
JOURNAL DE PHYSIQUE ET DE CHIMIE DES ÉTUDIANTS

H

Li

Be

Na

Mg

K

Ca

Sc

Ti

V

Cr

Mn

Fe

Co

Ni

Cu

Zn

Rb

Sr

Y

Zr

Nb

Mo

Tc

Ru

Rh

Pd

Ag

Cd

Cs

Ba

Lu

Hf

Ta

W

Re

Os

Ir

Pt

Au

Hg

Fr

Ra

Lr

Rf

Db

Sg

Bh

Hs

Mt

Ds

Rg

Cn

La

Ce

Pr

Nd

Pm

Sm

Eu

Gd

Tb

Dy

Ho

Ac

Th

Pa

U

Np

Pu

Am

Cm

Bk

Cf

Es

NUMÉRO 5 - 26 JAN 2022

Journal
de Physique et de Chimie
des Étudiants de l'ENS de Lyon



ÉTUDE THÉORIQUE DES COFACTEURS RÉDOX DES CYTOCHROMES BD

CÔME CATTIN

Les cytochromes *bd* sont des protéines impliquées dans le mécanisme de respiration cellulaire de nombreuses bactéries en environnement pauvre en dioxygène. Leur fonctionnement repose sur des transferts électroniques impliquant trois hèmes. L'étude des cofacteurs rédox des hèmes permet de mieux appréhender leurs propriétés et ainsi la fonction des cytochromes *bd*. Une approche à l'aide de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) a été utilisée au cours de ce stage de L3 au sein de l'équipe ThéoSim du laboratoire de l'ICP de l'Université Paris-Saclay. Dans une première partie, nous nous sommes attachés à déterminer les paramètres de calcul nécessaire à la méthode de la DFT (fonctionnelles, base, base auxiliaire...). Puis l'analyse de la stabilité des états de spin de chaque hème nous a conduit à l'optimisation de leur géométrie dans leur état fondamental. Enfin les propriétés rédox des hèmes en phase gazeuse ont été calculées puis examinées au regard des données expérimentales existantes.

1. INTRODUCTION

Les cytochromes *bd* sont des métallo-enzymes que l'on trouve chez de nombreuses bactéries. Elles leur permettent de s'adapter à des environnements à faible teneur en dioxygène. Le cycle catalytique de ces enzymes fait intervenir des transferts d'électrons entre trois cofacteurs de type hème (Figure 1). Un cofacteur est un composé non protéique mais nécessaire au fonctionnement d'une protéine. Les cofacteurs de type hème sont des molécules composées d'une porphyrine avec en son centre un atome de fer. Ces hèmes présentent des particularités structurales propres, comme la fonctionnalisation chimique de la porphyrine ou la nature de leurs ligands axiaux du fer, qui leur confère des propriétés rédox spécifiques.¹

Au cours de ce stage nous avons cherché à calculer les potentiels rédox « intrinsèques » de ces hèmes, c'est-à-dire en l'absence de la matrice protéique *i.e.* l'environnement protéique autour des hèmes. Notre étude s'est portée sur les cytochromes *bd* des bactéries *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Geobacillus thermodenitrificans* (*G. Th.*). Les positions des hèmes *b*₅₉₅ et *d* sont inversées entre ces deux bactéries (Figure 2).² La réduction du dioxygène en eau se fait pourtant toujours sur l'hème en bout de chaîne, c'est-à-dire l'hème *d* dans le cas de *E. coli* et *b*₅₉₅ dans le cas de *G. Th.* Dans chaque transfert, l'électron part de l'hème *b*₅₉₈. Le transfert d'électron se fait donc dans le sens des potentiels croissants pour *E. coli* ($E_{b_{598}}^0 < E_d^0$ avec E_X^0 le potentiel rédox standard de l'hème *X*), ce qui n'est pas le cas pour *G. Th* ($E_{b_{598}}^0 > E_{b_{595}}^0$).

Cette inversion semble conférer aux hèmes des pro-

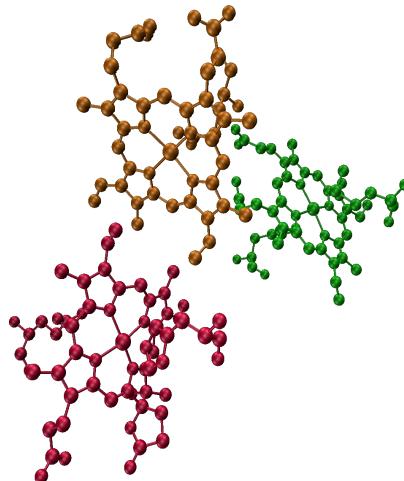


Fig. 1 Agencement spatial des 3 hèmes étudiés, sans les ligands axiaux du fer, de la cytochrome *bd* de *E. coli*. L'hème *b*₅₉₈ est représenté en vert, l'hème *b*₅₉₅ en marron et l'hème *d* en rouge.

priétés rédox spécifiques expliquant potentiellement un fonctionnement différent de l'enzyme dans les deux bactéries.^{3,4}

D'où provient cette différence de propriétés chimiques ? Provient-elle de l'environnement proche du fer des porphyrines *i.e.* des ligands axiaux du fer ? A-t-elle pour origine l'environnement protéique des hèmes ? Ou peut-on l'expliquer par l'interaction entre les hèmes ?

Nous nous sommes attachés durant ce stage à explorer l'hypothèse de l'environnement proche du fer. Afin d'étu-

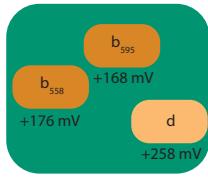
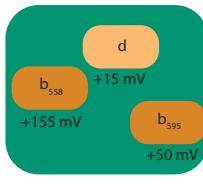
(a) *E. coli*(b) *G. Th.*

Fig. 2 Arrangement spatial des hèmes dans les cytochromes *bd* des bactéries *E. coli* et *G. Th.*. Les potentiels rédox standards sont indiqués sous chaque hème. Les cytochromes *bd* des deux bactéries sont très similaires mais leur fonctionnement diverge, l’agencement spatial des hèmes pourrait expliquer cette différence.

dier cette hypothèse, des calculs de chimie quantique reposant sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) ont été réalisés. Cela nous permet d’obtenir les géométries de basse énergie de ces complexes, les modes de vibration et des propriétés électroniques telles que l’affinité électro-nique et le potentiel d’ionisation. Ces travaux permettront de mieux comprendre les étapes rédox du cycle catalytique des cytochromes *bd*.

2. MÉTHODOLOGIE

2.1. Théorie

2.1.1. Position du problème

Afin de répondre à notre problématique, nous allons modéliser la structure électronique de notre système à l’aide de la mécanique quantique.

Une première approche pour décrire l’état d’un système en chimie quantique est de résoudre explicitement l’équation de Schrödinger (Équation 1).

$$\hat{\mathcal{H}}\Psi(\mathbf{r}; \mathbf{R}) = E\Psi(\mathbf{r}; \mathbf{R}), \quad (1)$$

où $\Psi(\mathbf{r}; \mathbf{R})$ est la fonction d’onde du système avec \mathbf{r} les coordonnées des électrons et \mathbf{R} les coordonnées du noyau. E est l’énergie propre et $\hat{\mathcal{H}}$ l’hamiltonien du système.

Tous les électrons et noyaux interagissant les uns avec les autres, la résolution de ce système d’équations est complexe et coûteuse en temps de calcul.⁵ Il est donc nécessaire d’introduire un certain nombre d’approximations. Parmi celles-ci, l’approximation de Born-Oppenheimer permet de découpler le mouvement des électrons de celui des noyaux. Les noyaux étant beaucoup plus lourds que les électrons, d’un facteur supérieur à 2×10^3 , on considère leur mouvement beaucoup plus lent que celui des électrons. L’équation 1 est alors découpée entre une partie électronique et nucléaire ; elle devient pour la partie électronique :

$$\hat{\mathcal{H}}_e(\mathbf{R})\Psi_e(\mathbf{r}) = E(\mathbf{R})\Psi_e(\mathbf{r}), \quad (2)$$

où $\Psi_e(\mathbf{r})$ est la fonction d’onde des électrons et $E(\mathbf{R})$, l’énergie électronique pour la géométrie \mathbf{R} . $\hat{\mathcal{H}}_e$ est l’hamiltonien électronique qui s’écrit⁶ :

$$\hat{\mathcal{H}}_e = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i^{N_e} \nabla_i^2 - j_0 \sum_i^{N_e} \sum_l^{N_n} \frac{Z_l}{r_{il}} + \frac{1}{2} j_0 \sum_{i \neq j}^{N_e} \frac{1}{r_{ij}}, \quad (3)$$

avec \hbar la constante de Planck réduite, m_e la masse d’un électron, N_e et N_n respectivement le nombre d’électrons et de noyaux, Z_l est la charge du noyau l et r_{ij} la distance entre les électrons i et j . On définit $j_0 = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0}$ où e est la charge élémentaire et ϵ_0 est la constante diélectrique.

Plusieurs méthodes de résolution de ces équations ont été développées. Par exemple, la méthode Hartree-Fock propose de résoudre l’équation 2 pour chaque électron en considérant l’interaction électron-électron de façon moyenne. Ainsi chaque électron baigne dans un champ électrique créé par les noyaux et la moyenne des autres électrons. Cette approximation est rapidement mise en défaut car la méthode Hartree-Fock oublie toute corrélation entre les positions des électrons. Pour répondre à ce problème, des méthodes dites « post-Hartree-Fock » ont été développées. Cependant ces méthodes sont très coûteuses en temps de calcul. Une méthode alternative possible est la méthode de la théorie de la fonctionnelle de la densité (*Density Functional Theory*, DFT en anglais).

