.* **2006**, 27, 1950 - 1961.

- ¹⁶ "A 1:1 Copper-Dioxygen Adduct is an End-On Bound Superoxo Copper(II) Complex which Undergoes Oxygenation Reactions with Phenols", D. Maiti, H. C. Fry, J. S. Woertink, M. A. Vance, E. I. Solomon, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 264-265.
- ¹⁷ "Modèles Supramoléculaires de Cupro-Enzymes à Sites Monomoléculaires. Synthèse, Caractérisation et Réactivité de Complexes Basés sur des Calix[6]Arènes", G. Izzet, **2004**, Thèse de Doctorat de l'Université Paris XI Orsay.
- ¹⁸ Olivia Reinaud, communications personnelles.
- ¹⁹ "Electronic Structure Calculation of Open-Shell Molecules", L. V. Slipchenko, **2005**, PhD Thesis, University of Southern California. <http://www-rcf.usc.edu/~krylov>
- ²⁰ "The Electronic Properties of Diradicals", L. Salem, C. Rowland, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1972**, 11, 92.
- ²¹ "The Spin-Flip Approach within Time-Dependent Density Functional Theory: Theory and Applications to Diradicals", Y. Shao, M. Head-Gordon, A. I. Krylov, *J. Chem. Phys.* **2000**, 118, 4807 - 4817.
- ²² "Hydrogen Tunneling in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase", W. A. Francisco, M. J. Knapp, N. J. Blackburn, J. P. Klinman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8194 - 8195.
- ²³ "Modeling the Peroxide/Superoxide Continuum in 1:1 Side-on Adducts of O₂ with Cu", *Inorg. Chem.* **2004**, 43, 7281 - 7283. Ainsi que les 'Supplementary Materials'
- ²⁴ "Singlet-Triplet Gaps in Large Multireference Systems : Spin-Flip Alternatives for Bioinorganic Modelling", A. de la Lande, V. Moliner, O. Parisel, *J. Chem. Phys.* **2007**, 126, 035102.
- ²⁵ "Mechanisms Whereby Mononuclear Copper Proteins Functionalize Organic Substrates", J. P. Klinman, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2 541 - 2 561. Ainsi que les références incluses.
- ²⁶ "Kinetic Mechanism and Intrinsic Isotope Effects for the Peptidylglycine α -Amidating Enzyme Reaction", W. A. Francisco, D. J. Merkler, N. J. Blackburn, J. P. Klinman, *Biochemistry* **1998**, 37, 8244 - 8252.
- ²⁷ "The Catalytic Role of the Copper Ligand H172 of Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase : A kinetic Study of the H172A Mutant", J. P. Evans, N. J. Blackburn, J. P. Klinman, *Biochemistry* **2006**, 45, 15419 - 15429.
- ²⁸ "Electron spin resonance studies of the effect of copper(II) and copper(I) on the generation and reactions of organic radicals formed from the fenton reaction and the $Ti^{III}-H_2O_2$ and $Ti^{III}-S_2O_8^{2-}$ redox couples", B. C. Gilbert, J. K. Stell, M. Jeff, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **1988**, 1867 - 1873.
- ²⁹ "Free-radical reactions of carbohydrate moieties in macromolecular structures. EPR evidence for the importance of steric and stereoelectronic effects and for the influence of inclusion in cyclodextrins", B. C. Gilbert, J. R. Lindsay Smith, P. Taylor, S. Ward, A. C. Whitwood, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **2000**, 2001 - 2007.

Rupture de la liaison C — H

CHAPITRE IV

EFFETS D'ENVIRONNEMENT : CALIXARENES SOLVATES

I. UNE METHODE HYBRIDE DFT/MM	240
A. Fonction d'énergie	240
B. Le problème des atomes de la frontière	247
C. Détails pratiques	251
II. EFFETS D'ENVIRONNEMENT	253
A. Des complexes zinciques	254
B. Dégradation du calixtren	258
CONCLUSION	263
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	265

EFFETS D'ENVIRONNEMENT : CALIXARENES SOLVATES

Les deux Chapitres précédents ont eu pour objet l'étude de l'étape d'activation du dioxygène et la caractérisation du pouvoir oxydant des adduits sur des liaisons N — H et C — H. Les systèmes modèles étudiés ont été restreints à la première sphère de coordination du cation cuivreux, permettant ainsi de modéliser à la fois les tripodes expérimentaux, les chapeaux des calixarènes et les centres enzymatiques. L'optimisation d'un si grand nombre de structures a nécessité l'emploi d'une approche de type "phase gazeuse" couplée à une technique quantique suffisamment fine. Si cette approche a été fructueuse dans la mesure où des règles générales concernant ces systèmes ont pu être établies, nous sommes toutefois en droit de nous interroger sur la pertinence de cette approche qui occulte de fait les effets d'environnement. Dans le cas de la modélisation du ligand calixtren par exemple, le modèle $\text{tren}^{\text{H,Me}}$ ne reproduit pas les effets électrostatiques induits par la cavité formée par les cycles aromatiques, ni par les six fonctions éther présentes au niveau du petit col. A cela s'ajoutent les effets du solvant. N'est pas reproduite non plus la contrainte stérique imposée par la présence de la cage au niveau des fonctions coordinantes. En réalité il n'est pas aisé de juger de ces effets et du biais introduit dans la modélisation "phase gazeuse" précédente sans effectuer explicitement le calcul sur le système réel.

L'évaluation de ces effets constitue donc la problématique de ce Chapitre où nous nous proposons de réexaminer sur des systèmes réels la coordination du dioxygène ainsi que la possibilité d'attaque des liaisons C — H mise en évidence dans le Chapitre précédent. Les outils méthodologiques adaptés au traitement de ces questions combinent approches *ab initio* (ou DFT) et mécanique moléculaire.¹ Ces approches qualifiées d'hybrides ou QM/MM sont largement utilisées aujourd'hui pour la description de réactions chimiques en solution ou en milieu enzymatique.^{2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13} Ce terme QM/MM recouvre en pratique un grand nombre de méthodologies qui peuvent différer les unes des autres dans leur philosophie et dans leur implémentation. Il est donc nécessaire de préciser dans un premier temps le schéma de calcul utilisé dans cette étude, ce qui constituera la première partie de ce Chapitre. Une fois cette présentation réalisée, nous étudierons la coordination du dioxygène sur le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$ puis la réactivité de l'adduit engendré.

I. UNE METHODE HYBRIDE DFT/MM

Le recours aux méthodes hybrides pour traiter les systèmes de grande taille est ancien et a été initialement proposé par Warshel et Levitt au cours des années 1970.¹ Dans ce travail pionnier les auteurs ont étudié la réactivité chimique d'un lipozyme à l'aide d'un protocole de calcul traitant explicitement le centre réactif et son environnement. Ils ont ainsi été en mesure de montrer que les facteurs électrostatiques prédominaient sur les facteurs stériques induits par les résidus de la cavité pour expliquer l'augmentation de la cinétique de la réaction par rapport à la réaction en solution.

A. Fonction d'énergie

1. Partitions énergétiques

L'idée sous-tendant l'approche hybride paraît simple puisqu'elle consiste à adapter le niveau de calcul en fonction de la localisation du (des) processus réactif(s) qui a (ont) lieu dans le système. En effet s'il apparaît crucial d'utiliser des méthodes précises pour décrire les atomes participant aux processus de rupture et de formation de liaisons, les atomes plus éloignés ne semblent pas devoir mériter un tel effort calculatoire. Il devient ainsi envisageable de traiter des systèmes de (très) grande taille en restreignant le traitement quantique qui constitue la partie coûteuse du calcul, aux seuls atomes impliqués dans le processus réactifs.

Prenons l'exemple de la réaction de rupture de la liaison C — H par l'adduit Cu/O₂ dans le calixtren. La description quantique du système {CH-CuO₂} est indispensable pour rendre compte des processus de rupture et de formation de liaisons chimiques. Les cycles aromatiques ne doivent en revanche pas induire d'effets électroniques directs sur le processus réactif et n'ont donc pas besoin d'être traités à ce même niveau. Cependant comme ils exercent par leur présence un effet de contrainte au niveau du petit col du calixarène, ils doivent être pris en compte, mais leur traitement par les techniques de mécanique moléculaire semble alors suffisant.

Dans les approches hybrides QM/MM le système est donc scindé en plusieurs sous-systèmes caractérisés chacun par un niveau de calcul spécifique (Figure 1). Le nombre de partitions n'est en principe pas limité mais nous restreindrons notre exposé au seul cas d'une

partition binaire : une zone quantique et une zone classique. Par abus de langage nous qualifierons de "quantiques" et de "classiques" les atomes appartenant respectivement à chacun de ces deux domaines.

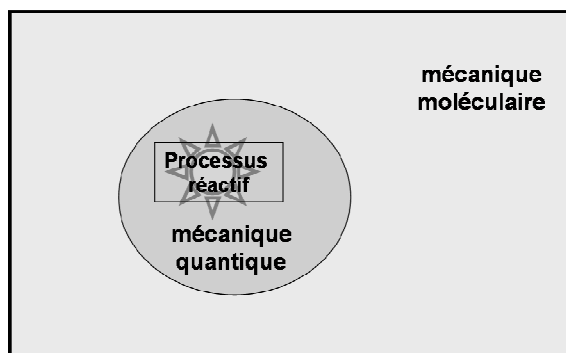


Figure 1 : Représentation schématique de la division QM/MM en fonction de l'éloignement par rapport au site réactif.

Dans une approche additive, l'énergie totale du système est alors décrite comme la somme des énergies des deux sous-systèmes (E_{QM} et E_{MM}) et d'une énergie d'interaction ($E_{QM/MM}$) (Relation 1).

$$E_{TOT} = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM/MM}$$

Relation 1 : Energie totale du système dans une approche QM/MM.

Le terme quantique E_{QM} est égal à l'énergie correspondant à la valeur moyenne de l'hamiltonien associé à l'ensemble des atomes quantiques. Celui-ci s'écrit :

$$\hat{H}_{QM} = -\frac{1}{2} \sum_i \Delta_i + \sum_{ij} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i\alpha} \frac{Z_\alpha}{r_{i\alpha}} + \sum_{\alpha\beta} \frac{Z_\alpha Z_\beta}{r_{\alpha\beta}}$$

Relation 2 : Hamiltonien associé au groupe d'atomes quantiques. Les indices i et j se réfèrent aux électrons du système, les indices α et β se rapportent aux noyaux. r représente la distance entre deux électrons (r_{ij}), deux noyaux atomiques ($r_{\alpha\beta}$) ou entre un électron et un noyau ($r_{i\alpha}$). Z_α est la charge des noyaux α .

Le terme E_{MM} , calculé au moyen d'un champ de forces, rend compte de l'énergie associée aux atomes classiques. Nous avons choisi le champ de forces OPLS (*Optimized Potentials for Liquid Simulations*)^{14,15} dans lequel E_{MM} est égale à la somme des énergies des paires d'atomes liés et non-liés. Concernant les interactions entre atomes liés, trois termes

sont évalués qui découlent des coûts énergétiques liés aux déformations des liaisons (E_{liaisons}), des angles (E_{angles}) et des angles dièdres ($E_{\text{angles dièdres}}$) par rapport à leur valeur de référence. Par ailleurs le terme d'interaction entre paires d'atomes non-liés (i,j) se compose d'une part d'un terme électrostatique ($E_{\text{élec}}$) calculé au moyen d'un potentiel coulombien entre les charges partielles q_i et q_j du champ de forces, et, d'autre part, d'un terme de van der Waals (E_{LJ}). Ce dernier est évalué dans l'approche OPLS par un potentiel de type Lennard-Jones qui rend également compte de la répulsion internucléaire.

$$\begin{aligned}
 E_{\text{MM}} &= E_{\text{liés}} + E_{\text{non-liés}} \\
 E_{\text{liés}} &= E_{\text{liaisons}} + E_{\text{angles}} + E_{\text{angles dièdres}} \\
 E_{\text{liés}} &= \sum_{\text{liaisons}} \frac{1}{2} k_b (r - r_{\text{ref}}) + \sum_{\text{angles}} \frac{1}{2} k_\theta (\theta - \theta_{\text{ref}}) + \sum_{\text{angles dièdres}} \frac{1}{2} [V_1 (1 + \cos\phi) + V_2 (1 - 2\cos\phi) + V_3 (1 + 3\cos\phi)] \\
 E_{\text{non-liés}} &= E_{\text{élec}} + E_{\text{LJ}} \\
 E_{\text{non-liés}} &= \sum_{\substack{\text{paires} \\ \text{non liées } ij}} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} + \sum_{\substack{\text{paires} \\ \text{non liées } ij}} 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]
 \end{aligned}$$

Relation 3 : Energies associées aux atomes "classiques" du système.

Enfin, le dernier terme de la Relation 1, $E_{\text{QM/MM}}$, décrit l'interaction entre les atomes quantiques et classiques. C'est en général lors de la détermination de ce terme que peuvent survenir d'importantes difficultés méthodologiques, ce qui explique en partie la variété des approches rencontrées dans la littérature.

Dans la méthode retenue pour ce travail, le choix de l'expression de l'énergie est lié au schéma algorithmique utilisé pour localiser les états stationnaires. Il nous semble par conséquent important de le présenter avant de préciser d'avantage l'expression retenue pour évaluer le terme $E_{\text{QM/MM}}$.

2. Localisation des points stationnaires

Les techniques les plus efficaces de localisation des extrema sur les surfaces d'énergie potentielle (SEP) font appel au calcul de la matrice hessienne (dérivées secondes de l'énergie par rapport aux déplacements nucléaires). En fait, si l'on peut se contenter d'algorithmes fondés sur le calcul des gradients d'énergie pour localiser les minima (réactifs, produits et intermédiaires réactionnels), il semble plus difficile de ne pas les utiliser pour

localiser les points selle d'ordre 1 (états de transition). Néanmoins le calcul de la matrice hessienne reste en tout état de cause une étape incontournable pour caractériser l'ordre des points stationnaires (minima ou extrema d'énergie).

Si les algorithmes de second ordre (type Newton-Raphson) sont utilisables pour l'optimisation de systèmes au nombre d'atomes restreint comme ceux présentés dans les deux Chapitres précédents, ils s'avèrent généralement inapplicables pour des systèmes de plusieurs milliers d'atomes car le coût du calcul de la hessienne devient alors prohibitif.

Pour contourner cette difficulté, nous avons employé un algorithme micro/macro-itératif qui consiste à scinder le système global en deux sous-systèmes, l'un étant qualifié d'"espace de contrôle" et l'autre d'"espace complémentaire".¹⁶ Les positions des atomes appartenant à l'espace de contrôle sont optimisées grâce à un algorithme précis du second ordre, tandis que celles des atomes du système complémentaire le sont par un algorithme moins coûteux qui n'utilise que les gradients d'énergie. L'espace de contrôle ne s'identifie pas nécessairement à la partie quantique de la partition QM/MM. Dans le cas de réactions enzymatiques par exemple, si certains résidus de la cavité enzymatique sont soupçonnés d'avoir une influence significative sur la coordonnée de réaction, ils peuvent être inclus dans l'espace de contrôle tout en étant traités classiquement. Dans les calculs présentés ici, l'espace de contrôle coïncidera cependant toujours avec le système quantique.

Le processus d'optimisation est schématisé sur la Figure 2. Lors de l'optimisation dans l'espace de contrôle, les atomes de l'espace complémentaire sont gelés, et réciproquement. Le processus est poursuivi cycliquement jusqu'à atteindre les critères de convergence sur tous les atomes. Cette méthode permet de réduire énormément le temps requis pour optimiser la géométrie d'un système puisque le calcul des dérivées secondes de l'énergie est réservé à un nombre restreint d'atomes. Nous avons eu recours à l'algorithme du second ordre proposé par Baker *et coll.*¹⁷ pour optimiser la position des atomes quantiques. En pratique la matrice hessienne n'est toutefois calculée exactement que tous les dix pas d'optimisation. Entre chaque évaluation exacte elle est actualisée au moyen d'un algorithme utilisant les seuls gradients d'énergie.

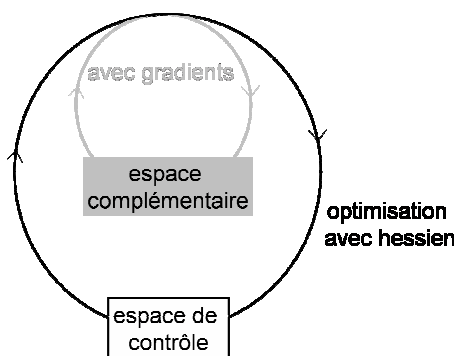


Figure 2 : Représentation schématique de l'algorithme micro/macro-itératif.¹⁶ Les expressions mathématiques de l'énergie sont définies ci-après.

Ayant détaillé ce point méthodologique, nous pouvons revenir à la description de la fonction d'énergie utilisée pour les calculs QM/MM.

3. Retour sur la fonction énergétique

Revenons-en donc à la fonction énergétique donnée par la Relation 1 qui peut se réécrire de la manière suivante :

$$E = \langle \Psi | \hat{H}_0 | \Psi \rangle + \langle \Psi | \hat{V} | \Psi \rangle + E_{MM}$$

$$\langle \Psi | \hat{V} | \Psi \rangle = E_{int}^{Elec} + E_{int}^{LJ}$$

Relation 4 : Fonction d'énergie E du système QM/MM. E_{MM} est l'énergie du système classique, H_0 est l'opérateur hamiltonien *in vacuo* associé aux atomes quantiques, Ψ est la fonction d'onde du système quantique polarisée par la distribution des charges q_{MM} des atomes classiques, V est le couplage entre les sous-systèmes MM et QM.

Nous pouvons identifier la valeur moyenne du couplage V à l'interaction $E_{QM/MM}$ de la Relation 1. De par la forme du champ de forces OPLS, l'interaction entre les deux sous-systèmes renferme deux types d'interactions physiques, à savoir les interactions électrostatiques (E_{int}^{Elec}) et les interactions de van der Waals (E_{int}^{LJ}). Dans le cas du calcul de l'énergie d'interaction $E_{QM/MM}$ c'est le terme électrostatique, dont la décroissance suit une loi en $1/r$, qui contribue en très large partie à l'énergie d'interaction totale à moyenne et longue distance. La composante de van der Waals diminuant beaucoup plus vite en fonction de la distance ne joue un rôle significatif qu'à courte distance. Elle intervient donc essentiellement à la surface définissant la frontière entre les zones quantique et classique.

$E_{\text{int}}^{\text{LJ}}$ est systématiquement calculée grâce à un potentiel classique de Lennard-Jones entre chaque paire d'atomes classique/quantique (Relation 5). Il est donc nécessaire de disposer de paramètres empiriques pour tous les atomes du système, y compris ceux traités quantiquement.

$$E_{\text{int}}^{\text{LJ}} = \sum_{m,k} 4\epsilon_{mk} \left[\left(\frac{\sigma_{mk}}{r_{mk}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{mk}}{r_{mk}} \right)^6 \right]$$

Relation 5 : Potentiel d'interaction de Lennard-Jones entre les atomes quantiques et classiques. Les indices m et k se réfèrent respectivement aux atomes classiques et quantiques.

Après de nombreux essais, il est apparu que l'évaluation correcte du terme $E_{\text{int}}^{\text{Elec}}$ est cruciale pour assurer la stabilité des algorithmes d'optimisation. Une proposition simple consiste à utiliser une forme classique d'interaction coulombienne entre chaque paire d'atomes quantique/classique (Relation 6).

$$\langle \Psi | \hat{V} | \Psi \rangle = E_{\text{int}}^{\text{Elec,MM}} + E_{\text{int}}^{\text{LJ}} = \sum_{k,m} \frac{q_{\text{QM}}^{\text{fit}}(m)q_{\text{MM}}(k)}{r_{km}} + E_{\text{int}}^{\text{LJ}}$$

Relation 6 : Expression classique utilisée pour calculer le couplage $E_{\text{QM/MM}}$ lors de l'optimisation de la partie MM. Les indices k et m se réfèrent respectivement aux atomes classiques et quantiques.

Cette expression évalue donc l'interaction entre le jeu de charges des atomes classiques et le jeu de charges $q_{\text{QM}}^{\text{fit}}$ des atomes quantiques. Une détermination des charges sur ces atomes est donc requise et peut être effectuée par divers moyens (analyses de populations électroniques, ajustement des charges pour reproduire le potentiel électrostatique quantique...). Dans le schéma décrit par la suite nous avons utilisé la méthode proposée par Merz et Kollman.^{18,19}

Cependant il s'est avéré que cette approche n'est pas suffisamment fine pour évaluer correctement l'énergie d'interaction, probablement en raison de la complexité de la structure électronique des composés Cu/O₂. La Relation 7 peut alors être proposée comme alternative. Dans cette formulation le terme d'interaction électrostatique $E_{\text{int}}^{\text{Elec,QM}}$ rend compte de l'interaction des charges des atomes classiques (q_{MM}) avec d'une part la fonction d'onde

polarisée Ψ de la partie quantique (normée) et, d'autre part, avec les charges nucléaires des atomes quantiques.

$$\langle \Psi | \hat{V} | \Psi \rangle = E_{\text{int}}^{\text{Elec,QM}} + E_{\text{int}}^{\text{LJ}} = \sum_k \langle \Psi | \frac{q_{\text{MM}}(k)}{r} | \Psi \rangle + \sum_{\alpha,k} \frac{Z_{\alpha} q_{\text{MM}}(k)}{r_{\alpha k}} + E_{\text{int}}^{\text{LJ}}$$

Relation 7 : Expression quantique utilisée pour l'évaluation du couplage $E_{\text{QM/MM}}$ lors de l'optimisation de la partie QM. Ψ est la fonction d'onde polarisée du système quantique. L'indice α se réfère aux coordonnées des atomes quantiques. L'indice k se réfère quant à lui aux atomes classiques. $q_{\text{MM}}(k)$ est la charge partielle de l'atome k donnée par le champ de forces. Z_{α} est la charge nucléaire de l'atome quantique α .

Le calcul de l'énergie d'interaction au moyen de la Relation 7 permet au final d'assurer la stabilité des algorithmes d'optimisation et de parvenir aux géométries d'équilibre en un nombre raisonnable de pas. Toutefois cette procédure présente un coût de calcul important puisqu'il est en principe nécessaire d'optimiser la fonction d'onde à chaque variation des positions des atomes, qu'ils soient classiques ou quantiques. En revanche il est possible de tirer partie de l'algorithme micro/macro-itératif pour éviter ce calcul quantique lorsque cela est possible. En effet, lorsque le processus se situe dans l'espace complémentaire, les atomes quantiques sont gelés et l'évaluation de la fonction d'onde à chaque pas d'optimisation des atomes classiques ne semble pas indispensable au regard du coût engendré. Dans ce cas l'évaluation du terme d'interaction électrostatique par la forme coulombienne classique, moins coûteuse, est suffisante (Relation 6).

Finalement ce sont donc deux expressions de l'énergie totale E qui sont utilisées en fonction de la région spatiale au sein de laquelle procède l'algorithme d'optimisation. Ces deux fonctions ne diffèrent que par la forme de l'expression utilisée pour calculer la composante électrostatique de l'énergie d'interaction QM/MM. Dans l'espace de contrôle (optimisation des atomes quantiques) une expression quantique ($E_{\text{int}}^{\text{Elec,QM}}$) est requise, tandis que dans l'espace complémentaire l'expression classique ($E_{\text{int}}^{\text{Elec,MM}}$), moins coûteuse, est suffisante (Figure 3). Notons que l'évaluation des critères de convergence géométrique porte sur l'expression quantique de cette interaction, expression la plus précise.

