

N° d'ordre 592

50376  
1990  
158

68447

50376  
1990  
158

# THESE

présentée à

**L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE  
LILLE FLANDRES ARTOIS**

pour obtenir le titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE I**

Option : Sciences des Matériaux

par

**Manuel DAUCHEZ**

**ELABORATION D'UNE BASE DE PARAMETRES DE LA FONCTION  
ENERGIE POTENTIELLE EMPIRIQUE DE SACCHARIDES EN VUE DE  
SON UTILISATION EN MECANIQUE MOLECULAIRE ET  
DYNAMIQUE MOLECULAIRE DE GLYCANNES.**



Soutenue le 26 octobre 1990 devant la commission d'examen

Membres du jury :

- Président: Mr. H. FONTAINE, Professeur Université Lille I.  
Rapporteurs: Mr. A.J.P. ALIX, Professeur Université de Reims.  
Mr. J. MONTREUIL, Professeur Université Lille I.  
Mr. J.P. MORNON, Directeur de Recherches CNRS.  
Examineurs: Mr. B. MAIGRET, Directeur de Recherches CNRS.  
Mr. Y. MOSCHETTO, Directeur de Recherches INSERM.  
Directeur de Thèse: Mr. G. VERGOTEN, Professeur Université de Lille II.

Ce travail, effectué au laboratoire de Génie Biologique et Médical de la Faculté de Pharmacie, n'aurait pu se réaliser sans les moyens de calcul du Centre d'Etude et Recherche en Informatique Médicale ( CERIM-LILLE II ) et ceux du Groupement Scientifique "Modélisation Moléculaire" IBM-CNRS ( ORSAY ), mis à ma disposition.

Monsieur H. FONTAINE, Professeur à LILLE I, vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse. Permettez moi de vous assurer de mes sentiments très respectueux.

Monsieur A. ALIX, Professeur à REIMS, vous avez accepté de rapporter ce travail. Je vous prie de trouver ici l'expression de ma très respectueuse gratitude.

Monsieur J. MONTREUIL, Professeur à LILLE I, a toujours montré beaucoup d'intérêt pour ce travail de conformation des glycanes. En acceptant de juger cette thèse, vous m'apportez la caution de votre très haute autorité scientifique. Je vous remercie et vous exprime mon profond respect.

Monsieur J.P. MORNON, Directeur de Recherches au CNRS, PARIS VI, vous m'avez accueilli en stage dans votre laboratoire et m'avez initié aux joies du graphisme moléculaire. Depuis, vous vous êtes constamment intéressé au suivi de ce travail et vous avez accepté d'en être un des rapporteurs. Je tiens à vous exprimer mes sentiments de très grande reconnaissance et à vous assurer ma profonde amitié.

Monsieur B. MAIGRET, Directeur de Recherches au CNRS, STRASBOURG, vous me faites l'honneur de siéger dans ce jury. Je vous en suis très reconnaissant.

Monsieur Y. MOSCHETTO, Directeur de Recherches INSERM, LILLE, vous avez mis à ma disposition les moyens du Centre de Technologie Biomédicale que vous dirigez. Je tiens à vous remercier tout particulièrement d'avoir accepté de siéger dans ce jury.

Monsieur G. VERGOTEN, Professeur à LILLE II, dès mon arrivée à LILLE vous m'avez intégré dans votre laboratoire. A partir de ce moment, vous n'avez cessé de me faire partager les joies de la recherche, vous m'avez suivi très attentivement dans mon travail, en me conseillant et très souvent en m'aidant, tout en m'écoutant et en respectant ma personnalité. En quatre années, nos relations ont fait naître une grande amitié. Je te remercie du fond du cœur.

Tout au long d'une thèse, le plus important est de se sentir bien dans son travail. L'ambiance de l'équipe y est alors pour beaucoup. Je tiens à adresser mes plus chaleureux et amicaux remerciements à toute l'équipe qui m'a constamment entouré, aidé, encouragé et très souvent aussi supporté, et plus particulièrement à Messieurs P. DERREUMAUX, P. LAGANT et R. DHENNIN.

Je tiens à remercier Monsieur R. BEUSCART et l'ensemble du personnel du CERIM pour la bonne ambiance et l'aide qu'ils m'ont procurée, avec une attention toute particulière à Messieurs J.M. JOURET et L. MOUSSU qui ont toujours répondu très gentiment aux nombreuses questions que je leur ai posées.

Etant complètement ignorant dans la chimie des glycannes, Monsieur J. MAZURIER m'a permis de connaître un peu plus ces molécules. Durant la collaboration que nous avons établie, il n'a cessé de m'aider et de m'éclairer de ses conseils. Je l'en remercie très vivement.

Mes remerciements s'adressent également à :

Mademoiselle M. SEKKAL pour l'aide qu'elle m'a procurée dans l'enregistrement des spectres infrarouges ainsi qu'à messieurs P. LEGRAND et B. SOMBRET .

Mademoiselle G. SPIK pour les nombreuses discussions sur la conformation des glycannes, ainsi qu'à l'ensemble du "103".

A l'ensemble du personnel du Centre de Technologie Biomédicale de LILLE pour leur aide efficace et leur gentillesse permanente.

Monsieur R. FOURET qui m'a permis de m'inscrire en Sciences des Matériaux à LILLE I, tout en effectuant mon travail à LILLE II.

Monsieur A. TARTAR pour sa bienveillante attention et les discussions riches d'enseignement que nous avons eues.

Enfin, je voudrais aussi associer à ces remerciements Domi et maintenant Julien, Papa et Maman et toute la famille qui sans arrêt m'ont aidé, porté et supporté tout au long de ce travail.

# Sommaire

Introduction	p 1
Chapitre I. Les Saccharides: présentation.	p 3
I. INTRODUCTION	p 3
II. LES MONOSACCHARIDES	p 4
II.1 Nomenclature	p 4
II.2 Oses acycliques	p 6
II.3 Oses cycliques	p 6
II.4 Conclusion	p 10
III. LES OLIGOSACCHARIDES	p 10
III.1 Les disaccharides	p 10
III.2 Les oligosaccharides	p 14
III.3 Conclusion	p 16
IV. LES POLYSACCHARIDES ET LES GLYCANNES DES GLYCOCONJUGUES	p 17
IV.1 Homopolysaccharides	p 17
IV.2 Hétéropolysaccharides et glycannes	p 18
IV.3 Relation biosynthèse - structure tridimensionnelle	p 20
IV.4 Conclusion	p 21
V. CONCLUSION	p 22
Chapitre II. Méthodes expérimentales et théoriques.	p 28
INTRODUCTION	p 28
I. METHODES EXPERIMENTALES	p 29

I.1 Méthodes de diffraction et de diffusion	p 29
I.2 Résonance Magnétique Nucléaire	p 33
I.3 Absorption Infrarouge et diffusion Raman	p 37
I.4 Autres méthodes	p 42

II. LES METHODES THEORIQUES	p 43
Introduction	p 43
II.1 Les méthodes quantiques <i>Ab Initio</i>	p 45
II.2 Les méthodes semi-empiriques	p 54
II.3 Les méthodes empiriques	p 57
II.3.a Introduction	p 57
II.3.b Mécanique Moléculaire MM	p 59
II.3.c Dynamique Moléculaire DM	p 71
II.3.d Dynamique Harmonique DH: calcul des modes normaux de vibration.	p 76

## Chapitre III. Modélisation moléculaire de la partie glycanne d'une glycoprotéine. p 108

I. INTRODUCTION	p 108
II. PRESENTATIONS DU GLYCANNE ET DE LA MODELISATION MOLECULAIRE	p 108
II.1 La structure du glycanne	p 109
II.2 Présentation de la modélisation moléculaire	p 110
III. RESULTATS ET DISCUSSION DE LA MODELISATION MOLECULAIRE	p 112
IV. DYNAMIQUE MOLECULAIRE DU GLYCANNE	p 123
IV.1 Conditions de la dynamique moléculaire	p 123
IV.2 Résultats et discussion	p 124
V. CONCLUSION	p 126

Chapitre IV. Dynamique harmonique des formes anomères  $\alpha$  et  $\beta$   
du glucose. p 146

I. INTRODUCTION p 146

II. DONNEES CRISTALLOGRAPHIQUES ET REPRESENTATION IRREDUCTIBLE DES  
MODES NORMAUX DE VIBRATION. p 148

III. FONCTION POTENTIELLE ET CONDITIONS DU CALCUL. p 151

IV. RESULTATS DE LA DYNAMIQUE HARMONIQUE. p 158

IV. DISCUSSION DES RESULTATS DE L'ANALYSE HARMONIQUE p 176

V. RESULTATS DES CALCULS QUANTIQUES. p 181

VI. CONCLUSION p 185

Chapitre V. Dynamique harmonique de disaccharides. p 211

I. INTRODUCTION p 211

II. LES METHYL-MONOSACCHARIDES p 212

III. LES DISACCHARIDES p 216

IV. CONCLUSION p 226

ANNEXE 1 p 232

ANNEXE 2 p 244

ANNEXE 3 p 273

ANNEXE 4 p 276

Conclusion p 305

# INTRODUCTION

La détermination de la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques à l'aide de la radiocristallographie a permis la connaissance de leurs fonctions et propriétés. Par la même, la biologie moléculaire a accompli des progrès considérables. Les exemples sont nombreux, parmi lesquels on peut citer les travaux de J. Kendrew ( myoglobine ), M. Perutz ( hémoglobine ), J. Watson et F. Crick ( A.D.N. ) et J. Deisenhofer, H. Michel et R. Huber ( centre photoréactionnel ) bien souvent couronnés par le prix Nobel.

Les difficultés dues à la croissance cristalline des macromolécules ont limité ces travaux aux acides nucléiques et à un nombre malgré tout restreint bien que croissant de protéines. Par contre, la résolution de la structure tridimensionnelle de glycannes, ou de la partie glycanique de protéines semble à l'heure actuelle difficilement réalisable par suite de la très grande flexibilité conformationnelle de ces molécules.

La spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire bi- et tri-dimensionnelle conduit également à des données géométriques de macromolécules, mais cette fois-ci en solution. Dans le cas des glycannes, un problème majeur subsiste. Si en solution trois conformères existent, deux avec une population importante voisine et un troisième avec une population plus faible, les effets dus à ce dernier, dans certaines conditions, seront prédominants dans le spectre. C'est malheureusement bien souvent ce qui se passe dans le cas des glycannes.

Les progrès permanents dans la technologie des calculateurs électroniques font qu'il est possible d'envisager des calculs de mécanique quantique conduisant aux structures et chemins de réaction de molécules de taille de plus en plus importante. Nous n'en sommes pas encore à concevoir l'étude de glycane par ces méthodes, bien qu'elles soient, semble-t-il, les plus satisfaisantes.

En attendant que ces progrès technologiques soient réalisés et si l'on veut progresser, il s'agit de trouver une méthode théorique conduisant aux résultats escomptés compte tenu des possibilités actuelles de l'informatique.

Les techniques de mécanique moléculaire et dynamique moléculaire semblent à l'heure actuelle un bon compromis. Les fondements de ces méthodes résident dans la connaissance de la fonction énergie potentielle moléculaire empirique. Celle-ci n'étant pas connue, une forme analytique en est envisagée, fonction des coordonnées internes ( variation des liaisons et des angles ) de la molécule. Différents paramètres relatifs à ces coordonnées sont alors déterminés. La paramétrisation doit être spécifique des composés

étudiés et capable de reproduire des données non seulement statiques ( géométries ) mais aussi dynamiques ( spectres de vibration ).

C'est la détermination des paramètres de la fonction énergie potentielle empirique pour les glycanes qui a constitué l'essentiel de ce travail.

La modélisation moléculaire étant le carrefour de plusieurs disciplines, la biochimie, la chimie et la physique, les deux premiers chapitres s'attacheront à présenter leur impact dans le domaine des saccharides. Toutefois l'accent sera particulièrement porté sur l'aspect conformationnel des glycanes. Ainsi, seules les caractéristiques de nomenclature et de conformation des saccharides sont données dans le chapitre I. Dans le chapitre II, les méthodes expérimentales et théoriques accédant aux informations tridimensionnelles sont présentées. Le développement des principales méthodes théoriques est donné avec pour chaque type les différentes applications aux saccharides.