2.1.2. Density Functional Theory, DFT

La DFT est une méthode de calcul de chimie quantique développée dans les années 1960. C’est aujourd’hui l’une des méthodes de calcul en chimie théorique les plus populaires.

Afin de décrire le système nous utilisons la notion clé de densité électronique $\rho(\mathbf{r})$. Cette grandeur décrit le nombre d’électrons par unité de volume à la coordonnée \mathbf{r} . On a donc : $\int_{\Omega} \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N_e$, où Ω est l’ensemble de l’espace.

L’utilisation de cette grandeur permet de simplifier les calculs sur les propriétés électroniques.

La DFT repose sur le théorème d’existence de Hohenberg-Kohn⁷ démontré en 1964. Ce théorème stipule que l’énergie et toutes les autres propriétés électroniques de l’état fondamental sont déterminées uniquement par la densité électronique et peuvent être exprimées sous la forme d’une fonctionnelle de la densité électronique. On peut ainsi écrire pour la fonctionnelle donnant l’énergie :

$$E[\rho] = \overbrace{T[\rho] + V_{ee}[\rho]}^{F[\rho]} + \int \rho(\mathbf{r}) v(\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad (4)$$

avec T le terme d’énergie cinétique des électrons, V_{ee} l’énergie d’interaction électron-électron et v le terme d’interaction entre les électrons et les noyaux.

Le second théorème de Hohenberg-Kohn, ou théorème variationnel est aussi à l’origine de la méthode de la DFT.⁸ Il démontre que, pour une densité électronique $\rho'(\mathbf{r})$ quelconque, l’énergie obtenue ($E[\rho']$) est nécessairement supérieure à l’énergie de l’état de plus basse énergie ($E[\rho]$), l’état observé expérimentalement. Ainsi, en minimisant l’énergie par rapport à ρ' on obtient l’énergie de l’état fondamental et sa densité électronique.

Seul $\rho(\mathbf{r})$, qui n’est qu’une fonction à 3 dimensions, est alors à déterminer. Le problème à N corps initialement posé avec la fonction d’onde Ψ est donc réduit à un problème à 3 dimensions avec la densité électronique.⁹

Cependant le terme F regroupant les termes « cinétique » et « interaction électron-électron » est en pratique difficile à calculer. Aussi, ce terme ne dépend pas du système. En effet, les électrons étant des fermions, ils res-

pectent le principe d'exclusion de Pauli. Cette propriété impactant leur énergie cinétique, il est essentiel de la prendre en compte. La méthode de Kohn-Sham¹⁰ permet de considérer cet effet en introduisant une énergie cinétique auxiliaire J décomposée sur une base d'orbitales $\{\phi_i\}$ (Équation 5), dites orbitales de Kohn-Sham.

$$J = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \int |\nabla \phi_i(\mathbf{r})|^2 d\mathbf{r}. \quad (5)$$

On a la relation entre la densité électronique et les orbitales $\{\phi_i\}$:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i |\phi_i(\mathbf{r})|^2. \quad (6)$$

Cette énergie cinétique auxiliaire est en fait l'énergie cinétique d'un système fictif idéal d'électrons que l'on sait calculer.

On peut à présent définir l'énergie dite d'échange-corrélation E_{xc} qui permet de prendre en compte les effets quantiques de l'interaction entre deux électrons :

$$E_{xc}[\rho] = F[\rho] - U[\rho] - J[\rho], \quad (7)$$

avec U le terme de répulsion électrostatique entre deux densités de charge. Ainsi l'énergie totale électronique s'écrit :

$$E[\rho] = U[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] + \int \rho(\mathbf{r})v(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad (8)$$

On notera que le système fictif ne possède pas de corrélation. La seule fonctionnelle alors inconnue est E_{xc} . L'expression exacte de cette fonctionnelle étant inconnue, il est alors nécessaire de faire des hypothèses sur son expression.

Une première approche consiste à ne considérer que la densité électronique dans la fonctionnelle d'échange-corrélation. On parle de fonctionnelle de type LDA (*Local Density Approximation*). Ces fonctionnelles sont souvent suffisantes pour une étude de grands systèmes périodiques. Elles sont, par conséquent, largement utilisées en chimie du solide.

Une approximation plus fine consiste à prendre en compte le gradient de ρ . Ce type de fonctionnelle est dit GGA (*Generalized Gradient Approximation*). Ces fonctionnelles sont plus adaptées à la chimie moléculaire. Nous en avons utilisé certaines, et en particulier OPTX-PBE.

Des approximations encore plus fines sont possibles avec des fonctionnelles de type métà-GGA qui considèrent aussi les dérivées secondes de ρ .¹¹ Ces fonctionnelles donnent des résultats plus précis mais allongent le temps de calcul. Parmi elles, nous avons utilisé la fonctionnelle M062X.

Enfin, une des limitations bien connues de la DFT est l'erreur d'auto-interaction, *self-interaction* en anglais.¹² Une approche pour corriger cette erreur est d'introduire une partie d'échange exact du système fictif dans la fonctionnelle de l'énergie du système réel. Ces fonctionnelles sont appelées hybrides. Nous avons eu l'occasion d'utiliser parmi elles PBE0 et B3LYP.

2.2. Logiciel et matériel

2.2.1. DeMon2k

Dans le cadre de ce stage nous avons utilisé le logiciel de calcul de chimie quantique DeMon2k v.6.1.7.¹³ DeMon2k signifie *Density of Montréal*, sa première version a été publiée en 1992. Comme de nombreux programmes de chimie quantique, DeMon2k utilise la méthode de la DFT couplée avec la méthode de Kohn-Sham. Dans DeMon2k, les orbitales de Kohn-Sham (ϕ_i dans l'équation 5) sont décrites par une combinaison linéaire d'orbitales de type gaussienne : approche LCGTO (*Linear Combination of Gaussian-Type Orbitals*).^{14,15} De nombreuses fonctionnelles d'échange-corrélation et bases de Kohn-Sham sont implémentées dans DeMon2k. Nous avons réalisé des tests sur différentes bases et fonctionnelles afin de déterminer les paramètres les plus adéquats.

En pratique, DeMon2k s'utilise en préparant un fichier d'entrée (fichier .inp) dans lequel tous les paramètres nécessaires au calcul sont sélectionnés. On y indique notamment les opérations à effectuer (optimisation de géométrie, calcul d'énergie simple point, calcul de fréquence des modes normaux de vibration...), les critères de convergence ainsi que la géométrie d'entrée du système considéré, le plus souvent sous forme d'une Z-matrice ou des coordonnées cartésiennes. Une Z-matrice est une représentation de la géométrie du système par ses coordonnées internes. Les atomes du système sont alors décrits par leurs distances les uns par rapport aux autres ainsi que les angles et angles dièdres qu'ils forment.

Il est possible de soumettre ces fichiers à un centre de calcul (voir partie 2.2.2) ou simplement sur une grappe de calcul à l'aide d'un fichier de soumission écrit en Bash. Les calculs les plus coûteux que nous avons effectués sont les optimisations de géométrie. Le plus souvent ils excèdent le temps limite imposé aux centres de calcul. Il est donc nécessaire dans le fichier de soumission de relancer le programme en boucle jusqu'à ce que le calcul ait convergé. On veille à fixer un nombre maximal de pas d'optimisation de géométrie dans le fichier d'entrée afin d'arrêter le calcul avant la fin du temps imparti.

À la fin du calcul, DeMon2k génère des fichiers que nous récupérons. Parmi eux, le fichier de sortie (fichier .out) contient l'ensemble des résultats ainsi que le temps nécessaire à chaque étape du calcul. On trouve également le fichier molden (fichier .mol) permettant une visualisation graphique des résultats à l'aide du logiciel Molden.¹⁶

2.2.2. Occigen et Styx

Les tâches les plus coûteuses des calculs effectués avec DeMon2k ont été réalisés sur le super-calculateur national Occigen du CINES (Centre Informatique National de l'Enseignement Supérieur). Avec une puissance de calcul théorique de $3,5 \times 10^{15}$ flop/s, Occigen a été classé en novembre 2014 au 26^e rang mondial du classement Top500.¹⁷

Sur Occigen, le temps de chaque calcul est limité à 24 heures. Il est donc nécessaire d'effectuer dans le fichier de soumission une boucle permettant de relancer automatiquement les calculs au bout de ces 24 heures.

Comme Occigen est un super-calculateur national, chaque équipe de recherche qui en a fait la demande dis-

pose d'un temps qui lui est alloué en fonction de ses besoins et de ses projets. Les heures de calculs attribués au groupe ont été dépassées lors de ce stage. Certains calculs prévus n'ont donc malheureusement pas pu être effectués. En effet, il faut compter environ une vingtaine de jours pour mener à son terme une optimisation de géométrie pour un hème.

Afin d'utiliser au mieux les ressources mises à notre disposition, il est important d'effectuer avant tout calcul une mise à l'échelle (*scaling*). Ce test consiste à vérifier la bonne parallélisation du problème en effectuant, sur un nombre différent de processeurs, le même calcul. Si le calcul était parfaitement parallélisé, doubler le nombre de processeurs diviserait par deux le temps de calcul. Ce n'est pas ce qui est observé en pratique. D'une part, les processeurs doivent communiquer entre eux à chaque fois que leur tâche s'achève. Cette communication, parfois entre deux lieux éloignés, prend du temps et ralentit le calcul ; un plus grand nombre de processeurs implique ainsi une augmentation de communication entre ces derniers qui peut aller jusqu'à annuler le gain associé à la parallélisation. D'autre part, certaines opérations ne peuvent se distribuer sur un ensemble de processeurs et ainsi tirer parti d'une parallélisation. C'est le cas par exemple des étapes d'écriture et de lecture des fichiers lors du calcul. En effet, DeMon2k génère et utilise lors de ses calculs des fichiers intermédiaires trop lourds pour être stockés en mémoire vive. Il est donc nécessaire de les écrire sur la mémoire morte, processus ne pouvant être parallélisé.