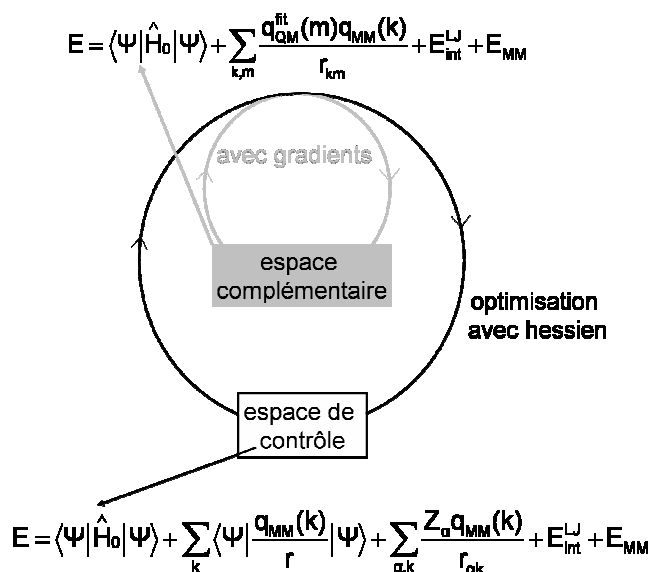


Figure 3 : Expressions mathématiques de l'énergie utilisée selon la phase d'optimisation de l'algorithme micro/macro-itératif.

B. Le problème des atomes de la frontière

1. Rupture de liaison covalente

La partition du système complet en sous-systèmes QM et MM peut s'avérer problématique lorsque la séparation conduit à rompre une liaison covalente $X_{QM} - Y_{MM}$ entre un atome quantique X_{QM} et un atome classique Y_{MM} . Plusieurs techniques permettent de corriger les effets engendrés par cette discontinuité et de satisfaire la valence des atomes mis en jeu.

a. Link Atom

La plus simple d'entre elles, méthode des *link atoms*,^{20,21} consiste à saturer la valence des atomes quantiques affectés par la partition QM/MM à l'aide d'un atome supplémentaire L (en général un atome d'hydrogène) qui se substitue à l'atome Y_{MM} dans le calcul quantique (Figure 4, gauche). En d'autres termes, la liaison chimique $X_{QM} - Y_{MM}$ est remplacée par une liaison $X_{QM} - L$ dans la partie quantique. On conçoit toutefois aisément les perturbations que peut engendrer cette substitution et le soin particulier qui doit donc être pris lors de la détermination des jonctions QM/MM. En général on recherche le plus grand éloignement possible entre la position des *link atoms* et le site des processus réactifs.

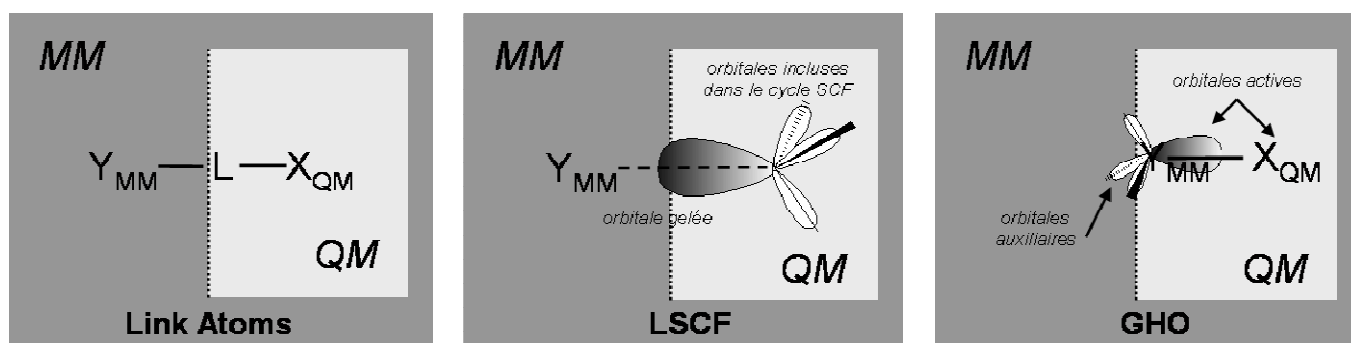


Figure 4 : Trois options proposées pour traiter le problème de la rupture des liaisons covalentes à la frontière QM/MM.

b. Local Self-Consistent-Field

Des méthodes alternatives plus élaborées ont été proposées pour éviter les artefacts que peut engendrer la méthode précédente. Ainsi l'approche LSCF (Local Self-Consistent-Field) propose de substituer à la liaison $X_{QM} - Y_{MM}$ une orbitale de frontière reproduisant les caractéristiques de la liaison rompue (hybridation de l'atome X_{QM} et population de liaison, effets inductifs et mésomères des atomes liés à Y_{MM}). Cette orbitale est gelée lors de l'optimisation de la fonction d'onde (Figure 4, centre). Cette méthode requiert au préalable une paramétrisation sur de petits systèmes modèles pour chaque type de liaison rompue à la frontière QM/MM.^{22,23,24}

c. Generalized Hybrid Orbital

La méthode GHO (*Generalized Hybrid Orbitals*) repose sur une approche similaire à la précédente mais dans ce cas un jeu d'orbitales atomiques est placé sur l'atome Y_{MM} situé à la frontière QM/MM (Figure 4, droite).²⁵ Ces orbitales sont scindées en deux groupes, les unes qualifiées "d'auxiliaires" et les autres "d'actives". Ces dernières sont optimisées lors des cycles de convergence de la fonction d'onde de la partie QM tandis que les orbitales auxiliaires ont pour seul rôle de mimer les effets des substituants (MM) liés à l'atome frontière Y_{MM} . Cette méthode présente l'avantage de ne pas nécessiter de paramétrisation préalable.

d. Approche retenue

Dans cette étude nous avons utilisé la méthode des *link atoms*, qui, bien que souffrant de faiblesses intrinsèques, est une méthode robuste et dont l'implémentation est aisée. Concernant le traitement des atomes à la frontière QM/MM, il est important de noter que, bien qu'inclus dans la partie QM, certains termes classiques du champ de forces impliquant des atomes quantiques restent à calculer. C'est en fait le cas de tous les termes faisant intervenir au moins un atome classique. Par exemple, pour un enchaînement de trois atomes $A_{QM}X_{QM}Y_{MM}$, le terme d'élongation de la liaison $X_{QM} - Y_{MM}$ ainsi que la déformation de l'angle $A_{QM}X_{QM}Y_{MM}$ sont pris en compte.

2. Où couper le calixtren ?

La détermination de la partition quantique/classique ne laisse pas beaucoup de latitude car elle est assez clairement imposée par les caractéristiques chimiques et structurales du système. Il convient d'inclure dans la partie quantique l'atome métallique, le dioxygène et la partie cryptante du calixtren. Les études réalisées lors des phases de tests de la méthode ont en outre montré que l'inclusion d'un invité dans la cavité est nécessaire pour éviter son aplatissement (Figure 5) et reproduire la symétrie C_{3v} observée expérimentalement.²⁶ Notre choix de la molécule d'eau pour remplir cette fonction a été motivé d'une part par la présence avérée de traces d'eau dans le milieu réactionnel et d'autre part par la capacité d'une molécule d'eau à établir des liaisons hydrogène avec le complexe Cu/O₂. Nous pourrions ainsi évaluer ces différents effets sur la structure des adduits.

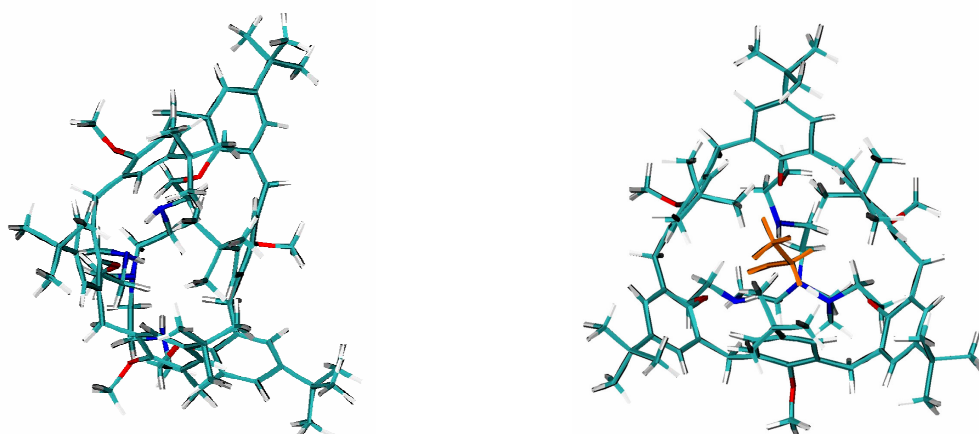


Figure 5 : Aplatissement de la cavité (en bleu) en absence d'invité (à gauche) et gonflement de celle-ci lors de l'inclusion d'un invité (à droite, dans le cas de l'éthanol en orange). Figures issues des optimisations MM du ligand calixtren non-métallé dans une boîte de chloroforme avec ou sans invité.

En raison de la taille du calixarène (environ deux cents atomes), il n'est pas raisonnable d'inclure l'intégralité du ligand dans la partie quantique et seule la partie cryptante du calixarène en fera partie. Il est donc nécessaire de procéder à la coupure de plusieurs liaisons covalentes avec introduction de *link atoms*.

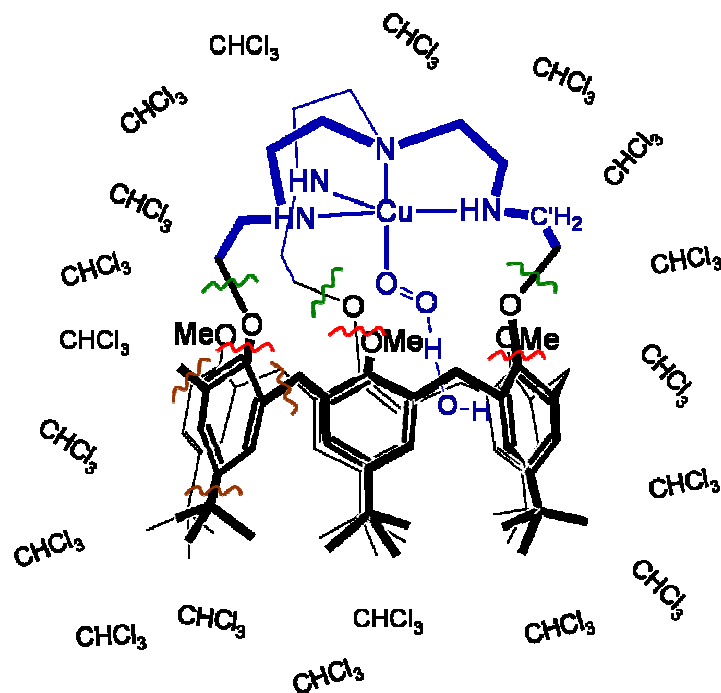


Figure 6 : Schématisation de la partition quantique/classique selon les trois options envisagées dans ce travail. La couleur bleue caractérise les atomes appartenant à la partie quantique dans le cas de la coupure selon les serpentins verts. Les autres atomes sont traités classiquement.

Une coupure quantique/classique peut être proposée au niveau de la fonction éther (serpentins verts sur la Figure 6) mais, dans la perspective de procéder à l'étude de réactivité sur l'atome de carbone C', cette jonction peut sembler trop proche de cet atome.

Alternativement, il peut être proposé d'effectuer la rupture à un niveau inférieur (serpentins rouges), ce qui permet d'augmenter l'éloignement entre les centres réactifs et la jonction QM/MM. En revanche ce choix conduit à ne pas traiter les fonctions éther de la même manière puisque trois d'entre elles sont alors traitées quantiquement. Par ailleurs la rupture de la liaison O — C_{Aromatique} risque d'engendrer de fortes perturbations énergétiques n'ayant guère de sens physique. En effet, les paramètres OPLS du cycle aromatique ont été optimisés pour modéliser une fonction phénol : l'introduction d'un atome frontière

d'hydrogène à la place de l'atome d'oxygène peut être problématique et la représentation des effets de cavité en souffrir.

Nous avons donc écarté cette possibilité et retenu la première. La partie quantique, en bleu sur la Figure 6, totalise ainsi cinquante deux atomes.

En réalité, il s'est avéré que cette partition entraînait des artefacts au niveau de la jonction avec apparition systématique de deux faibles fréquences imaginaires associées aux mouvements des atomes frontaliers. Ces fréquences sont toujours identiques quelle que soit la nature des structures recherchées (intermédiaires de réaction ou états de transition). Il est récemment apparu que l'incorporation dans la partie quantique de tout le cycle anisole portant le bras cryptant permet de s'affranchir de telles fréquences (serpentins marron).

Toutefois, en raison de l'augmentation du temps de calcul qu'implique cette dernière option, l'ensemble des géométries n'a pas encore été obtenu lors de l'écriture de ces pages. Nous ne présentons donc dans ce Chapitre que les géométries issues de la première partition en dépit de leurs imperfections au niveau de la frontière QM/MM. Cependant, là où les géométries issues des deux partitions sont disponibles, leur examen révèle une très grande similitude structurale. Les artefacts évoqués plus haut ne semblent donc pas affecter géométriquement la zone quantique du système.

Ainsi, bien que ne constituant pas des résultats définitifs, les données qui sont fournies dans ce Chapitre permettent de mettre en évidence la disponibilité d'une méthodologie DFT/MM à même de traiter le centre Cu/O₂ dans son environnement explicite. Mais les géométries obtenues, bien que provisoires, sont vraisemblablement de qualité suffisante pour étayer les raisonnements chimiques que nous souhaitons entreprendre.

C. Détails pratiques

Les calculs DFT/MM ont été réalisés grâce au logiciel développé au laboratoire de Castelló, lequel permet d'interfacer le logiciel Gaussian03,²⁷ utilisé pour réaliser les calculs quantiques nécessaires, à la librairie de programmes DYNAMO,^{28,29} utilisée pour les calculs de mécanique moléculaire et de QM/MM à proprement parler.

1. Traitement classique

a. Choix des paramètres empiriques

Il est nécessaire de disposer de paramètres empiriques pour tous les atomes qui composent le système, y compris pour ceux faisant partie du sous-système traité quantiquement, de manière à évaluer les termes d'interaction QM/MM.

L'élaboration d'un jeu de paramètres empiriques pour le complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})\text{O}_2]^+_{\text{sol}}$ a été réalisée à partir des études de mécanique moléculaire déjà menées sur des calixarènes métallés ou non.³⁰ Comme annoncé plus haut, le champ de forces utilisé est OPLS,^{14,15} complété par les nouveaux paramètres nécessaires à la description des fonctions amines de la partie cryptante³¹ et le cation métallique.³² Le modèle TIP3P a été retenu pour décrire la molécule d'eau.³³ Enfin, concernant le chloroforme (CHCl_3), utilisé comme solvant, nous avons choisi le modèle à cinq points (tous atomes) proposé par Kollman *et coll.*³⁴

b. Mise en solution

Les complexes ont été solvatés dans une boîte de chloroforme cubique de 55 Å d'arête préalablement relaxée par dynamique moléculaire. Des conditions aux limites périodiques sont appliquées pour simuler le milieu continu. Le système comprend ainsi un total de 6300 atomes (Figure 7). De manière à optimiser le temps de calcul lors de l'évaluation des interactions de van der Waals (potentiels de Lennard-Jones), celles-ci ne sont calculées que pour des paires d'atomes distants de moins de 20 Å. Cependant afin d'éviter des discontinuités dans la fonction d'énergie, une fonction d'atténuation de *switch* ($r_{\text{in}} = 18$ Å et $r_{\text{out}} = 20$ Å) est appliquée pour amener progressivement le potentiel à zéro.

Par ailleurs pour accélérer les optimisations de géométrie, les molécules de solvant situées à plus 15 Å du centre de masse du calixarène ont été systématiquement gelées. Cette distance permet de ne conserver dans l'espace complémentaire que les deux premières couches de solvation du calixarène.

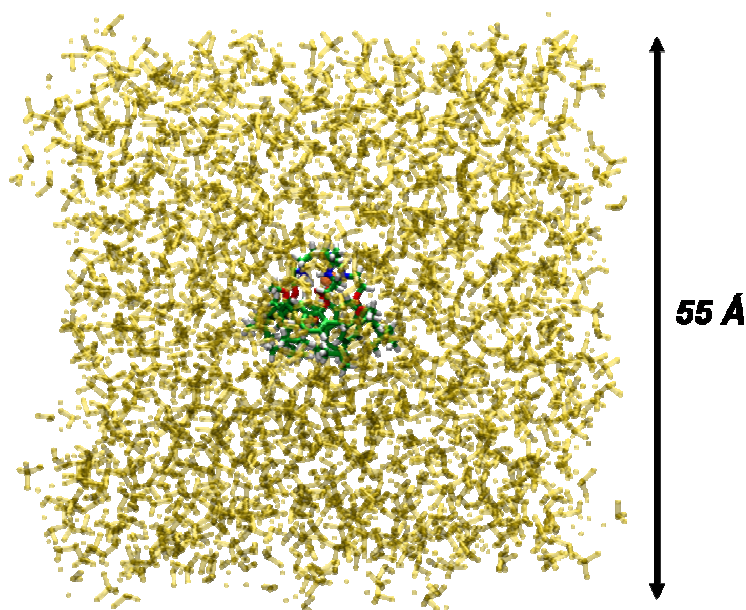


Figure 7 : $[\text{Cu}(\text{calixtren})]^+$ solvatoé dans une boîte de chloroforme.

2. Traitement quantique

Du fait de la présence d'un atome de cuivre dans la partie quantique, une méthode corrélée et précise doit être utilisée. Les méthodes semi-empiriques, souvent utilisées avec les schémas QM/MM additifs, ont ainsi dû être écartées. En continuité avec les Chapitres précédents, la DFT a été retenue (fonctionnelle B3LYP). En revanche nous avons utilisé des bases d'orbitales atomiques différentes afin de restreindre les temps de calcul. Ainsi un pseudo-potential SDD a été utilisé sur le cuivre³⁵ tandis que les bases d'orbitales atomiques, 6-31G** (C, N, H) et 6-31+G* (O) ont été considérées pour les autres atomes.

II. EFFETS D'ENVIRONNEMENT

L'objectif ultime de la méthodologie présentée dans la première partie de ce Chapitre est l'application à l'étude de l'interaction du dioxygène avec les complexes cuivreux du ligand calixtren dans son environnement expérimental. Certes les paramètres du champ de forces ont été déterminés et ajustés en amont, ce qui doit assurer en principe leur qualité, néanmoins la nature particulière du calixarène, qui associe par exemple six cycles aromatiques dans un espace restreint, pourrait être problématique.

Nous présentons donc ici quelques validations nous permettant de nous assurer de la bonne représentation des effets de la cavité. La coordination du dioxygène au cuivre dans cet environnement ne sera abordée que dans un second temps.

A. Des complexes zinciques

Seuls deux exemples de structure sont présentés dans les pages qui suivent, permettant à eux seuls de s'assurer de la bonne reproduction d'effets du calixarène mis en évidence expérimentalement. Le premier relève d'un calcul d'optimisation purement classique tandis que le second est une première illustration de notre approche DFT/MM appliquée à un calixarène.

1. Un complexe zincique modèle de l'anhydrase II carbonique

L'exemple choisi est le complexe zincique $[\text{Zn}(\text{calixtren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ dont la structure optimisée est présentée sur la Figure 8. Nous avons retenu ce composé du fait de la disponibilité de paramètres empiriques robustes pour le zinc. Ainsi dans ce complexe, à l'inverse des composés cuivreux, la partie métallique est correctement traitée par une approche entièrement classique. Nous pourrions ainsi concentrer notre attention sur les effets de la cavité. D'autre part nous disposons d'une structure cristallographique du complexe $[\text{Zn}(\text{calixImH}_3)(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ qui pourra servir de référence.³⁶ La particularité de cette structure cristallographique provient de l'arrangement des deux molécules d'eau au sein de la cavité du complexe entonnoir. Le cation Zn^{2+} y est complexé dans une géométrie tétraédrique par les trois cycles imidazoles et par une molécule d'eau à l'intérieur de la cavité. Une seconde molécule d'eau est liée à cette dernière par liaison hydrogène. Plus spécifiquement, la distance séparant les deux atomes d'oxygène est étonnamment courte pour une liaison de ce type (2,54 Å).^{†,37} Elle reproduit en fait une situation rencontrée dans la structure cristallographique d'une enzyme à zinc, l'anhydrase II carbonique,³⁸ ce qui fait ici du calixarène un bon système biomimétique.³⁶

[†] A titre d'exemple, la distance O — O dans des chaînes de molécules d'eau avoisine 3,5 Å.³⁷

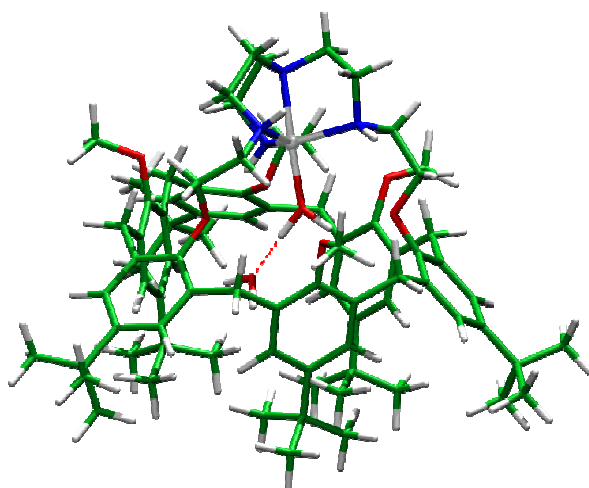


Figure 8 : Structure optimisée du complexe $[\text{Zn}(\text{calixtren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ au niveau MM (le code couleur des atomes est détaillé en Annexe).

En dépit des différences entre les complexes expérimental et théorique en terme de composition de la sphère de coordination du cation métallique (ligand tren vs. 3 cycles imidazole), la structure optimisée du complexe $[\text{Zn}(\text{calixtren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ obtenue par le calcul permet de reproduire cette particularité en fournissant une distance O — O de 2,61 Å. Ce résultat démontre ainsi la bonne représentation des effets de cavité par le champ de forces OPLS, y compris pour la cage du calixarène formée par les groupements anisole.

Par ailleurs des simulations de dynamique moléculaire ont permis de caractériser le comportement de ces deux molécules d'eau au sein de la cavité : alors que la molécule liée au cation métallique est relativement figée, la seconde est très mobile, interagissant dynamiquement avec les fonctions éther du petit col du calixarène par établissement de liaisons hydrogène. La dynamique moléculaire met également en évidence des interactions dynamiques OH/ π entre cette seconde molécule d'eau et les parois aromatiques de la cavité.

2. Premier défi DFT/MM dans les calixarènes

Pour illustrer l'application de la méthode hybride DFT/MM nous nous sommes tournés vers plusieurs complexes synthétisés récemment par l'équipe d'O. Reinaud, lesquels font partie de la dernière génération des calixarènes élaborés. A la différence des ligands étudiés jusqu'à présent, lesquels présentaient une fonctionnalisation au niveau du petit col seulement, ceux-ci présentent un site de reconnaissance sur chacun des deux cols. Ces complexes ont été étudiés en détails par D. Coquière durant sa thèse et fournissent une

base de données expérimentales particulièrement riche et intéressante.³⁹ Plusieurs des complexes présentés dans ce travail ont été traités par l'approche DFT/MM présentée ici. Nous avons choisi de n'en présenter qu'un seul exemple.

Le col supérieur est fonctionnalisé par trois cycles imidazole complexant un ion Zn^{2+} (Figure 9, reproduite de la référence 39), une molécule d'acétonitrile dans la cavité complétant la coordination du cation. Trois fonctions amine sont par ailleurs introduites du côté du col inférieur et constituent le second site de reconnaissance. En présence d'acide, la géométrie du complexe cristallisé suggère la présence d'un proton au niveau du grand col : soit partagé entre les trois atomes d'azote, soit lié de manière covalente à l'un de ces atomes. Les données RX expérimentales ne peuvent trancher plus avant dans la localisation dudit proton.