Avant de déterminer des paramètres de la fonction énergie potentielle empirique, il était nécessaire de se rendre compte de l'insuffisance de ceux existants actuellement. C'est ce qui a été réalisé dans le chapitre III. Utilisant un logiciel de modélisation moléculaire "classique" et la technique de l'infographie moléculaire, la modélisation moléculaire et la dynamique moléculaire d'un glycanne biantenné monofucosylé, disialylé de type lactosaminique ont été effectuées. Certaines imperfections étant mises en évidence, il devenait indispensable d'obtenir une paramétrisation correcte de la fonction énergie potentielle. L'obtention de ces paramètres fera l'objet des deux chapitres suivants.

Le chapitre IV concerne la détermination des paramètres de cette base pour les formes anomères  $\alpha$  et  $\beta$  du glucose à partir des données de spectroscopie vibrationnelle. Le champ de forces intramoléculaire Urey-Bradley-Shimanouchi modifié utilisé conjointement avec une fonction potentielle intermoléculaire comprenant le terme d'interactions non liantes, le terme d'énergie électrostatique et une fonction potentielle explicite des liaisons hydrogènes, sont particulièrement bien adaptés pour obtenir ces informations à partir d'une reproduction correcte dans le cristal des spectres de vibration.

Les paramètres étant obtenus pour ces deux formes, il était nécessaire de vérifier leur validité et de compléter la base de données en les transférant à des structures plus complexes présentant une composition en molécule de même nature, avec des liaisons glycosidiques présentant des configurations et des positions différentes. Dans le chapitre V, les calculs ont été effectués sur des méthyl-monosaccharides et sur des disaccharides présentant les différents types de liaison glycosidique.

# CHAPITRE I

# Les Saccharides: présentation.

I. INTRODUCTION	p 3
II. LES MONOSACCHARIDES	p 4
<u>II.1 Nomenclature</u>	p 4
<u>II.2 Oses acycliques</u>	p 6
<u>II.3 Oses cycliques</u>	p 6
<i>II.3.a Nature des cycles</i>	p 6
<i>II.3.b Anomérie</i>	p 7
<i>II.3.c Mutarotation</i>	p 7
<i>II.3.d Forme des monosaccharides</i>	p 8
<u>II.4 Conclusion</u>	p 10
III. LES OLIGOSACCHARIDES	p 10
<u>III.1 Les disaccharides</u>	p 10
<i>III.1.a Liaisons glycosidiques</i>	p 10
<i>III.1.b Effet Exo-Anomérique</i>	p 12
<i>III.1.c Angles de torsion</i>	p 13
<u>III.2 Les oligosaccharides</u>	p 14
<i>III.2.a Présentation et hypothèses</i>	p 14
<i>III.2.b Indépendance des liaisons ?</i>	p 15
<i>III.2.c Structure ordonnée ?</i>	p 16
<u>III.3 Conclusion</u>	p 16
IV. LES POLYSACCHARIDES ET LES GLYCANNES DES GLYCOCONJUGUES	p 17
<u>IV.1 Homopolysaccharides</u>	p 17
<u>IV.2 Hétéropolysaccharides et glycannes</u>	p 18
<i>IV.2.a Hétéropolysaccharides</i>	p 18
<i>IV.2.b Glycannes</i>	p 19
<u>IV.3 Relation biosynthèse - structure tridimensionnelle</u>	p 20
<i>IV.3.a Principe de la biosynthèse d'un oligo- ou d'un poly-saccharide</i>	p 20
<i>IV.3.b Concepts d'homogénéité et d'hétérogénéité</i>	p 20
<i>IV.3.c Connaissance des glycosyltransférases</i>	p 21
<u>IV.4 Conclusion</u>	p 21
V. CONCLUSION	p 22

# Les Saccharides: présentation.

## I. INTRODUCTION

Les glucides constituent une famille de composés très divers dont les principales classes sont les suivantes:

- les **monosaccharides** ou **oses**, qui sont des unités glycosidiques simples pouvant exister à l'état libre.

- les **osides**, qui peuvent être différenciés en **oligosaccharides**, enchaînements de 2 à 10 unités monosaccharidiques, et en **polysaccharides**, constitués de plus de 10 unités [1]. Ces derniers peuvent également être scindés en deux catégories, selon que leur hydrolyse libère la même unité ( ce sont les homopolysaccharides ), ou plusieurs types d'unités ( les hétéropolysaccharides).

- enfin, il faut distinguer les **glycoconjugués** dans lesquels la partie glycannique ( le glycanne ), bien que pouvant être considérée comme un oligosaccharide ou un polysaccharide, est liée à une macromolécule d'un autre type telle qu'une protéine, une **glycoprotéine**, ou un lipide, un **glycolipide** .

Lorsque l'on parle de "sucre", on songe généralement aux sucres alimentaires comme le glucose. Ce sont les oses dits simples, qui peuvent exister en tant qu'unité libre dans un milieu biologique. Bien que dans cet état ils soient en nombre relativement restreint ( une vingtaine ), leur association et leur combinaison permettent d'obtenir un nombre considérable de structures polysaccharidiques.

En fait, la potentialité de codification des polysides, même s'ils ne sont pas directement sous le contrôle génétique, est supérieure à celle des acides nucléiques ou des protéines [2,3]. Ceci est dû à la présence du carbone anomère, à sa configuration sur chacune des entités de base, aux positions multiples des liaisons glycosidiques des unités

entre elles ( unités disaccharidiques ) et aux possibilités d'extension et de ramification des chaînes. Toutes ces combinaisons multiplient les structures envisageables. Par exemple, si avec trois acides aminés six tripeptides peuvent être formés, il est théoriquement possible de construire 1056 trisaccharides différents à partir de trois monosaccharides! [2].

Ainsi donc, cette richesse structurale peut expliquer le nombre considérable des phénomènes et des comportements biologiques mettant en jeu les saccharides. Ceux-ci connaissent depuis une vingtaine d'années un engouement et développement extraordinaire dans de nombreux domaines tels que la biologie, la biochimie, l'agro-alimentaire etc..., alors qu'ils avaient longtemps été considéré comme molécules "secondaires", servant de structure de soutien ( dans les parois cellulaires ) ou de substance de réserve ( aussi bien dans le règne animal que dans le règne végétal ).

La connaissance tridimensionnelle précise, aussi bien des entités constitutives de base que des unités polysaccharidiques complexes, est fondamentale pour comprendre leur mécanisme d'action.

Dans ce chapitre, les principales caractéristiques conformationnelles des oses, puis des différentes classes de saccharides seront abordées. L'accent sera porté sur les disaccharides, point de départ des structures macromoléculaires, puis les molécules plus complexes telles que les oligosaccharides, les polysaccharides et les glycanes des glycoconjugués seront examinées d'un point de vue conformationnel. Enfin, une approche très succincte de la biosynthèse des molécules saccharidiques sera envisagée, avec le problème de détermination des conformations et les concepts d'homogénéité.

## II. LES MONOSACCHARIDES

La plus petite molécule glucidique est un ose simple. Les oses sont en fait des aldéhydes ou des cétones polyhydroxylés, c'est-à-dire contenant plusieurs fonctions alcool, respectant une nomenclature bien précise.

### II.1 Nomenclature

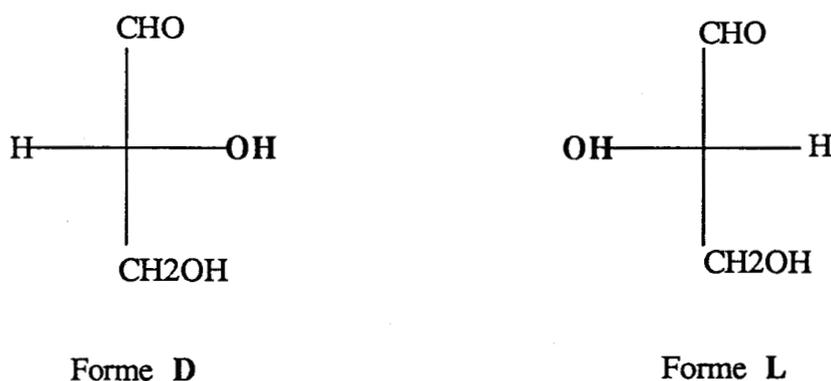
- Les monosaccharides sont classés selon leur caractère aldéhydrique ou cétonique et suivant le nombre de carbones constituant la molécule ( en général de 3 à 7

carbones ). Ainsi, un aldopentose a 5 carbones et une fonction aldéhyde, un cétohexose a 6 carbones et une fonction cétone.

Qu'il s'agisse d'aldoses ou de cétooses, ce sont surtout les pentoses et les hexoses que l'on trouve à l'état naturel et qui entrent pour une large part dans la composition de molécules polysaccharidiques ou de molécules composées. Les autres oses peuvent constituer le plus souvent des intermédiaires dans divers métabolismes.

- La position des carbones au sein de l'ose est reconnue par une numérotation spécifique [4,5] : celle-ci commence, dans le cas d'un aldose, par le carbone aldéhydique ( Cf. figure I.2 ) et, dans le cas d'un cétose, la fonction cétone est en général portée sur le carbone qui suit immédiatement un carbone d'extrémité ( noté 1 ).

- Les molécules d'ose possèdent un ou plusieurs carbones asymétriques dont la position dans l'espace définit la stéréoisomérie et complète la nomenclature. Par convention, la stéréoisomérie est directement définie par la configuration du glycéraldéhyde ( Cf. figure I.1 ). La série D ( respectivement la série L ) est définie par le positionnement à droite ( respectivement à gauche ) du groupement hydroxyle sur le carbone asymétrique central.



**Figure I.1:** Définition des séries D et L à partir du glycéraldéhyde.

En général, les oses naturels appartiennent à la série D ( par contre, le fucose est lui L ). Les oses de la série L ont tous les substituants de leurs carbones asymétriques dans la position opposée de ceux de la série D.

Les principales caractéristiques de la nomenclature des oses étant explicitées, leurs formes linéaires et cycliques vont être envisagées.

## II.2 Oses acycliques

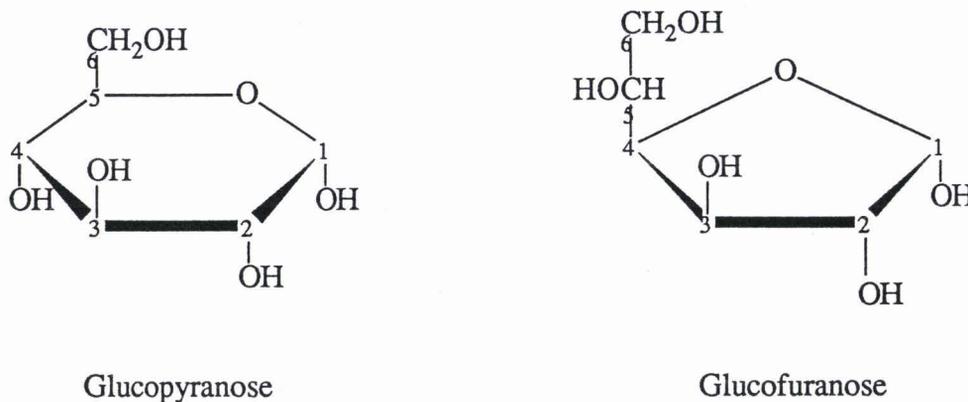
Dans un ose simple, la structure linéaire est appelée aliphatique. Par rotation autour des simples liaisons, le nombre de conformations adoptables est considérable. En solution et à température ambiante les barrières d'énergie entre les différentes conformations sont relativement faibles et l'interconversion entre les différents états est très rapide [6]. Par contre dans l'état solide, les forces cristallines régissent la conformation de la molécule aliphatique et celle-ci adopte une structure linéaire, étendue en "zigzag" [7].

Lorsque l'on s'intéresse aux pentoses et aux hexoses, ces monosaccharides aliphatiques se stabilisent en se cyclisant, la forme linéaire permet alors, en solution, le passage entre les différentes formes cycliques ( Cf. § sur la mutarotation ).