Le test de *scaling* permet d'obtenir le nombre de processeurs idéal à utiliser visant à tirer parti de la parallélisation du code en minimisant les pertes de temps liées à la communication entre processeurs.

Un tel test a été réalisé sur Occigen (Figure 3) pour déterminer le nombre de processeurs à utiliser par la suite.

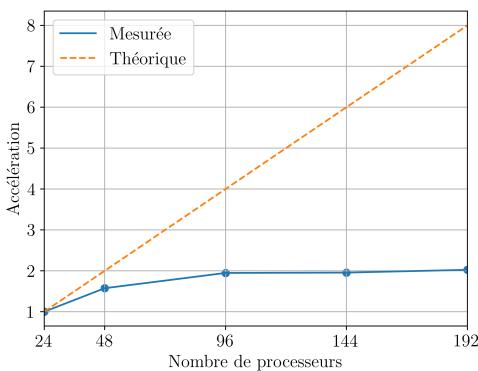


Fig. 3 Courbe du *scaling* réalisé sur Occigen sur 5 pas d'optimisation de géométrie du hème b sans ligand. On définit l'accélération (ou *speed-up* en anglais) comme $S = \frac{t(24)}{t(x)}$, avec $t(x)$ le temps de calcul pour x processeurs. La courbe dite "théorique" correspond aux résultats attendus si le calcul était parfaitement parallélisé. Sur Occigen, le nombre minimal de processeurs est de 24.

On peut remarquer que pour 48 processeurs, la courbe d'accélération obtenue reste proche de la courbe associée à une parallélisation parfaite. Pour 96 processeurs ou plus, on note une perte d'efficacité. Ainsi, nous avons utilisé

par la suite 48 processeurs. Ce résultat est en accord avec l'expérience de systèmes similaires étudiés par l'équipe de recherche.

Nous avons effectué les calculs les moins coûteux sur une grappe (*cluster*) du laboratoire de l'ICP, Styx, en utilisant 8 processeurs. Cela concerne notamment les calculs de simple point et ceux de fréquences des modes normaux de vibration.

2.3. Démarche utilisée

Afin de gagner du temps lors de nos calculs, une méthode de travail a été mise en place au début du stage. Il faut, avant tout calcul de propriétés rédox, optimiser la géométrie du système, c'est-à-dire trouver l'arrangement dans l'espace de l'état fondamental.

L'optimisation de géométrie est une opération coûteuse en chimie quantique. Ainsi, nous avons opté pour une approche par fragments du système (Figure 4). Nous allons partir du fragment le plus petit du système (la porphyrine), l'optimiser, et utiliser la géométrie optimisée pour construire le fragment suivant, plus grand (porphyrine et noyau de fer). Nous appliquerons cette méthode de travail jusqu'à l'obtention du système complet (porphyrine avec noyau de fer et ligands axiaux). Nous espérons ainsi en réutilisant les géométries déjà optimisées gagner du temps de calcul. Cette méthode est discutée dans la partie 3.3.1. Finalement, nous l'avons surtout utilisée pour la détermination des paramètres de calculs qui ont été réalisés sur la porphyrine.

Avant tout calcul sur le système complet, nous devons définir les paramètres que nous allons utiliser pour effectuer notre modélisation. Nous avons effectué des tests sur la base ainsi que sur la fonctionnelle que nous allons utiliser pour décrire notre système.

Nous utilisons des critères de convergence stricts pour l'étude de ce système ($1,0 \times 10^{-9}$ Ha pour la convergence SCF (*Self Consistent Field*) et $1,0 \times 10^{-5}$ Ha pour la convergence de géométrie). En effet, de précédents travaux sur ce type de systèmes ont montré que moins d'erreurs sur la convergence étaient obtenues si ces critères étaient plus restrictifs.¹⁸

Le logiciel DeMon2k propose l'utilisation d'une base auxiliaire pour décrire la densité électronique permettant d'accélérer les calculs : nous testerons son utilisation et son influence sur les calculs. Aussi, est implémenté dans DeMon2k un algorithme d'accélération de convergence de la procédure SCF appelé par l'option DISS. Il est déconseillé dans notre cas de l'utiliser, la convergence SCF étant plus difficile à atteindre si cet algorithme est activé. De plus, nous utiliserons les coordonnées cartésiennes plutôt qu'internes car leur traitement est plus rapide et plus efficace dans DeMon2k.¹⁹

Une fois l'optimisation de géométrie effectuée nous vérifierons que la géométrie atteinte correspond bien à un minimum d'énergie. L'utilisation des modes normaux de vibration de la molécule permet d'obtenir cette information. En effet, en se basant sur le modèle de l'oscillateur harmonique à une dimension,²⁰ l'énergie potentielle du système vaut :

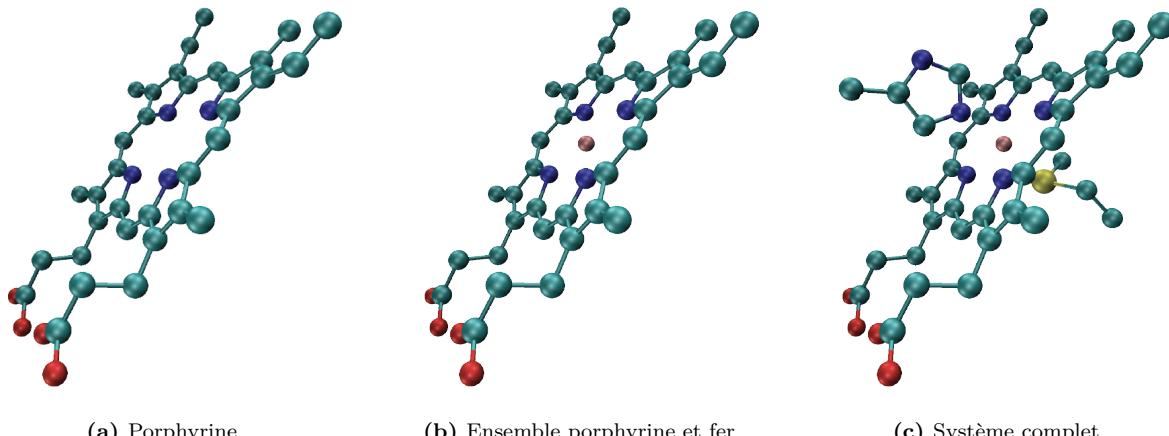


Fig. 4 Étude de l'hème b₅₉₅ par fragments. À partir du fragment de porphyrine optimisé nous construisons le fragment présenté figure 4b. Après optimisation de la géométrie de ce dernier, nous construirons le fragment final (figure 4c).

$$V(x) = V(x_0) + \frac{1}{2} \left(\frac{d^2 V}{dx^2} \right)_{x_0} (x - x_0)^2 + \mathcal{O}(x^3) \quad (9)$$

avec m la masse du système, x la dimension considérée, x_0 la géométrie d'équilibre et ω la pulsation propre. Au voisinage de la géométrie d'équilibre ($x = x_0$), on a $(\frac{dV}{dx})_{x_0} = 0$. Dans l'approximation de l'oscilateur harmonique parfait :

$$V(x) = \frac{1}{2}m\omega^2(x - x_0)^2, \quad (10)$$

$$\Rightarrow m\omega^2 \propto \left(\frac{d^2V}{dx^2} \right)_{x_0} \quad (11)$$

Le potentiel est ainsi minimal si :

$$\left(\frac{d^2V}{dx^2} \right)_{x_0} > 0 \quad (12)$$

$$\nrightarrow \omega \in \mathbb{R}^* \quad (13)$$

Ce raisonnement est généralisable à N dimensions ce qui est le cas ici. Il suffit alors de calculer les modes normaux de vibration de notre molécule. Si aucune fréquence de vibration n'est imaginaire, alors la géométrie obtenue est bien celle d'une structure stable. Si une seule fréquence est imaginaire, la structure est alors celle d'un état de transition.

3. RÉSULTATS - DISCUSSION

Nous présenterons et discuterons dans cette partie les résultats obtenus au cours du stage.

3.1. Étude préliminaire

Après avoir défini les outils nécessaire aux calculs (partie [2.2.2](#)), nous allons ici sélectionner les paramètres utilisés. Cette étape est essentielle à tout projet en chimie quantique car ce choix repose sur un équilibre entre précision de la méthode et temps des calculs. Dans la suite de cette

partie nous étudierons l'effet du choix de la base et de la fonctionnelle sur l'énergie d'ionisation (Équation 14) de la porphyrine du hème b (Figure 4a). On définit l'énergie d'ionisation par :

$$EI_1 = E_{\text{ion}} - E_g, \quad (14)$$

avec E_g l'énergie de la porphyrine dans sa géométrie optimale. Le système a alors une charge -2 , et une multiplicité de spin 1 . E_{ion} est l'énergie de cette même géométrie avec un électron arraché. Le système possède à présent une charge -1 , et une multiplicité de spin 2 . Le retrait d'un deuxième électron permet de calculer l'énergie de seconde ionisation :

$$EI_2 = E_{ion_2} - E_{ion}, \quad (15)$$

avec E_{ion_2} l'état doublement ionisé.