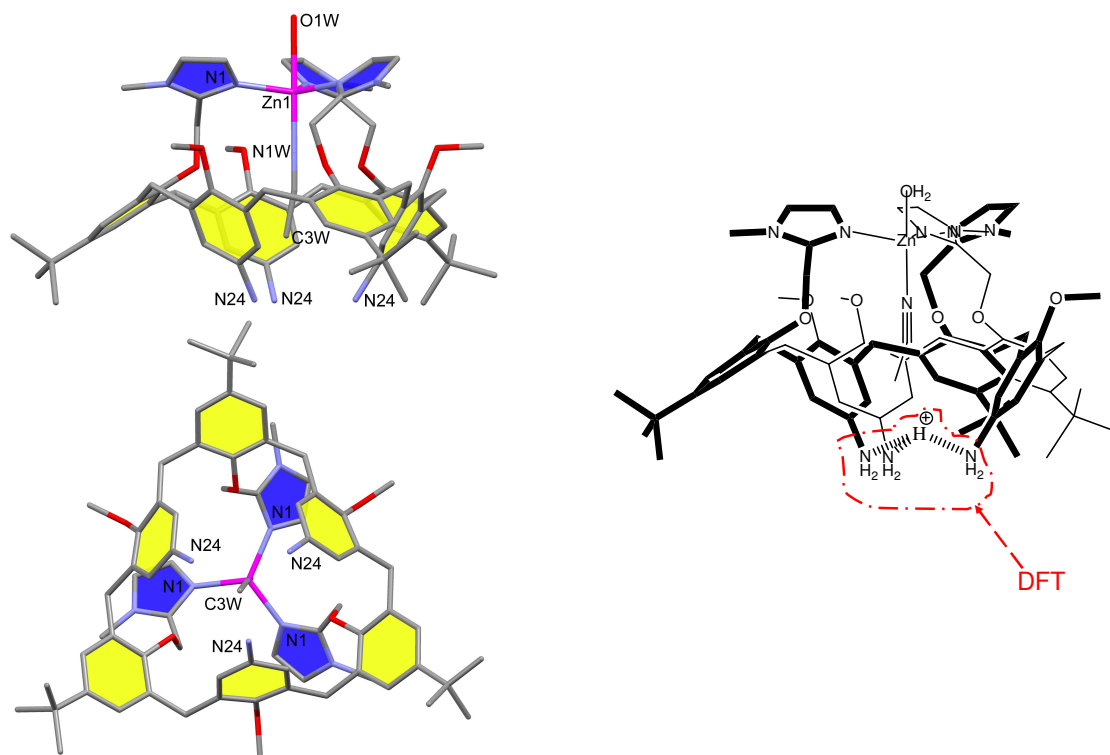


Figure 9 : Structure du complexe $[\text{Zn}(\text{NH}_2\text{calixImH}_3)(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$, $3(\text{ClO}_4^-)$ obtenue par diffraction des rayons X. A gauche : vue de côté. Les atomes d'hydrogène, les contre-ions et les solvants de cristallisation ont été omis pour des raisons de clarté. Distances entre atomes (Å) et angles (degrés) sélectionnés : Zn(1)-N(1W) 1.93(4) ; Zn(1)-N(1) 1.986(19) ; Zn(1)-O(1W) 2.41(3) ; N(1)-Zn(1)-N(1) 118.3(2) ; N(1W)-Zn(1)-N(1) 97.7(5) ; angle dièdre N(1)-Zn(1)-N(1)-N(1) 153.84 ; N(1)-Zn(1)-O(1W) 82.3(5) ; N(1W)-Zn(1)-O(1W) 180.000(9) ; N(24)···N(24) 3.48 ; C(3W)···C(17) 2.69. Reproduction de la référence 39. A droite : partition QM/MM pour l'optimisation du complexe $[\text{Zn}(\text{NH}_2\text{calixImH}_3)(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$. Le solvant (CHCl_3) traité classiquement n'est pas représenté, par ailleurs la molécule d'eau liée faiblement au zinc (2,5 Å) n'est pas incluse dans le calcul.

Le caractère très particulier de ce système rend l'utilisation de techniques quantiques incontournables. L'optimisation a donc été menée en traitant les fonctions aniline et le proton quantiquement tandis que le reste du calixarène et le solvant ont été traités classiquement (Figure 10).

L'étude a montré que la forme dans laquelle le proton est partagé entre les trois atomes d'azote, bien que possible, est énergétiquement défavorable : la protonation de l'une des trois fonctions aniline et la formation de liaisons hydrogène avec les deux autres est plus favorable énergétiquement (Figure 10, gauche). Notons que dans ce cas la moyenne des trois distances N — N s'élève à 3,49 Å, en excellent accord avec la valeur cristallographique de 3,48 Å.

Un second résultat concerne la position de la molécule d'acétonitrile dans la cavité. Comme la structure cristallographique (Figure 9), le calcul DFT/MM montre clairement la position oblique adoptée par l'acétonitrile dans la cavité (Figure 10), lequel n'est pas aligné sur l'axe de symétrie C_{3v} . La formation de liaisons hydrogène entre l'ion anilinium et les deux anilines conduit au resserrement du grand col et donc à une compression de la cavité. L'invité est donc contraint de s'adapter à l'espace disponible dans la cavité.

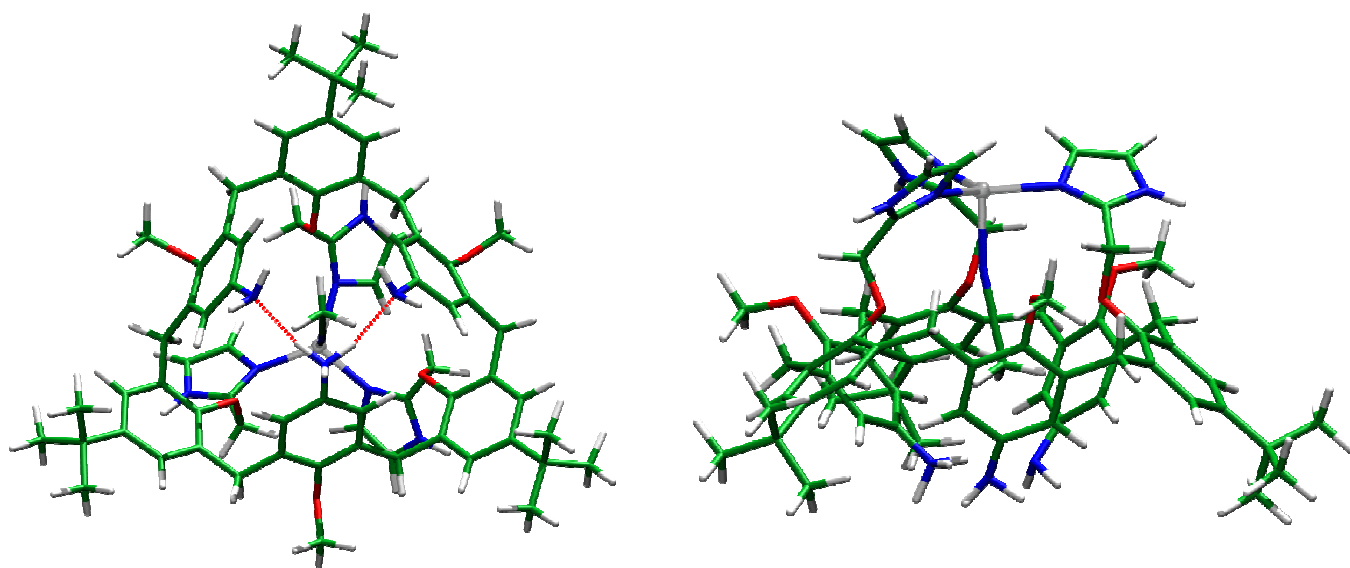


Figure 10 : Représentation du calixarène bifonctionnalisé et protoné : coordination du proton (vue de dessous, à gauche) et coordination d'acétonitrile dans la cavité (vue de côté, à droite).

Les calculs préparatoires réalisés, et dont deux exemples ont été détaillés dans les pages précédentes, ont permis d'ajuster les paramètres du protocole calculatoire pour les calculs DFT/MM. De plus, l'accumulation de concordances entre structures théoriques et expérimentales nous incite à avoir confiance dans notre méthodologie pour représenter les

effets d'environnement dans le calixarène. Notons par ailleurs que des calculs d'affinité relative d'invités pour les cavités des calixarènes ont concouru à renforcer la confiance que nous pouvons avoir dans notre jeu de paramètres.

Cet exemple valide donc pleinement l'approche hybride pour le traitement des calixarènes. Nous avons alors abordé l'étude QM/MM de la réactivité vis-à-vis du dioxygène des calixtren métallés par des ions cuivreux.

B. Dégradation du calixtren

Une fois élaborée et testée la méthode d'optimisation de géométrie au niveau DFT/MM, celle-ci a été appliquée à la modélisation du complexe $[\text{Cu}(\text{calixtren})\text{O}_2]^+$.

Tout d'abord nous nous intéressons aux adduits Cu/O_2 , puis nous porterons notre attention sur la réactivité de ces adduits vis-à-vis de l'attaque de la liaison $\text{C} - \text{H}$.

1. Coordination du dioxygène

a. Aspects géométriques

L'adduit Cu/O_2 a été optimisé dans les deux états de spin possibles, singulet ou triplet. La forme singulet est représentée sur la Figure 11 (gauche). Le Tableau 1 regroupe les principales données géométriques des adduits du complexe $[\text{Cu}(\text{Calixtren})\text{O}_2]^+$ et rappelle celles obtenues dans le Chapitre II pour complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,Me}})\text{O}_2]^+$.

Cryptant	$\text{Cu} - \text{X}$	$\text{Cu} - \text{O}$	$\text{O} - \text{O}$	CuOO	$\text{H}_{\text{eau}} - \text{O}_d$	$\text{H}_{\text{eau}} - \text{O}_p$	$\text{O}_d\text{H}_{\text{eau}}\text{O}$
tren^{H,Me}							
singulet <i>end-on</i>	2,157 ^a /2,164 ^f	1,890	1,296	112,1	-	-	-
triplet <i>end-on</i>	2,179 ^a /2,213 ^f	1,988	1,275	114,6	-	-	-
calixtren							
singulet <i>end-on</i>	2,14 ^a /2,15 ^f	1,89	1,30	111,4	1,94	2,76	169,3
triplet <i>end-on</i>	2,16 ^a /2,18 ^f	1,97	1,29	111,2	2,05	2,85	160,3

Tableau 1 : Principales données caractéristiques des adduits $[\text{Cu}(\text{Calixtren})\text{O}_2]^+_{\text{solv.}}$ et $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{H,Me}})\text{O}_2]^+$. Les distances sont en Å et les angles en degrés. Les longueurs a et f sont définies sur la Figure 11.

Pour les deux états de spin une géométrie de type bipyramide trigonale est obtenue comme lors de l'étude des modèles en phase gazeuse (Figure 11). Les longueurs de liaison $O_p - O_d$ sont faiblement allongées dans le calcul DFT/MM par rapport aux modèles en phase gazeuse. Toutefois ces variations restent très modérées et peuvent s'expliquer par la présence de la molécule d'eau qui établit une liaison hydrogène avec l'atome d'oxygène distal, ainsi qu'en témoignent les distances $H_{eau} - O_d$ de 1,94 et 2,05 Å respectivement dans les formes singulet et triplet.

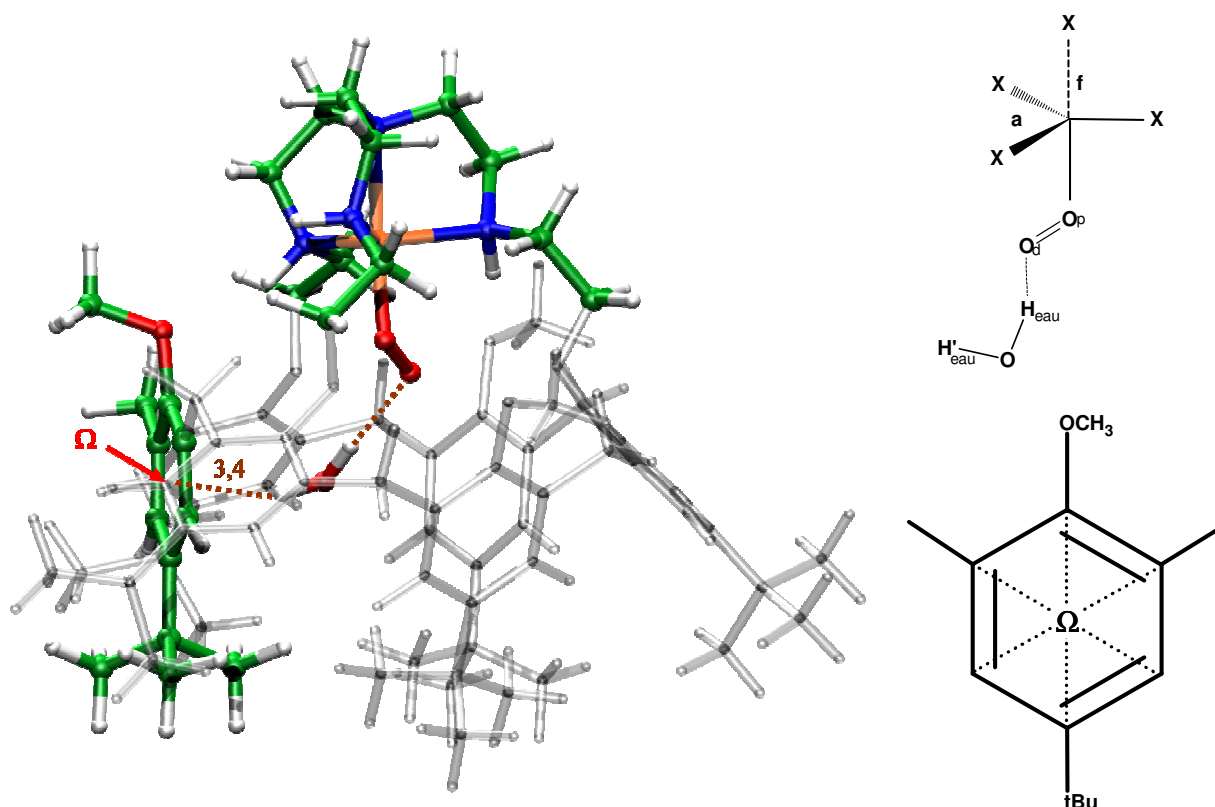


Figure 11 : Structure optimisée du complexe $[Cu(Calixtren)O_2]^+$ dans l'état singulet (à gauche, les molécules de solvant ne sont pas représentées). L'adduit Cu/O₂ est schématisé à droite (haut). Ω est défini comme le centre géométrique du cycle aromatique (droite, bas).

Les autres caractéristiques géométriques telles que les distances Cu — N et Cu — O_p indiquent là encore de fortes similitudes entre les géométries issues de calculs DFT ou DFT/MM. Les différences constatées ne sont donc pas significatives au regard des différences entre les bases utilisées (B3LYP/DZVP2 vs. B3LYP/SDD/6-31G**).

Ces optimisations de géométrie au niveau DFT/MM confirment donc *a posteriori* la qualité de la modélisation du système Cu/O₂ en phase gazeuse présentée dans le second Chapitre. Le solvant et le cône du calixarène n'ont ainsi que peu d'influence sur la géométrie

de la partie métallée en dépit des interactions électrostatiques qu'ils engendrent certainement. Dans une perspective biomimétique ce résultat est donc encourageant car il confirme la démarche suivie dans l'utilisation de calixarènes comme modèles biomimétiques. Le greffage du cône sur la partie cryptante pour empêcher sa dimérisation et ménager l'accès au centre métallique ne dénature pas l'adduit Cu/O_2 .

b. Influence de l'environnement électrostatique

Outre l'établissement d'une liaison hydrogène avec le dioxygène, il semble qu'une liaison faible s'établisse également entre l'atome d'hydrogène H'_{eau} de la molécule d'eau et l'un des cycles aromatiques du calixarène (interaction de type OH/π). En effet dans l'adduit singulet (respectivement triplet) une distance d'environ 3,1 Å (respectivement 3,2 Å) est mesurée entre l'atome d'oxygène et le centre géométrique Ω du cycle aromatique tandis que l'angle $\text{OH}'_{\text{eau}}\Omega$ avoisine 160° (respectivement 158°), valeur proche de 180° attendue pour une interaction OH/π idéale (Figure 11).

Ce type d'interaction entre une molécule d'eau et les parois de la cavité a déjà été mis en évidence à partir d'observations expérimentales (RX) sur le complexe $[\text{Zn}(\text{calixImH}_3)(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ présenté plus haut.³⁶ A ce titre il est intéressant de comparer la distance $\text{O} - \Omega$ dans l'adduit Cu/O_2 à la distance mesurée dans la structure cristallographique du complexe zincique (3,24 Å). En dépit de la nature très différente des deux complexes cette similitude plaide en faveur de l'établissement de cette interaction OH/π dans le complexe $[\text{Cu}(\text{Calixtren})\text{O}_2]^+$ et supporte la structure théorique.

Ces premiers calculs sur les adduits Cu/O_2 avec le cryptant et son environnement complet permettent donc de vérifier la capacité de notre méthode DFT/MM à décrire ce type de systèmes supramoléculaires. Certes les effets d'environnement ne semblent pas jouer un rôle structurant majeur sur la géométrie de la partie métallée du système, mais ils permettent de valider *a posteriori* les résultats obtenus dans le Chapitre II.

Dans les paragraphes suivants nous porterons notre attention sur la réactivité de ces adduits.

2. Formation de la fonction imine

Nous limiterons ici notre attention à l'attaque de la liaison $\text{C} - \text{H}$ dans l'état singulet. Cette voie réactive a été choisie car elle permettra de tester la possibilité de déformer la

partie cryptante comme cela a été observé sur le ligand tren^{Me1} (c.f. par exemple les espèces **F** et **G** du Chapitre III).

Une fois que l'état de transition a été localisé la géométrie est relaxée de part et d'autre de ce point stationnaire en suivant la coordonnée intrinsèque de réaction (IRC), puis une optimisation de géométrie complète est réalisée sur les points d'arrivé. Le processus réactif est représenté sur la Figure 12.

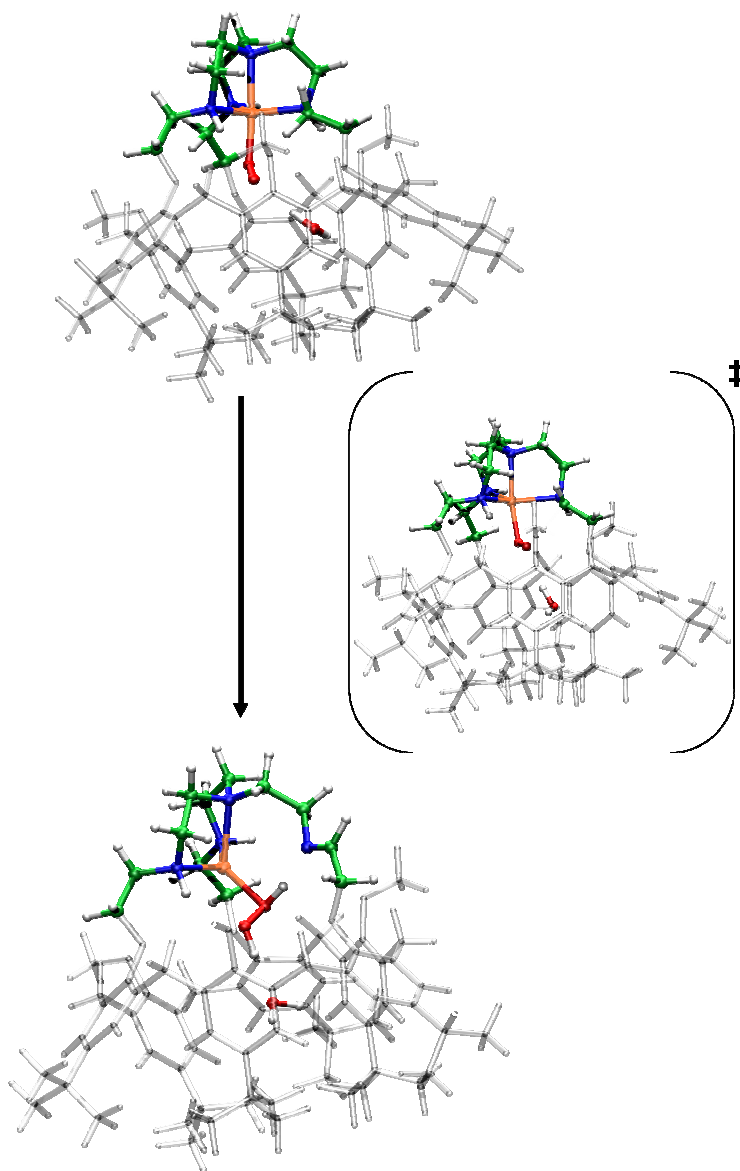


Figure 12 : Formation en une étape du peroxyde d'hydrogène à partir de l'adduit Cu/O_2 . La partie classique du calcul QM/MM est représentée en transparence. Le solvant (CHCl_3) n'est pas représenté. La barrière énergétique est évaluée à $15,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$.[†]

[†] Cette évaluation correspond à un calcul énergétique Spin-Flip (B3LYP) effectué sur la partie quantique des géométries optimisées au niveau DFT/MM.

Une première constatation importante est la formation du peroxyde d'hydrogène et de la fonction imine en une seule étape à partir de l'adduit $[\text{Cu}(\text{Calixtren})\text{O}_2]^+$. Une espèce intermédiaire similaire à l'espèce **F** (cf. Chapitre III) optimisée en phase gazeuse n'est pas rencontrée. Comme nous l'avons remarqué précédemment le passage de **F** à **G** (cf. Chapitre III) présente une barrière énergétique négligeable : le calcul sur le système complet solvato conduit donc à sa disparition complète de façon peu surprenante.

L'état de transition est ici légèrement moins tardif que dans le modèle en phase gazeuse. Le paramètre ξ , défini comme la différence $[d(\text{C} - \text{H}_\text{C}) - d(\text{O} - \text{H}_\text{C})]$ à la géométrie de l'état de transition, vaut à présent 0,39 contre 0,41 Å pour le complexe $[\text{Cu}(\text{tren}^{\text{Me1}})\text{O}_2]^+$ (Tableau 2). Cette variation n'est cependant pas significative au vu du changement de base effectué.

	A_F		TS(A_F-F)	
	tren ^{Me1} (DFT)	Calixtren (DFT/MM)	tren ^{Me1} (DFT)	Calixtren (DFT/MM)
d (O _p — O _d)	1,292	1,30	1,375	1,39
d (C — H _C)	1,090	1,09	1,495	1,49
d (H _C — O _d)	2,569	2,46	1,087	1,10
d (Cu — O _p)	1,903	1,89	1,895	1,91
d (Cu...N)	2,144	2,10	2,232	2,21
d (N — C)	1,484	1,49	1,388	1,39
ξ	-	-	0,41	0,39

Tableau 2 : Comparaison des structures impliquées dans le processus d'attaque de la liaison C — H_C par l'adduit singulet *end-on* entre le modèle en phase gazeuse (tren^{Me1}) et le calcul DFT/MM. Les distances sont en Å.

Il ressort de l'ensemble des valeurs numériques du Tableau 2 une très grande similarité entre les deux modèles. Les contraintes induites par la cage aromatique du calixarène ont donc à nouveau peu d'influence sur la géométrie de l'état de transition.

L'évaluation énergétique de la barrière de réaction constitue un exercice difficile car outre les difficultés liées aux fréquences imaginaires évoquées dans la première partie de ce Chapitre, se pose derechef la question du traitement des effets multiconfigurationnels de l'adduit et de l'état de transition. Par application de la méthode Spin-Flip sur la partie quantique de la géométrie DFT/MM, une barrière de 15,7 kcal.mol⁻¹ peut être proposée comme première évaluation. Elle est sensiblement identique à la valeur obtenue en phase

gazeuse (13 kcal.mol^{-1}) comme pouvait le laisser supposer la similitude géométrique observée entre les adduits et les états de transition obtenus par les deux approches.

Dans le produit de réaction, le cation cuivreux est tétracoordiné. La sphère de coordination du métal inclut la molécule de peroxyde d'hydrogène et le bras du calixtren portant la fonction imine nouvellement formée subit une décooordination ainsi que le suggère la distance $\text{Cu} - \text{N}$ ($3,53 \text{ \AA}$). La fonction imine est par ailleurs stabilisée par liaison hydrogène avec le peroxyde d'hydrogène (oxygène proximal). Nous obtenons donc une conformation plusieurs fois rencontrée précédemment pour des cations cuivreux complexés par des ligands XN_3 : pour lier un ligand externe (H_2O , H_2O_2 , CO , CH_3CN), il est nécessaire de procéder à la décooordination de l'un des bras du ligand chélatant ou de l'atome en clef de voûte. Alors que nous avons pu nous interroger dans les Chapitres précédents sur la pertinence des géométries obtenues en phase gazeuse du fait de la contrainte exercée sur les bras par l'ensemble du calixarène, le calcul complet QM/MM valide pleinement les résultats obtenus avec les ligands σ -donneurs (H_2O) et σ -donneurs/ π -accepteurs (CH_3CN et CO). La contrainte stérique induite par la structure en couronne du calix n'est donc pas suffisante pour empêcher la décooordination d'un des bras du centre métallique.