## II.3 Oses cycliques

### II.3.a Nature des cycles

Les monosaccharides rencontrés dans la constitution des molécules polysaccharidiques sont sous forme cyclique. La cyclisation s'effectue par réaction entre la fonction aldéhyde ou cétone avec une fonction alcool portée par la même molécule. Selon le positionnement de cette fonction alcool, on obtient de façon stable un cycle à 6 sommets appelé *pyranose* ou encore un cycle à 5 sommets appelé *furanose* ( Cf. figure I.2 ).



**Figure I.2:** Formes pyranose et furanose du glucose alpha avec, respectivement, les numérotations des carbones dans chacun des deux cas.

### II.3.b Anomérisation

Lors de la cyclisation, le carbone 1, qui dans la forme aliphatique n'était pas asymétrique, le devient. Cette isomérisation est importante car le carbone hémiacétal va voir ses substituants s'orienter différemment dans l'espace, en position axiale ou équatoriale, générant, lors de la formation de liaisons glycosidiques, des structures tridimensionnelles totalement différentes.

Si le groupement hydroxyle du carbone 1 est en position équatoriale la forme est dite *anomère β*, s'il est en position axiale la forme est dite *anomère α* ( Cf. figure I.3 ).

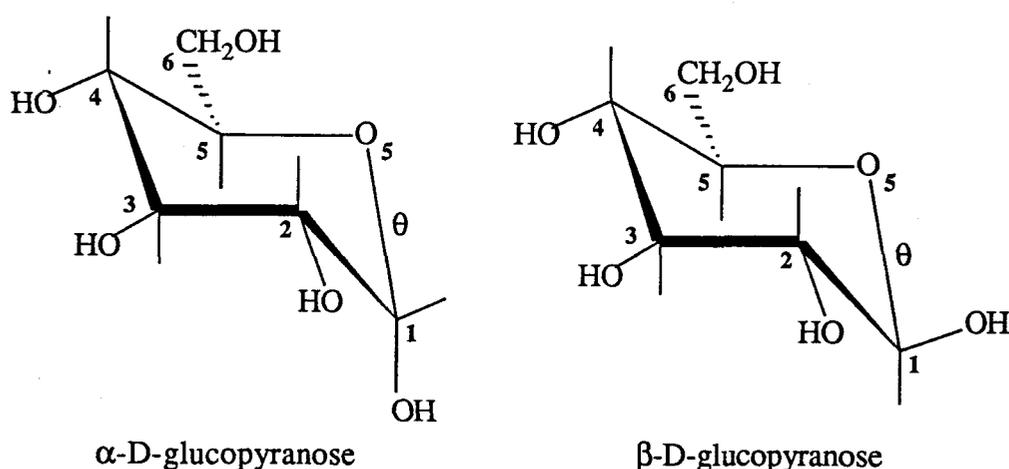


Figure I.3: Formes anomériques du glucose.

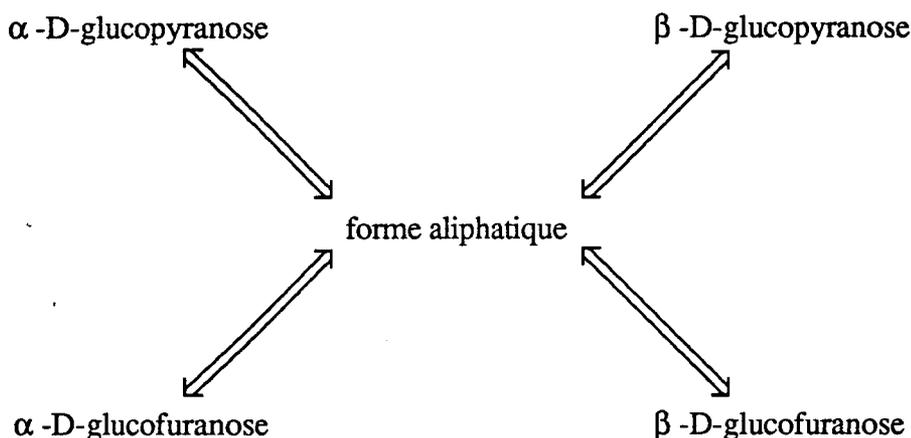
L'anomérisation est caractérisée par les valeurs de l'angle  $\theta$  [8,9], défini par la rotation autour de la liaison endocyclique  $O_5-C_1$  ( $\theta = C_5-O_5-C_1-O_1$ ). Ainsi, pour la forme chaise précédemment utilisée, de la série D,  $\theta$  vaut  $60^\circ$  pour la forme  $\alpha$  et  $180^\circ$  pour la forme  $\beta$ . Dans le cas d'une forme chaise inversée ( Cf. § sur la forme des monosaccharides ) les valeurs de  $\theta$  sont de  $180^\circ$  pour la forme  $\alpha$  et de  $-60^\circ$  pour la forme  $\beta$  [10].

### II.3.c Mutarotation

En solution, les deux formes précédentes coexistent et un équilibre s'établit entre les deux. Par exemple pour le glucose, 36% des molécules de forme  $\alpha$  sont en équilibre avec 64 % de forme  $\beta$  ( ces proportions peuvent évoluer avec les substitutions ou les composés mis en jeu [9] ). La coexistence des deux formes est observée par la

modification de l'angle de polarisation d'une solution dans laquelle on a dissous le saccharide: c'est le phénomène de *mutarotation*..

A l'équilibre 'mutarotationnel' on constate alors la présence de la forme linéaire, des deux anomères combinés aux différentes formes du cycle [11], comme sur le schéma suivant (Cf. figure I.4 ):



**Figure I.4:** Equilibre mutarotationnel du glucose en solution.

### II.3.d Forme des monosaccharides

La présence des carbones tétraédriques dans le cycle et les contraintes géométriques qu'ils engendrent, font que celui-ci peut adopter différentes formes [11,12]. Ainsi, un cycle pyranose peut adopter la forme chaise (C), la forme bateau (B) et des formes intermédiaires demi-chaise (HC), demi-bateau (HB) ou bateau "vissé" (S). La nomenclature spécifie la forme du cycle et le numéro des carbones qui sont au-dessus et en dessous du plan qu'il dessine: la forme  ${}^4C_1$  est chaise avec le carbone 4 au-dessus du plan et le carbone 1 en dessous du plan ( Cf. figure I.5 ).

Il est possible d'aller d'une forme à l'autre et d'envisager le passage à tous les types de structure [5] ( Cf. figure I.5 ). Cremer et Pople [13] ont défini des paramètres  $Q$ ,  $\theta$  et  $\varphi$  traduisant la déformation d'un cycle ( paramètres équivalents aux coordonnées polaires ); Jeffrey et Yates [14] ont appliqué cette méthode aux saccharides. Ils ont montré que, sur une sphère, le pôle nord correspond à une forme chaise  ${}^4C_1$  parfaite, le pôle sud à une chaise  ${}^1C_4$  parfaite, les formes bateaux B et bateaux vissés S sont sur l'équateur; les autres formes demi-chaises ou demi-bateaux se trouvent dans les deux hémisphères et permettent la transition entre les pôles et l'équateur.

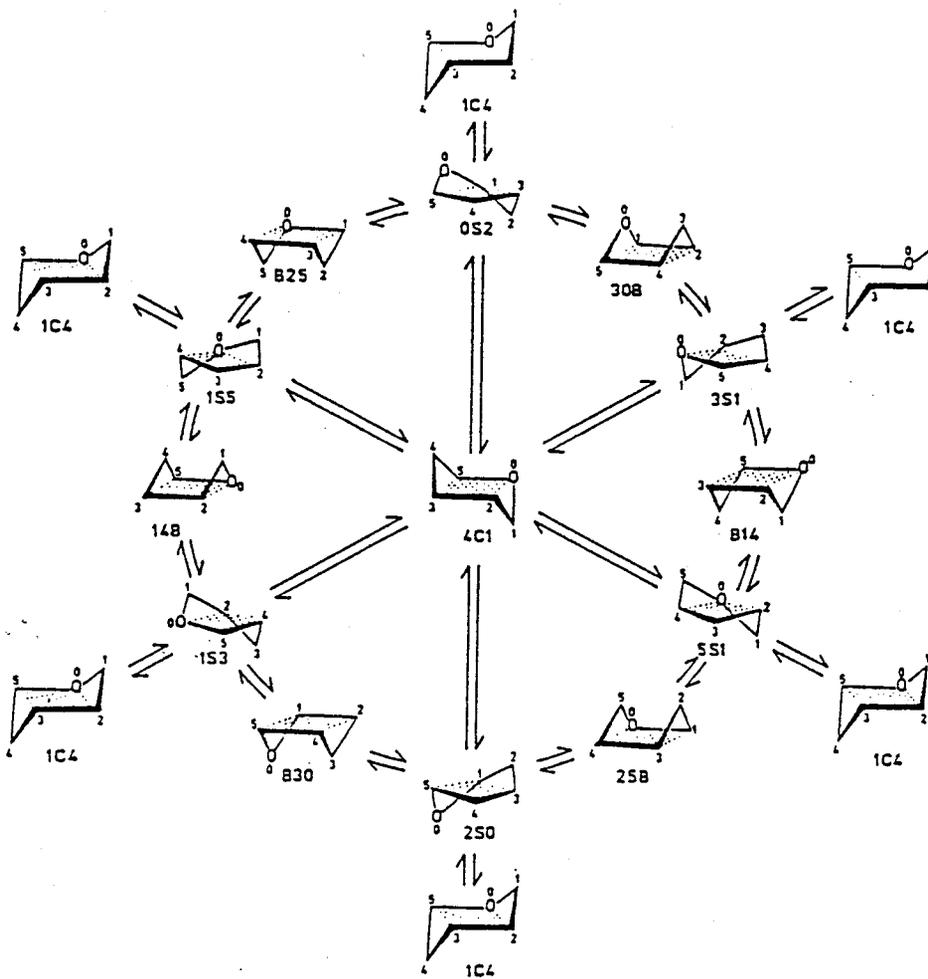


Figure I.5: Différents conformères du cycle pyranose [5].

Pour les monosaccharides, ces différentes formes ne sont pas énergétiquement équivalentes et il est bien évident que, par des considérations d'interactions non liantes, les formes bateaux, demi-chaises et bateaux déformés sont moins favorables et donc moins stables que les formes chaises [6] ( Cf. figure I.6).

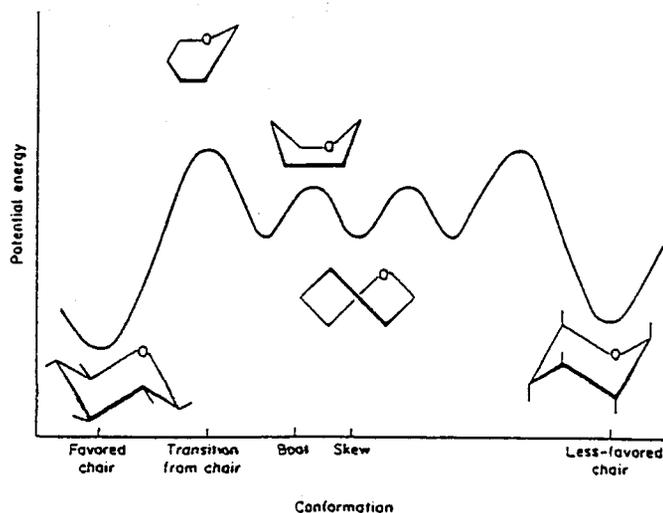


Figure I.6: Diagramme énergétique 'idéalisé' des différentes conformations d'un cycle pyranosidique [6].

Cependant, bien que énergétiquement non favorables, ces formes intermédiaires peuvent avoir un rôle important dans les mécanismes de reconnaissance biologique. Par exemple, la forme demi-chaise de la N-acétyl-glucosamine dans le substrat du lysozyme permet une meilleure adaptation conformationnelle et facilite ainsi le phénomène de lyse [15,16].

#### II.4 Conclusion

La diversité des monosaccharides et de leurs dérivés ( dérivés O-méthylés, O-acylés, N-glycosylamines, osamines... ), les isoméries et les différentes conformations qu'ils peuvent adopter, permettent de générer une quantité considérable d'unités qui, par association, fourniront les nombreuses structures polysaccharidiques.