3.1.1. Base

Le premier paramètre à choisir et à fixer pour le reste de l'étude est la base d'orbitales.

Nous avons réalisé une première étude sur les bases DZVP et TZVP avec la fonctionnelle OPTX-PBE. Ces bases sont un ensemble de fonctions gaussiennes. Dans le nom de ces bases, le V signifie *Valence* et le P *Polarization*. Dans DZVP (*Double Zeta*), les orbitales atomiques de valence sont représentées par une combinaison de fonctions gaussiennes avec 2 exposants différents et 3 exposants différents pour la TZVP (*Triple Zeta*).

La base TZVP est donc plus flexible, plus complète et permet de décrire plus finement les orbitales.^{6,11} En contre partie, les calculs effectués sur cette base sont plus coûteux.

On obtient les résultats suivants :

	DZVP	TZVP
EI_1	-0,278	-0,713
EI_2	3,498	2,239

Tab. 1 Énergie de première ionisation et de seconde ionisation en eV de la porphyrine de l'hème b calculé avec les bases DZVP et TZVP avec la fonctionnelle OPTX-PBE.

Le résultat le plus frappant est l'existence d'énergie de première ionisation négative, ce qui indique que le système est instable. On remarque aussi que cette énergie est d'autant plus négative que la base est précise (Table 1). Aussi, les énergie de seconde ionisation positive indique que l'ion monochargé, un anion, est stable.

Les calculs ont été réalisés en phase gazeuse. Aucun atome voisin ne pourrait stabiliser la charge négative. Qui plus est, cette charge négative se trouve être localisée au centre de la molécule, entre les atomes d'azotes, où sont les doublets non liants de ces derniers. La répulsion électronique à cet endroit est donc très forte. Dans cette hypothèse, enlever un électron permet de réduire cette charge non-stabilisée et ainsi de minimiser la répulsion électrique. Cette proposition pourrait expliquer les énergies de première ionisation négatives trouvées.

Afin d'approfondir et d'étayer cette hypothèse, mais également pour clarifier la tendance de la variation de l'énergie d'ionisation, nous nous proposons d'effectuer ces mêmes calculs avec un autre ensemble de bases. Nous calculons ainsi l'énergie d'ionisation sur un ensemble de bases de Pople.²¹

Dans les bases de Pople, la notation utilisée permet d'indiquer l'étendue et la qualité de la base. Ainsi, le nombre de caractères « + » dans le nom de la base indique une augmentation du nombre de fonctions par l'ajout de fonctions diffuses. Ces ajouts permettent de décrire plus précisément les électrons en périphérie de la molécule. Cela est notamment utile dans notre cas pour décrire les électrons célibataires localisés sur les couches externes de la porphyrine. Le nombre de caractères « * » indique l'ajout de fonctions dites « de polarisation ». Cet ajout permet une description plus fine des électrons et une plus grande flexibilité de la base.

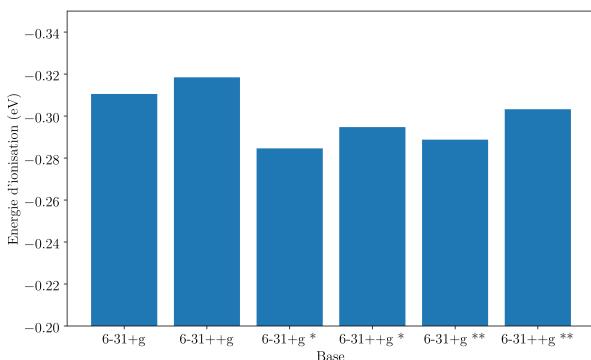


Fig. 5 Énergie d'ionisation en eV de la porphyrine de l'hème b calculée avec différentes bases de Pople avec la fonctionnelle OPTX-PBE.

Quelle que soit la base choisie, l'énergie d'ionisation est négative (Figure 5). Aussi, l'ajout de fonctions diffuses augmente la valeur absolue de l'énergie d'ionisation et l'ajout de fonctions de polarisation la diminue puis l'augmente. Ces résultats semblent confirmer que la molécule s'auto-ionise.

Par la suite, profitant de travaux précédents réalisés par l'équipe de recherche sur des systèmes similaires à notre

sujet, nous utiliserons la base DZVP-GGA.¹⁸ Cette base est équivalente à la base DZVP testée ici, et optimisée pour des calculs avec des fonctionnelles GGA.

3.1.2. Fonctionnelle

Le second paramètre de notre étude est la fonctionnelle d'échange corrélation. La fonctionnelle est appelée par le mot clef VXCTYPE dans DeMon2k. Nous allons étudier la sensibilité de l'énergie d'ionisation à la variation de ce paramètre.

Les fonctionnelles utilisées pour cette étude seront OPTX-PBE et PBE0. Cette dernière est une fonctionnelle hybride, donc plus coûteuse en temps de calcul que OPTX-PBE, fonctionnelle de type GGA. La fonctionnelle M062X fut également testée. Cependant, la convergence SCF avec cette dernière étant trop longue, supérieure à 24 heures, elle fut abandonnée.

L'énergie d'ionisation est toujours négative quelle que soit la fonctionnelle utilisée (Figure 6). Cela confirme les résultats de la partie 3.1.1.

L'énergie d'ionisation diminue d'environ 36 % lors du passage de OPTX-PBE à PBE0 (barres bleues dans la figure 6). Nous pouvons donc en conclure que la fonctionnelle est un paramètre ayant un grand impact sur la mesure des propriétés de notre système.

Pour accélérer le calcul, DeMon2k utilise une densité auxiliaire dont la précision est contrôlée par le mot clef **AUXIS**. Par défaut ce paramètre sélectionne GEN-A2 comme base auxiliaire. Nous avons voulu tester l'influence de ce paramètre sur les résultats. Ainsi nous avons sélectionné le paramètre GEN-A2*, plus coûteux en temps de calcul mais plus précis que GEN-A2. Les énergies d'ionisation obtenues sont très similaires avec moins de 2 % d'écart entre les deux fonctionnelles (résultats en verts sur la figure 6). En faisant le choix d'utiliser GEN-A2* en tant que densité auxiliaire, le calcul des propriétés du système devient finalement peu sensible au choix de la fonctionnelle. Il est donc important de sélectionner GEN-A2* plutôt que GEN-A2 comme paramètre.

Enfin, afin de vérifier le comportement de la sensibilité du système au choix de densité auxiliaire, nous avons effectué un calcul n'utilisant pas la densité auxiliaire pour le calcul de l'énergie. Les énergies d'ionisation sont très proches avec un écart de moins de 4 % entre les deux fonctionnelles (barres oranges dans la figure 6). De nouveau, le choix de la fonctionnelle a peu d'impact sur les résultats. Cependant ces résultats sont différents de ceux obtenus avec la densité auxiliaire GEN-A2* et sont plus coûteux à obtenir.

Nous en avons conclu que l'utilisation de la fonctionnelle OPTX-PBE était un choix judicieux. En effet, cette dernière permet de trouver sensiblement les mêmes résultats que PBE0 à moindre coût de calcul, à condition d'utiliser GEN-A2* comme base auxiliaire. OPTX-PBE permet ainsi un équilibre entre précision des résultats et efficacité pour les obtenir.

Cependant, il reste encore un écart assez important avec le calcul le plus précis (entre les barres vertes et oranges de la figure 6) qu'il faudrait explorer dans de futures recherches.

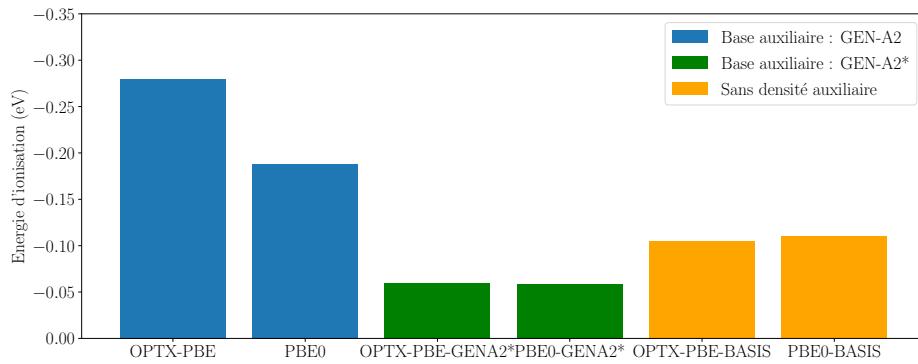


Fig. 6 Énergie d’ionisation en eV pour différentes fonctionnelles et différents paramètres. Les barres en bleu présente les résultats des calculs effectués avec la base auxiliaire par défaut GEN-A2. Les barres en vert avec une base auxiliaire plus complète : GEN-A2*. Enfin les barres en orange présente les résultats obtenus sans utilisation de densité auxiliaire.

3.2. État de spin

Les paramètres globaux étant désormais fixés, nous nous sommes attachés à déterminer les propriétés intrinsèques de notre système. Pour réaliser n’importe quel calcul dans DeMon2k, nous devons renseigner la multiplicité de spin de la molécule, notée M , définie par : $M = 2S + 1$ avec S le spin résultant des électrons du système. Cette multiplicité de spin dépendra directement de l’état de spin de l’atome de fer au centre de l’hème. Nous devons donc déterminer quel état de spin du fer est le plus stable.