Remarquons enfin que le peroxyde d'hydrogène participe à une seconde liaison hydrogène avec la molécule d'eau, elle-même en interaction OH/π avec deux cycles aromatiques.

CONCLUSION

Dans ce Chapitre nous avons présenté une méthodologie hybride appartenant à la famille des méthodes dites additives et capable d'optimiser des complexes Cu/O_2 à un niveau DFT/MM. Son application à divers complexes calixaréniques a permis d'une part de valider cette approche méthodologique, et, d'autre part, d'obtenir des structures optimisées reproduisant fidèlement les données expérimentales, les complétant éventuellement.

Fort des succès acquis, la méthode a été appliquée au complexe $[\text{Cu}(\text{Calixtren})\text{O}_2]^+$. Il a alors été montré que la cage du calixarène n'a qu'une faible influence sur la géométrie du site métallé, que cela concerne les adduits Cu/O_2 ou les intermédiaires de réaction. Il convient donc de ne pas conférer à la cage du calixarène un caractère exagérément contraignant sur la partie cryptante au niveau du petit col.

Ainsi se trouve pleinement justifié le principe originel sur lequel repose l'élaboration de cette famille de ligands biomimétiques : le greffage d'une cavité hydrophobe à un ligand cryptant permet de protéger le centre métallique des réactions parasites telles que la dimérisation des adduits, sans pour autant perturber la chimie s'y déroulant.

Par ailleurs ces calculs QM/MM valident pleinement l'approche "phase gazeuse" employée dans les deux Chapitres précédents pour modéliser les chapeaux des calixarènes par de petits ligands tripodes.

L'approche QM/MM a enfin été appliquée avec succès à l'étude du processus réactif d'attaque de la liaison C — H. Son application à la liaison N — H est actuellement en cours et devrait permettre de mettre rapidement en compétition les deux chemins. Rappelons qu'ils avaient été trouvés pleinement compétitifs dans le Chapitre III : l'évaluation des barrières d'activation dans le système complet est donc un défi particulièrement motivant.

Dans la dernière partie du Chapitre III nous avons extrapolé un certain nombre de conclusions obtenues sur la réactivité du modèle tren^{Me1} aux enzymes à cuivre. Il y est en apparu en particulier que suite à l'attaque de la liaison C — H du substrat, un transfert électronique du centre Cu_H vers le centre Cu_M permettrait de compléter en une seule étape le processus d'hydroxylation. Cette hypothèse mérite un examen approfondi et une étude de ce phénomène doit vraisemblablement impliquer un modèle comportant un grand nombre d'atomes. Nous nous proposons donc d'aborder cette question au cours du dernier Chapitre, dernière étape de notre parcours multiéchelle, au cours duquel l'ensemble des constituants de la PHM sera considéré.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ "Theoretical Studies of Enzymic Reactions: Dielectric, Electrostatic and Steric Stabilization of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysozyme", A. Warshel, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **1976**, 103, 227 - 249.
- ² "Elucidating the Nature of Enzyme Catalysis Utilizing a New Twist on an Old Methodology: Quantum Mechanical-Free Energy Calculations on Chemical Reactions in Enzymes and in Aqueous Solution", P. A. Kollman, B. Kuhn, O. Domini, M. Peräkylä, R. V. Stanton, D. Bakowies, *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 72 - 79.
- ³ "A Combined Ab Initio Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Method for Carrying out Simulations on Complex Molecular Systems: Applications to the $\text{CH}_3\text{Cl} + \text{Cl}^-$ Exchange Reaction and Gas Phase Protonation of Polyethers", U. C. Singh, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **1986**, 7, 718 - 730.
- ⁴ "Transition Structure Selectivity in Enzyme Catalysis: a QM/MM Study of Chorismate Mutase", S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *Theor. Chem. Acc.* **2001**, 3, 207 - 212.
- ⁵ "A QM/MM Study of the Racemization of Vinylglycolate Catalyzed by Mandelate Racemase Enzyme", M. García-Viloca, A. Gonzales-Lafont, J. M. Lluch, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 709 - 721.
- ⁶ "Simulating Enzyme Reactions: Challenges and Perspectives", M. J. Field, *J. Comput. Chem.* **2002**, 23, 48 - 58.
- ⁷ "Theoretical Insights in Enzymes Catalysis", S. Martí, M. Roca, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 98 - 107.
- ⁸ "A combined quantum mechanical and molecular mechanical potential for molecular dynamics simulations", M. Field, P. A. Bash, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 700 - 733.
- ⁹ "IMOMM: A new integrated ab initio + molecular mechanics geometry optimization scheme of equilibrium structures and transition states", F. Maseras, K. Morokuma, *J. Comput. Chem.* **1995**, 16, 1170 - 1179.
- ¹⁰ "ONIOM: A Multilayered Integrated MO + MM Method for Geometry Optimizations and Single Point Energy Predictions. A Test for Diels-Alder Reactions and $\text{Pt}(\text{P}(\text{t-Bu})_3)_2 + \text{H}_2$ Oxidative Addition", M. Svensson, S. Humbel, R. D. J. Froese, T. Matsubara, S. Sieber, K. Morokuma, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 19357 - 19363.
- ¹¹ "Theoretical Evaluation of Steric Effects in $[\text{ReH}_5(\text{PR}_3)_2(\text{SiR}_3)_2]$ Complexes with the IMOMM Method", G. Barea, F. Maseras, Y. Jean, A. Lledós, *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 6401 - 6405.
- ¹² "Cis,trans,cis or All-cis Geometry in d^{10} Octahedral Dioxo Complexes. An IMOMM Study of the Role of Steric Effects", G. Barea, A. Lledós, F. Maseras, Y. Jean, *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 3321 - 3325.
- ¹³ "Unraveling the origin of Regioselectivity in Rhodium Diphosphine Catalyzed Hydroformylation. A DFT QM/MM Study", J. J. Carbó, F. Maseras, C. Bo, P. W. N. M. van Leeuwen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7630 - 7637.
- ¹⁴ "The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] Potential Functions for Proteins, Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin", W. L. Jorgensen, J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1657 - 1666.
- ¹⁵ "OPLS potential functions for nucleotide bases. Relative association constants of hydrogen-bonded base pairs in chloroform", J. Pranata, S. Wierschke, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 2810 - 2819.

-
- ¹⁶ "Improving the QM/MM Description of Chemical Processes: A Dual Level Strategy To Explore the Potential Energy Surface in Very Large Systems", S. Martí, V. Moliner, I. Tuñón, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, 1, 1008 - 1016.
- ¹⁷ "The Generation and Use of Delocalized Internal Coordinates in Geometry Optimization", J. Baker, A. Kessi, B. Delley, *J. Chem. Phys.* **1996**, 105, 192 - 212.
- ¹⁸ "An Approach to Computing Electrostatic Charges for Molecules", U. C. Singh, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **1984**, 5, 129 - 145.
- ¹⁹ "Atomic charges Derived from Semiempirical Methods", B. H. Bresler, K. M. Merz Jr, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 431 - 439.
- ²⁰ "A Combined Ab Initio Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Method for Carrying out Simulations on Complex Molecular Systems: Applications to the CH₃Cl + Cl Exchange Reaction and Gas Phase Protonation of Polyethers", U. C. Singh, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **1986**, 7, 718 - 730.
- ²¹ "A Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potential for Molecular Dynamics Simulations", M. J. Field, P. A. Bash, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 700 - 733.
- ²² "Frontier Bonds in QM/MM Methods: A Comparison of Different Approaches", N. Reuter, A. Dejaegere, B. Maigret, M. Karplus, *J. Phys. Chem. A*, **2000**, 104, 1720 - 1735.
- ²³ "Quantum Mechanical Computations on Very Large Molecular Systems: The Local Self-Consistent Field Method", V. Thery, D. Rinaldi, J. -L. Rivail, B. Maigret, J. J. Ferenczy, *J. Comput. Chem.* **1994**, 15, 269 - 282.
- ²⁴ "Hybrid Classical Quantum Force Field for Modeling Very Large Molecules", G. Monrad, M. Loos, V. Thery, K. Baka, J. -L. Rivail, *Int. J. Quantum Chem.* **1996**, 58, 153 - 159.
- ²⁵ "A Generalized Hybrid Orbital (GHO) Method for the Treatment of Boundary Atoms in Combined QM/MM Calculations", J. Gao, P. Amara, C. Alhambra, M. J. Field, *J. Phys. Chem. A*, **1998**, 102, 4714 - 4721.
- ²⁶ Pour exemple : "Modèles Supramoléculaires de Cupro-Enzymes à Sites Monomoléculaires. Synthèse, Caractérisation et Réactivité de Complexes Basés sur des Calix[6]Arènes", G. Izzet, **2004**, Thèse de Doctorat de l'Université Paris XI Orsay.
- ²⁷ *Gaussian 03*, Revision A.1, J. A. Pople et al. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2003**.
- ²⁸ "The Dynamo Library for Molecular Simulations Using Hybrid Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potentials", M. J. Field, M. Albe, C. Bret, F. Proust de Martin, A. Thomas, *J. Comput. Chem.* **2000**, 21, 1088 - 1100.
- ²⁹ "A Practical Introduction to the Simulation of Molecular Systems", M. J. Field, Cambridge University Press, **1999**.
- ³⁰ "Etudes de Molécules Extractantes en Solution et aux Interfaces Liquide-Liquide : Aspects Structuraux et Mécanistiques des Effets de Synergie", M. Baaden, **2000**, thèse de doctorat de l'Université Strasbourg I - Louis Pasteur.
- ³¹ "OPLS All-Atom Model for Amines : Resolution of the Amine Hydration Problem", R. C. Rizzo, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 4827 - 4836.
- ³² "Protonation of the Copper(I) Form of the Blue Copper Proteins Plastocyanin and Amicyanin – A Molecular Dynamics Study", C. Buning, P. Comba, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 1267 - 1273.

-
- ³³ "Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water", W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, 79, 926 - 935.
- ³⁴ "Application of the RESP Methodology in the Parametrization of Organic Solvents", T. Fox, P. A. Kollman, *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 8070 - 8079.
- ³⁵ "Cu and Ag as One-Valence-Electron atoms: CI Results and Quadrupole Corrections for Cu₂, Ag₂, CuH, and AgH", H. Stoll, P. Fuentealba, P. Schwerdtfeger, J. Flad, L. v. Szentpály, H. Preuss, *J. Chem. Phys.* **1984**, 81, 2732 - 2736.
- ³⁶ "Supramolecular Stabilization of a Tris(imidazolyl)Zn—Aqua Complex Evidenced by X-Ray Analysis: A Structural Model for Mono-Zinc Active Sites of Enzymes", O. Sénèque, M. -N. Rager, M. Giorgi, O. Reinaud, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8442 - 8443.
- ³⁷ "The Key Role of the Polarization Anisotropy of Water in Modeling Classical Polarizable Force Fields", J-P Piquemal, R. Chelli, P. Procacci, N. Gresh, *J. Phys. Chem. A.*, **2007**, ASAP, DOI : 10.1021/jp072687g
- ³⁸ "Structure of Native and Apo Carbonic Anhydrase II and Structure of Some of Its Anion-Ligand Complexes", K. Håkansson, M. Carlsson, L. A. Svensson, A. Liljas, *J. Mol. Biol.* **1992**, 227, 1192 - 1204.
- ³⁹ "Nouveaux Récepteurs Biomimétiques Basés sur des Calix[6]arènes Complexant un Ion Métallique : Effets de la Fonctionnalisation du Grand Col sur l'Hydrosolubilité et la Sélectivité des Récepteurs", D. Coquière, **2006**, thèse de Doctorat de l'Université Paris Descartes, Paris 5.

CHAPITRE V

TRANSFERT ELECTRONIQUE DANS LA PHM

UN ALLER SIMPLE POUR LE SITE Cu_M

INTRODUCTION	271
I. DU TRANSFERT ELECTRONIQUE DANS LES PROTEINES	272
A. Théorie de Marcus	272
B. Transferts aqueux	278
II. TRANSFERT ELECTRONIQUE A LONGUE DISTANCE DANS LA PHM	280
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	<i>293</i>

TRANSFERT ELECTRONIQUE DANS LA PHM

UN ALLER SIMPLE VERS LE SITE Cu_M

INTRODUCTION

Après avoir modélisé les phénomènes d'activation du dioxygène et la réactivité des adduits qui en découle, nous nous intéressons dans ce dernier Chapitre à un autre phénomène physico-chimique ayant lieu dans la PHM et la D β M : le transfert électronique à longue distance dans les enzymes. La place de cette partie dans l'architecture globale de ce manuscrit est doublement justifiée. D'une part ce processus trouve sa place dans le processus d'hydroxylation ultérieurement aux étapes d'activation du dioxygène et d'attaque du substrat (*c.f.* Chapitre I), il est donc naturel de retrouver cette séquence dans ce travail de modélisation. D'autre part, notre travail de modélisation reposant sur une démarche de complexification croissante des modèles, l'étude de cette étape, qui met en jeu plusieurs centaines d'atomes, trouve naturellement sa place en fin de rédaction.

Dans le premier Chapitre nous avons mentionné la distance séparant les deux centres actifs enzymatiques de la PHM et de la D β M, ainsi que découplage qui en découlait. Le transfert électronique devant intervenir au cours du cycle catalytique procède selon un chemin à longue distance du site Cu_H vers le site Cu_M . Récemment des expériences biochimiques ont conduit à proposer le recours aux molécules d'eau séparant les deux sites Cu_M et Cu_H comme vecteurs de transfert pour l'électron.¹

Ce type de phénomène physico-chimique constitue par ailleurs un champ d'investigation particulièrement actif pour la communauté scientifique.^{2,3,4,5,6,7} Ouvert dès la fin des années 1950 avec l'établissement de la théorie du transfert électronique de Marcus,⁸ ce n'est que dans les années 1980 que son prolongement dans le domaine enzymatique s'est opéré.^{5,9,10,11} La compréhension de ces phénomènes demeure toutefois lacunaire et suscite de ce fait de nombreuses études théoriques ou expérimentales. Parmi les aspects qui font actuellement l'objet de recherche active, l'influence de l'eau dans les transferts en milieu aqueux est particulièrement étudiée.^{3,5,12,13,14,15,16}

L'étude de ce phénomène dans le cas de la PHM ou la D β M revêt donc un intérêt plus large que la seule description particulière à ces deux enzymes puisqu'elle pourrait

contribuer plus généralement à la meilleure compréhension de ces phénomènes intrigants pourtant fréquemment rencontrés en biologie.

Ce Chapitre est organisé en deux parties. Dans un premier temps nous rappelons les principaux ressorts de la théorie de Marcus des transferts électroniques. La seconde partie traite plus spécifiquement de l'étude que nous avons entreprise sur la PHM au moyen de simulations de dynamiques moléculaires. Cette étude fournit *in fine* une rationalisation plausible du transfert entre les centre Cu_H et Cu_M et permet de dégager le rôle de certains résidus de la cavité dans l'optimisation de ce processus.

I. DU TRANSFERT ELECTRONIQUE DANS LES PROTEINES

C'est au cours de la deuxième moitié des années 1950 qu'a émergé la théorie moderne du transfert électronique décrivant ce phénomène entre un donneur d'électron **D** et un accepteur **A**. Elle est en fait le fruit de plusieurs recherches menées indépendamment par R. A. Marcus, N. S. Hush, V. G. Levich et R. R. Dogonadze, mais c'est à R. A. Marcus qu'a été reconnue la contribution majeure par l'élaboration de la théorie éponyme. Dans la première partie de ce Chapitre nous détaillons donc les concepts clés de cette théorie en les appliquant aux processus qui nous intéressent plus particulièrement.

A. Théorie de Marcus

1. Equations semi-classiques

L'idée originelle de la théorie de Marcus repose sur la transposition aux processus de transfert électronique du principe de Franck-Condon bien connu en spectroscopie. Ce principe suppose que le transfert d'électron a lieu à géométrie constante des noyaux atomiques. Dans le cadre de l'approximation de Born Oppenheimer les états initial $\{\mathbf{D}, \mathbf{A}\}$ et final $\{\mathbf{D}^+, \mathbf{A}^-\}$ sont chacun représentés par une surface d'énergie potentielle propre (Figure 1). L'application du principe de conservation de l'énergie implique que le transfert électronique ne peut se faire qu'au croisement de ces deux surfaces. Cet élément constitue de fait une différence fondamentale entre les phénomènes de transition électronique observés en spectroscopie et les phénomènes de transfert électronique. On dit que ces derniers ont lieu "dans le noir". Dans l'approche de Marcus, les fluctuations thermiques des noyaux doivent permettre d'atteindre le plus fréquemment possible le point de croisement des deux surfaces pour que le transfert ait lieu. En d'autres termes, il convient que le temps

caractéristique des fluctuations thermiques des noyaux soit beaucoup plus court que le temps caractéristique de la transition électronique. Cette remarque restreint ainsi la validité de la théorie de Marcus aux domaines de température suffisamment élevée qui permettent de remplir cette condition.

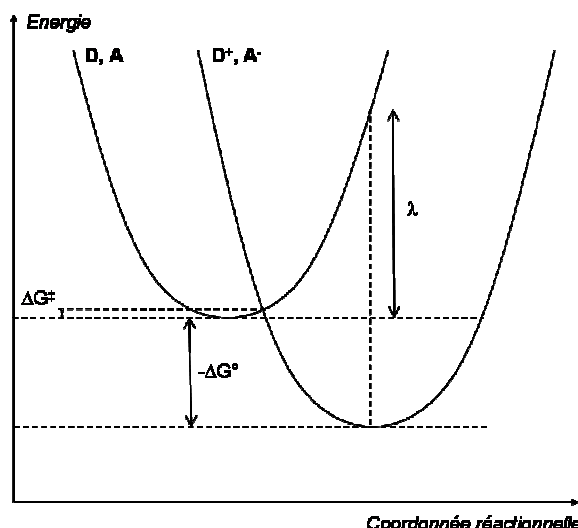


Figure 1 : Illustration de l'approche semi-classique proposée par Marcus pour expliquer les transferts électroniques entre molécules.

Bien que différente de celle fournie par la Théorie de l'Etat de Transition, l'approche de Marcus permet une représentation du transfert électronique qui en est voisine.¹⁷ En réalité, la théorie de Marcus suppose dans une première étape, la formation du pré-complexe **DA** à partir des espèces séparées en solution, de sorte que la réaction de transfert électronique proprement dite soit un processus monomoléculaire. Sur la Figure 1 la position relative des deux paraboles permet la définition de deux grandeurs caractéristiques. La première est la force motrice de la réaction ΔG° définie comme la différence d'enthalpie libre entre les complexes **DA** et **D⁺A⁻**. La seconde est l'énergie de réorganisation λ qui traduit le coût énergétique des modifications des positions nucléaires lors du processus de transfert. Ce terme recouvre aussi bien les variations géométriques à l'intérieur des partenaires de la réaction (par exemple les distances métal-ligands) que l'adaptation spatiale des molécules environnantes (par exemple de solvant). Sur la Figure 1 la coordonnée de réaction, en abscisses, est dite globale c'est-à-dire qu'elle exprime le déplacement des noyaux dans leur ensemble. Un équilibre entre la force motrice et l'énergie de réorganisation détermine la géométrie de l'état de transition et la hauteur de la barrière d'activation du processus ΔG^\ddagger . Dans l'approximation semi-classique ce terme prend l'expression suivante :

$$\Delta^\ddagger G = \frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda}$$

Relation 1 : Expression de l'enthalpie libre d'activation dans un traitement semi-classique du transfert électronique.

La Relation 2 fournit ainsi une vision proche d'un processus monomoléculaire dans la Théorie de l'Etat de Transition : la constante de vitesse est exprimée comme le produit d'un facteur pré-exponentiel et d'une exponentielle en $-\Delta G^\ddagger$ (énergie d'activation) divisée par le facteur RT .

$$k_{ET} = \sqrt{\frac{4\pi^3}{h^2 \lambda RT}} H_{DA}^2 \exp\left(-\frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right)$$

Relation 2 : Constante de vitesse de transfert électronique dans l'approche semi-classique de Marcus.

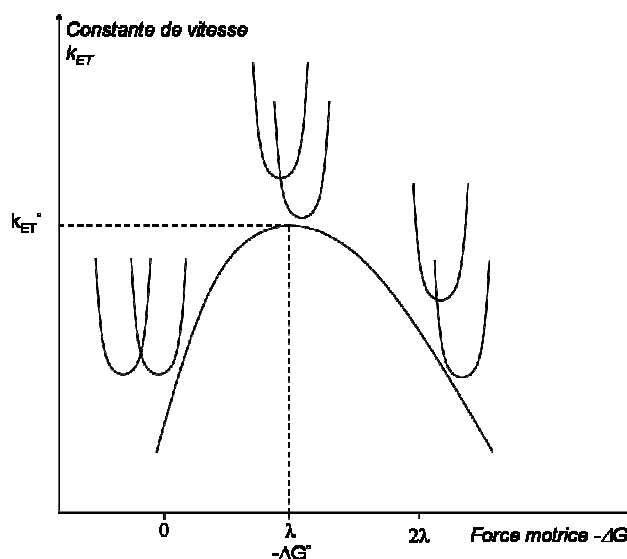


Figure 2 : Dépendance de la constante de vitesse k_{ET} en fonction de la force motrice ΔG^0 à distance D — A fixe.

L'analyse des Relations 1 et 2 indique que le transfert est optimal d'un point de vue cinétique pour $\Delta G^0 = \lambda$ (Figure 2). Dans ce cas, le croisement des surfaces a lieu pour une configuration nucléaire idéale pour le pré-complexe **DA**. Le transfert se fait donc sans barrière énergétique. De part et d'autre de cette position optimale, la variation de la force motrice implique une augmentation de l'énergie d'activation et donc une diminution de la constante de vitesse. La partie gauche du diagramme est appelée *région normale* et celle de

droite *région inverse*, en principe toutes deux symétriques par rapport à la droite d'équation $x = \lambda$. Il a été constaté expérimentalement que la décroissance de k_{ET} est en fait plus rapide dans la région normale que dans la région inverse. Cette constatation a été expliquée par la présence d'effets quantiques plus prononcés dans la zone inverse (effets tunnel) que dans la zone normale. La prédiction de ces deux régimes et leur confirmation expérimentale est l'une des raisons du succès historique de la théorie de Marcus.⁹

Intéressons-nous à présent au facteur pré-exponentiel de la Relation 2. Il contient un terme appelé couplage électronique H_{DA} qui revêt une importance toute particulière dans les processus de transfert à longue distance.

2. Couplage électronique

a. Décroissance exponentielle

Le couplage électronique H_{DA} , parfois appelé intégrale de transfert, reflète l'amplitude de l'interaction entre les fonctions d'ondes des états DA et D^+A^- à la géométrie de l'état de transition (Relation 3). En ce point les deux états sont dégénérés, si bien qu'ils interagissent et donnent lieu à la représentation de la Figure 3 dans laquelle le croisement de surfaces est évité.

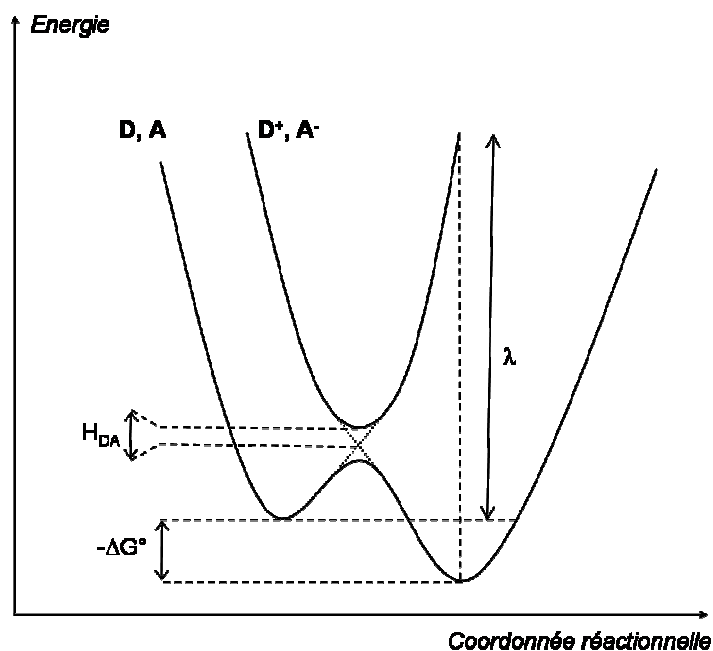


Figure 3 : Croisement de surfaces évité à la géométrie de l'état de transition.