### III. LES OLIGOSACCHARIDES

Par polycondensation, les monosaccharides forment les oligosaccharides, dont nous avons vu qu'ils pouvaient être constitués de deux à dix unités monosaccharidiques.

#### III.1 Les disaccharides

L'entité la plus simple des oligosaccharides est le disaccharide. Il est constitué de deux monosaccharides associés par une liaison appelée *liaison glycosidique* ou *osidique*.

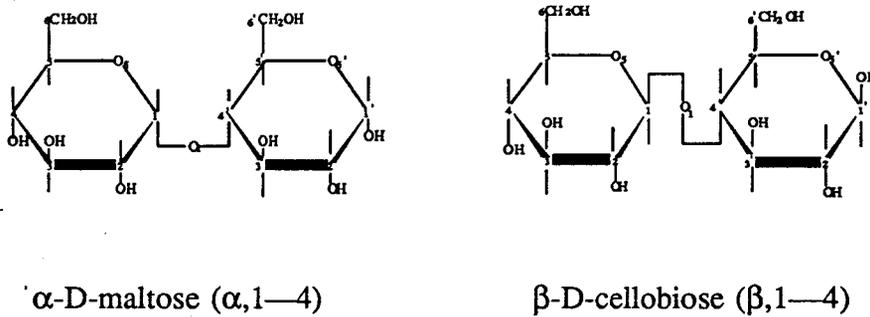
##### III.1.a Liaisons glycosidiques:

Elle met en jeu le groupement hydroxyle porté par le carbone anomérique et celui d'un autre carbone, la liaison s'établissant par élimination d'une molécule d'eau. On obtient donc deux résidus reliés entre eux, l'un étant réduit et l'autre pas.

La diversité des disaccharides envisageables à partir de deux unités provient à la fois du type de configuration et de la position de la liaison glycosidique.

• **La configuration:** la liaison glycosidique s'établissant sur le carbone 1 hémiacétal, celui-ci peut être en configuration  $\alpha$  ou  $\beta$  ( valeur de l'angle  $\theta$  ). Le disaccharide construit dans l'un ou l'autre cas est alors très différent, d'où l'influence de sa structure tridimensionnelle sur la conformation des assemblages suivants.

Le maltose et le cellobiose en sont un exemple: ils sont tous les deux le résultat d'une liaison entre le carbone 1 de la première unité et le carbone 4 de la deuxième, mais dans le maltose la configuration est de type alpha, alors que dans le cellobiose elle est de type bêta ( Cf. figure I.7 et Chap. V ).



**Figure I.7:** Différentes configurations de la liaison glycosidique de type 1—4.

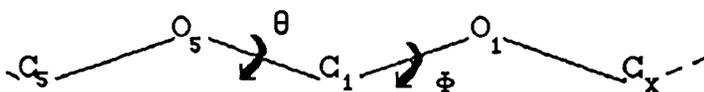
• **La position:** l'établissement de la liaison s'effectuant entre deux groupements hydroxyles, il est possible suivant la position de branchement de ces groupes { (1—1), (1—2), (1—3), (1—4), (1—6) }, de construire plusieurs sortes de disaccharides. Ainsi, pour deux unités glucose, la combinaison de la configuration et de la position de la liaison glycosidique permet d'engendrer 11 structures différentes ( Cf. tableau I.1 ) [17].

Unité ( configuration, type de liaison ) Unité	
Glu ( $\beta, 1-6$ ) Glu	Glu ( $\alpha, 1-1, \alpha$ ) Glu
Glu ( $\beta, 1-4$ ) Glu	Glu ( $\alpha, 1-2$ ) Glu
Glu ( $\beta, 1-3$ ) Glu	Glu ( $\alpha, 1-3$ ) Glu
Glu ( $\beta, 1-2$ ) Glu	Glu ( $\alpha, 1-4$ ) Glu
Glu ( $\beta, 1-1, \beta$ ) Glu	Glu ( $\alpha, 1-6$ ) Glu
Glu ( $\beta, 1-1, \alpha$ ) Glu	

**Tableau I.1:** Combinaisons possibles des liaisons de deux glucoses ( dans le cas d'une liaison de type 1—1, la configuration de chacune des unités est explicitée ).

### III.1.b Effet Exo-Anomérique

Si l'effet anomérique ( angle  $\theta$  ) traduit la configuration d'un saccharide, l'effet exo-anomérique en est son complément et traduit le comportement de la deuxième partie du segment acétal ( Cf. figure I.8 ).



**Figure I.8:** Représentation schématique du groupement acétal et définition des angles  $\theta$  et  $\Phi$  caractérisant respectivement les effets anomérique et exo-anomérique.

L'effet exo-anomérique est caractérisé par les valeurs de l'angle  $\Phi$ , défini comme étant  $\Phi = \text{O}_5\text{—C}_1\text{—O}_1\text{—C}'_x$ . Cette terminologie a été introduite par Lemieux [18] pour expliquer la préférence conformationnelle de certaines positions autour de la liaison  $\text{C}_1\text{—O}_1$ , influençant bien évidemment les orientations et les structures tridimensionnelles des molécules disaccharidiques.

L'effet exo-anomérique se manifeste sur la structure même de la molécule. Ainsi, on peut observer le comportement de la liaison  $\text{C}_1\text{—O}_1$  plus courte, les modifications de l'angle glycosidique  $\text{C}_1\text{—O}_1\text{—C}'_x$  et la préférence de certaines conformations autour de l'angle dièdre  $\text{C}_1\text{—O}_1$  [19]. Ces constatations sur la géométrie peuvent s'expliquer par la présence et l'influence de la paire d'électrons libres de l'oxygène du cycle [10 et références incluses, 20]. Jeffrey et al. [21,22] ont, par exemple, montré la relation entre distances et angles de torsion. De nombreuses études théoriques et différentes formes de calculs ont été envisagées pour expliquer cet effet ( récemment, Tvaroska et Bleha [10] ont donné une revue des différents traitements concernant ces deux effets ); ces méthodes seront, pour la plupart, abordées dans la partie théorique du deuxième chapitre.

On peut cependant signaler que le traitement de cet effet a été principalement envisagé par des méthodes quantiques *ab initio* ou semi-empiriques sur des molécules modèles linéaires comme le diméthoxyméthane ou le diméthoxyéthane [23,24] ou des molécules cycliques comme le 2-méthoxytétrahydropyranne [25] mais pas sur des saccharides, fort peu de calculs de ce type ayant été développés sur des molécules d'une telle taille.

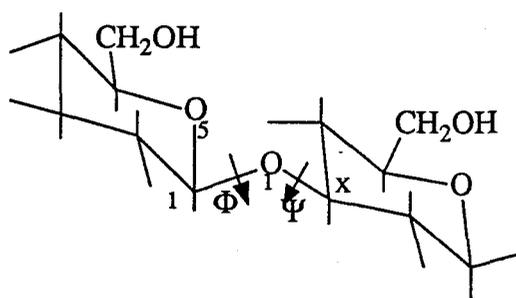
### III.1.c Angles de torsion

Dans une liaison glycosidique, l'orientation des deux unités monosaccharidiques liées peut s'effectuer différemment autour des deux angles de torsion. Le premier de ces angles traduit, comme il vient d'être montré, l'effet exo-anomérique. Le deuxième concerne la rotation autour de la seconde partie de la liaison glycosidique.

Ils sont définis de la façon suivante [26]:

$\Phi = \Phi(O_5-C_1-O_1-C'_x)$  et  $\Psi = \Psi(C_1-O_1-C'_x-C'_{x+1})$  correspondant à la nomenclature liée à la cristallographie ( précision sur la position des atomes lourds) ( Cf. figure I.9 ), ou encore [27]:

$\Phi_H = \Phi_H(H_1-C_1-O_1-C'_x)$  et  $\Psi_H = \Psi_H(C_1-O_1-C'_x-H'_x)$  correspondant à la nomenclature utilisée en résonance magnétique nucléaire ( permet de relier la mesure des effets nOe sur les hydrogènes ).



**Figure I.9:** Définition des angles de torsion de la liaison glycosidique  $\Phi$  et  $\Psi$ .

Dans le cas d'une liaison de type 1—6 un troisième angle  $\omega$ , autour de la torsion  $C_5-C_6$ , doit être utilisé avec pour définition:

$$\omega = \omega(O_1-C'_6-C'_5-O'_5) \quad \text{ou} \quad \omega_H = \omega_H(O_1-C'_6-C'_5-H'_5)$$

et dans ce cas  $\Psi$  est défini comme étant:

$$\Psi = \Psi_H = \Psi(C_1-O_1-C'_6-C'_5).$$

Les combinaisons de ces angles  $\Phi$  et  $\Psi$  permettent d'engendrer de nombreuses conformations du disaccharide étudié. Il est bien évident que sur de simples critères d'encombrement stérique, de nombreuses possibilités sont rejetées. Il est possible d'évaluer les différentes orientations relatives des unités monosaccharidiques entre elles en traçant les courbes énergétiques des couples  $(\Phi, \Psi)$  pour les différents types de liaison [11,27].

Le problème majeur, dont dépendent les résultats, provient de l'évaluation de l'énergie et des termes considérés. Les différentes méthodes de calcul, appliquées aux saccharides, seront envisagées dans le deuxième chapitre.

Cependant, on peut signaler les résultats récents [28-33] dans lesquels non seulement une carte rigide ( $\Phi, \Psi$ ) est déterminée, c'est-à-dire évaluation de l'énergie du couple ( $\Phi, \Psi$ ), mais aussi une carte relaxée ou adiabatique. Dans ce cas, pour chaque couple ( $\Phi, \Psi$ ), la structure ainsi obtenue peut se relaxer selon toutes ses coordonnées internes. Cette optimisation de tous les paramètres amène des élargissements des cartes rigides obtenues et des "gués conformationnels" [33] apparaissent alors entre les différents minima. Ils peuvent alors expliquer le passage d'une conformation à une autre et doivent avoir un rôle important dans la conformation globale des oligosaccharides.

## III.2 Les oligosaccharides

### III.2.a Présentation et hypothèses

Les oligosaccharides sont constitués de plusieurs unités monosaccharidiques, liées par liaisons glycosidiques. La diversité des types de liaison, la capacité de ramification et d'extension des structures oligosaccharidiques leur confèrent une très grande flexibilité. Toutes ces caractéristiques sont à la base même du polymorphisme des molécules oligosaccharidiques.

Ainsi, en conséquence, très peu de structures tridimensionnelles oligosaccharidiques sont actuellement connues ( Cf. Chap 2, § sur la cristallographie ). L'utilisation des calculs théoriques permet d'envisager leur conformation et leur résolution [34 et références incluses].

La connaissance de la structure tridimensionnelle globale d'un oligosaccharide et même d'un polysaccharide, passe donc par plusieurs hypothèses:

- La première concerne les monosaccharides qui sont supposés adopter l'une des conformations de cycle précédemment envisagées. Ils sont en général dans la forme chaise la plus stable ( le plus souvent  ${}^4C_1$  ), mais les autres formes (B ou S ) peuvent se rencontrer, quoi qu'en faible proportion, et ne font qu'augmenter le désordre conformationnel de la molécule [11].

- La deuxième concerne les liaisons glycosidiques des disaccharides constituant l'oligosaccharide. Sur les cartes énergétiques, les possibilités

favorables des couples ( $\Phi, \Psi$ ) se résument le plus souvent à quelques minima. L'hypothèse repose sur l'addition des minima respectifs de chacun des disaccharides constituant la structure, selon le principe d'indépendance des liaisons des unités disaccharidiques. La forme globale de la structure oligosaccharidique est donc le résultat de l'addition des différentes formes les plus favorables des disaccharides mis en jeu.

- La troisième hypothèse découle de la précédente et suppose que la construction de l'oligosaccharide se fasse dans une conformation relativement "rigide" ou "fixe".

Ces deux dernières hypothèses sont les plus discutables.