3.2.1. Détermination de l’état de spin le plus stable

L’atome de fer dans notre molécule peut se trouver dans deux états rédox différents : l’état ferrique et l’état ferreux, respectivement Fe^{III} et Fe^{II} . Dans chaque état et pour chaque hème en fonction de la coordination du fer, seulement certaines multiplicités de spin sont possibles.²² Nous réalisons pour chaque hème de *E. coli* et pour chaque multiplicité de spin une optimisation de géométrie depuis la structure issue des données expérimentales.³ Par manque de temps de calcul sur Occigen, toutes les géométries n’ont pu être optimisées complètement. Les résultats présentés ici, bien que partiels, montrent une tendance.

	M	hème b ₅₅₈	hème b ₅₉₅	hème d
Fe^{II}	1	0	0,438	0,324*
	3	0,522	0,157	0*
	5	1,001	0	0,272*
Fe^{III}	2	0,032*	0,662	0,677*
	4	0	0	0*
	6	0,402	0,088*	0,627*

Tab. 2 Écart énergétique en eV des hèmes en fonction de leur multiplicité de spin M et état rédox par rapport à la multiplicité la plus stable. Pour chaque hème et chaque état rédox du fer, les énergies des différents états de spin sont données relativement à l’état de plus basse énergie. Les résultats issues de calculs n’ayant pas entièrement convergé sont indiqué par un astérisque.

Les résultats obtenus (Tableau 2) indiquent que le plus souvent, l’état de spin privilégié est l’état intermédiaire,

de multiplicité 3 et 4. Cependant, en considérant les deux états rédox du fer, on peut esquisser une tendance concernant l’état de spin privilégié par les systèmes.

- L’hème b₅₅₈ a pour états les plus stables, les états bas spin ($M = 1$) pour l’état Fe^{II} et l’état spin intermédiaire ($M = 4$) pour l’état Fe^{III} . L’écart d’énergie entre l’état bas spin et spin intermédiaire correspond à 3,0 kJmol^{-1} ce qui est en dessous de la précision chimique. En effet, on considère que la précision chimique est de l’ordre de 4 kJmol^{-1} . De plus, le système avec une multiplicité de 2 est moins optimisé que celui avec une multiplicité de 4. Son énergie tend donc à décroître encore. **Par conséquent, nous avons considéré par la suite que l’état privilégié était l’état bas spin dans les deux états rédox, en accord avec les données expérimentales.**
- L’hème b₅₉₅ a pour états les plus stables, les états haut spin pour le Fe^{II} ($M = 5$) et l’état spin intermédiaire pour le Fe^{III} ($M = 4$). L’écart d’énergie pour Fe^{III} entre l’état haut spin et spin intermédiaire dans la forme ferrique correspond à 8,5 kJmol^{-1} . Cet écart, bien qu’au-dessus de la précision chimique, est assez faible. Comme dans le cas précédent, cet écart a tendance à diminuer avec le nombre de pas d’optimisation de géométrie car la structure du système avec une multiplicité de 6 est moins optimisée que celui avec une multiplicité de 4. **Nous avons considéré que l’état privilégié était par conséquent l’état haut spin, ici en accord avec les informations expérimentales.**
- L’hème d a pour états les plus stables, les états spin intermédiaires pour le Fe^{II} ($M = 3$) et pour le Fe^{III} ($M = 4$). Bien qu’éloignés énergétiquement de l’état de spin le plus stable, les états hauts spin lui sont plus proches que les états bas spin. De plus, la structure de l’hème d dans tous les états de spin n’a pas encore convergé. Qui plus est, comme il sera décrit dans la partie 3.3.2, dans la structure de l’hème d que nous avons sélectionné pour cette étude, le ligand axial oxygéné a tendance au cours des pas d’optimisations de géométrie à s’éloigner de la sphère de coordination du fer. Ces résultats ne sont que partiels.

Nous avons considéré dans la suite que l'état privilégié était finalement l'état haut spin en accord avec les données expérimentales.

Ces résultats, compte tenu des limites de nos calculs ne sont pas en désaccord avec la littérature²⁻⁴ : l'hème b₅₅₈ est bas spin tandis que les hèmes b₅₉₅ et d sont haut spin.

3.2.2. Évolution de la géométrie en fonction de l'état de spin

Lors de l'optimisation de géométrie sur les différents états de spin, nous avons pu observer que la géométrie des molécules variait en fonction de la multiplicité de spin. Nous avons souhaité quantifier ces variations pour mieux les appréhender.

Dans un premier temps, nous définissons les grandeurs géométriques caractéristiques de la molécule que nous allons suivre au cours des optimisations (Figure. 7). La distance entre le fer et le ligand axial L est définie par FeL. La distance moyenne entre le fer et les atomes d'azote de la porphyrine est notée FeN_{por}. Enfin la position du fer par rapport au plan de la porphyrine sera caractérisée par la moyenne des angles $\widehat{NFeN'}$, où N et N' sont deux atomes opposés dans la sphère de coordination du fer. Les données suivantes sont obtenues à l'aide du logiciel VMD.²³

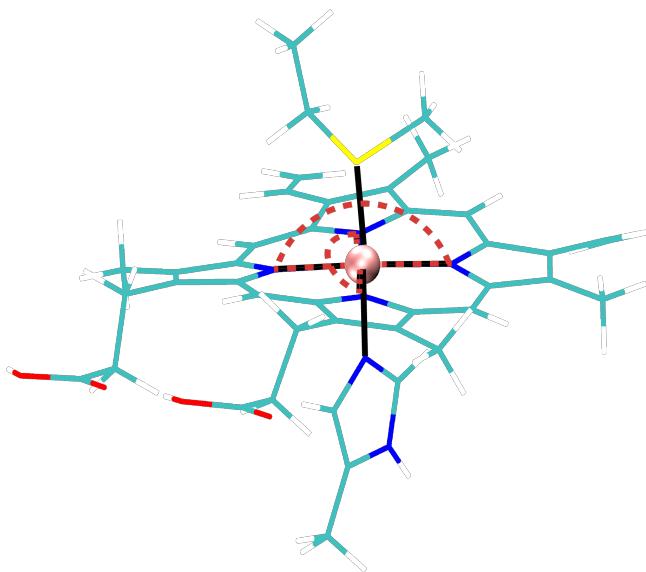


Fig. 7 Critères de géométrie considérés, exemple du hème b₅₅₈. Les longueurs FeL et FeN_{por} considérées sont en traits noirs pleins et les angles $\widehat{NFeN'}$ en traits rouges pointillés.

Hème b₅₅₈ : La moyenne des déviations quadratiques obtenue sur l'ensemble des structures des 6 états de spin est de 0,264 Å.

Fe^{II}

- La distance FeS (première colonne de résultats tableau 3) est maximisée dans l'état de spin intermédiaire et minimisée dans l'état de bas spin. L'optimisation de géométrie n'étant pas terminée, cette distance continue d'augmenter dans le cas de l'état haut spin.

État rédox	M	FeS	FeN	FeN _{por}	$\widehat{NFeN'}$
Fe ^{II}	1	2,295	1,999	1,998	178
	3	3,246	2,310	2,003	176
	5	2,689	2,203	2,088	179
Fe ^{III}	2	2,373	2,009	1,993	179
	4	3,121	2,255	1,993	175
	6	2,798	2,240	2,063	177

Tab. 3 Valeurs des différents critères de géométrie pour l'hème b₅₅₈ lors du dernier pas d'optimisation de géométrie effectué. Les longueurs sont données en Å et les angles en degrés.

- Le même comportement est observé pour la longueur FeN (seconde colonne de résultats Tableau 3).
- La moyenne de la distance FeN_{por} (troisième colonne de résultats Tableau 3) est maximisée dans l'état de haut spin et est similaire et stable dans les deux autres états. La variation entre l'état de haut spin et les autres sur l'ensemble des pas d'optimisation est minime : de l'ordre de 4 %.
- Les angles $\widehat{NFeN'}$ (dernière colonne Tableau 3) sont maximisés (atome de fer dans le plan de la porphyrine) dans l'état de haut spin et minimisé (atome de fer en dehors du plan de la porphyrine) dans l'état de spin intermédiaire.

Fe^{III}

- Le même comportement pour la distance FeS que pour l'état Fe^{II} est observé (première colonne de résultats Tableau 3). Les longueurs FeS pour l'état de bas spin et de spin intermédiaire sont très similaires ; elles varient de l'ordre de 7 % les unes par rapport aux autres au cours des pas d'optimisation de géométrie.
- Le même comportement est observé pour la longueur FeN (seconde colonne de résultats Tableau 3).
- Le même comportement pour la distance FeN_{por} que pour l'état Fe^{II} est observé (troisième colonne de résultats Tableau 3).
- Les angles $\widehat{NFeN'}$ (dernière colonne Tableau 3) sont maximisés (atome de fer dans le plan de la porphyrine) dans l'état de bas spin et minimisés (atome de fer en dehors du plan de la porphyrine) dans l'état de spin intermédiaire.

Au vu de la partie 3.2.1, les critères de stabilité sur la géométrie imposées par le spin semblent être une minimisation des distances entre le fer et les ligands axiaux, et entre le fer et les atomes d'azote de la porphyrine. Il est plus difficile de conclure concernant les angles $\widehat{NFeN'}$ car aucune tendance claire n'est ressortie de nos résultats. Nous pouvons cependant supposer que le critère de stabilité sur l'angle $\widehat{NFeN'}$ est sa maximisation au vu de nos résultats.

Hème b₅₉₅ : La moyenne des déviations quadratiques obtenue sur l'ensemble des structures des 6 états de spin est de 0,217 Å.