L'amplitude de la séparation entre les deux surfaces est d'autant plus grande qu'augmente la valeur du couplage électronique. Cet écart énergétique définit ainsi une

seconde restriction du domaine de validité de la théorie semi-classique de Marcus qui se limite aux systèmes dans lesquels le couplage électronique est faible. En pratique cette condition est généralement remplie lorsque l'on traite de phénomènes de transferts à longue distance. Le lien entre efficacité du transfert électronique (au sens cinétique du terme) et distance séparant les partenaires du processus apparaît donc en filigrane du terme H_{DA} .

$$\langle H_{DA} \rangle = \langle \Psi_{D^+ A^-} | \hat{H} | \Psi_{D A} \rangle$$

Relation 3 : Définition du couplage électronique entre les fonctions d'onde Ψ_{DA} et $\Psi_{D^+A^-}$. \hat{H} est l'opérateur hamiltonien du système.

Hopfield a le premier proposé une relation permettant d'évaluer l'évolution du couplage électronique et donc de la constante de vitesse en fonction de cette distance (Relation 4).¹⁸

$$\langle H_{DA} \rangle^2 = \langle H_{DA}^\circ \rangle^2 e^{-\beta r}$$

Relation 4 : Evolution du couplage électronique en fonction de la distance. r est la distance séparant le donneur (D) et l'accepteur (A) d'électron. $\langle H_{DA}^\circ \rangle$ est la valeur du couplage électronique pour $r = 0$ Å (contact direct entre les partenaires) et β est une grandeur caractéristique du système.

La décroissance exponentielle caractérisée par le facteur β est conforme à l'intuition qui suggère une diminution de l'efficacité du transfert électronique au fur et à mesure qu'augmente la distance $D - A$. A titre d'exemple, β a été évalué pour des transferts électroniques à travers le vide ($3-5 \text{ Å}^{-1}$), l'eau ($1,65 \text{ Å}^{-1}$) ou encore le 2-méthyltétrahydrofurane ($1,2 \text{ Å}^{-1}$).¹¹

Cette approche convient finalement bien pour estimer le couplage électronique à travers des milieux homogènes mais s'avère inapte à décrire un flux d'électron à travers des milieux inhomogènes, tels que ceux observés dans les protéines. Il est toutefois juste de faire remarquer l'existence de débats entre les partisans d'approches d'inspiration inhomogènes, mettant l'accent sur l'existence de conduits au travers desquels transitent les électrons, et les partisans d'approches moyennes pour lesquels les milieux séparant le donneur de l'accepteur peuvent toujours être ramenés à un milieu "moyen" au travers duquel transite l'électron.^{6,7}

b. Evaluation théorique

b.1. Modèles empiriques de Beratan

L'estimation du couplage électronique défini par la Relation 3 n'est pas triviale puisqu'elle fait intervenir en principe un grand nombre d'atomes.¹⁹ C'est donc naturellement que les premières tentatives d'évaluation ont eu recours à des modèles empiriques.

Le modèle de Beratan, proposé à la fin des années 1980, se place dans l'idée que l'électron suit le chemin permettant d'optimiser le rapport "longueur du chemin"/"couplage électronique".^{20,21,22} Dans ce cadre empirique, si un chemin de transfert électronique entre le donneur et l'accepteur est identifiable, il est divisé en une succession de sous-unités dont chacune dépend du type de transfert électronique associé, à savoir *via* une liaison covalente, une liaison hydrogène ou directement à travers le vide. A chacun de ces trois modes est associé un facteur d'atténuation, notés respectivement ϵ_c , ϵ_h et ϵ_s , calculés selon l'ensemble de relations suivant: (Relation 5).

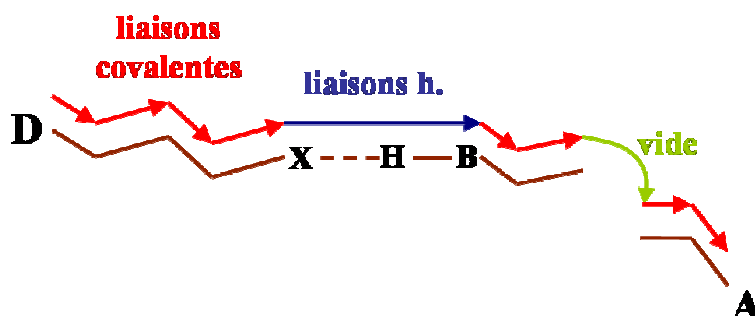


Figure 4 : Subdivision du chemin de transfert électronique entre un donneur D et un accepteur A.

$$\epsilon_c = 0.6$$

$$\epsilon_h = \epsilon_c^2 \exp[-1.7(R - 2.8)]$$

$$\epsilon_s = \epsilon_c \exp[-1.7(R - 1.4)]$$

$$\langle H_{DA} \rangle^2 = \langle H_{DA}^0 \rangle^2 \cdot \prod_{i=1}^{N_c} (\epsilon_c)_i \prod_{j=1}^{N_h} (\epsilon_h)_j \prod_{k=1}^{N_s} (\epsilon_s)_k$$

Relation 5 : Facteurs d'atténuation ϵ calculés en fonction du type de transfert électronique dans le modèle de Beratan. $\langle H_{DA}^0 \rangle$ est la valeur du couplage électronique pour $r = 0$ Å (contact direct entre les partenaires). R est la distance entre les deux extrémités de la sous-unité. ²²

Le facteur d'atténuation pour l'intégralité du chemin (atténuation globale) est obtenu par multiplication des différentes contributions. Le chemin optimisant la cinétique du transfert électronique est alors défini par celui dont le facteur d'atténuation global est le plus faible. En pratique des algorithmes de recherche testent les différents chemins possibles afin de déterminer le plus efficace.

Cette méthode très simple dans le principe et dans l'implémentation a permis de nombreuses avancées dans la compréhension des processus ayant lieu dans les milieux biologiques. Elle demeure encore largement employée à ce jour.^{3,16}

b.2. Evaluations semi-empiriques, *ab-initio* et DFT

L'évaluation exacte de l'intégrale de la Relation 3 est tentante si l'on recherche une évaluation précise du couplage électronique. En réalité la taille des systèmes étudiés interdit généralement la prise en compte *in extenso* des atomes impliqués dans un processus de transfert électronique donné. Une première analyse du chemin à l'aide de la méthode empirique de Beratan permet cependant de définir les atomes participant aux chemins de transfert principaux. Dans le cas où ce nombre n'est pas trop élevé, un calcul quantique peut être opéré sur cet ensemble. A cet effet, diverses méthodologies peuvent être employées mais se sont jusqu'à présent bornées aux méthodes semi-empiriques qui proposent un rapport qualité/prix attrayant.^{3,23} Récemment plusieurs groupes ont proposé des formalismes permettant le calcul du couplage électronique dans les approches HF ou DFT.^{15,24,25,26} Nul doute que grâce à l'amélioration des capacités des ordinateurs, ces méthodes constitueront des standards à l'avenir.

B. Transferts aqueux

Avant de nous intéresser au cas particulier de la PHM nous voudrions d'abord attirer l'attention sur de récentes investigations effectuées en vue de mieux cerner le rôle des molécules d'eau, en tant que solvant, dans les processus de transfert électronique. Considérons le transfert entre un donneur et un accepteur séparés par une distance R . Lorsque le transfert a lieu à travers un "*bulk*" de molécules d'eau le couplage électronique $\langle H_{DA} \rangle^2$ décroît linéairement avec $e^{-\beta R}$ (Relation 4). Il a cependant été constaté dans certains cas à partir de mesures expérimentales ou de modélisations théoriques que la décroissance du couplage électronique avec la distance était moins rapide.^{1,11,12,13,14,15,16}

Un travail publié par Beratan *et coll.* apporte une explication convaincante à ces singularités.³ En effet, en étudiant la cinétique de transfert inter-électronique entre deux cytochromes *b5* à distance et orientation relatives variables, les auteurs ont mis en évidence l'existence de trois régimes gouvernant le phénomène (Figure 5).³

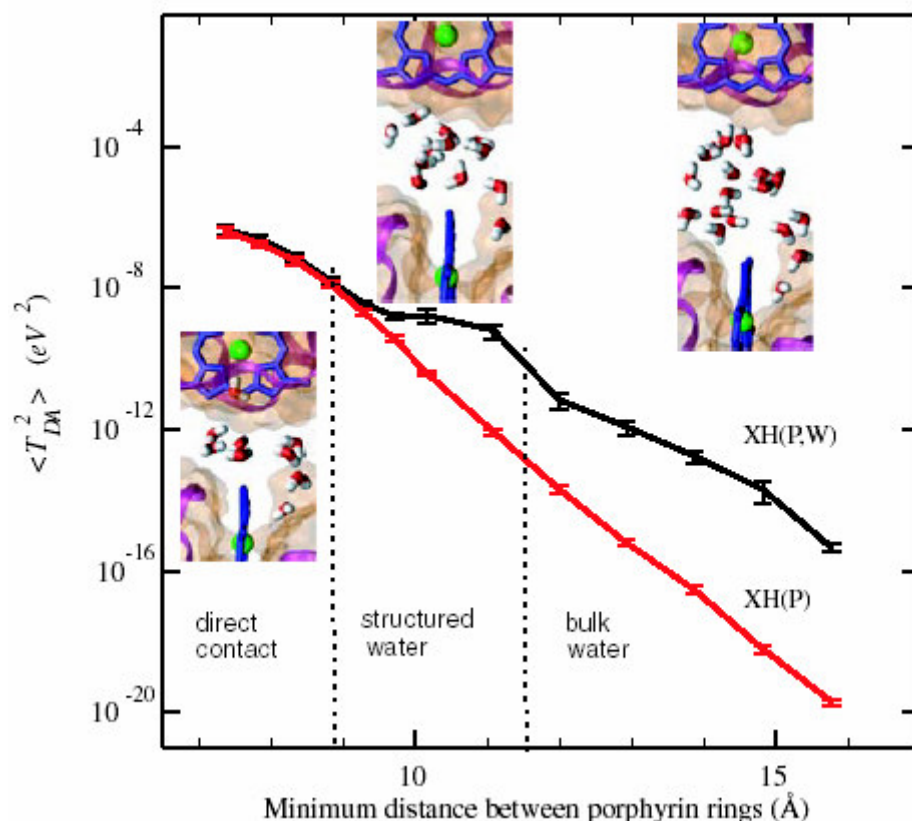


Figure 5 : Mise en évidence de trois régimes gouvernant le transfert électronique entre deux cytochromes *b5* en fonction de la distance les séparant. Le calcul du couplage électronique prend alternativement en compte les molécules d'eau (PW en noir), ou non (P en rouge). XH : Extended Hückel, P : Protein, W : Water. Reproduction de la référence 3.

A courte distance ($R < 9 \text{ Å}$), le transfert électronique est gouverné par les interactions directes entre les deux protéines. Les quelques molécules d'eau séparant les deux cytochromes n'ont pas d'influence sur la cinétique puisque les courbes noires (calcul les prenant en compte) et rouge (calcul les excluant du calcul) se superposent.

A grande distance ($R > 12 \text{ Å}$), on retrouve une décroissance du couplage électronique avec la distance R cohérente avec un processus habituel de transfert à travers un solvant aqueux.

En revanche, entre 9 et 12 Å, la courbe noire exhibe un plateau indiquant une meilleure efficacité du transfert électronique. Puisque la courbe rouge, qui correspond au

calcul ne prenant pas en compte les molécules d'eau, ne montre pas ce type de plateau, les auteurs attribuent cette exaltation de la conductivité électrique entre 9 et 12 Å à la formation d'un petit réseau de molécules d'eau. A l'inverse du "*bulk*" de solvant qui aboutit au final à un couplage électronique moyen, le transfert à travers un petit nombre de molécules d'eau permet de créer un chemin particulièrement efficace pour le transfert électronique.

Les auteurs de cette étude concluent en faisant l'hypothèse que certaines protéines pourraient organiser la formation de ce type de réseaux aqueux dans le but d'accélérer ces phénomènes de transfert électronique.

Comme nous l'avons signalé dans le Chapitre I, une étude de Klinman *et coll.* menée sur la PHM semble indiquer un transfert électronique *via* quelques molécules d'eau au vu de diverses considérations d'ordre cinétiques.¹ Néanmoins aucune description moléculaire de ce phénomène n'a pour l'instant été proposée. C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris sa modélisation au moyen de techniques de Dynamique Moléculaire. Les résultats de cette étude sont présentés dans les pages suivantes.

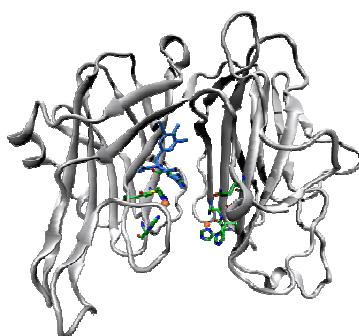
II. TRANSFERT ELECTRONIQUE A LONGUE DISTANCE DANS LA PHM

Long Distance Electron Transfer Mechanism in Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase (PHM): a perfect Fitting for a Water Bridge.

A. de la Lande, S. Martí, O. Parisel, V. Moliner
J. Am. Chem. Soc. **2007**, 129, 11700

**Long Distance Electron Transfer Mechanism in
Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase (PHM):
a perfect Fitting for a Water Bridge.**

Aurélien de la Lande,^{‡, #} Sergio Martí,[‡] Olivier Parisel,[#] Vicent Moliner,^{‡, *}



[‡] Departament de Química Física i Analítica, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, SPAIN

[#] Laboratoire de Chimie Théorique, UMR 7616 CNRS/UPMC, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Case Courrier 137, 4 place Jussieu, F. 75252 Paris Cedex 05, FRANCE

EMAIL ADDRESS FOR CORRESPONDING AUTHOR: moliner@qfa.uji.es

Abstract.

The active sites of copper enzymes have been the subject of many theoretical and experimental investigations from a number of years. Such studies have embraced topics devoted to the modelling of the first coordination sphere at the metallic cations up to the development of biomimetic, or bioinspired, catalytic systems. At least from the theoretical view point, fewer efforts have been dedicated to elucidate how the two copper cations act concertedly in non-coupled dicopper enzymes such as peptidylglycine α -hydroxylating monooxygenase (PHM) and dopamine β -monooxygenase (D β M). In these metalloenzymes, an electronic transfer is assumed between the two distant copper cations (11 Å). Recent experimental results suggest that this transfer occurs through water molecules, a phenomenon which has been theoretically evidenced to be of high efficiency in the case of cytochrome b_5 (*Science*, **2005**, 310, 1311).

In the present contribution dedicated to PHM, we overpass the common theoretical approaches dedicated to the electronic and geometrical structures of sites Cu_M or Cu_H restricted to their first coordination spheres, and aim at directly comparing theoretical results to the experimentally measured activity of the PHM enzyme. To achieve this goal, Molecular Dynamics simulations were performed on wild type and various mutant of PHM. More precisely, we provide an estimate of the electron transfer efficiency between the Cu_M and Cu_H sites by means of such Molecular Dynamics simulations coupled to Marcus theory joint to the Beratan model to approximate the required coupling matrix elements. The theoretical results are compared to the kinetics measurements performed on wild and mutated PHM.

The present work, the dynamic aspects of which are essential, accounts for the experimental results issued from mutagenesis. It supports the conclusion that an electronic transfer can occur between two copper (I) sites along a bridge involving a set of hydrogen- and chemical bonds. Residue Gln170 is evidenced to be the keystone of this water-mediated pathway.

I. Introduction.

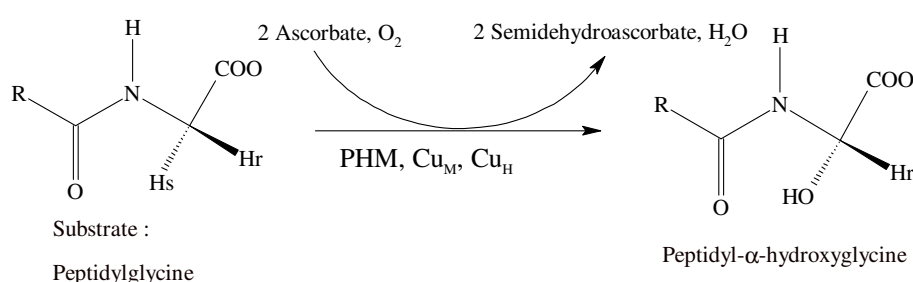
In their 2005 paper related to the nature of aqueous pathways within electron-transfer proteins, Lin, Balabin and Beratan have highlighted the existence of three electronic coupling mechanisms for electronic transfers in various aqueous conditions.¹ Especially, for donor acceptor distances ranging between about 9 and 12 Å, a structured water mediated regime has been evidenced by means of Molecular Dynamics performed on two interacting cytochrome b₅. For such distances, extended-Hückel electronic coupling calculations show that the electronic transfer is enhanced if paths involving water molecules are taken into account. Moreover, in this case, the decay of the electronic coupling with respects to the Donor-Acceptor distance exhibits a plateau which reflects a better efficiency of the electronic transfer than in bulk water. This has been rationalized by the emergence of a network of a few water molecules which induces a set of multiple constructively interfering pathways. Such enhancements by water networks have been experimentally observed.^{2,3,4} It has thus been hypothesized that "*water may be a particularly strong tunnelling mediator when it occupies a sterically constrained space between redox cofactors with strong organizing forces that favour constructively interfering coupling pathways*".¹

Following the previous theoretical investigations on cytochrome b₅¹ or cytochrome c₂,⁵ and the very recent approaches dedicated to azurin systems,^{6,7} we investigate in the present work the relevancy of the above hypothesis on the experimentally well-documented Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase (PHM) enzyme and on its mutants.

I.A. A long distance electron transfer?

PHM catalyzes the stereospecific hydroxylation of the glycine α -carbon of all peptidylglycine substrates (Scheme 1).⁸ Indeed this reaction is the first step toward amidation of endocrinal peptide precursors which is carried out by the bifunctional peptidylglycine- α -amidating monooxygenase (PAM) enzyme.^{8,9} This amidation is the ultimate step in the biosynthesis of a majority of peptide hormones and

neuropeptides which are essential for subsequent biological activity.^{8,10,11} This copper- and ascorbate-dependent monooxygenase plays a major role in the activation of dioxygen, and has been the subject of numerous experimental studies devoted to the understanding of its catalytic activity and, in particular, on the nature of the interaction of dioxygen with the metallic centre.^{4,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21} In this regard, biomimetic systems have been developed and shown to behave as efficient modelling tools. Such an approach offers a powerful alternative to the difficulties encountered by experimental studies performed on native systems.^{22,23,24,25,26,27,28}



Scheme 1. The reaction catalyzed by PHM.

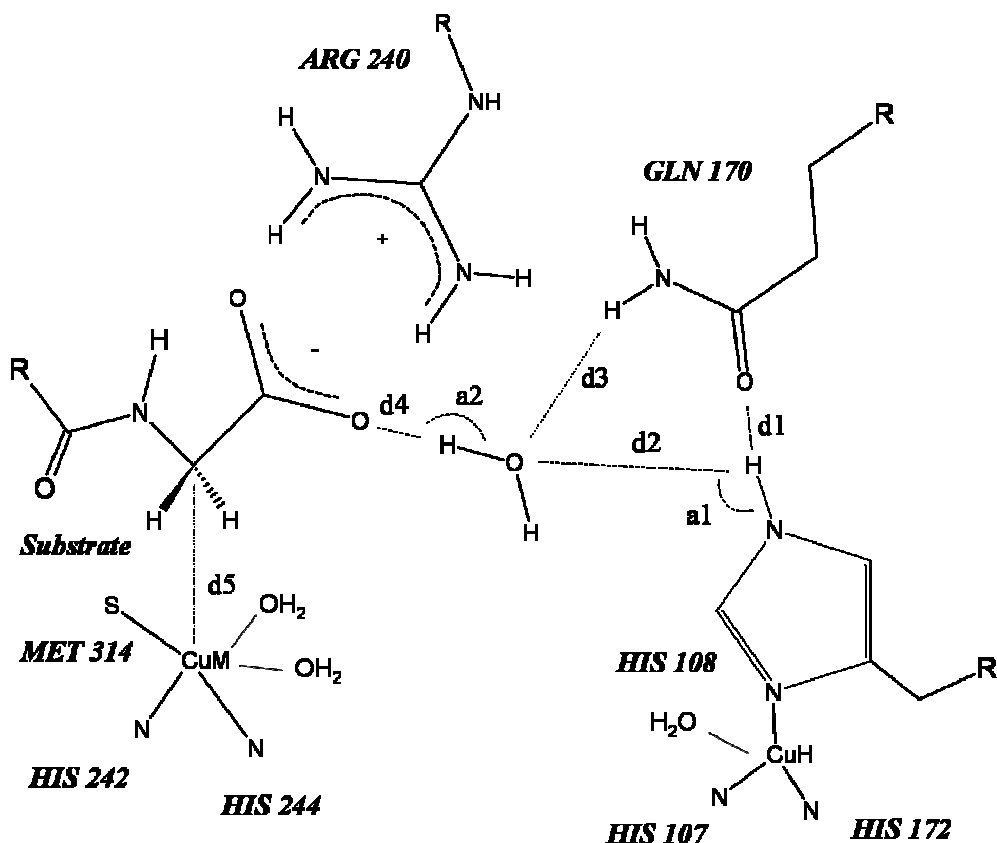
Despite the intense efforts focused on the elucidation of the PHM activity, several aspects of the catalyzed peptide amidation mechanism remain unclear. In particular, the reduction of molecular oxygen into the hydroxylated product requires the electron transfer from a copper site acting as electron reservoir, namely Cu_H , to that binding O_2 and the substrate, namely Cu_M .²⁹ Examples of coupled binuclear copper active sites are abundant: let us mention those encountered in tyrosinase or catechol oxidase. In those cases, owing to their spatial neighbouring, each of the two copper cations simply give one electron to reduce dioxygen.^{30,31} By contrast, in all forms of PHM, the two metal cations are believed too far from one another to allow a direct electronic transfer,^{17,32} as neither EPR (electron paramagnetic resonance) nor EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure) have detected any coupling, undoubtedly due to the solvent-filled cleft in-between.^{9,15,33,34} This particularity of PHM has been confirmed by various X-ray structures showing a copper-copper distance of about 11 Å. In this regard, the long distance between the two copper cations, which is not sensitive to the binding of the substrate,^{17,32} has suggested

alternative mechanisms to explain the required electron transfer: a) the use of a superoxide ion,¹⁶ b) the involvement of an intimate network located in-between the two active sites,³² and c) the participation of the substrate itself.^{4,18,19,32}

The superoxide mechanism was discarded by Klinman and coworkers on the basis of the relationship between O₂ consumption and substrate hydroxylation in dopamine β -monooxygenase (D β M), an homologous protein believed to act like PHM.^{4,35,36} The second mechanism was proposed on the basis of crystallographic data and involves an electron transfer through His108, Gln170, a water molecule and the carboxylate group of the substrate.⁸ Site-directed mutagenesis and intrinsic tryptophan fluorescence have been used to explore the role of several aminoacids, especially Gln170, on active PHM, and to examine the reliability of this mechanism.¹⁸ A note of caution has to be introduced at this point as PHM seems to be very sensitive to pH³⁷ and not all experiments have been conducted in the same conditions (crystallographic studies of PHM were carried out at pH 5.5, while other techniques such as EXAFS or carbon monoxide binding studies were performed at pH 7.5). The results by Bell *et al.* suggest that the enzyme is still active after mutating Gln170 by other residues such as Ala or Asn, but, it is inhibited when Tyr79 is replaced by Trp, although it is not involved in the proposed electron pathway.¹⁸ The authors have suggested a substrate-mediated mechanism, bridging directly the two copper centres. Finally, more recent kinetic studies have investigated how the peptide backbone of the substrate and several water molecules between Cu_H and Cu_M could provide a pathway for the inter-domain electron transfer.⁴ Many studies have shown that water-mediated hydrogen bonds as well as bonds in donor-bridge-acceptor complexes are efficient ways of coupling for electron transfers, which could also take place in PHM.³⁸

The above-mentioned coordination of the two metal cations appears to be a robust feature in PHM enzymes. Cu_H is coordinated by the N δ atoms of His107, His108 and His172, while the tetrahedral Cu_M (I) cation is coordinated by the N ϵ atoms of His242 and His244, the sulphur atom of Met314, and a fourth ligand that can be a solvent molecule (Scheme 2).^{20,32} From the analysis of Scheme 2, it seems that the electron transfer channel from Cu_H to Cu_M could be established through a single water molecule, His108 and the carboxylate group of the peptide substrate. Nevertheless this possibility deserves farther attention as different techniques (mutagenesis

studies, kinetic isotope effect measurements, X-ray crystallographic studies) have not rendered a unique answer to explain such a long-distance electron transfer.