### III.2.b - Indépendance des liaisons ?

Si la deuxième hypothèse s'avère très correcte pour des oligosaccharides et des polysaccharides possédant des liaisons de même type que l'unité disaccharidique [34] et pour des oligosaccharides possédant principalement des liaisons de type 1—4, elle ne s'avère pas très prédictive dans le cas des liaisons de type 1—2 ou 1—3. Une liaison d'une unité sur les positions 2 ou 3 d'une autre unité, entraîne de fortes contraintes stériques sur les branchements avec un troisième monosaccharide en position 1 ou 4, respectivement.

De plus, la mobilité d'une liaison en position 6, avec les trois degrés de liberté  $\Phi$ ,  $\Psi$  et  $\omega$ , confère une plus grande flexibilité à la molécule; le monosaccharide qui lui est attaché peut alors balayer un plus important espace conformationnel et venir influencer, par contacts répulsifs, une autre liaison glycosidique.

Un autre point discutable de cette hypothèse est le problème des ramifications, pour lesquelles l'addition des structures de plus basse énergie pour chaque liaison n'est plus forcément réalisable. Les contraintes et les empêchements stériques deviennent parfois trop importantes et les conformations d'une liaison glycosidique, qui étaient improbables sur l'unité disaccharidique seule, peuvent se réaliser. Ceci est particulièrement vrai pour les polysaccharides hautement ramifiés [11]. A ce critère de ramification vient s'ajouter celui d'allongement des chaînes pour lesquelles certaines conformations deviennent hautement improbables alors qu'elles sont favorables dans de petites structures. Ce dernier point porte plus particulièrement sur les hétéropolysaccharides et les glycanes des glycoconjugués.

Enfin, en ce qui concerne cette deuxième hypothèse, toutes les études reposent sur des calculs empiriques et donc sur l'évaluation des termes d'énergie permettant de

tracer les cartes conformationnelles ( $\Phi, \Psi$ ). S'il est bien évident que la contribution principale provient des interactions non liantes du type Van der Waals, ce terme n'est pas le seul. L'approche des cartes adiabatiques [28-32], même si elles confirment les cartes "rigides", en est un exemple: elle permet l'extension des zones conformationnelles possibles, les possibilités de passage d'un minimum à un autre et nous amène directement aux "critiques" relatives à la troisième hypothèse.

### III.2.c - Structure ordonnée ?

Comme cela vient d'être évoqué, l'obtention de la forme générale d'un oligosaccharide à partir des différentes conformations les plus stables des disaccharides qui le constituent, ne semble pas satisfaisante. Donc, supposer pour connaître la conformation que la structure globale est "fixée" ne l'est pas non plus. Ceci peut être constaté aussi bien à l'état solide qu'en solution.

A l'état solide, il est pratiquement impossible d'obtenir un "matériau" ( monocristal, cristal, poudre ou fibre ) permettant de résoudre la structure, hormis les saccharides à unités répétitives et les structures bloquées artificiellement. La flexibilité et le polymorphisme en sont les responsables. Cette technique de résolution est pourtant celle de prédilection pour l'étude des structures ordonnées.

En solution les molécules ne sont pas contraintes à un état unique et elles oscillent autour des liaisons sous l'effet des collisions et de l'agitation thermique. Même si le plus souvent les liaisons sont dans une position proche de l'état le plus favorable, l'agitation thermique peut amener des liaisons dans des zones particulièrement défavorables et induire des modifications par exemple au niveau des unités monosaccharidiques ( modification de la forme du cycle ). Ces modifications locales peuvent se répercuter sur l'ensemble de la structure. La molécule hautement flexible peut alors adopter des conformations désordonnées et aléatoires [11,35-36]. Cela correspond à ce que l'on appelle l'entropie conformationnelle.

### III.3 Conclusion

Connaître la structure tridimensionnelle d'un oligosaccharide passe par l'analyse conformationnelle des unités disaccharidiques qui le composent. Celle-ci est fondamentale et doit-être aussi précise que possible. Cependant, cette approche ne semble pas totalement satisfaisante pour connaître précisément la conformation de la molécule plus complexe. Les "imperfections", liées aux hypothèses dans l'établissement des structures totales, amènent à se poser certaines questions sur le crédit des structures

déterminées, sur la validité des résultats obtenus et sur leurs conséquences dans l'interprétation des phénomènes biochimiques et biologiques. Le développement de technologies expérimentales plus performantes, conjointement au développement de calculs théoriques de dynamique moléculaire avec des paramètres spécifiques aux saccharides, devraient permettre, dans un avenir proche, de pallier ces difficultés.

## IV. LES POLYSACCHARIDES ET LES GLYCANNES DES GLYCOCONJUGUES

Comme signalé dans l'introduction de ce chapitre, les polysaccharides peuvent être séparés en homopolysaccharides et en hétéropolysaccharides. A ces derniers, il est possible d'associer les glycannes c'est-à-dire la partie glycanique des glycoconjugués. Ces glycannes, même s'ils peuvent être des oligosaccharides ( dans la terminologie choisie avec moins de dix résidus ), ont souvent des tailles supérieures à dix unités (certains penta-antennés possèdent jusqu'à 21 monosaccharides ) [37-40].

Tout ce qui vient d'être décrit pour caractériser la conformation les oligosaccharides se retrouve évidemment dans les structures plus importantes des polysaccharides et des glycannes et ne sera pas repris.

### IV.1 Homopolysaccharides

L'hydrolyse des homopolysaccharides libère la même unité monosaccharidique ou disaccharidique ( par exemple, dans l'amylose, le  $\alpha$  maltose = 2 unités d' $\alpha$  glucose ). Dans la chimie des saccharides complexes, les conformations de ces structures sont les plus connues [41]. La répétition du motif se trouve stabilisée d'une unité sur l'autre et l'agencement de la molécule permet d'obtenir une structure ordonnée.

Ainsi, les structures se trouvent renforcées par des interactions entre molécules, venant établir une espèce de "compactage" qui crée une interaction coopérative entre les molécules, contrebalançant de cette façon le désordre conformationnel entropique. Leurs conformations se présentent le plus souvent sous la forme d'une hélice, qui peut-être dans certains cas double créant une stabilisation par association. Sa géométrie est

caractérisée par les paramètres hélicoïdaux (n, h) [42]. Ces paramètres correspondent au nombre de résidus par tour pour n et à l'avance par résidu pour h. Le pas de l'hélice p est le produit des deux. De plus, n caractérise la chiralité de l'hélice: si ce paramètre est négatif, l'hélice est gauche, droite dans le cas contraire ( Il est important de noter que si pour un couple d'angles de torsion ( $\Phi, \Psi$ ) ne correspond qu'un couple de paramètres (n,h) définissant une hélice, l'inverse n'est pas vrai [42] ).

Ces caractéristiques permettent l'obtention de fibres, poudres ou cristaux qui, à l'aide de calculs conformationnels et plus récemment de la modélisation moléculaire, aboutissent à la résolution des structures avec les techniques de diffraction classique. Les travaux de S. PEREZ et de son équipe, sur l'amidon et l'amylose et les structures qui les composent, en sont des exemples [42-48].

Une description des différentes conformations des homopolysaccharides et des types de liaison mise en jeu est effectuée dans l'article de REES et al. [41].

## IV.2 Hétéropolysaccharides et glycanes

Si l'hydrolyse des homopolysaccharides libèrent des unités saccharidiques identiques, celle des hétéropolysaccharides et des glycanes fournit des entités complètement différentes.

### IV.2.a Hétéropolysaccharides

Les plus connus correspondent ici encore à la répétition d'ensembles qui sont constituées d'unités différentes. Ce sont par exemple les carraghénanes ( forme iota [49]), le xanthane [50] ou les glycosaminoglycanes dont l'héparine et le dermatane sulfate peuvent constituer des unités de base [51]. Cependant, ces hétéropolysaccharides sont des polysaccharides linéaires, ce qui facilite leur étude.

Dans le cas de molécules plus complexes, hautement ramifiées et d'élongations de chaînes variées, les informations conformationnelles sont beaucoup plus difficiles à obtenir [11].

Mais, l'apparition d'ordinateurs graphiques à haute résolution devrait permettre d'envisager ce domaine. Connaissant les structures primaires des molécules, une modélisation devrait permettre d'appréhender les structures tridimensionnelles et donc obtenir la conformation la plus favorable. Néanmoins, Il faut ne pas perdre de vue que lors de la modélisation moléculaire il y a toujours une minimisation d'énergie effectuée et

les résultats dépendent des termes d'énergie pris en compte et surtout des paramètres utilisés, qui doivent être spécifiques des saccharides. De ces seules conditions, dépend la validité du modèle ainsi obtenu.

#### IV.2.b Glycannes

Les glycannes sont les structures polysaccharidiques que l'on rencontre sur les glycoconjugués ( glycoprotéines et glycolipides). La chimie de ces molécules n'est en plein essor que depuis un peu moins de vingt ans. En 1974, J. MONTREUIL [52] décrivait la douzaine de structures primaires de glycannes qui venaient d'être obtenues. Quinze ans après, plusieurs centaines de structures primaires sont élucidées [37-40,53]. Si le glycanne est associé avec une protéine ou un lipide pour former un glycoconjugué, ce n'est pas le fruit du hasard. En effet, la plupart des protéines existantes dans la nature sont glycosylées: pourquoi ?, quel est le rôle du glycanne ?. Des concepts de structure tridimensionnelle doivent alors être envisagés pour permettre d'élucider les différents mécanismes d'action. Ainsi, pour le glycanne de type N-acétyllactosaminique, différentes conformations globales de la molécule ont été proposées [37-40] avec des formes dites en "Y", en "T", en "oiseau " ou encore en "aile brisée". Ces résultats semblent en accord avec les résultats expérimentaux ( RMN ) couplés à des calculs théoriques (HSEA) ( Cf. Chap. II.B pour plus de détail).

La modélisation moléculaire sur ordinateur graphique affirme elle aussi ces conformations, mais elle permet en plus d'envisager des structures tridimensionnelles qui, bien que ne différant pas énormément des structures précédemment décrites, ne sont pas connues et peuvent servir d'intermédiaires entre les principales formes qui semblent les plus stables. En solution, plusieurs conformations peuvent coexister avec des proportions plus ou moins importantes, ces structures intermédiaires sont alors fondamentales pour expliquer le passage entre les formes les plus probables. De plus, cette technologie permet d'endosager et d'analyser des structures plus importantes et plus complexes. Il a été possible de montrer que la structure globale d'un glycanne ne peut être exclusivement envisagée comme étant la somme des minima d'énergie de chacune des liaisons glycosidiques qui la constituent [54]. Le point de branchement et la position de certains résidus clés influencent alors, dans certains cas, de manière très forte les valeurs des angles de torsion d'autres liaisons glycosidiques.

Cette technique de modélisation moléculaire, dans laquelle la dynamique moléculaire devrait prendre une large part, utilisée avec des résultats expérimentaux de résonance magnétique nucléaire et de diffraction des rayons X ( les perspectives d'avenir quant à la cristallisation et à la résolution des structures glycaniques semblent

prometteuses ), laisse entrevoir un développement formidable et une compréhension toujours plus importante des mécanismes d'action de cette classe de molécules.

### IV.3 Relation biosynthèse - structure tridimensionnelle

Le but de ce paragraphe n'est pas de décrire les mécanismes de biosynthèse ( au demeurant bien trop nombreux, variés et complexes ) des oligo- et poly-saccharides, mais d'essayer d'appréhender l'importance qu'une biosynthèse peut avoir sur la conformation d'une structure saccharidique, laissant entrevoir les conséquences qu'elle peut engendrer dans les mécanismes biochimiques et biologiques.

#### IV.3.a Principe de la biosynthèse d'un oligosaccharide ou d'un polysaccharide

Contrairement aux protéines, les molécules oligosaccharidiques et polysaccharidiques complexes ne sont pas directement sous le contrôle du message génétique. Elles résultent d'un processus complexe correspondant à l'action successive de nombreuses enzymes , qui elles proviennent du codage des gènes de l'ADN. La molécule est issue de l'addition, étape par étape, de monosaccharides sous l'action d'enzymes appelées glycosyltransférases.

La structure tridimensionnelle du polysaccharide dépend donc de la succession de ces réactions enzymatiques, de leur spécificité ( traduisant la configuration des liaisons, la position et la succession des unités, la ramification... ) et de leur fréquence ( allongement séquentiel des chaînes...). On peut considérer qu'elles sont "hiérarchisées".