État rédox	<i>M</i>	FeO	FeN _{por}	$\widehat{NFeN'}$
Fe ^{II}	1	1,930	1,985	169
	3	2,041	2,011	166
	5	1,960	2,124	151
Fe ^{III}	2	1,825	1,997	164
	4	1,945	2,011	163
	6	1,890	2,102	152

Tab. 4 Valeurs des différents critères de géométrie pour l'hème b₅₉₅ lors du dernier pas d'optimisation de géométrie effectué. Les longueurs sont données en Å et les angles en degrés. Cet hème n'a qu'un seul ligand axial.

Fe^{II}

- La distance FeO (première colonne de résultats Tableau 4) est maximisée dans l'état de spin intermédiaire et minimisée dans l'état de bas spin. Les variations de cette longueur d'un état de spin à l'autre sont de l'ordre de 5 % au cours de l'optimisation de géométrie.
- La moyenne de la distance FeN_{por} (seconde colonne de résultats Tableau 4) est maximisée dans l'état de haut spin et minimisée dans l'état de bas spin. Les variations de cette longueur d'un état de spin à l'autre sont de l'ordre de 7 % lors de l'optimisation de géométrie.
- Les angles $\widehat{NFeN'}$ (dernière colonne Tableau 4) sont maximisés dans l'état de bas spin et minimisés dans l'état de haut spin.

Fe^{III}

- Le même comportement pour la distance FeO que pour l'état Fe^{II} est observé (première colonne de résultats Tableau 4).
- Le même comportement pour la distance FeN_{por} que pour l'état Fe^{II} est observé (seconde colonne de résultats Tableau 4).
- Les angles $\widehat{NFeN'}$ ont le même comportement que pour l'état Fe^{II} (dernière colonne Tableau 4).

Comme dans le paragraphe précédent, les critères de stabilité sur la géométrie imposées par le spin pour la molécule semblent être, d'une part, une minimisation de la distance entre le fer et le ligand axial, et des angles $\widehat{NFeN'}$ et, d'autre part, une maximisation des distances entre le fer et les atomes d'azote de la porphyrine.

Hème d : Dans la structure issue des données expérimentales de l'hème d de *E. coli*, le ligand axial oxygéné est en dehors de la sphère de coordination du fer. En effet, une molécule de dioxygène se trouve entre le fer et le ligand. Comme cela sera discuté dans la partie 3.3.2, nous avons fait le choix dans les structures optimisées par DeMon2k de prendre tout de même en compte ce ligand en le rapprochant du fer.

Cependant, le ligand axial oxygéné étant en dehors de la sphère de coordination du fer lors des optimisations de géométrie, il s'éloigne du fer. Les résultats ne sont donc pas comparables aux autres. Les angles $\widehat{NFeN'}$ sont notamment faussés, le fer n'ayant plus de ligand axial. Nous

ne pouvons plus observer de phénomène de flexion du plan de la porphyrine lié au ligand axial.

Au regard de la littérature⁴ et de nos résultats, bien qu'ils soient partiels, nous avons décidé de considérer l'état de spin le plus stable comme étant l'état haut spin.

Finalement, les structures d'un état de spin à un autre changent peu. Le paramètre géométrique changeant le plus, et devenant donc le plus pertinent à étudier, est la position du fer par rapport au plan de la porphyrine ($\widehat{NFeN'}$).

3.3. Optimisation de géométrie

Maintenant que l'ensemble des paramètres nécessaires à notre étude a été déterminé, la première étape vers l'obtention des propriétés rédox est l'optimisation de géométrie des molécules dans leurs états de spin les plus stables. Dans cette partie, sont présentées les optimisations de géométrie effectuées sur les molécules ainsi qu'une discussion et une remise en cause de la méthode utilisée pour réaliser ces optimisations de géométrie.

3.3.1. Ajout du ligand

Afin de tester notre méthodologie et dans un souci d'économie de temps de calcul, les résultats suivants ont été obtenus seulement pour l'hème b₅₉₅ haut spin.

En suivant la méthodologie explicitée dans la partie 2.3, nous avons dans un premier temps optimisé la géométrie de la porphyrine, puis celle de la porphyrine avec l'atome de fer central. En parallèle, nous avons reproduit la structure de l'hème b₅₉₅ complet à l'aide du logiciel Avogadro et nous avons optimisé sa géométrie.

En premier lieu, nous comparons les deux géométries obtenues si la déviation quadratique du déplacement d'un pas à l'autre de l'optimisation de géométrie est inférieure à $5,0 \times 10^{-2}$ Å.

Les deux structures, en omettant le ligand, sont très similaires (Figure 8). En effet la déviation quadratique entre les deux structures est de seulement 6×10^{-2} Å. Cette déviation quadratique est dans l'erreur permise lors de l'optimisation de géométrie.

Deux conclusions peuvent être tirées de ce résultat. D'abord, l'ajout du ligand change peu la structure de l'hème. Les optimisations de géométrie ont surtout pour effet une modification de position du ligand par rapport à l'hème.

Ensuite, partir d'un fragment ayant une structure optimisée ne change pas beaucoup la géométrie finale de l'hème et nécessite finalement plus de temps de calcul. En effet, les grands changements de géométrie se font lors des premiers pas d'optimisation et rapidement. Optimiser la géométrie de fragments plus petits nécessite d'accumuler des étapes et allonge donc le temps de calcul global. Dès lors, nous n'avons plus suivi la méthode proposée dans la partie 2.3 et nous avons optimisé les géométries de tous les hèmes sans passer par des fragments intermédiaires.

3.3.2. Géométrie extraite de données expérimentales

La géométrie des cytochromes *bd* de *E. coli* et de *G. Th* ont été déterminées expérimentalement.^{3,4} Il est possible

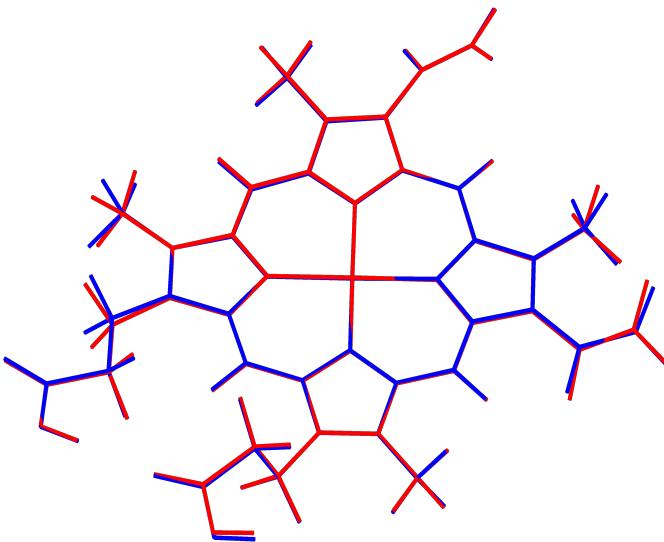


Fig. 8 Superposition des structures optimisées de l'hème b₅₉₅. La structure rouge a été créée à partir du fragment optimisé de la porphyrine auquel nous avons ajouté l'atome de fer central. Puis l'ensemble a été optimisé. Le ligand axial sur cette structure n'a pas encore été ajouté. La structure bleue a été obtenue sans utiliser de fragments intermédiaires. Il s'agit du hème b₅₉₅ optimisé avec ligand. Le ligand axial n'a pas été représenté pour des raisons de visualisation.

à l'aide du logiciel VMD d'extraire de ces données la géométrie expérimentale des hèmes.

Pour chaque hème de chaque bactérie, nous comparons sa structure construite à l'aide du logiciel Avogadro puis optimisée avec DeMon2k à la structure issue des données expérimentales. Il est important de souligner que les données expérimentales ne permettant pas de faire apparaître les atomes d'hydrogène (méthode de cryo-microscopie électronique), nous les avons ajoutés à l'aide du logiciel Avogadro. De plus nous avons réalisé sur la structure ainsi obtenue 50 pas d'optimisations de géométrie pour que, sans trop la faire varier, cette dernière soit adaptée à la fonctionnelle et à la base choisies.

Hème	FeN	FeO	FeS	FeN _{por}
<i>E. coli</i>	b ₅₅₈	0,02	0,025	0,01
	b ₅₉₅	0,005		0,01
	d	0,031	4	0,02
<i>G. Th</i>	b ₅₉₅	0,039	0,01	0,006
	d	0,005		0,009

Tab. 5 Comparaison de longueurs caractéristiques entre le système optimisé par DeMon2k et la géométrie expérimentale après 50 pas d'optimisation de géométrie. FeL représente la différence entre les longueurs FeL, avec L un ligand axial, d'une géométrie à une autre, moyennée sur les différents états rédox. FeN_{por} représente la différence entre les moyennes des longueurs FeN_{por} des différentes géométries, moyennée sur les différents états rédox. Toutes les unités sont en Å.

Nous observons que les structures issues des données expérimentales et celles optimisées à l'aide de DeMon2k sont très similaires (Table 5). La quasi-totalité des variations représentent moins de 5 % de la longueur des liaisons.

Le seul résultat divergent que nous avons obtenu est la

longueur FeO dans le cas du hème d de *E. coli*. En effet dans cette molécule, le ligand axial oxygéné est en dehors de la sphère de coordination dans les données expérimentales car une molécule de dioxygène se trouve entre ce dernier et le fer. Cependant, lors de la création de la molécule nous avons fait le choix de prendre en compte ce ligand et donc de le rapprocher de l'hème car nous estimons sa présence nécessaire à une étude rigoureuse de l'impact des ligands sur les propriétés de l'hème, en l'absence de dioxygène.