Scheme 2. The active site of PHM (PHMcc) in its oxidized form with its substrate, as deduced from X-ray crystallographic data of the oxidized form with substrate of PHMcc.^{17, 39}

Selected distances and angles have been defined.

I.B. The theory for electronic transfers

From a theoretical point of view, the development of formalisms able to describe electron transfer reactions began in the late 1950s. These approaches have provided a detailed description of electron transfer reactions by means of semi-classical expressions relying on a small number of parameters.⁴⁰ The most accepted model, which relies on the Franck-Condon principle, is given in eq 1,⁴¹ in which k_{ET} is the

first-order rate constant for the electron transfer from a donor (D) to an acceptor (A), both held at given distance and orientation. This rate constant is a function of the temperature (T), the reaction driving force ($-\Delta G^0$), the nuclear reorganization energy (λ) and the electronic coupling matrix element (H_{AB}) which reflects the strength of the interaction between the reactants and the products considered at the nuclear configuration of the transition state. The rate of non-adiabatic electron transfer between a donor and acceptor held at fixed distance is then:

$$k_{ET} = \sqrt{\frac{4\pi^3}{h^2 \lambda k_B T}} H_{AB}^2 \exp\left(-\frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}\right) \quad (1)$$

Eq 1 allows estimating the rate of electron transfer reactions through heterogeneous array of bounded and non-bounded contacts in polypeptide structures of proteins.^{42,43} If the electron transfer is the rate limiting step in PHM, a reasonable assumption in view of the recent literature,^{35,39,44} the ratio defined in eq 2, where $V_{\max(\text{mut})}$ and $V_{\max(\text{wt})}$ are the maximum rates of the mutant and wild type enzymes respectively, should be comparable with the square of the electronic coupling ratios, namely $(H_{DA})_i$:

$$\frac{V_{\max(\text{mut})}}{V_{\max(\text{wt})}} \approx \frac{(H_{DA})_{\text{mut}}^2}{(H_{DA})_{\text{wt}}^2} \quad (2)$$

To establish eq 2 it is assumed that the ΔG^0 and λ involved in eq 1 remain unchanged between wild type PHM and its mutants.

I.C. The Beratan model

The Pathway model of Beratan *et al.* can be used to evaluate H_{DA} .⁴⁵ Briefly, we recall that this model allows computing H_{DA} between an acceptor and a donor provided a defined electronic transfer pathway is characterized. Such a path is decomposed into subunits, depending on the nature of the bonds involved: covalent bonds, hydrogen bonds, or through-space interactions. As explained in eqs 3 to 6, a coupling decay is associated to each kind of bonds (ϵ_c , ϵ_h and ϵ_s , for covalent, hydrogen bond and space jump, respectively) of length R, and the total coupling is then obtained by multiplying the components relevant to each pathway:⁴⁶

$$H_{DA} = A \cdot \prod_{i=1}^{N_c} (\varepsilon_c)_i \prod_{j=1}^{N_h} (\varepsilon_h)_j \prod_{k=1}^{N_s} (\varepsilon_s)_k \quad \text{where } A \text{ is a prefactor.} \quad (3)$$

$$\varepsilon_c = 0.6 \quad \text{for each of the } N_c \text{ covalent bonds} \quad (4)$$

$$\varepsilon_h = \varepsilon_c^2 \exp[-1.7(R - 2.8)] \quad \text{for each of the } N_h \text{ hydrogen bonds} \quad (5)$$

$$\varepsilon_s = \varepsilon_c \exp[-1.7(R - 1.4)] \quad \text{for each of the } N_s \text{ through-space jumps} \quad (6)$$

In practice, when applied to molecular dynamics (MD) simulations, a conformational averaged $\langle H_{DA} \rangle_i$ can be calculated from the probability P_i of observing a bridge through i hydrogen bonds.^{47,48,49} The global electronic coupling $\langle H_{DA} \rangle_g$ is finally obtained as a sum over all the possible components if more than one configuration are observed:

$$\langle H_{DA} \rangle_g = \sum_i P_i \langle H_{DA} \rangle_i \quad (7)$$

It should be noted that rate formulation in equation 7 assumes that fluctuations are rapid on the time scale of the electron transfer. This approach has shown its relevancy in a number of cases close to those investigated here.^{1,5,50,51,52} Our objective is not to determine the electronic couplings accurately, but to compare the effects of various mutations on the PHM activity and to interpret them in terms of chemical perturbations of the electronic channel. This approach is justified by the available results which have shown the reliability of the Pathway Model to account for the structured water regime.¹ However, it should be kept in mind that the model used here does not explicitly consider multiple pathway quantum interferences. In this paper we thus report MD simulations of the PHM-substrate complex that will allow studying the fluctuations occurring at the active site of the enzyme. The possible existence of a chain of hydrogen bond interactions established between the two copper cations will be used to quantify the electron flow. The results, together with those obtained for different mutants, will be compared to experimental data and will allow predicting the most plausible mechanism for this puzzling electron transfer step.

II. Computational details

All calculations have been performed with the DYNAMO library program⁵³ using the OPLS-AA force field.⁵⁴ A parabolic potential with a force constant of $5,000.00 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ was used to restraint copper-ligand distances, allowing the angles and dihedral angles to relax. The charges on copper were settled at 0.3 according to previous Density Functional Theory (DFT) calculations.⁵⁵ The resulting charge transfer (0.7 a.u.) was distributed on the ligand atoms proportionally to their initial charge in the OPLS force field. This procedure has the advantage of not highly perturbing the force field parameterization. The van der Waals parameters for copper ($\epsilon=0.05 \text{ kJ/mol}$, $\sigma = 2.13 \text{ \AA}$) were taken from Ref 56.

The initial coordinates of reduced PHM were obtained from the X-ray crystal structure of oxygenated PHM resolved at 1.85 \AA (1SDW entry of Brookhaven Protein Data Bank).²⁰ The O_2 molecule coordinated at the Cu_M site in the crystal structure was simply removed. For ease of computation, the substrate used for crystallization, N-acetyl-diiodo-tyrosyl-D-threonine, was replaced by a N-acetyl-Phe-Gly peptide, a common PHM substrate. The hydrogen atoms were added by assigning the protonation states of all ionisable groups at pH 7 using the pK_a values of aminoacids recalculated using the “cluster method”⁵⁷ implemented by Field and coworkers,⁵⁸ and according to which each titratable residue in the protein is perturbed by the electrostatic effect of the protein environment. The position of the hydrogen atoms were optimized afterwards. Finally the protein was solvated in a cubic water box having a side-length of 79.5 \AA . The final system thus involves about 50,000 atoms.

To have the dynamic simulations more tractable, a part of the system was frozen: it includes all atoms beyond a 25 \AA radius sphere centered on the crystal water molecule located in the center of the active site (ca. 43,000 atoms, most of them relevant to the solvent). We have complemented this study by a fully relaxed dynamics, where no atoms were frozen during the simulation in order to ensure that no biases were introduced when using this model. The comparison of the trajectories obtained by means of both models render similar results thus justifying the use of the less central processing unit (CPU) time-consuming approach in which some of the atoms are frozen.

In order to prepare the initial mutated enzyme structures, the mutations were operated with MOLDEN⁵⁹ from the X-ray structure of the native protein. The same protocol as that used for the wild-type enzyme was then applied.

3.0 ns MD simulations were carried out for the wild type system, discarding the first 0.5 ns of the trajectories (relaxation period) in order to obtain time-averaged values of $\langle H_{DA} \rangle_g$. The computations of electronic couplings within the Pathway model framework were performed by geometrical analysis of the resulting trajectories. For mutated enzymes, MD simulations were run during 2.0 ns. Such long simulations ensure the convergence of the electronic coupling constant with respect to thermal fluctuations of the protein.⁵¹ Time-dependent evolution of key distances (Å) for wild and mutants of PHM, as well as the electronic coupling for wild type and mutants of PHM can be found in the Supporting Information showing the robustness of the averaged results (Figures S1 and S2).

III. Results and discussion.

As explained previously, MD simulations have been performed for the wild type PHM and for five different mutants, all of them complexed with N-acetyl-Phe-Gly peptide as substrate. Mutations have been carried out to investigate the role of Gln170 and Tyr79, which will be compared with available experimental data. Furthermore, from the averaged structures obtained from the dynamics, key inter-atomic distances have been analyzed and the relative activity of the different mutants has been evaluated by means of the previously detailed Pathway model.⁴⁵

Wild type PHM

Structural aspects

Figure 1 shows the time evolution along the MD simulation of some selected distances and angles of the active site (Scheme 2). The reported plots demonstrate the possible presence of a network of hydrogen bond interactions that could control the electron flow between the two copper centers. As observed, the interaction between Gln170 and His108 (measured by the distance d_1), which were at a typical hydrogen bond length in the initial structure, is rapidly weakened after 0.6 ns and a new interaction with a water molecule is established (d_2), concertedly. Another important change concerns the interaction between this water molecule and Gln170

(d₃): while the oxygen atom of the solvent molecule and the N atom of Gln were far away (ca. 5 Å) in the starting structure derived from X-ray data, a hydrogen bond is established between both species after 0.4 ns of MD. Furthermore, this water molecule strongly interacts with the carboxylate group of the substrate (d₄), which consequently results in constraining it in the cavity and supports its dramatic role in an electron flow path. The time evolution of the two angles α_1 and α_2 is also consistent with the formation of the two hydrogen bonds mentioned above: although more dramatically eye-catching in the α_2 case, the converged values of the angles are in better accordance, for both cases, with the expected values for standard N-H-O or O-H-O hydrogen bonds than in the starting geometry. The distance between Cu_M and the aliphatic hydrogen atom of the substrate (d₅) shortens slightly from 4.5 to 3.8 Å after the first 1 ns of the simulation, remaining then closer to the copper cation during the rest of the MD simulation. The final PHM-substrate complex obtained after a 3.0 ns MD simulation is shown in Figure 2a. From the analysis of this structure, together with the results presented on Figure 1, it is possible to predict that an electron pathway can be drawn between the two copper cations through His108, a water molecule and the substrate (Scheme 2). A similar kind of pathway has been proposed on the basis of frozen protein crystals soaked with a slow substrate and ascorbate in the presence of dioxygen.²⁰ The role of other important residues such as Gln170 and Arg240 in fixing the positions of the different moieties of the active site in a proper orientation to facilitate the electron transfer is especially important in the case of the mobile water molecule.

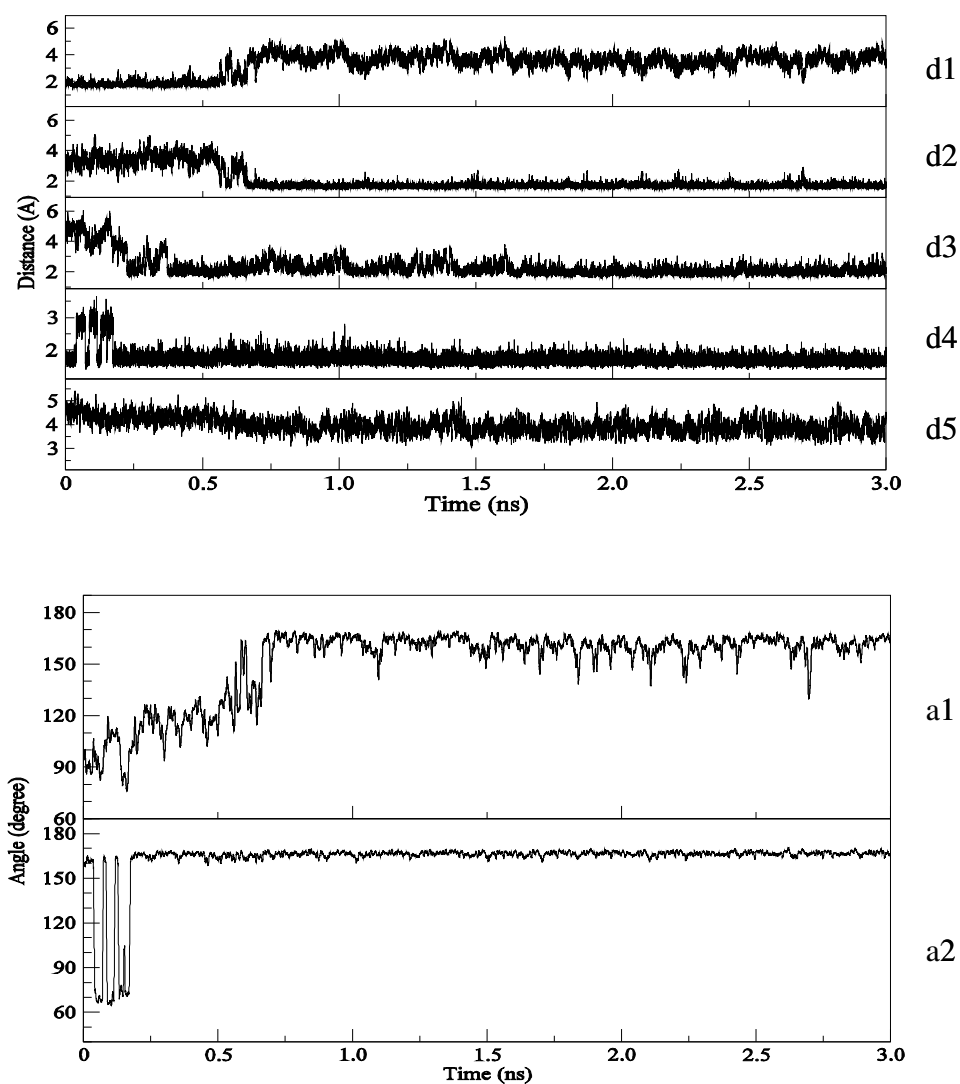


Figure 1. Time-dependent evolution of key distances (Å) and angles (degrees) depicted in Scheme 2 for wild PHM.

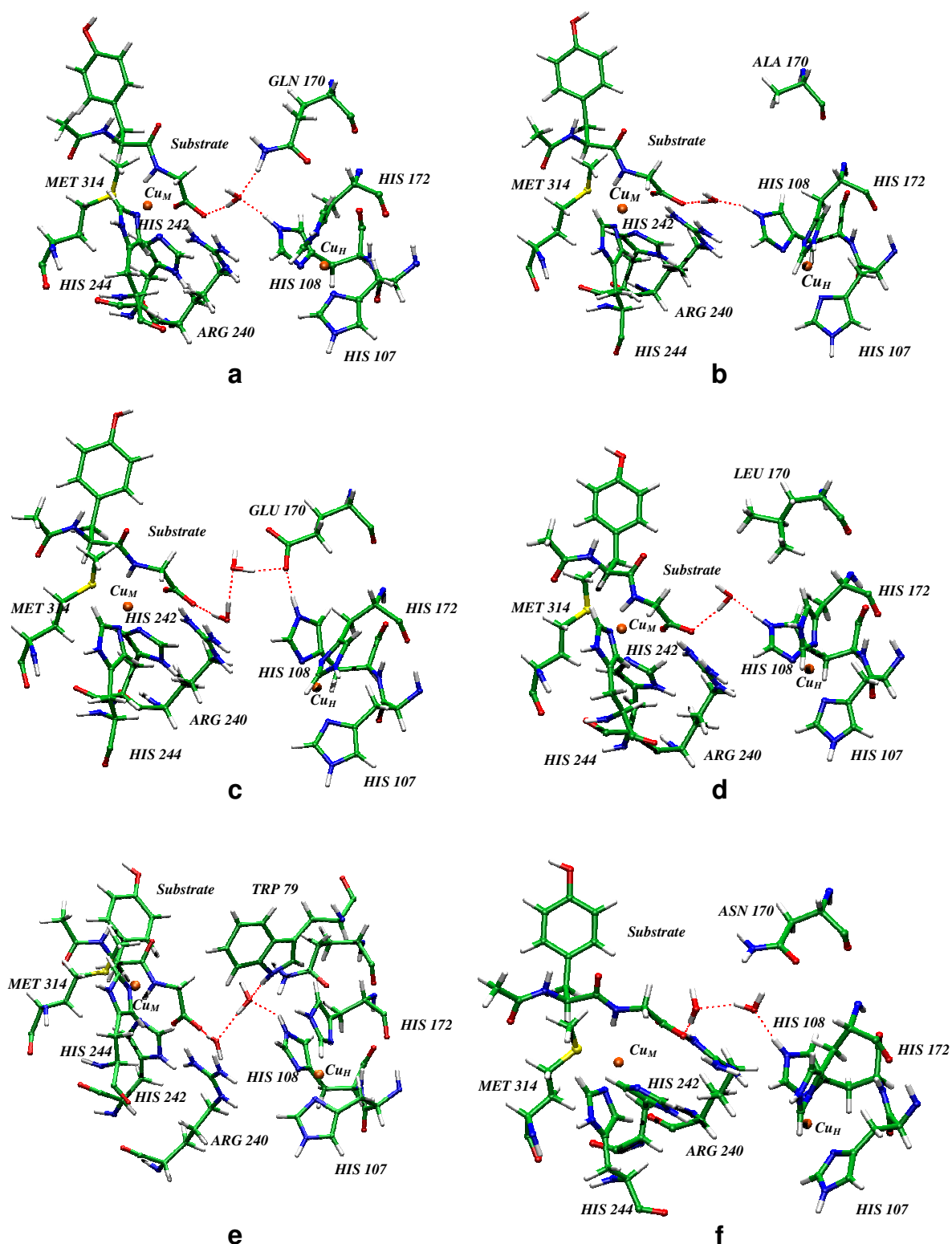


Figure 2. Detailed structure of the active sites in their optimal orientation for the long-range electron transfer obtained from the MD simulation performed on: a) wild type PHM, b) Gln170Ala, c) Gln170Glu, d) Gln170Leu, e) Tyr79Trp, and f) Gln170Asn.

Kinetic aspects

In order to quantify the rate constant for a possible electron transfer through the pathway described above, the global electronic coupling $\langle H_{DA} \rangle_g$ (eqs 3 and 7) has been computed using the semi-classical model of Beratan for two different structures: the X-ray structure and the one obtained as an average over the last 2.5 ns of the MD simulations. The ratio between the two obtained values amounts to 44 in favor of the latter. It thus appears that the structure of the protein obtained after the MD simulation is better prepared for the electron flow through the different hydrogen and covalent bonds occurring in the donor-bridge-acceptor complex than the original X-ray structure. Furthermore, the analysis of other PHM X-ray crystallographic structures^{8,17,20,60} reveals the presence of a robust hydrogen bond between His108 and Gln170 (d_1 in Scheme 2) which is competing with an interaction with the water molecule. These results justify the need of running proper MD simulations to obtain a realistic picture of the protein, the flexible character of which can be hindered if only crystallographic data are analyzed.

In order to support the hypothesis of an electron transfer pathway the evaluation of $\langle H_{DA} \rangle_g$ for different mutants can be done. Furthermore, a comparison of theoretically predicted relative electron transfer rate constants with experimentally measured ones can be carried out, and the role of the different residues at the active site of the enzyme can be analyzed. Thus, accepting this hypothesis of an electron path, deviations of d_1 , d_2 and d_3 from the optimized values converged after MD simulations should reduce the enzyme activity as will be illustrated below.

Mutants

In order to confirm the importance of the coupling through covalent and hydrogen bonds in the long-range electron transfer, several mutants have been investigated. The corresponding results have then been compared to those related to the native PHM. In particular, Gln170 was mutated to Asn and Glu, structurally related aminoacids, to Leu, a hydrophobic residue, or to Ala, a much smaller non-polar amino acid. Tyr79, which has been postulated to assist in the channeling of superoxide formed at Cu_A towards Cu_M ,¹⁶ was mutated to Trp to evaluate the effect of having a different, larger, and hydrophobic residue with no hydroxyl group.

In order to compute $\langle H_{DA} \rangle_i$, the existence of the channel between the carboxylate termination of the substrate and His108 was checked at every step of the MD simulation and H_{DA} evaluated when relevant, namely if the distance between the appropriate entities was found about a standard value corresponding to the kind of bond under analysis. It must be pointed out that only the channel between the carboxylate group of the substrate and His108 was examined as its contribution has to be much larger than that induced by space jumps. The relative enzyme activity, together with the conformational averaged electron coupling, $\langle H_{DA} \rangle_i$, and the global electronic coupling, $\langle H_{DA} \rangle_g$, computed according to eq 7, are given in Table 1. Time-dependent evolution of key distances (Å) and angles (degrees) depicted in Figure 2 for mutants of PHM is reported in the Supporting Information.

Table 1. The PHM activity of various mutants as a function of the number of hydrogen bonds established in the bridge, i , the probability of hydrogen bond formation measured as a frequency during the simulation, P_i , and the electronic couplings $\langle H_{DA} \rangle_i$ and $\langle H_{DA} \rangle_g$. The experimental values of the maximum rates come from reference 18. PHMcc refers to the so-called PHM catalytic core (residues 42 to 356 only).

PHM sample	i	P_i	$\frac{1}{A} \langle H_{DA} \rangle_i$	$\frac{1}{A} \langle H_{DA} \rangle_g$	$\frac{\langle H_{DA} \rangle_g^2}{\langle H_{DA} \rangle_{wt}^2}$	$\left(\frac{V_{\max(mut)}}{V_{\max(wt)}} \right)_{\text{exp}}$	
						A*	B**
Wild type	2	0.94	1.64E-02	1.54E-02	1.00	1	1
Gln170Asn	3	0.163	6.75E-03	1.10E-03	0.01	0.85	--
Gln170Ala	2	0.83	1.57E-02	1.30E-02	0.71	1.26	1.16/0.8
Gln170Glu	4	0.72	3.50E-03	2.52E-03	0.03	0.07	--
Gln170Leu	2 /	0.13 /	1.35E-02 /	1.89E-03	0.01	0.05	--
	3	0.02	6.62E-03				
Tyr79Trp	2 /	0.04 /	1.16E-02 /	3.01E-03	0.04	0.02	0.007/0.005
	3	0.37	6.89E-03				

A*: experimental values obtained by means of Transiently Expressed PHMcc proteins at pH=7 (see reference 18 for details).

B** : experimental values obtained by means of Purified PHMcc proteins at two different pH values: 7.0 and 5.5 (see reference 18 for details).

The results for the different mutations are as follows. The **Gln170Ala** mutation implies the replacement of a residue which constrains the bridging water molecule in a proper orientation, by a smaller residue. As observed in Figure 2b, the smaller size of Ala favours the compression of the active site, thus slightly shortening, from 4.51 to 4.42 Å, the distance between the carboxylate oxygen atom of the substrate and the nitrogen atom of His108. Subsequently, the water molecule is still fixed between these atoms. The probability of finding this structure is close to that estimated for the wild type (0.83, Table 1), which explains the experimentally measured high efficiency of this mutated enzyme. This computation thus highlights the contribution of Gln170 in maintaining the water molecule as its replacements by Ala170 induce a small loss of activity.

When Gln170 is replaced by Glu to get the **Gln170Glu** mutant, the effect of the negatively charged carboxylate group of the new aminoacid provokes a disruption in the active site structure. Now the electron transfer channel is made by two water molecules (Figure 2c), with a significant probability (0.72) of finding this structure during the MD simulation. However, the electron transfer through more than one water molecule appears to be much slower, as observed experimentally and predicted with our model (Table 1).