Même les "fausses manipulations" si l'on peut dire, ne semblent pas aléatoires. Ainsi les réactions enzymatiques incomplètes dans la biosynthèse de l'héparine et du pentasaccharide qui en est extrait sont à l'origine [55] de l'activité anticoagulante du polymère.

#### IV.3.b Concepts d'homogénéité et d'hétérogénéité

Comme nous venons de le voir, la diversité des structures est déterminée par celle des enzymes glycosyltransférases et de leur spécificité, dont elle est le reflet. Cette diversité en relation avec la complexité, le déroulement ( extensions, ramifications ou modifications des unités ajoutées ) et la succession des réactions, peuvent amener de

nombreuses régions hétérogènes [11]. Cette hétérogénéité concerne le plus souvent de petites zones ( microhétérogénéité ).

Si la présence ou l'absence d'hétérogénéité peuvent se voir avec les variations d'une molécule sur une autre, la preuve d'homogénéité n'est pas aussi facile à établir.

#### IV.3.c Connaissance des glycosyltransférases

Les enzymes intervenant dans la biosynthèse influent sur la variété des structures obtenues. Bien connaître la structure d'un polysaccharide implique une bonne connaissance des transférases mis en jeu dans les réactions. Or une transférase n'est réellement caractérisée que lorsque la conformation de son "polysaccharide" est bien déterminée!. La détermination structurale des polysaccharides ne sera optimum qu'avec celle des transférases.

#### IV.4 Conclusion

La conformation et la connaissance tridimensionnelle précise des polysaccharides ne sont réellement bien déterminées que pour les structures à unités répétitives. Dans les autres cas, glycanes et hétéropolysaccharides, la détermination de la structure primaire étant déjà un problème peu facile, les données tridimensionnelles et l'appréhension des mécanismes biologiques qui les accompagnent sont actuellement encore très limitées. La modélisation moléculaire devrait permettre dans un avenir proche une meilleure connaissance de ces molécules.

## V. CONCLUSION

La diversité des monosaccharides ( isoméries, conformations, dérivés ) et des liaisons glycosidiques qui les unissent, est à la base même de celle des structures polysaccharidiques qu'ils engendrent. Le polymorphisme ainsi obtenu et la grande flexibilité de ces molécules sont bien sûr à relier aux très nombreux mécanismes biologiques dans lesquels ils interviennent.

La détermination croissante des structures primaires par des méthodes physiques, chimiques et enzymatiques va, dans un avenir très proche, augmenter encore plus la quantité des "séquences" actuellement déterminées. Donc, une connaissance précise de la structure tridimensionnelle de toutes ces séquences devrait permettre une meilleure compréhension des mécanismes biologiques mis en jeu dans chacun des cas.

La détermination de ces structures tridimensionnelles passe par la connaissance des coordonnées atomiques ou par celle des paramètres pouvant engendrer les conformations ( angles  $\Phi$ ,  $\Psi$  et  $\omega$  ), reliée à des données expérimentales ( mesure d'effets  $nOe...$  ). Une analyse conformationnelle s'avère alors indispensable pour déterminer ou affiner la géométrie globale. Cependant, le polymorphisme, la ramification et l'extension des chaînes ne semblent pas permettre l'analyse d'une structure polysaccharidique complète morceaux par morceaux, ce qui était effectué jusqu'à présent. De plus, même si les termes prépondérants intervenant dans l'analyse sont dus aux interactions non liantes de type Van der Waals, l'évaluation des termes d'énergie, le modèle utilisé et ses approximations, et enfin les paramètres choisis sont fondamentaux quant aux résultats obtenus et quant à l'interprétation que l'on en fait.

L'ensemble des données expérimentales et les résultats de calculs théoriques adaptés à l'étude des saccharides devraient, dans un avenir proche, grâce à la modélisation moléculaire, cerner beaucoup plus les problèmes de conformation de cette classe de molécules.

- [1] 'Biactive carbohydrates: in chemistry, biochemistry and biology'.  
KENNEDY J., WHITE C.  
Ellis Horwood Ltd. John Wiley & Sons Eds (1983), NY.
- [2] 'Cell surface carbohydrates: molecules in a search for a function?'.  
COOK G.M.  
J. Cell. Sci. **4**, (1986), 45.
- [3] 'Surface carbohydrates and surface lectins are recognition determinants in phagocytoses'.  
SHARON N.  
Immunol. Today, **5**, (1984), 143.
- [4] 'Handbook of biochemistry and molecular biology'  
FASMAN G.  
CRC PRESS, (1975), Cleveland.
- [5] 'Stereochemistry of carbohydrates.'  
STODDART J.  
Wiley Interscience, (1971), New-York.
- [6] 'Conformational analysis of sugars and their derivatives.'  
DURETTE P., HORTON D.  
Adv. in Carbo. Chem. & Biochem., Vol **26**, (1971), 49.
- [7] JEFFREY G., KIM H.  
Carbohydr. Res., **14**, (1970), 207.
- [8] 'Molecular arrangements.'  
LEMIEUX R.  
In de MAYO Eds., Vol 2, (1964), 709, Interscience, New York.
- [9] 'The exo-anomeric effect: experimental evidence from crystal structures.'  
PEREZ S., MARCHESSAULT R.  
Carbohydr. Res., **65**, (1978), 114.
- [10] 'Anomeric and exo-anomeric effects in carbohydrate chemistry.'  
TVAROSKA I. & BLEHA T.  
Adv. in Carbo. Chem. & Biochem., Vol **47**, (1989), 45.
- [11] 'The polysaccharides.'  
ASPINALL G. Ed.  
Vol 1, (1982), Academic Press, New-York.
- [12] 'The shape of pyranoside rings.'  
REEVES R.  
J. Am. Chem. Soc., **72**, (1950), 1499.
- [13] 'A general definition of ring puckering coordinates.'  
CREMER D., POPLER J.  
J. Am. Chem. Soc., **97**, (1975), 1354.
- [14] 'Stereographic representation of the Cremer-Pople ring-puckering parameters for pyranoid rings.'  
JEFFREY G., YATES J.  
Carbohydr. Res., **74**, (1979), 319.

[15] 'Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbanium ion in the reaction of lysozyme.'  
WARSHEL A., LEVITT M.  
J. Mol. Biol., **103**, (1976), 227.

[16] 'Proteins: structures and molecular properties.'  
CREIGHTON T.  
Ed. by FREEMAN and Company, (1984), New York.

[17] 'Molecular biology of the Cell.'  
ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J.  
Garland Publishing Inc., (1983), New York.

[18] LEMIEUX R., PAVIA A., MARTIN J., WATANABE K.  
Can. J. Chem., **43**, (1965), 2205.

[19] 'Some aspects of stereochemistry and hydrogen bonding of carbohydrates related to polysaccharide conformations.'  
SUNDARALINGAM M.  
Biopolymers, **6**, (1968), 189.

[20] 'An attempt to derive the potential function for evaluation of the energy associated with the exo-anomeric effect.'  
TVAROSKA I.  
Carbohydr. Res., **125**, (1984), 155.

[21] 'The application of *ab initio* molecular orbital theory to the anomeric effect. A comparison of theoretical predictions and experimental data on conformations and bond lengths in some pyranoses and methyl pyranosides.'  
JEFFREY G., POPLE J., RADOM L.  
Carbohydr. Res., **25**, (1972), 117.

[22] JEFFREY G., POPLE J., RADOM L.  
Carbohydr. Res., **38**, (1974), 81.

[23] TVAROSKA I., BHEHA T.  
J. Mol. Struct., **24**, (1975), 249.

[24] JEFFREY G., POPLE J., BINKLEY J., VISHVESHWARA S.  
J. Am. Chem. Soc., **100**, (1978), 373.

[25] TVAROSKA I., KOZAR T.  
J. Am. Chem. Soc., **102**, (1980), 6929.

[26] 'IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature'  
Arch. Biochem. Biophys., **145**, (1971), 405; J. Mol. Biol., **52**, (1970), 1.

[27] SUNDARARAJAN P., RAO V.S.R.  
Biopolymers, **8**, (1969), 313.

[28] 'Solvent-specific energy surfaces of carbohydrates: the mannobiose case.'  
JIMENEZ-BARBERO J., NOBLE O., PFEFFER C., PEREZ S.  
New J. Chem., **12**, (1988), 941.

- [29] 'Rigid- and relaxed-residue conformational analyses of cellobiose using the computer program MM<sub>2</sub>.'  
FRENCH A.D.  
Biopolymers, **27**, (1988), 1519.
- [30] 'Comparisons of rigid and relaxed conformational maps for cellobiose and maltose.'  
FRENCH A.  
Carbohydr. Res., **188**, (1989), 206.
- [31] 'Relaxed potential energy surfaces of maltose.'  
TRAN V., BULEON A., IMBERTY A., PEREZ S.  
Biopolymers, **28**, (1989), 679.
- [32] 'Data bank of three-dimensional structures of disaccharides, a tool to build 3D structures of oligosaccharides. Part I. Oligo-mannose type N-glycans.'  
IMBERTY A., GERBER S., TRAN V., PEREZ S.  
Glycoconjugate Journal, **7**, (1990), 27.
- [33] 'Nouvelles données sur la structure et le polymorphisme des grains d'amidon'.  
IMBERTY A.  
Thèse d'Etat de l'Université de Grenoble, (1988).
- [34] 'Conformational analysis of polysaccharides by semi-empirical potential functions'.  
RAO V.S.R.  
In Structural aspects of biomolecules, SRINIVASAN R. Ed., Vascutha Pattabhi, Mac Millian India limited, (1978).
- [35] 'Polysaccharide shapes.'  
REES D.A.  
Outline Studies in Biology. Chapman & Hall, London, (1977).
- [36] REES D.A.  
MTP Int. Rev. Sci.: Org. Chem., Ser. One, **7**, (1973), 251.
- [37] 'Primary structure of glycoprotein glycans. Basis for the molecular biology of glycoproteins.'  
MONTREUIL J.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **37**, (1980), 157.
- [38] 'Spatial conformation of glycans and glycoproteins.'  
MONTREUIL J.  
Biol. Cell., **51**, (1984), 115.
- [39] 'Spatial structures of glycan chains of glycoproteins in relation to metabolism and function, survey of a decade of research.'  
MONTREUIL J.  
Pure & Appl. Chem., **56**, (1984), 859.
- [40] 'Glycoprotein glycans: primary structure and conformation, metabolism and molecular biology'.  
MONTREUIL J.  
Lecture Note, Forum peptides, Le Cap d'Agde, (1984), 289.
- [41] 'Shapes and interactions of carbohydrate chains.'  
REES D., MORRIS E., THOM D., MADDEN J.  
In 'The polysaccharides', Vol 1, p196, (1982), ASPINALL G. Ed., Academic Press, NY.

- [42] 'Helical parameters of infinite polymer chains having a diamond-like backbone. Application to homo-polysaccharides and cyclic oligosaccharides.'  
GAGNAIRE D., PEREZ S., TRAN V.  
Carbohydr. Res., **78**, (1980), 89.
- [43] 'New three-dimensional structure for A-type starch.'  
IMBERTY A., CHANZY H., PEREZ S., BULEON A., TRAN V.  
Macromolecules, **20**, (1987), 2636.
- [44] 'The double-helical nature of the crystalline part of A-starch.'  
IMBERTY A., CHANZY H., PEREZ S., BULEON A., TRAN V.  
J. Mol. Biol., **201**, (1988), 365.
- [45] 'Crystal structure analysis of linear polysaccharides.'  
PEREZ S., CHANZY H.  
BAILEY Ed., Proceedings of the 45<sup>th</sup> annual meeting of the electron microscopy society of America copyright. (1987), 484.
- [46] 'A revisit of the three-dimensional structure of B-type starch.'  
IMBERTY A., PEREZ S.  
Biopolymers, **27**, (1988), 1205.
- [47] 'Solid state and solution features of amylose and amylosic fragments.'  
PEREZ S., VERGELATI C.  
Polymer Bulletin, **17**, (1987), 141.
- [48] 'Three-dimensional structure analysis of the crystalline moiety of A-starch.'  
IMBERTY A., CHANZY H., PEREZ S., BULEON A., TRAN V.  
Food Hydrocolloids, **1/5-6**, (1987), 455.
- [49] 'Iota carrageenan molecular structure and packing of polysaccharide, double helices in oriented fibres of divalent cation salts.'  
ARNOTT S., SCOTT W., REES C.  
J. Mol. Biol., **90**, (1974), 253.
- [50] 'Molecular modeling of the xanthan chain conformations.'  
PEREZ S., VERGELATI C.  
Int. J. Biol. Macromol., **9**, (1987), 211.
- [51] 'Etude structurale et conformationnelle de polysaccharides par Résonance Magnétique Nucléaire.'  
BOSSENNEC V.  
Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VI, (1989).
- [52] 'Recent data on the structure of the carbohydrates moiety of glycoproteins. Metabolic and biological implications.'  
MONTREUIL J.  
Pure & Appl. Chem., **42**, (1974), 431.
- [53] 'Glycoproteins.'  
MONTREUIL J.  
In Comprehensive Biochemistry, NEUBERGER A. & Van DEENEN Ed., Elsevier, Amsterdam, **19B**, Part II, (1982), 1.