Les temps de calcul étant nettement inférieurs en partant de la structure expérimentale. En effet, seulement 50 pas d'optimisation de géométrie ont été nécessaires contre environ 1000 pas pour arriver à des résultats similaires. Ainsi, nous recommandons pour de futures études d'utiliser ce « raccourci » d'optimisation. De plus, cette méthodologie permet de minimiser les erreurs lors de la construction de molécule. Elle permet également un gain de temps sur la création initiale de la molécule : extraire la géométrie des hèmes des résultats expérimentaux est donc plus rapide que de les créer à l'aide d'Avogadro.

3.3.3. Optimisation des hèmes

Avec les paramètres de calcul déterminés précédemment et à l'aide de la méthodologie adaptée explicitée plus haut, nous avons optimisé la géométrie des hèmes dans les deux bactéries de notre système : *E. coli* et *G. Th*.

Dans *G. Th*, l'hème central b₅₅₈ ne change ni de place ni de ligand par rapport à *E. coli*. Pour éviter toute redondance il n'est pas nécessaire d'optimiser ce dernier pour les deux bactéries. Il est nécessaire de préciser que par manque de temps de calcul, toutes les optimisations de géométrie n'ont pu être menées à leur terme. En effet, il faut compter environ une vingtaine de jours pour mener à bien une optimisation de géométrie.

Pour *E. coli*, les géométries des hèmes b₅₅₈ (états Fe^{II} et Fe^{III}), b₅₉₅ (état Fe^{III}) et d (état Fe^{III}) ont été totalement optimisées (Table 6). Comme explicité dans la partie 2.3, après avoir vérifié que l'ensemble des fréquences sont positives sur le spectre des modes normaux de vibration de la molécule (Figure 9) nous pouvons en conclure que la géométrie de la molécule est bien optimisée. En effet, sur cette figure représentant l'ensemble du spectre, toutes les fréquences sont positives.

Les hèmes b₅₉₅ (état Fe^{II}) et d (état Fe^{II}) n'ont pas été entièrement optimisés (Tableau 6). Néanmoins, respectivement 600 et 400 pas d'optimisation de géométrie ont été réalisés, environ deux fois plus serait nécessaire pour optimiser complètement la géométrie de ces hèmes.

Pour *G. Th*, les hèmes b₅₉₅ et d ont été optimisés complètement respectivement dans les états Fe^{III} et Fe^{II}. Plus précisément, les états Fe^{II} de l'hème b₅₉₅ et Fe^{III} de l'hème d n'ont pas été totalement optimisés (Table 6).

3.4. Calcul des propriétés rédox des hèmes

Une fois les structures de nos molécules optimisées, nous avons cherché à calculer les propriétés rédox de ces dernières.

On définit l'énergie d'ionisation (*EI*) et l'affinité électronique (*AE*) par l'énergie nécessaire aux réactions suivantes

Bactérie	Hème	État rédox	Optimisation	Modes normaux de vibration
<i>E. coli</i>	b ₅₅₈	Fe ^{II}	O	O
		Fe ^{III}	O	O
	b ₅₉₅	Fe ^{II}	NO	NO
		Fe ^{III}	O	O
	d	Fe ^{II}	NO	NO
		Fe ^{III}	O	O
<i>G. Th</i>	b ₅₉₅	Fe ^{II}	NO	NO
		Fe ^{III}	O	O
	d	Fe ^{II}	O	O
		Fe ^{III}	NO	NO

Tab. 6 Résumé des calculs effectués lors du stage. O signifie que le calcul a été mené à son terme. Inversement, NO signifie que le calcul est partiel.

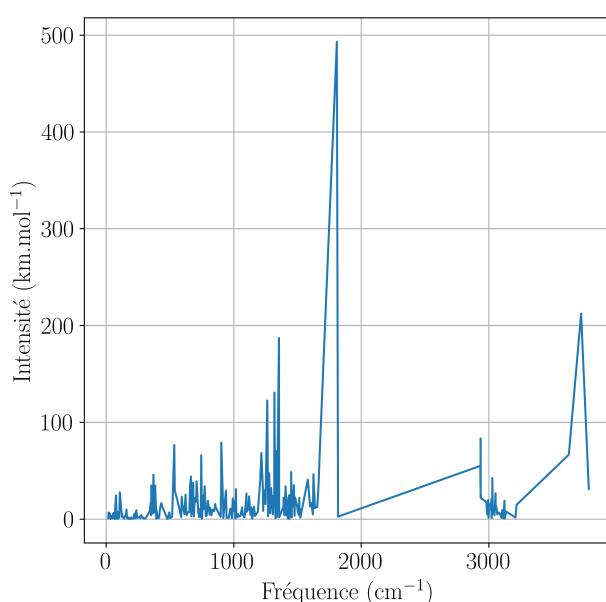
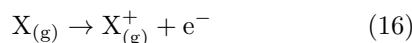


Fig. 9 Spectre des modes normaux de vibration de l'hème b₅₅₈ après optimisation. Aucune fréquence imaginaire n'est observée. La géométrie est donc celle d'un minimum d'énergie.

(respectivement les équations 16 et 17) :



avec X_(g) une espèce chimique en phase gazeuse.

En pratique ces grandeurs ont été déterminées ainsi :

$$EI = E_{\text{Fe}^{n\pm 1}} - E_{\text{Fe}^n}^o \quad (18)$$

$$AE = E_{\text{Fe}^n} - E_{\text{Fe}^{n\pm 1}}^o, \quad (19)$$

où E_{Feⁿ}^o est l'énergie de la géométrie optimisée pour l'état rédox du fer n (II ou III), E_{Fe^{n±1}}^o est l'énergie de la géométrie optimisée pour l'état rédox du fer n à qui un électron a été arraché ou ajouté.

La propriété rédox que nous avons étudiée est l'énergie libre de Gibbs de la demi-réaction rédox, dans le sens de

l'oxydation, notée :

$$\Delta_r G^0 = \frac{1}{2} (EI - AE) \quad (20)$$

Nous obtenons les résultats suivants :

	Hème	EI	AE	$\Delta_r G^0$
<i>E. coli</i>	b ₅₅₈	5,203	-5,049	5,126
	b ₅₉₅	2,505	-2,154	2,330
	d	2,350	-2,055	2,203
<i>G. Th</i>	b ₅₉₅	2,136	-1,932	2,034
	d	2,583	-2,271	2,427

Tab. 7 Énergie d'ionisation (EI) et affinité électronique (AE) des différents hèmes en eV. Ces grandeurs sont définies respectivement dans les équations 18 et 19.

Nous n'obtenons pas par calcul les mêmes ordres dans les écarts relatifs que dans les données expérimentales (Figure 10). Pour *G. Th* les hèmes d et b₅₉₅ sont inversés par rapport aux données expérimentales. Pour *E. coli* on obtient l'ordre : hème d, b₅₉₅, b₅₅₈ contre l'ordre hème b₅₉₅, b₅₅₈, d dans les données expérimentales.

Cependant, nous obtenons une inversion des écarts relatifs des propriétés rédox des hèmes b₅₉₅ et d d'une bactérie à l'autre en accord avec les résultats expérimentaux.

L'écart relatif des propriétés rédox de l'hème d représente 12 % de l'écart relatif des propriétés rédox de l'hème b₅₉₅ dans nos résultat pour *G. Th*. Par analogie, dans les résultats expérimentaux, l'écart relatif des propriétés rédox de l'hème b₅₉₅ représente 21 % de l'écart relatif des propriétés rédox de l'hème d.

Ces différences dans nos résultats pourraient s'expliquer par les limites des calculs effectués.

Cependant, ces différences peuvent tout aussi provenir de la nature même des calculs effectués. En effet, nous avons fait le choix lors de ce stage de ne pas considérer les effets des solvants et de l'environnement protéique. Cet environnement autour des hèmes pourrait cependant être responsable de leurs propriétés chimiques.

Aussi, réalisant les calculs en phase gazeuse, nous avons considéré l'hème b₅₅₈ identique dans *E. coli* et *G. Th*. Ses propriétés physico-chimiques sont donc censées être identiques. Or, dans les résultats expérimentaux, on observe que le potentiel rédox est différent d'une bactérie à

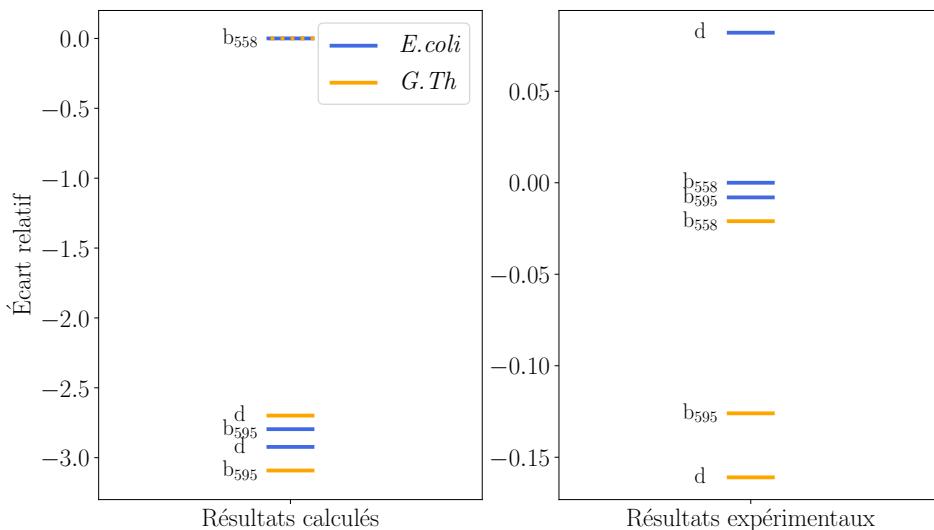


Fig. 10 Écart relatif des propriétés rédox par rapport à l'hème b_{558} de *E. coli*. À gauche sont les valeurs que nous avons calculées ($-\Delta_r G^0$ en eV calculé à partir du Tableau 7 et de l'équation 20). À droite, les valeurs expérimentales³ (E^0 le potentiel rédox standard en mV). On a : $\Delta_r G^0 \propto E^0$, comparer positions des écarts relatifs des hèmes dans ces deux jeux de données est donc justifié. Nous avons considéré que l'hème b_{558} de *G. Th* était identique à celui de *E. coli* pour les valeurs calculées.

l'autre : 176 mV pour *E. coli* et 155 mV pour *G. Th*. L'environnement des hèmes semble bien avoir un impact sur leurs propriétés physico-chimiques.