The exchange of Gln170 by a hydrophobic residue, which corresponds to the **Gln170Leu** mutation, slightly opens the cavity. This, together with the fact that no hydrogen bond can be established between the residue and the bridging water molecule, makes that, although a possible electron channel is observed (Figure 2d), the probability of finding this structure is very low (0.13). The result is that the predicted efficiency of the mutant is dramatically reduced, as observed experimentally (Table 1). Another kind of bridge, which involves 2 water molecules, has been observed during the MD simulations, but this structure presents an even lower probability (0.02). Consequently, although the global electronic coupling will be the sum of two terms for this mutant, their low probabilities, together with the fact that the efficiency of long bridge must be very low, explains the behaviour of this mutant.

A similar situation is observed in the **Tyr79Trp** mutant where, again, two kinds of bridge, through 1 or 2 water molecules are observed during the MD simulation (Figure 2e). Still, these structures present a low probability: 0.04 and 0.37 respectively. The remaining activity of this sample can be explained by the effect of the Trp residue: the electron acceptor group of the ring, the polar $-NH$ group, interacts with the water molecule and helps in retaining, at some extent, a favourable orientation.

Finally, the **Gln170Asn** mutant appears as a singular case. By comparison with the wild type enzyme, Asn presents the same functional group as Gln but a shorter carbon chain (one carbon atom less). The consequence is that the new residue is located far from the substrate, the water molecule and His108. The hydrogen bond interaction with the water molecule is still possible, albeit pushing it away from the initial bridge. A hole is created, which can be occupied by a second water molecule. Nevertheless, this situation, depicted in Figure 2f, does not appear with high frequency during the MD simulation ($P_i = 0.163$). The resulting predicted efficiency of the mutant is consequently very low, in contrast to the results reported by Bell *et al.*¹⁸ A note of caution has to be introduced at this point. First, the activity of both, enzyme and mutants, are dramatically reduced at pH = 7.0 by comparison to the values obtained at pH 5.5. Furthermore, the experimental errors (standard deviations) reported by the authors are quite large (more than 50%). Finally, dramatically different relative V_{max} values are obtained for the **Gln170Ala** or **Tyr79Trp** mutants, depending on the experimental approach and pH considered (see Table 1 and reference 11). These considerations could explain, at least partly, the discrepancy between our theoretical prediction and the experimental results for **Gln170Ala** and **Tyr79Trp**, suggesting that the data to be compared with our results are those obtained at pH 5.5.

IV. Conclusions.

In this paper we have reported long MD simulations for the wild type PHM and five different mutants, all of them complexed with a Phe-Gly peptide as a substrate. The possible electron transfer pathway established between the long-distance two copper I cations of the enzyme active site has been analyzed. Its efficiency has been

estimated for each case by means of the semi-classical approach of Beratan, and compared with experimental data.

The results show that an electron flow can take place through a channel of covalent and hydrogen bonds established between the two copper cations. The carboxylate group of the substrate, a water molecule and His108 are expected to be the bricks of this bridge. Our simulations reveal that MD are required to obtain a reliable configuration of these species that optimize the electron channel: conclusions derived from crystallographic structures only could hide important information. Furthermore, other residues such as Gln170 and Arg240 have been shown to play a key role by fixing the flexible water molecule in a proper orientation. This key feature confirms the previous hypothesis by Lin, Balabin and Beratan that enzymes could organize this kind of water-mediated electron transfer.¹

From averaged structures obtained during the dynamics performed on the different mutants it has been evidenced that the enzyme efficiency is related to the establishment of the above-mentioned network of hydrogen and covalent bonds. This theoretical prediction has been quantitatively estimated from the number of hydrogen bonds, their probability of formation and the electronic coupling. The results show a very good agreement with experimental measurements, thus confirming the reliability of the calculations. In particular, we observe a good agreement between the experimentally determined relative maximum rate of the mutants and the predicted square of the electronic couplings, with the exception of Gln170Asn. Overall, our results demonstrate the possibility of an electron transfer pathway through a network of hydrogen and covalent bonds, as well as the role of the residues at the active site. They also provide another support to the hypothesis that the long-range electron transfer might be the rate limiting step in PHM catalysed reactions. The pathway gained from the PHM study could be extended to D β M, giving for example residue Glu268 the same role as Gln170 in PHM.^{8,61}

Acknowledgements

We thank the DGI for projects DGI CTQ2006-15447-C02-01/BQU, UJI-BANCAIXA foundation for project P1-1B2005-13 and Generalitat Valenciana for project GV06/152. We acknowledge the Servei d'Informàtica of the Universitat Jaume I

(Spain), the CCRE at Université Pierre et Marie Curie (France), the French IDRIS (Orsay, France), CINES (Montpellier, France) and CRIHAN (Saint-Etienne-du-Rouvray, France) supercomputer centers for providing us with computer capabilities.

Supporting Information Available: Time-dependent evolutions of key distances (Å) (Figure S1) and electronic couplings (Figure S2) for wild type and mutants PHM. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

Codes for enzyme identification:

PAL: EC 4.3.2.5

PHM: EC 1.14.17.3

DBM: EC 1.14.17.1

SUPPORTING INFORMATION

Figure S1. Time-dependent evolution of key donor-acceptor distances (Å vs. time/ps) associated to distances depicted in Scheme 1 of the text for wild type and mutants of PHM. Discontinuities in the plots correspond to structures occurring along the dynamic trajectories in which acceptor – H distance is greater than 2 Å and angle donor-H-acceptor < 120 degrees.

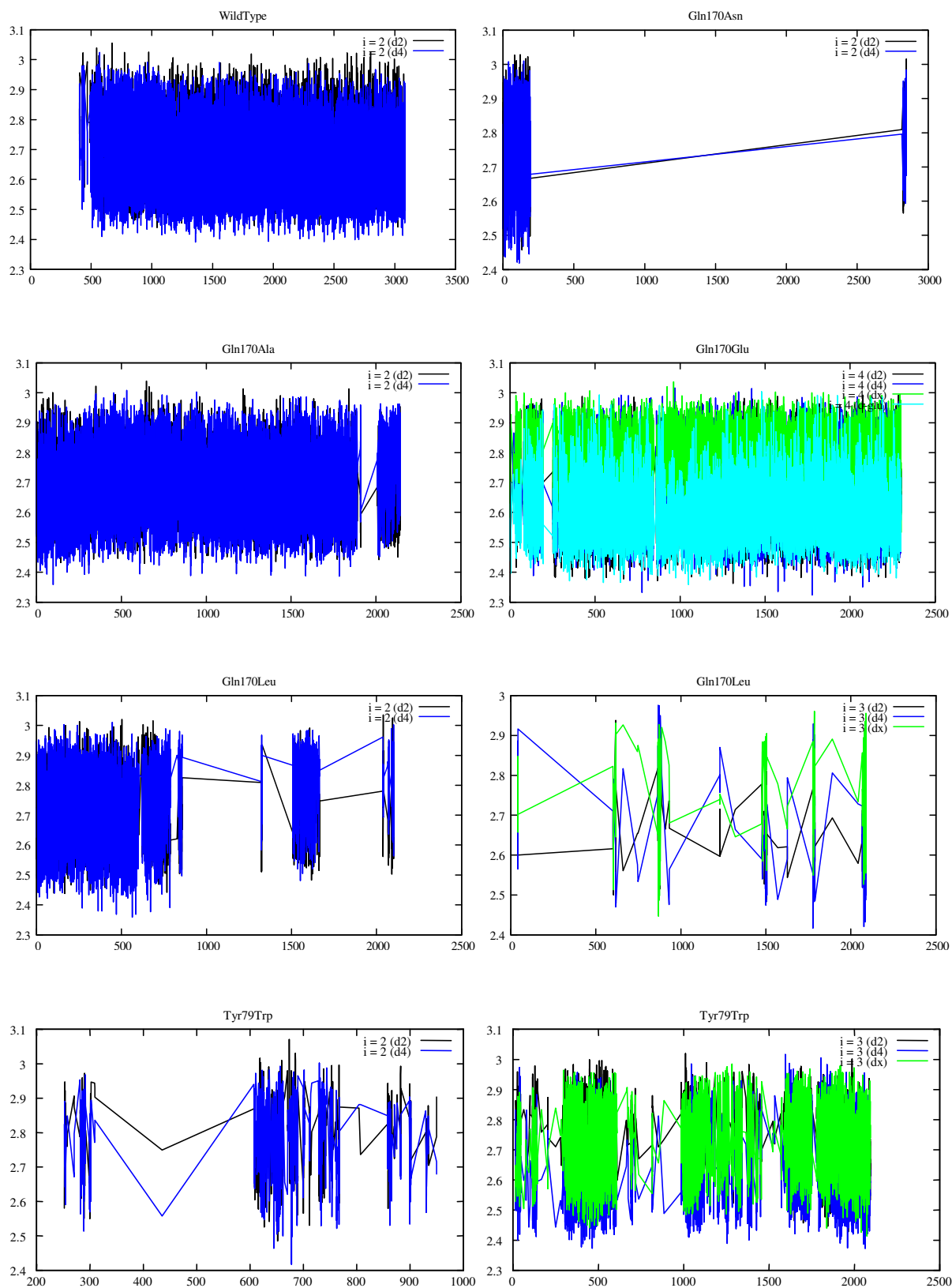
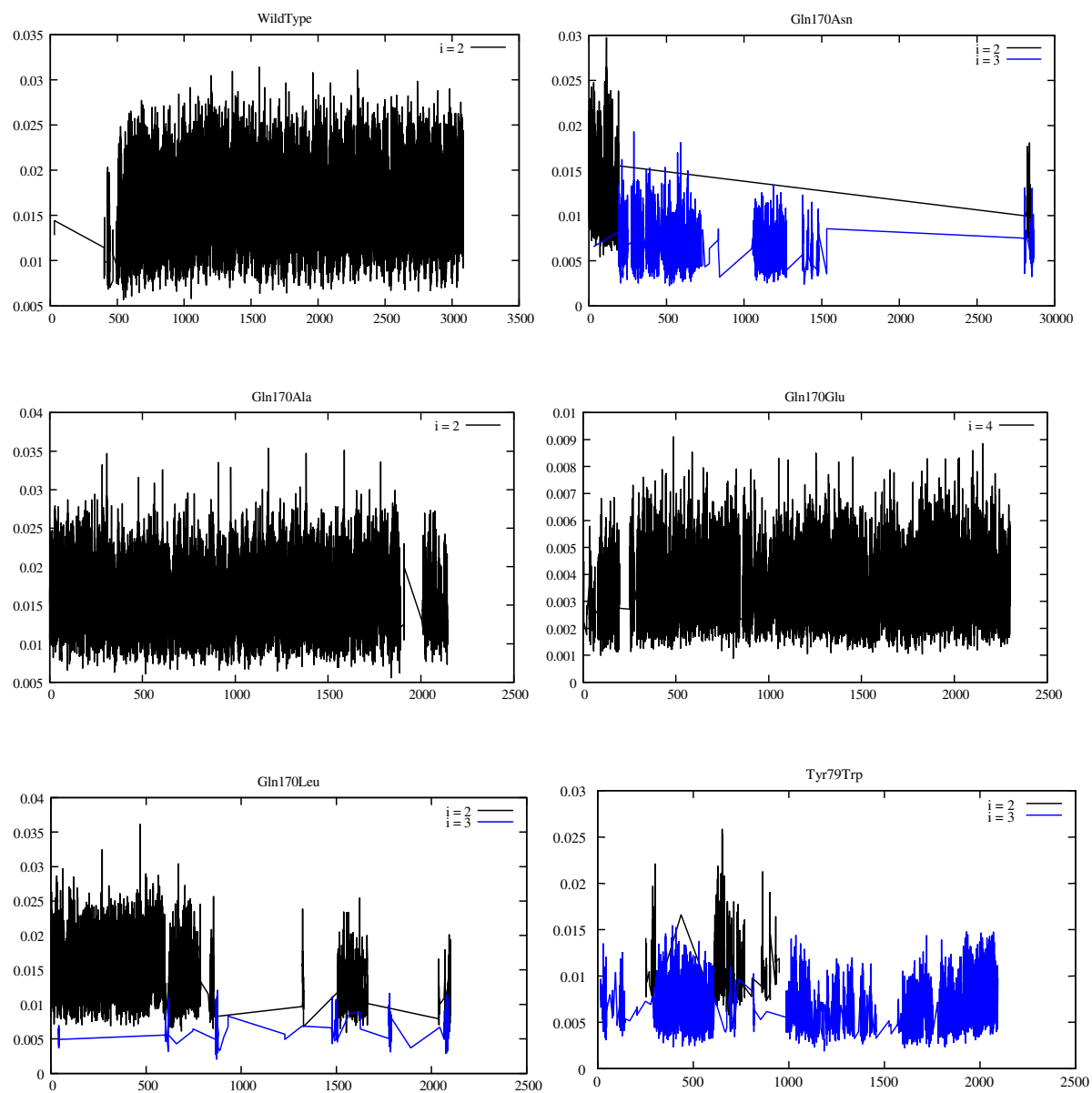


Figure S2. Time-dependent evolution of electronic couplings (H_{DA}/A vs. time /ps) for wild type and mutants of PHM. H_{DA}/A is evaluated when relevant. Only structures occurring along the dynamic trajectories in which acceptor – H distance is greater than 2 Å and angle donor-H-acceptor < 120 degrees are retained.



REFERENCES

- ¹ Lin, J.; Balabin, I. A.; Beratan, D. N. *Science* **2005**, *310*, 1311.
- ² Tezcan, F. A.; Crane, B. R.; Winkler, J. R.; Gray, H. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 5002.
- ³ van Amsterdam, I. M. C.; Ubbink, M.; Einsle, O.; Messerschmidt, A.; Merli, A.; Cavazzini, D.; Rossi, G. L.; Canters, G. W. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 48.
- ⁴ Francisco, W. A.; Wille, G.; Smith, A. J.; Merkler, D. J.; Klinman, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13168.
- ⁵ Miyashita, O.; Okamura, M. Y.; Onuchic, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 3558.
- ⁶ Migliore, A.; Corni, S.; Di Felice, R.; Molinari, E. J. *Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 3774.
- ⁷ Bizzari, A.R.; Brunori, E.; Bonanni, B. ; Cannistraro, S. *J. Mol. Recognit.* **2007**, *20*, 122.
- ⁸ Prigge, S. T.; Mains, R. E.; Eipper, B. A.; Amzel, L. M. *Cell. Mol. Life Sci.* **2000**, *57*, 1236.
- ⁹ Kulathila, R.; Merkler, K. A.; Merkler, D. J. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 145.
- ¹⁰ Stewart, L. C.; Klinman, J. P. *Annu. Rev. Biochem.* **1988**, *57*, 551.
- ¹¹ Eipper, B. A.; Stoffers, D. A.; Mains, R. E. *Annu. Rev. Neurosci.* **1992**, *15*, 57.
- ¹² McGuirl, M. A.; Dooley, D. M. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 138.
- ¹³ Blain, I.; Slama, P.; Giorgi, M.; Tron, T.; Reglier, M. *J. Biotechnol.* **2002**, *90*, 95.
- ¹⁴ Garcia-Borron, J. C.; Solano, F. *Pigm. Cell Res.* **2002**, *15*, 162.
- ¹⁵ Eipper, B. A.; Quon, A. S. W.; Mains, R. E.; Boswell, J. S.; Blackburn, N. J. *Biochemistry* **1995**, *34*, 2857.
- ¹⁶ Jaron, S.; Blackburn, N. J. *Biochemistry* **1999**, *38*, 15086.
- ¹⁷ Prigge, S. T.; Kolhekar, A. S.; Eipper, B. A.; Mains, R. E.; Amzel, L. M. *Science* **1997**, *278*, 1300.
- ¹⁸ Bell, J.; Meskini, R. E.; D'Amato, D.; Mains, R. E.; Eipper, B. A. *Biochemistry* **2003**, *42*, 7133.
- ¹⁹ Owen, T. C.; Merkler, D. J. *J. Med. Hypotheses* **2004**, *62*, 392.
- ²⁰ Prigge, S. T.; Eipper, B. A.; Mains, R. E.; Amzel, L. M. *Science* **2004**, *304*, 864.
- ²¹ Cramer, C. J.; Tolman, W. B. *Acc. Chem. Res.* **2007**, ASAP (DOI: [10.1021/ar700008c](https://doi.org/10.1021/ar700008c))
- ²² Gherman, B. F.; Heppner, D. E.; Tolman, W. B.; Cramer, C. J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, *11*, 197.
- ²³ Lewis, E. A.; Tolman, W. B. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1047.
- ²⁴ Schindler, S. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, *11*, 2311.
- ²⁵ Karlin, K. D.; Fox, S.; Nanthakumar, A.; Muthy, N. N.; Wei, N.; Obias, H. V.; Martens, C. F. *Pure & Appl. Chem.* **1995**, *67*, 289.
- ²⁶ Johansson, A. J.; Blomberg, M. R. A.; Siegbahn, P. E. R. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 1491.
- ²⁷ de la Lande, A.; Gérard, H.; Moliner, V.; Izzet, G.; Reinaud, O.; Parisel, O. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, *11*, 593.
- ²⁸ de la Lande, A.; Moliner, V.; Parisel, O. *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 035102.
- ²⁹ Klinman, J. P. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2451, and references therein.
- ³⁰ Solomon, E. I.; Chen, P.; Metz M.; Lee, S.-K.; Palmer, A. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4570.
- ³¹ Solomon, E. I.; Sundaram, U. M.; Machonkin, T. E. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2563.
- ³² Prigge, S. T.; Kolhekar, A. S.; Eipper, B. A.; Mains, R. E.; Amzel, L. M. *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 976.
- ³³ Boswell, J. S.; Reedy, B. J.; Kulathila, A.; Merkler, D.; Blackburn, N. J. *Biochemistry* **1996**, *35*, 12241.
- ³⁴ Blackburn, N. J.; Rhames, F. C.; Ralle, M.; Jaron, S. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, *5*, 341.
- ³⁵ Klinman, J. P. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 3013.

- ³⁶ Evans, J. P.; Ahn, K.; Klinman, J. P. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 49691.
- ³⁷ Bauman, A. T.; Jaron, S.; Yukl, E. T.; Burchfiel, J. R.; Blackburn, N. J. *Biochemistry*, **2006**, 45, 11140.
- ³⁸ Gray, H. B.; Winkler, J. R. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 3534.
- ³⁹ Evans, J. P.; Blackburn, N. J.; Klinman, J. P. *Biochemistry* **2006**, 45, 15419.
- ⁴⁰ Marcus, R. A. *Adv. Chem. Phys.* **1999**, 106, 1.
- ⁴¹ Marcus, R. A.; Sutin, N. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, 811, 265.
- ⁴² Migliore, A.; Corni, S.; Felice, R. Di.; Molinari, E. *J. Chem. Phys.* **2006**, 124, 064501.
- ⁴³ Miller, N. E.; Wander, M. C.; Cave, R. J. *J. Chem. Phys. A* **1999**, 103, 1084.
- ⁴⁴ Francisco, W. A.; Merkler, D. J.; Blackburn, N. J.; Klinman, J. P. *Biochemistry* **1998**, 37, 8244.
- ⁴⁵ a) Beratan, D. N.; Betts, Onuchic, J. N. *Science* **1991**, 252, 1285. b) Betts, J. N.; Beratan, D. N.; Onuchic, J. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 4043. c) Curry, W. B.; Grabe, M. D.; Kurnikov, I. V.; Skourtis, S. S.; Beratan, D. N.; Regan, J. J.; Aquino, A. J. A.; Beroza, P.; Onuchic, J. N. *J. Bioenerg. Biomembr.* **1995**, 27, 285.
- ⁴⁶ Tan, M-L.; Balabin, I.; Onuchic, J. N. *Biophys. J.* **2004**, 86, 1813.
- ⁴⁷ Troisi, A.; Orlandi, G. *J. Chem. Phys. B* **2004**, 106, 2093.
- ⁴⁸ Kurnikov, I. V.; Zusman, L. D.; Kurnikova, M. D.; Farid, R. S.; Beratan, D. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5690.
- ⁴⁹ Daizadeh, I.; Medvedev, E. S.; Struchebukhov, A. A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 3703.
- ⁵⁰ Miller, N. E.; Wander, M. C.; Cave, R. J. *J. Phys. Chem. A* **1999**, 103, 1084.
- ⁵¹ Skourtis, S. S.; Balabin, I. A.; Kawatsu, T.; Beratan, D. N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 3552.
- ⁵² Prytkova, T. R.; Beratan, D. N.; Skourtis, S. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 802.
- ⁵³ Field, M. J. A Practical Introduction to the Simulation of Molecular Systems; Cambridge University Press: Cambridge, U.K., **1999**. (b) Field, M. J.; Albe, M.; Bret, C.; Proust-de Martin, F.; Thomas, A. The Dynamo library for molecular simulations using hybrid quantum mechanical and molecular mechanical potentials. *J. Comput. Chem.* **2000**, 21, 1088.
- ⁵⁴ Jorgensen, W. L.; Maxwell, D. S.; Tirado-Rives, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 11225.
- ⁵⁵ Comba, P.; Remenyi, R. *J. Comput. Chem.* **2002**, 23, 697.
- ⁵⁶ Buning, C.; Comba, P. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 1267.
- ⁵⁷ Antosiewicz, J.; McCammon, J. A.; Gilson, M. K. *J. Mol. Biol.* **1994**, 238, 415.
- ⁵⁸ Field, M. J.; Amara, P.; David, L.; Rinaldo, D., personal communication.
- ⁵⁹ Schaftenaar, G.; Noordik, J. H. *J. Comput. -Aided Mol. Design* **2000**, 14, 123.
- ⁶⁰ Siebert, X.; Eipper, B. A.; Mains, R. E.; Prigge, S. T.; Blackburn, N. J.; Amzel, L. M. *Biophys. J.* **2005**, 89, 3312.
- ⁶¹ Kamashi, T.; Kihara, N.; Shiota, Y.; Yoshisawa, K. *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 4226.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ "Investigation of the Pathway for Inter-Copper Electron Transfer in Peptidylglycine α -Amidating Monooxygenase", W. A. Francisco, G. Wille, A. J. Smith, D. J. Merkler, J. P. Klinman, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13168 - 13169.
- ² "Long Range Electron Transfer", H. B. Gray, J. R. Winkler, *PNAS* **2005**, 102, 3534 - 3539, ainsi que les references inclues.
- ³ "The Nature of Aqueous Tunneling Pathways Between Electron-Transfer Proteins", J. Lin, I. A. Balabin, D. N. Beratan, *Science* **2005**, 310, 1311 - 1313.
- ⁴ "Interprotein Electron Transfer from Cytochrome c2 to Photosynthetic Reaction Center: Tunneling across an Aqueous Interface", O. Miyashita, M. Y. Okamura, J. N. Onuchic, *PNAS* **2005**, 102, 3558 - 3563.
- ⁵ "Electron Transfer in Protein Crystals", F. A. Tezcan, B. R. Crane, J. R. Winkler, H. B. Gray, *PNAS* **2001**, 98, 5002 - 5006.
- ⁶ "Natural Engineering Principles of Electron Tunneling in Biological Oxidation-Reduction", C. C. Page, C. C. Moser, X. Chen, P. L. Dutton, *Nature* **1999**, 402, 47 - 52.
- ⁷ "Reversible Redox Energy Coupling in Electron Transfer Chains", A. Osyczka, C. C. Moser, F. Daldal, P. L. Dutton, *Nature* **2004**, 427, 607 - 612.
- ⁸ "Electron Transfer Reactions in Chemistry. Theory and Experiments", R. M. Marcus, *Rev. Mod. Phys.* **1993**, 65, 599 - 610, ainsi que les references inclues.
- ⁹ "Electron Transfer in Proteins", H. B. Gray, J. R. Winkler, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65, 537 - 561, ainsi que les references inclues.
- ¹⁰ "Electron Tunneling Pathways in Proteins", J. R. Winkler, *Curr. Op. Chem. Biol.* **2000**, 4, 192 - 198.
- ¹¹ "Electron Transfer through Proteins", H. B. Gray, J. R. Winkler, *Quat. Rev. Biophys.* **2003**, 36, 341 - 372, ainsi que les references inclues.
- ¹² "Dramatic Modulation Electron Transfer in Protein Complexes by Crosslinking", I. M. C. Vab Amsterdam, M. Ubbink, O. Einsle, A. Messerschmidt, A. Merli, D. Cavazzini, G. L. Rossi, G. W. Canters, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, 9, 48 - 52.
- ¹³ "Interprotein Electron Transfer from Cytochrome c2 to Photosynthetic Reaction Center: Tunneling across an Aqueous Interface", O. Miyashita, M. Y. Okamura, J. N. Onuchic, *PNAS* **2005**, 102, 3558 - 3563.
- ¹⁴ "A Theoretical Study of the Electronic Coupling Element for Electron Transfers in Water", N. E. Miller, M. C. Wander, R. J. Cave, *J. Phys. Chem. A.* **1999**, 103, 1084 - 1093.
- ¹⁵ "Water Mediated Electron Transfer between Protein Redox Centers", A. Migliore, S. Corni, R. Di Felice, E. Molinari, *J. Phys. Chem. B.* **2007**, 111, 3774 - 3781.
- ¹⁶ "Docking and Molecular Dynamics Simulations of the Azurin—Cytochrome c551 Electron Transfer Complex", A. R. Bizzarri, E. Brunori, B. Bonanni, S. Cannistraro, *J. Mol. Recognit.* **2007**, 20, 122 - 131.
- ¹⁷ "The Theory of Rate Processes", S. Glasstone, K. J. Laidler, H. Eyring, **1941**, New York :McGraw-Hill, 611 p.