[54] 'Molecular modeling of a disialylated monofucosylated biantennary N-acetyl lactosamine type glycan.'  
MAZURIER J., DAUCHEZ M., SPIK G., MONTREUIL J. & VERGOTEN G.  
Soumis dans Biochemistry.

[55] CASU B., ORESTE P., ZOPPETI G., CHOAY J., LORMEAU J., PETITOU M.,  
SINAY P.  
Biochem. J., **197**, (1981), 599.

## CHAPITRE II

# Méthodes expérimentales et théoriques.

INTRODUCTION	p 28
I. METHODES EXPERIMENTALES	p 29
I.1 METHODES DE DIFFRACTION ET DE DIFFUSION	p 29
I.1.a Introduction	p 29
I.1.b Diffraction des rayons-X	p 29
I.1.c Diffusion des neutrons	p 31
I.1.d Cristallographie des saccharides	p 31
I.1.e Conclusion	p 33
I.2 RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE ( RMN)	p 33
I.2.a Introduction	p 33
I.2.b Principe et séquences de la RMN	p 34
I.2.c La RMN des saccharides	p 34
I.2.d Conclusion	p 36
I.3 ABSORPTION INFRAROUGE ET DIFFUSION RAMAN	p 37
I.3.a Introduction	p 37
I.3.b Principe	p 37
I.3.c Spectroscopie vibrationnelle des saccharides	p 38
I.3.c.α <i>Caractéristiques générales</i>	p 38

I.3.c.β <i>Régions spectrales des saccharides</i>	p 39
I.3.d Conclusion	p 42
I.4 AUTRES METHODES	p 42
<b>II. LES METHODES THEORIQUES</b>	p 43
INTRODUCTION	p 43
II.1 LES METHODES QUANTIQUES <i>Ab Initio</i>	p 45
II.1.a Introduction	p 45
II.1.b Fondements	p 45
II.1.b.α <i>Equation de Schrödinger</i>	p 45
II.1.b.β <i>Approximation de Born-Oppenheimer</i>	p 46
II.1.b.γ <i>Notion de spinorbitale et principe de Pauli</i>	p 47
II.1.b.δ <i>Orbitales Moléculaires et déterminant de Slater</i>	p 47
II.1.c Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques	p 48
II.1.d Approximations	p 49
II.1.d.α <i>Approximations de Hückel et de Hückel généralisée</i>	p 49
II.1.d.β <i>Champ auto-cohérent</i>	p 50
II.1.e Les méthodes de calcul <i>ab initio</i>	p 51
II.1.e.α <i>Nombre et nature des intégrales à calculer</i>	p 51
II.1.e.β <i>Différentes bases de calcul</i>	p 52
II.1.f Application des calculs <i>ab initio</i> aux saccharides	p 52
II.1.g Conclusion	p 53
II.2 LES METHODES SEMI-EMPIRIQUES	p 54
II.2.a Introduction	p 54
II.2.b Approximations	p 54

II.2.c	Modèles semi-empiriques et applications aux saccharides	p 54
II.2.c.α	<i>Méthode PCILO</i>	p 54
II.2.c.β	<i>Méthodes NDDO et MNDO</i>	p 55
II.2.c.γ	<i>Méthode AM1</i>	p 55
II.2.c.δ	<i>Les méthodes CNDO et INDO</i>	p 56
II.2.d	Conclusion	p 57
II.3	LES METHODES EMPIRIQUES	p 57
II.3.a	INTRODUCTION	p 57
II.3.b	MECANIQUE MOLECULAIRE	p 59
II.3.b.α	<i>Fonction énergie potentielle empirique</i>	p 59
II.3.b.β	<i>Minimisation d'énergie</i>	p 59
II.3.b.γ	<i>Algorithmes de minimisation</i>	p 60
•	méthodes aux dérivées premières	p 60
•	méthodes aux dérivées secondes	p 60
II.3.b.δ	<i>Application de la Mécanique Moléculaire aux saccharides</i>	p 61
•	Rasmussen	p 61
•	Méthode HSEA	p 65
•	Les programmes MM <sub>1</sub> CARB et MM <sub>2</sub> CARB	p 66
•	Le programme AMII	p 68
•	Le programme REFINE	p 69
II.3.b.ε	<i>Conclusion</i>	p 70
II.3.c	DYNAMIQUE MOLECULAIRE	p 71
II.3.c.α	<i>Principes des méthodes de dynamique</i>	p 71
II.3.c.β	<i>Exemple de simulation</i>	p 72
•	Point de départ	p 72
•	"Thermalisation"	p 73
•	Equilibration	p 73
•	Dynamique	p 74
II.3.c.γ	<i>Algorithmes de résolution des équations du mouvements</i>	p 74
II.3.c.δ	<i>Différents types de dynamique moléculaire</i>	p 75
II.3.c.ε	<i>Programmes de simulation de macromolécules</i>	p 75
II.3.c.ζ	<i>Dynamique moléculaire des saccharides</i>	p 75

II.3.d DYNAMIQUE HARMONIQUE: CALCUL DES MODES NORMAUX DE VIBRATION	p 76
<i>II.3.d.α Introduction</i>	p 77
<i>II.3.d.β Aspect Théorique: problème séculaire`</i>	p 77
• Traitement des redondances	p 77
• Base des coordonnées cartésiennes, approximation harmonique et problème vibrationnel	p 77
• Base des coordonnées internes	p 79
• Base des coordonnées normales	p 81
• Base des coordonnées de symétrie	p 82
• Conclusion	p 83
<i>II.3.d.γ Problème séculaire inverse: affinement des constantes de force</i>	p 84
<i>II.3.d.δ Calcul dans le cristal</i>	p 85
<i>II.3.d.ε Modèles de champ de force</i>	p 86
• VFF	p 86
• GVFF	p 87
• CFF	p 87
• UBFF	p 87
• mUBSFF	p 87
• LSFF	p 87
<i>II.3.d.ζ Traitement en analyse des modes normaux des saccharides</i>	p 88
<i>II.3.d.ξ Conclusion</i>	p 89

# Méthodes expérimentales et théoriques.

## INTRODUCTION

La connaissance d'une molécule ou d'une famille de molécules passe par l'accumulation du plus grand nombre possible d'informations, aussi bien expérimentales que théoriques. L'étude conformationnelle et dynamique de systèmes moléculaires reposent sur certaines méthodes qui seront développées dans ce chapitre, en axant toutefois le développement sur les méthodes principales rencontrées dans la chimie des saccharides.

Les progrès récents et conjoints des méthodes expérimentales et théoriques, le développement de super-calculateurs et l'apparition du graphisme moléculaire sur écran à haute résolution, ont fait naître une "science nouvelle", **la modélisation moléculaire**. Il est ainsi possible de construire, d'optimiser, de manipuler, de modifier ou de simuler des systèmes macromoléculaires isolés ou en interaction avec un autre système, d'évaluer les possibilités dynamiques de la macromolécule et d'appréhender l'importance de ces mouvements dans l'activité biologique.

Donc, pour comprendre l'origine structurale des fonctions des molécules biologiques, il est impossible de dissocier les méthodes expérimentales et les méthodes théoriques. De plus, une connaissance et une investigation complète des composés modèles constituant la macromolécule sont nécessaires pour mieux cerner et appréhender les propriétés de cette macromolécule.

Dans la première partie de ce chapitre, les principales méthodes expérimentales permettant l'accès aux propriétés conformationnelles et dynamiques seront exposées. L'accent sera mis sur la diffraction des rayons-X et des neutrons, sur la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), enfin sur les spectroscopies vibrationnelles Infrarouge et

Raman, ces dernières étant à la base de tous les calculs de dynamique harmonique effectués de ce travail.

Dans la seconde partie, les développements des différents types de calculs seront abordés, avec les méthodes quantiques pures *ab initio*, les méthodes quantiques semi-empiriques, les méthodes empiriques de mécanique moléculaire et de dynamique moléculaire, les formalismes et les principales approximations étant exposés. Un développement plus conséquent des formes de champs de forces spécifiques des oses sera effectué.

Pour terminer, le formalisme du calcul des modes normaux de vibration utilisé par la suite sera explicité.

## I. METHODES EXPERIMENTALES

### I.1 METHODES DE DIFFRACTION ET DE DIFFUSION

#### I.1.a Introduction

Ces méthodes sont sûrement les plus performantes et les plus appropriées pour obtenir les positions atomiques. Elles sont donc les méthodes de choix pour déterminer la structure tridimensionnelle des petites molécules mais aussi des macromolécules et se trouvent à la base même de nombreux calculs comme ceux de dynamique harmonique et de dynamique moléculaire. Dans la chimie des oses, ces méthodes sont particulièrement bien adaptées aux petites structures et aux homo-polysaccharides.

#### I.1.b Diffraction des rayons-X

La diffraction des rayons-X est la méthode expérimentale la plus utilisée pour déterminer les positions atomiques. Les positions ainsi obtenues sont celles de la structure moyennée soumise aux forces cristallines. De plus, cette méthode accède aux fluctuations atomiques qui, comme nous le verrons, ont un rôle important dans la dynamique moléculaire.

*Principe:* Les rayons-X arrivant sur un atome repartent dans toutes les directions de l'espace. Sur le système périodique que constitue un cristal parfait, se produit le

phénomène de diffraction: diffusion dans des directions privilégiées, lié au phénomène de réflexion sur les plans réticulaires ( qui sont définis par les indices de Miller ). Bragg le montre en 1912 et établit la condition de diffraction qui porte son nom:

$$2d \sin\theta = n\lambda$$

où  $d$  est la distance entre deux plans,  $\theta$  l'angle d'incidence et  $\lambda$  la longueur d'onde.

La grandeur expérimentale observable est l'intensité  $I(Q)$ , qui est reliée au facteur de structure  $F(Q)$  par la relation:

$$I(Q) \propto |F(Q)|^2$$

avec  $F(Q)$  ( transformée de Fourier de la densité électronique )

Cette dernière valeur est donnée par:

$$F(Q) = \sum_j f_j(Q) \cdot e^{iQ \cdot \langle r \rangle} \cdot e^{W_j(Q)}$$

où  $Q$  est le vecteur de diffusion,  $r_j$  est la position moyenne de l'atome  $j$ ,  $f_j(Q)$  est le facteur de diffusion atomique et  $W_j(Q)$  le facteur de Debye-Waller.

Ce facteur de Debye-Waller s'écrit

$$W_j(Q) = -B_j S^2$$

avec  $S = |Q| / 4\pi$  et  $B_j = (8\pi^2/3) \langle (\Delta r)^2 \rangle$  [1] et  $B_j$  est le facteur de température de l'atome  $j$  obtenue lors de l'affinement de la structure et qui est, comme on le voit, relié directement aux fluctuations atomiques. Ceci n'est valable que dans les conditions d'harmonicité et d'isotropie. Cette quantité permet donc d'accéder aux fluctuations des atomes dans la molécule et permet d'appréhender les régions mobiles et les régions rigides [2]. Cependant, la fluctuation mesurée en cristallographie correspond à la somme de plusieurs termes d'origine différente, en particulier du terme correspondant au désordre statique qui lui aussi a les mêmes effets sur la densité électronique que les fluctuations thermiques.