4. CONCLUSION

Ce stage a permis une étude des hèmes dans les cytochromes *bd* des bactéries *E. coli* et *G. Th*. Une approche systématique basée sur l'analyse des paramètres de calcul a permis de définir les paramètres clés contrôlant les résultats sur les propriétés de ces systèmes complexes. L'examen de la stabilité des différents états de spin du système nous a conduit à l'optimisation de géométrie des différents hèmes. Nous avons ensuite calculé et analysé leurs propriétés rédox.

Nos résultats suggèrent :

- Que la méthodologie par fragments développée au début du stage n'était finalement pas pertinente.
- Partir d'une géométrie initiale issue des données expérimentales semble plus adapté et permet une optimisation de géométrie des molécules plus rapide.
- Malgré des différences avec l'approche expérimentale, nous obtenons effectivement une inversion des écarts relatifs des propriétés rédox des hèmes de *E. coli* et *G. Th*.
- Ces différences peuvent être expliquées par l'environnement des hèmes qui semblent avoir un impact sur leurs propriétés physico-chimiques.

Ces résultats bien que préliminaires sont prometteurs. Sachant qu'une optimisation complète prend une vingtaine de jours, des études complémentaires sont maintenant nécessaires pour confirmer ces résultats.

Cette étude ne prend pas en compte les effets des atomes proches du système étudié : solvant, environnement enzy-

matique. Le système des trois hèmes combinés avec leur environnement dépasse alors 500 atomes, ce système est lourd pour un calcul de DFT. Une première perspective de recherche est d'introduire cet environnement à l'aide de méthode QM/MM (*Quantum Mechanics/Molecular Mechanics*). Cette méthode combine les avantages de la précision de la DFT et la rapidité d'exécution de la dynamique moléculaire.²⁴

Il serait également possible à l'aide de méthodes de DFT dépendant du temps (RT-TDDFT, *Real-Time Time Dependant Density Functionnal Theory*) de suivre l'évolution de l'échange d'électrons en la présence des 3 hèmes et ainsi de caractériser plus finement notre système.

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier mes encadrants F. Cailliez et A. de la Lande pour leur accompagnement sans faille tout au long de mon stage, pour m'avoir permis de découvrir dans d'excellentes conditions le monde de la chimie quantique et pour l'ensemble des connaissances qu'ils m'ont transmises.

Je souhaite également remercier les membres de l'équipe TheoSim, de l'ICP, de l'Université Paris-Saclay, pour leur accueil, leur aide sur un sujet qui m'était nouveau. Merci également à J. Bowles qui m'a permis de présenter un poster à la journée des doctorants.

Ce stage n'aurait pas pu se réaliser sans V. Krakoviack qui a veillé de son début à la fin à son bon déroulement et sans S. Fiorini qui m'a accompagné dans mes démarches administratives.

Je remercie aussi D. Schaming qui m'a aiguillé lors de ma recherche de stage.

Enfin, merci à mes deux rapporteurs et l'ensemble de l'équipe du JCPE d'avoir accepté de lire ce document.

RÉFÉRENCES

- (1) NIKOLAEV, A. Inhibition studies of metalloproteins by means of electrochemistry and spectroscopy, PhD Thesis, 2018, <http://www.theses.fr/2018STRAF053/document>.
- (2) THESSELING, A.; RASMUSSEN, T.; BURSCHEL, S.; WOHLWEND, D.; KÄGI, J.; MÜLLER, R.; BÖTTCHER, B.; FRIEDRICH, T. *Nature Communications* **2019**, *10* (1), 5138.
- (3) SAFARIAN, S.; HAHN, A.; MILLS, D. J.; RADLOFF, M.; EISINGER, M. L.; NIKOLAEV, A.; MEIER-CREDO, J.; MELIN, F.; MIYOSHI, H.; GENNIS, R. B.; SAKAMOTO, J.; LANGER, J. D.; HELLWIG, P.; KÜHLBRANDT, W.; MICHEL, H. *Science* **2019**, *366* (6461), 100-104.
- (4) SAFARIAN, S.; RAJENDRAN, C.; MÜLLER, H.; PREU, J.; LANGER, J. D.; OVCHINNIKOV, S.; HIROSE, T.; KUSUMOTO, T.; SAKAMOTO, J.; MICHEL, H. *Science* **2016**, *352* (6285), 583-586.
- (5) ADAMO, C. *Actualité Chimique* **2014**, (N°382-383), Actualité Chimique N°382-383, février-mars 2014, 22-28.
- (6) ATKINS, P. W.; FRIEDMAN, R., *Molecular quantum mechanics*, 5th ed; Oxford University Press : Oxford ; New York, 2011.
- (7) HOHENBERG, P.; KOHN, W. *Physical Review* **1964**, *136* (3B), Publisher : American Physical Society, B864-B871.
- (8) KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M. C., *A chemist's guide to density functional theory*, OCLC : 53839051; Wiley-VCH : Weinheim ; New York, 2001.
- (9) CURUTCHET, A. Etude par DFT de photocatalyseurs pour des applications en photodissociation de l'eau, Issue : 2019LYSEN010, Theses, Université de Lyon, 2019, <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02308459>.
- (10) KOHN, W.; SHAM, L. J. *Physical Review* **1965**, *140* (4A), Publisher : American Physical Society, A1133-A1138.
- (11) JENSEN, J. H., *Molecular modeling basics*; Taylor & Francis : Boca Raton, 2010.
- (12) BAO, J. L.; GAGLIARDI, L.; TRUHLAR, D. G. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2018**, *9* (9), 2353-2358.
- (13) DeMon2k, A.M. Koster, G. Geudtner, A. Alvarez-Ibarra, P. Calaminici, M.E. Casida, J. Carmona-Espindola, V.D. Dominguez, R. Flores-Moreno, G.U. Gamboa, A. Goursot, T. Heine, A. Ipatov, A. de la Lande, F. Janetzko, J.M. del Campo, D. Mejia-Rodriguez, J. U. Reveles, J. Vasquez-Perez, A. Vela, B. Zuniga-Gutierrez, and D.R. Salahub, deMon2k, Version 6, The deMon developers, Cinvestav, Mexico City (2018)., Cinvestav, Mexico City, 2018, <http://www.demon-software.com>.
- (14) GEUDTNER, G.; CALAMINICI, P.; CARMONA-ESPINDOLA, J.; M. DEL CAMPO, J.; DOMÍNGUEZ-SORIA, V.; FLORES-MORENO, R.; GAMBOA, G.; GOURSOT, A.; KÖSTER, A.; REVELES, J.; MINEVA, T.; VÁSQUEZ-PÉREZ, J.; VELA, A.; ZUÑIGA-GUTIERREZ, B.; SALAHUB, D. *WIREs: Comput. Mol. Sci.* **2012**, *2*, 548-555.
- (15) FLORES-MORENO, R. PhD Thesis : Analytic Derivatives in LCGTO-DFT Pseudo-Potential Methods with Auxiliary Functions, PhD Thesis, 2006.
- (16) SCHAFTEAAR, G.; NOORDIK, J. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2000**, *14* (2), 123-134.
- (17) Occigen - bullx DLC, Xeon E5-2690v3 12C 2.6GHz, Infiniband FDR | TOP500, <https://top500.org/system/178465/>, <https://top500.org/system/178465/> (visité le 19/07/2021).
- (18) Ces travaux réalisés par l'équipe de recherche n'ont pas encore donné lieu à une publication.
- (19) REVELES, J. U.; KÖSTER, A. M. *Journal of Computational Chemistry* **2004**, *25* (9), 1109-1116.
- (20) COHEN-TANNOUDJI, C.; DIU, B.; LALOË, F., *Mécanique quantique. Tome I Tome I*, OCLC : 1057467167, 2018.
- (21) DITCHFIELD, R.; HEHRE, W. J.; POPLE, J. A. *The Journal of Chemical Physics* **1971**, *54* (2), 724-728.
- (22) D-orbital splitting diagrams, Berkeley College of chemistry, <http://www.cchem.berkeley.edu/rsgrp/groupsheets/d-orbitalsplitting.pdf>, <http://www.cchem.berkeley.edu/rsgrp/groupsheets/d-orbitalsplitting.pdf>.
- (23) HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. *Journal of Molecular Graphics* **1996**, *14*, 33-38.
- (24) BRUNK, E.; ROTHISBERGER, U. *Chemical Reviews* **2015**, *115* (12), 6217-6263.

He

B C N O F Ne

Al Si P S Cl Ar

Ga Ge As Se Br Kr

In Sn Sb Te I Xe

Tl Pb Bi Po At Rn

Nh Fl Mc Lv Ts Og

JOURNAL ÉDITÉ PAR COLINE BOULANGER, PIERRE DEDIEU, ROXANNE GALLOIS, MANON
LECONTE, LIAM MARSH, WANDRILLE RUFFENACH, BASTIEN VOIRIN, RÉMI VAUJOUR.

Er Tm Yb
Fm Md No