- ¹⁸ "Electron Transfer Between Biological Molecules by Thermally Activated Tunneling ", J. J. Hopfield, PNAS, 1974, 71, 3640 - 3644.
- ¹⁹ "Quantum Chemical Probes of Electron-Transfer Kinetics: the Nature of Donor-Acceptor Interactions", M. D. Newton, *Chem. Rev.*, **1991**, 91, 767 - 792.
- ²⁰ "Electron Tunneling through Covalent and noncovalent Pathways in Proteins", D. N. Beratan, J. N. Onuchic, J. J. Hopfield, *J. Chem. Phys.*, **1987**, 86, 4488 - 4498.
- ²¹ "Mapping Electron Tunneling Pathways: an Algorithm that Finds the "Minimum Length"/Maximum Coupling Pathway Between Electron Donors and Acceptors in Proteins", J. N. Betts, D. N. Beratan, J. N. Onuchic, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 4043 - 4046.
- ²² "Protein Electron-Transfer Rates by the Bridge Secondary and Tertiary Structure", *Science* **1991**, 252, 1285 - 1288.
- ²³ "Dynamic Nature of the Intramolecular Electronic Coupling Mediated by a Solvent Molecule: A Computational Study", A. Troisi, M. A. Ratner, M. B. Zimmt, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 2215 - 2224.
- ²⁴ "Ab initio Based Calculations of Electron-Transfer Rates in Metalloproteins", T. R. Prytkova, I. V. Kurnikov, D. N. Beratan, *J. Phys. Chem. B.* **2005**, 109, 1618 - 1625.
- ²⁵ "A rate Constant Expression for Charge Transfer Through Fluctuating Bridge", A. Troisi, A. Nitzan, M. A. Ratner, *J. Chem. Phys.* **2003**, 119, 5782 - 5788.
- ²⁶ "First-Principles Density-Functional Theory Calculations of Electron-Transfer Rates in Azurin Dimers", A. Migliore, S. Corni, R. Di Felice, E. Molinari, *J. Chem. Phys.* **2006**, 124, 064501.

CONCLUSION

Au début de ce travail nous nous étions fixés comme objectif d'acquérir une meilleure compréhension des phénomènes physico-chimiques gouvernant la réaction d'hydroxylation stéréospécifique catalysée par deux monooxygénases à cuivre, la PHM et la D β M. L'intérêt chimique de ces enzymes provenait de l'utilisation de dioxygène activé sur un centre cuivreux mononucléaire pour conduire à l'insertion d'un atome d'oxygène dans une liaison C — H.

La variété des phénomènes physico-chimique survenant au cours du cycle catalytique nous a conduits à suivre une approche multiéchelle pour examiner de manière adéquate chacune des étapes clés du mécanisme. Des méthodologies allant de la chimie quantique *ab initio* aux simulations de dynamique moléculaire ont ainsi été employées. Certaines d'entre elles ont nécessité un travail préalable de validation ou de développement. Ce fut notamment le cas de l'approche Spin-Flip employée pour traiter le caractère multiconfigurationnel des espèces chimiques rencontrées, approche alternative aux calculs de symétrie brisée ou CASMP2.

A cours des Chapitre II et III nous avons adopté une démarche biomimétique en prenant pour objet de nos travaux des cations cuivreux entourés de leur première sphère de coordination.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés en détail au phénomène d'activation du dioxygène. A partir de l'étude en phase gazeuse d'une série homogène de complexes, il a été possible de dégager des règles permettant de rationaliser l'orientation du mode de coordination du dioxygène sur le cuivre (*side-on* vs. *end-on*) en relation avec l'état de spin (singulet vs. triplet). L'établissement d'abaques reliant longueur de liaison et fréquence de vibration O — O a permis de réinterpréter ou de compléter diverses données expérimentales. La connaissance des ressorts sous-tendant l'activation du dioxygène nous a permis de proposer *in fine* un modèle du centre Cu_M mimant fidèlement ses caractéristiques géométriques.

Dans un second temps, l'étude de la réactivité des adduits Cu/O₂ a mis à jour des mécanismes d'auto-dégradation du ligand tren^{Me1}. L'oxydation du ligand avec un coût énergétique raisonnable a été mise en évidence sur les surfaces singulets, que cela se passe par la rupture initiale d'une liaison N — H ou par celle d'une liaison C — H, toutes

deux compétitives. Ce résultat est très encourageant puisqu'il montre d'un point de vue théorique la possibilité de mener des réactions d'oxydation de liaisons hydrocarbonées à partir d'adduits bio-inspirés cuivre/superoxo. La mise en évidence de l'influence du taux de transfert de charge initial vers le dioxygène sur la barrière de rupture de la liaison C — H constitue en outre un élément excitant pour l'élaboration des complexes biomimétiques à venir.

Le quatrième Chapitre a été l'occasion d'enrichir les modèles étudiés par la prise en compte explicite de l'environnement des calixarènes au moyen de méthodologie DFT/MM. Nous avons ainsi montré la faible influence du solvant et de la cage du calixtren sur les caractéristiques géométriques de la partie cryptante. Ce résultat permet de s'assurer *a posteriori* de la pertinence de l'approche "phase gazeuse" suivie dans les Chapitres antérieurs pour modéliser la chimie se déroulant sur les centres cuivreux. Il encourage par ailleurs la poursuite du développement de ces complexes en tant que modèles bio-inspirés de centres enzymatiques mononucléaires. Il apparaît en effet clairement que le greffage d'un complexe entonnoir "au pied" du métal pour le protéger de la dimérisation ne dénature pas la chimie qui s'y déroule.

L'extrapolation aux systèmes enzymatiques des connaissances acquises sur les modèles bio-inspirés fournit des résultats compatibles avec les données expérimentales disponibles. Elle permet de surcroît de reformuler le cycle catalytique habituellement accepté et de proposer un processus simplifié en trois étapes principales. La coordination du dioxygène sur le centre Cu_M selon une coordination *side-on* singulet permet son activation dans une première étape. Cet adduit est capable dans un deuxième temps de promouvoir la rupture de la liaison C — H. Elle conduit à la formation d'un intermédiaire carbocationique qui pourrait participer à la stéréospécificité de la réaction. Il est enfin proposé en troisième étape que l'apport de l'électron complémentaire depuis le site Cu_H permet de compléter en une étape la réduction de l'intermédiaire hydroperoxyde et d'aboutir à l'hydroxylation du substrat.

Dans le dernier Chapitre nous avons donc cherché à cerner le phénomène de transfert électronique à longue distance entre les sites Cu_H et Cu_M grâce à des simulations de dynamique moléculaire classique. Une molécule d'eau semble jouer un rôle de relais entre les deux centres actifs et permet l'établissement d'un pont facilitant le transfert électronique. En particulier il semble que le rôle du résidu GLN170 soit précisément de participer à la stabilisation de ce pont aqueux *via* l'établissement d'une liaison hydrogène avec la molécule d'eau.

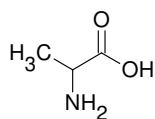
L'approche multiéchelle que nous avons suivie se trouve donc pleinement justifiée au terme de ce travail et montre la puissance de la chimie théorique dans la rationalisation des phénomènes physico-chimiques ayant lieu dans le système complexe que constitue une métalloenzyme (structure, spectroscopie, réactivité).

Il convient néanmoins de rappeler que ce travail de modélisation théorique s'est en permanence appuyé sur de nombreux résultats expérimentaux. En effet, étant donné la multitude des phénomènes envisageables dans ce type de système, la disponibilité d'un maximum de données expérimentales est à l'évidence indispensable pour guider le travail de modélisation. Ces données peuvent être directes (structures RX, fréquences de vibrations *etc.*) ou indirectes (constantes de vitesse, effets cinétiques isotopiques *etc.*). Dans cette perspective, modélisation théorique et études expérimentales apparaissent comme partenaires pour l'étude des systèmes physico-chimiques complexes tels que les métalloenzymes. Nul doute que la généralisation de cette approche duale permettra à l'avenir d'avancer significativement dans la compréhension des activités enzymatiques, en ouvrant ainsi la voie à la reproduction en laboratoire de ces réactions chimiques fascinantes.

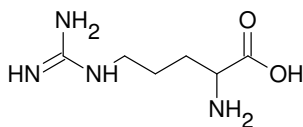
ANNEXES

TABLE DES ACIDES AMINES ESSENTIELS	302
MODELES BIOINSPIRES COURANTS DANS LE CHAMPS DE RECHERCHES DES ADDUITS Cu/O_2 MONONUCLEAIRES*	303
TABLE DE DONNEES EXPERIMENTALES DES ADDUITS Cu/O_2	304
PROTOCOLE DES CALCULS <i>AB INITIO</i>	305
FREQUENCES DE VIBRATION, DISTANCES O — O ET CHARGES NPA DES ADDUITS Cu/O_2	306

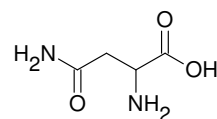
TABLE DES ACIDES AMINES ESSENTIELS



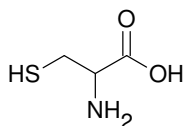
Alanine (A, ALA)



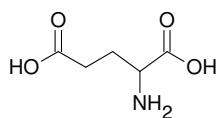
Arginine (R, ARG)



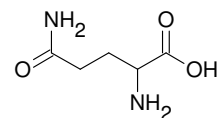
Asparagine (N, ARG)



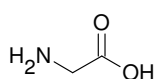
Cystéine (C, CYS)



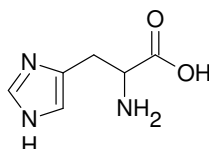
Acide Glutamique (E, GLU)



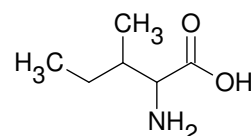
Glutamine (Q, GLN)



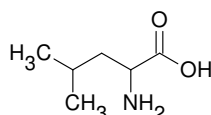
Glycine (G, GLY)



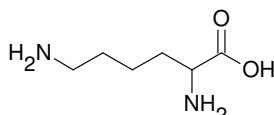
Histidine (H, HIS)



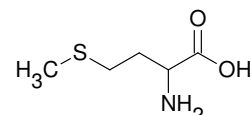
Isoleucine (I, ILE)



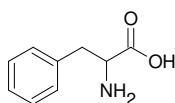
Leucine (L, LEU)



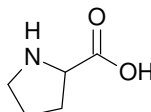
Lysine (K, LYS)



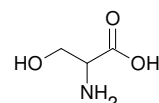
Méthionine (M, MET)



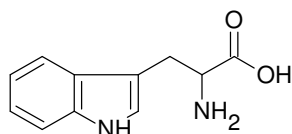
Phénylalanine (F, PHE)



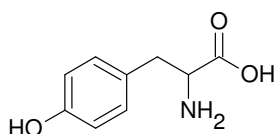
Proline (P, PRO)



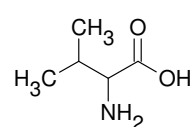
Sérine (S, SER)



Tryptophane (W, TRP)

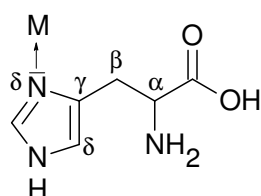
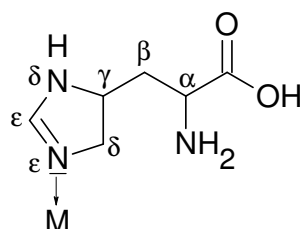


Tyrosine (Y, TYR)



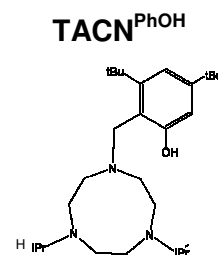
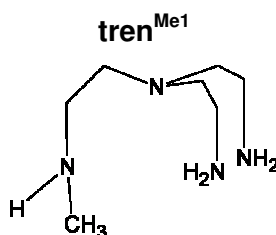
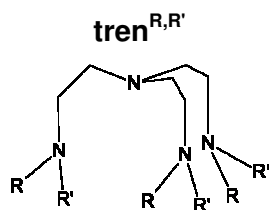
Valine (V, VAL)

18 acides aminés essentiels (Codes à une et trois lettres entre parenthèses)

Coordination δ Coordination ϵ

Modes de coordination du résidu histidine à un métal M

MODELES BIOINSPIRES COURANTS DANS LE CHAMPS DE RECHERCHES DES ADDUITS Cu/O₂ MONONUCLEAIRES*



R=R'=H : tris(aminoéthyl)amine

R=Me, R'=H : tris(N-méthylaminoéthyl)amine

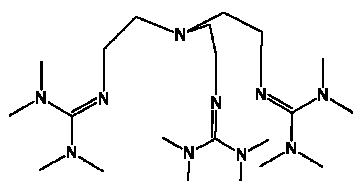
R=R'=Me : tris(N,N-diméthylaminoéthyl)amine

R=H, R'=Bn : tris(N-benzylaminoéthyl)amine

R=Bn, R'=Me : tris(N-benzyl-N-méthylaminoéthyl)amine

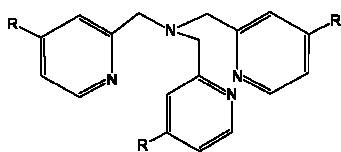
R=Bn, R'=Bn : tris(N,N-dibenzylaminoéthyl)amine

tren^{TMG}



tris(tétraméthylguanidino-aminoéthyl)amine

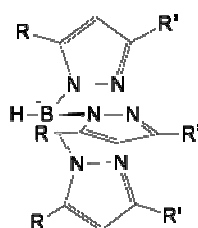
TPMA



R=H tris(2-pyridylméthyl)amine, TPMA

R=NMe₂ Tris((4-diméthylamino-2-pyridyl)méthyl)amine,
(TPMA^{NMe₂})

Tp^{H,H}

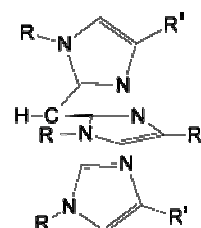


R=R'=H : tris(1-pyrazolyl)borate

R=iPr, R'=tBu : tris(3-tert-butyl-5-isopropyl-1-pyrazolyl)borate

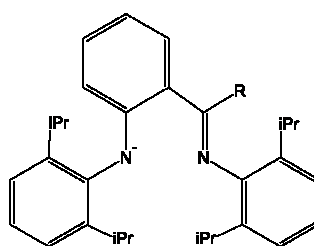
R=iPr, R'=Ada : tris(3-adamantyl-5-isopropyl-1-pyrazolyl)borate

Tim^{H,H}

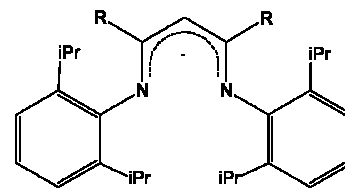


R=R'=H : Tris(imidazol-2-yl)méthane

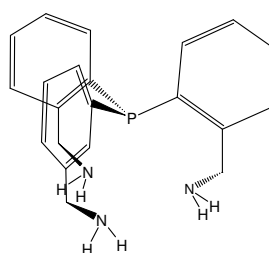
Al^R



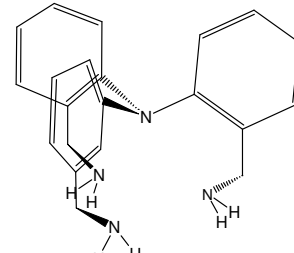
Dk^R



PN₃



NN₃



* La nomenclature IUPAC des ligands est donnée lorsque celle-ci donne un nom de composé raisonnable.

TABLE DE DONNEES EXPERIMENTALES DES ADDUITS Cu/O₂

Ligand	Mode de coordination	Etat de spin	UV-Visible, λ max en nm, (ϵ en mol ⁻¹ cm ⁻¹)	$\nu(^{16}\text{O} - ^{16}\text{O})$ en cm ⁻¹ ($\Delta(^{18}\text{O})$ en cm ⁻¹)	$\nu(\text{Cu} - ^{16}\text{O})$ en cm ⁻¹ ($\Delta(^{18}\text{O})$ en cm ⁻¹)	d (O — O) en nm	Références [†] .
TMPA		-	410 (4000), 747 (1000)				a
TMPA ^{NMe2}	η^1 , <i>end-on</i> (RAMAN)	S (RPE)	418 (4300), 615 (1100), 767 (840)	1121 (63)	472 (20)		47
tren ^{Me,Me}		-	414	1122			43
tren ^{H,Bn}		-	412				45
tren ^{Me,Bn}		-	416 (~5400), 591 (~1640), 737(~2340)	1120 (60)	474 (20)		45
tren ^{TMG}	η^1 , <i>end-on</i>	-	442, 690	1117 (58)		1,280	30, 31
Tp ^{iPr, tBu}	η^2 , <i>side-on</i>	S (RMN)		1112 (52)		1,22(3)	2
Tp ^{iPr,Ada}	η^2 , <i>side-on</i>	S (magnétochimie)	383 (~200), 452 (~300), 699 (~40), 980(~25)	1043 (59)	554 (20)		12
TACN ^{PhOH}		-	416 (4600), 654 (1800)	1120 (62)	450 (8), 422 (5)		35, 46
Dk ^{Me}		S (RPE)	385 (~2400), 600(~200)	968 (51)			44
Dk ^{tBu}		S (RPE)	424 (2000), 638 (200).	961 (49)		1,44(2)	3, 44
Al ^{Me}		S (RPE)	390 (7600), 440 (10300), 453 (11300) 650 (200)	974 (66)		1,392	3

† la numérotation des références correspond à celles du Chapitre II.

PROTOCOLE DES CALCULS *AB INITIO*

Les énergies des molécules sont calculées dans le cadre de la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (B3LYP).^{1,2,3} Cette fonctionnelle a été sélectionnée en raison de sa capacité à prédire les énergies de complexation de ligands sur des complexes de cuivre (I).⁴ La base d'orbitales atomiques choisie est la DZVP2⁵ enrichie d'orbitales diffuses p sur les atomes d'azote, d'oxygène, de bore, de soufre et de phosphore.^{6,7} Les charges atomiques ont été pour leur part été estimées selon l'approche NPA.⁸

Les énergies de complexation (ΔE) et d'interaction (EI) (*c.f.* Chapitre II) sont corrigées des effets d'erreur de superposition de base (BSSE) calculés selon la méthode *a posteriori* de contreponds proposée par Boys et Bernardi.^{9,10} Dans le cas des ΔE , les effets de ZPE sont également inclus dans les valeurs reportées dans les tableaux.

La nature des extrema d'énergie (minima ou états de transition) est attribuée après calcul des fréquences de vibration. Dans le cas d'états de transition, la connexion avec les réactifs et produits a été vérifiée par optimisation de géométrie de part et d'autre de l'état de transition.

A l'exception des calculs Spin-Flip réalisés avec le logiciel QCHEM,¹¹ l'ensemble des calculs a été réalisé avec le logiciel Gaussian03.¹² Notons enfin que la méthode décrite ci-dessus ne s'applique pas aux calculs DFT/MM du Chapitre IV. Dans ce cas particulier une méthodologie particulière a été optimisée et est présentée en détail à cette occasion. Il en va de même pour les calculs MM présentés dans le Chapitre V.

Sauf mention contraire, le code de couleur utilisé pour les représentations des molécules est le suivant : carbone (vert), azote (bleu), oxygène (rouge), hydrogène (gris clair), cuivre (orange), zinc (gris foncé), bore (rose), soufre (jaune), phosphore (violet).

¹ C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.

² A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.

³ B. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, H. Preuss, *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *157*, 200.

⁴ J.-M. Ducéré, A. Goursot, D. Berthomieu, *J. Chem. Phys.* **2005**, *109*, 400.

⁵ N. Godbout, D. R. Salahub, J. Andzelm, E. Wimmer, *Can. J. Chem.* **1992**, *70*, 560.

⁶ R. Krishnam, J. S. Binkley, R. Seeger, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **1980**, *72*, 650.

⁷ P. M.W. Gill, B. G. Johnson, J. A. Pople, and M. J. Frisch, *Chem. Phys. Lett.* **1992**, *197*, 499.

⁸ NBO Version 3.1, E. D. Glendening, Q. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold.

⁹ S. Simon, M. Duran, J. J. Dannenberg, *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 11024.

¹⁰ S. F. Boys and F. Bernardi, *Mol. Phys.* **1970**, *19*, 553.

¹¹ M. Head-Gordon *et al.* *Phys. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3172 - 3191.

¹² *Gaussian 03*, Revision A.1, J. A. Pople *et al.* Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2003**.

FREQUENCES DE VIBRATION, DISTANCES O — O ET CHARGES NPA DES ADDUITS Cu/O₂

LIGANDS TRIPODES				LIGANDS MONODENTATES			
Adduit	d (O — O) Å	q(O ₂) e	$\nu (^{16}\text{O} — ^{16}\text{O})^\dagger$ cm ⁻¹	Adduit	d (O — O) Å	q(O ₂) e	$\nu (^{16}\text{O} — ^{16}\text{O})^\dagger$ cm ⁻¹
tren^{H,H}				(MeNH₂)₂SMe₂			
side-on S	1,321	-0,54	1059,8	side-on S	1,330	-0,55	1034,8
end-on S	1,295	-0,49	1106,2	side-on S	1,327	-0,56	1034,3
end-on T	1,272	-0,35	1144,1	end-on S	1,283	-0,45	1121,1
tren^{Me,H}				end-on S	1,276	-0,41	1147,4
side-on S	1,322	-0,55	1053,2	(MeNH₂)₃			
end-on S	1,296	-0,52	1094,8	side-on S	1,325	-0,55	1044,5
end-on T	1,275	-0,37	1129,8	end-on S	1,276	-0,43	1152,9
PN₃				side-on T	1,264	-0,24	1201,4
end-on S	1,312	-0,55	983,6	end-on T	1,238	-0,11	1300,1
side-on S	1,350	-0,61	1050,3	(ImH)₃			
end-on T	1,281	-0,41	1117,3	side-on S	1,329	-0,57	1041,5
NN₃				end-on S	1,276	-0,43	1152,9
end-on S	1,294	-0,44	1131,8	side-on T	1,271	-0,28	1177,4
end-on T	1,247	-0,17	1243,8	end-on T	1,240	-0,13	1279,9
Tim^{H,H}				(MeNH₂)₄			
side-on S	1,334	-0,54	1032,2	end-on S	1,298	-0,54	1101,8
side-on T	1,288	-0,33	1139,0	end-on T	1,267	-0,34	1155,2
Tp^{H,H}							
side-on S	1,343	-0,62	1007,9				
side-on T	1,300	-0,42	1107,5				
S-tren							
end-on T	1,264	-0,29	1171,0				
P-tren							
end-on T	1,285	-0,42	1108,4				
P-tren'							
end-on T	1,247	-0,16	1247,6				

[†] Les fréquences de vibration sont corrigées d'un facteur 0,87 conformément au protocole décrit dans le Chapitre II.