Dans le cristal le carré de la fluctuation atomique s'écrit [3]:

$$\langle r_j^2 \rangle = \langle r_j^2 \rangle_c + \langle r_j^2 \rangle_d + \langle r_j^2 \rangle_{ds} + \langle r_j^2 \rangle_v$$

avec les termes respectivement de conformation (changements conformationnels lents), de diffusion ( translation et rotation de la molécule ), de désordre statique (existence de plusieurs conformations) et de vibration.

L'accession à toutes ces grandeurs est fondamental lors de calculs de dynamique moléculaire.

### I.1.c Diffusion des neutrons

La diffusion élastique cohérente des neutrons, tout comme la diffraction des rayons-X, permet de résoudre la structure tridimensionnelle des macromolécules. Elle résulte des interférences des ondes diffusées par chaque noyau.

Elle présente de plus l'avantage de connaître la position des atomes d'hydrogène avec beaucoup plus de précision. Ainsi, comme nous le verrons dans le chapitre sur le glucose, il a été nécessaire de replacer certains hydrogènes de la forme anomérique bêta, obtenues par rayons-X, ce qui n'a pas été le cas avec la forme anomérique alpha, résolue aux neutrons.

Une autre partie de la diffusion des neutrons, la diffusion inélastique incohérente, est elle aussi très intéressante. Elle permet d'accéder à des informations sur les propriétés dynamiques de la molécule. La fonction de diffusion  $S$  permet d'obtenir la densité d'état de la molécule dans la zone de basses fréquences, ce qui dans l'approximation harmonique, est à relier aux modes normaux de vibration. La fonction de diffusion  $S$  étant facilement accessible lors d'un calcul de dynamique moléculaire [4,5], cette méthode est particulièrement prisée. N'ayant pas été appliquée à l'étude de saccharides elle ne sera pas plus développée.

### I.1.d Cristallographie des saccharides

Avant d'obtenir la résolution d'une structure cristalline il faut déjà que la molécule considérée cristallise: bien que cela paraisse une lapalissade la cristallogenèse est une technique difficile et, dans le monde des macromolécules et des composés osidiques, il n'existe pas de règles établies. Ainsi, à titre d'exemple, bien que l'on sache cristalliser les protéines depuis près d'un siècle, à peu près 400 sont actuellement déposées dans la 'Protein Data Bank ' (PDB) [6].

Dans la chimie des oligosaccharides, l'obtention de cristaux utilisables en diffraction semble très difficile au delà de deux ou trois unités. Ceci est lié à plusieurs facteurs: les saccharides sont des structures très flexibles, avec un polymorphisme très important. Il n'est donc pas aisé d'obtenir des cristaux et lorsqu'il y a cristallisation, ceux-ci ne sont pas forcément homogènes. Ainsi, par exemple, dans le cristal de lamina-rabiose [7] on obtient un mélange des différents anomères, la forme  $\beta$  coexistant avec 39% de forme  $\alpha$  et 19% d'eau. Le fait d'obtenir des cristaux avec les deux configurations est assez courant et ceci peut être évité en bloquant l'anomérisation par, par exemple, méthylation ou acétylation.

De nombreuses données, déterminées par diffraction des rayons-X ou par diffusion des neutrons, ont néanmoins été collectées sur des mono- et disaccharides et leurs dérivés. Une liste très détaillée des structures existantes est mise à jour régulièrement dans la série '*Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*' [8-14]. De plus, la résolution de nouvelles structures semblent désormais envisageable avec l'utilisation de la modélisation moléculaire. Ainsi, récemment par exemple, la résolution et la modélisation du méthyl C-gentiobiose [15] a été obtenue ( structure de deux unités glucoses liés en 1—6, où l'oxygène de la liaison glycosidique est remplacé par un groupement méthyle ).

Dans le cas d'homo-polysaccharides, l'utilisation de la modélisation moléculaire est une pratique assez courante. Il est possible d'obtenir dans certains cas des cristaux (des poudres ou des films ) de polysaccharides constitués de la répétition d'une unité de base, comme l'amylose, la cellulose [Perez *et al.*, (Ref. 42-48 / Chap. I)] ou, par exemple, le iota carraghénane. Dans ce cas, on sait que la structure se met sous la forme d'une hélice et la modélisation moléculaire permet l'investigation de l'unité répétitive, des paramètres de l'hélice ( pas et type d'enroulement ) et de l'arrangement tridimensionnel de la molécule.

La cristallisation d'hétéro-polysaccharides quant à elle, semble très difficile, voire impossible. Si l'on s'intéresse à une structure complexe, pouvant être ramifiée, la flexibilité et la mobilité des différentes parties du polysaccharide semblent empêcher sa cristallisation.

De plus, ces structures ne sont pas libres dans la nature et se trouvent le plus souvent complexées avec d'autres molécules. Il existe ainsi de nombreuses protéines qui interagissent avec des glycanes [16, et références incluses]. Dans le cas des glycoprotéines fort peu de structures des complexes protéines-glycanes ont été déterminées. Actuellement, la structure cristallographique du fragment Fc des IgG ( Immunoglobulines humaines ) [17] est la seule structure d'une chaîne glycanique qui ait été déterminée à haute résolution (2,9 Å) . Dans la plupart des cas, lors de la résolution, il est quasiment impossible de "voir" le glycanne et seules les premières unités ( 3 ou 4 ) peuvent être distinguées. Ceci est dû, comme nous l'avons déjà dit, à la flexibilité des chaînes du glycanne mais aussi à la faible résolution de la structure et au "masquage" du glycanne par la protéine. Ainsi, il a été possible dans le fragment F1 de la prothrombine [18] et dans une élastase de lymphocyte humain [19] de mettre en évidence les trois ou quatre premiers oses du cœur invariant du glycanne. Toutefois, il faut remarquer que dans le cas de la structure du fragment Fc des IgG [17] la chaîne glycanique possède un rôle structural et, de même, dans l'élastase de lymphocyte humain [19] les trois ou quatre

résidus des deux sites de glycosylation interagissent fortement avec la chaîne polypeptidique. Ceci peut expliquer que l'on ait pu mettre en évidence de façon correcte les chaînes glycaniques. De plus, dans le dernier cas, il semblerait que le glycanne "participe" activement aux conditions de cristallisation de la protéine [19].

Cependant, récemment, les cristallisations de complexes d'une lectine avec des monosaccharide, trisaccharide et octosaccharide ont été réalisées [20]. Dans cet étude, les branches de l'octosaccharide se trouvent donc bloquées par la lectine: l'ensemble de la structure peut alors être obtenu. On peut cependant noter que dans ce cas, les résidus constituant le "pied" du cœur invariant ( laissés libres à l'extérieur de la lectine ) semblent moins bien définis.

### I.1.e Conclusion

Les méthodes de diffraction et de diffusion sont les méthodes de choix pour obtenir les positions atomiques des molécules. Toutefois, dans la chimie des macromolécules et en particulier celle des saccharides, elles ne sont pas facilement applicables. Ces méthodes couplées avec la modélisation moléculaire laissent cependant entrevoir des perspectives très intéressantes.

## I.2 RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE ( RMN)

### I.2.a Introduction

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est la méthode de prédilection récente de l'étude des molécules en solution. Avec le développement des spectromètres à haut champ, des techniques bidimensionnelles et maintenant tridimensionnelles, elle connaît un développement très important. Elle permet actuellement de déterminer la structure de protéines de taille moyenne [21-23]. Dans la chimie des saccharides, c'est sûrement la méthode la plus informative, la plus complète, puisqu'elle renseigne à la fois sur la nature des sucres, le type de liaisons glycosidiques, la configuration et l'ordre d'enchaînement des résidus et sur la conformation de la molécule saccharidique étudiée.

### I.2.b Principe et séquences de la RMN

Certains noyaux atomiques présentent une distribution anisotrope de charges, ils possèdent un spin. Le mouvement de la charge qu'ils portent, engendre un moment magnétique  $\mu$ . Placé dans un champ magnétique  $\underline{B}_0$ , le moment magnétique interagit alors avec le champ et décrit un mouvement de précession autour de  $\underline{B}_0$ . La fréquence, appelée fréquence de Larmor, s'écrit:

$$\omega_0 = -\gamma \underline{B}_0$$

où  $\gamma$  est le rapport gyromagnétique caractéristique du noyau. Si l'on applique un champ magnétique  $\underline{B}_1$  de fréquence  $\omega$  perpendiculairement à  $\underline{B}_0$ , la condition de résonance est atteinte lorsque  $\omega = \omega_0$ . Le système absorbe alors l'énergie nécessaire à une transition énergétique de spin nucléaire et on observe ensuite le retour à l'équilibre initial du système.

Les grandeurs mesurables, intéressantes dans l'analyse par RMN, sont entre autres les déplacements chimiques, les constantes de couplage spin-spin  $J$  et les temps de relaxation, relaxation longitudinale ou spin-réseau  $T_1$  ( il caractérise le temps nécessaire au retour à l'équilibre de Boltzmann de la magnétisation après une perturbation due à une impulsion ) et relaxation transversale ou spin-spin  $T_2$  ( il représente le temps au bout duquel la magnétisation de l'échantillon dans le plan perpendiculaire à  $B_0$  disparaît ).

La RMN permet d'obtenir des informations de nature différente: tout dépend de la technique choisie et des séquences de pulse utilisées. Il est possible d'obtenir des informations à courtes distances sur les liaisons et l'enchaînements de celles-ci ( par exemple, à l'aide d'expériences du type **INADEQUATE** ou **COSY**...) [23-26] et des informations à plus longues distances sur des interactions proton-proton ( effet **nOe** au moyen des séquences **NOESY** ou **ROESY** ) [23-27]. Bien souvent, une seule expérience ne permet pas l'attribution univoque de tous les déplacements chimiques et c'est pourquoi plusieurs techniques peuvent être employées successivement.

### I.2.c La RMN des saccharides

Décrire de façon exhaustive les études par RMN des saccharides est une chose difficile: le nombre de publications apparaissant chaque année est très important. On peut cependant signaler les équipes de Carver ( Canada ), Montreuil ( France ) ou Vliegthart ( Pays-Bas) comme étant celles, entre autres, les plus prolifiques.

Comme déjà signalé, cette technique et les multiples séquences qui s'y rattachent, permettent d'effectuer à la fois le séquençage et l'étude conformationnelle de l'oligosaccharide considéré. Récemment, dans sa thèse, V. Bossennec [24] a décrit tous les types de séquences, leur domaine d'application et leur limitation à l'usage des saccharides.

L'enchaînement ( et tout ce qui y est lié ) et la conformation des unités, bien qu'apparaissant comme deux problèmes distincts, sont le plus souvent traités conjointement. La caractérisation des protons au sein d'une même unité et celle de protons entre les oses donnent une idée de la conformation tridimensionnelle globale.

- Ainsi, les distances intra-résidus rendent compte de la conformation des cycles: les distances inter-protons (  $i, i+1$  ) peuvent être reliés aux angles dièdres inter-protons, calculés au moyen de la loi de Karplus ( liant les valeurs des couplages aux angles dièdres )[24].

- De même, la liaison entre deux unités saccharidiques est caractérisée par la proximité des protons 1 et x' de part et d'autre de la liaison glycosidique. De plus, des couplages entre protons inter-résidus peuvent apparaître, amenant à ce moment, des informations plus générales concernant la conformation globale de la molécule.

Les différentes expériences étant effectuées et les attributions étant obtenues, il ne faut pas perdre de vue plusieurs points importants lors de l'étude conformationnelle par RMN d'une molécule:

- Les valeurs des couplages mesurés par RMN rendent compte de la conformation moyenne de l'unité. Pour une unité flexible, ce qui est particulièrement le cas avec des oses, plusieurs conformations, caractérisées par des angles inter-protons différents, participent à l'équilibre conformationnel. En fait, les couplages mesurés correspondent à des combinaisons des formes extrêmes [28].

- ce qui vient d'être signalé pour une unité seule est *a fortiori* vrai pour une molécule oligosaccharidique.

- Les effets  $nOe$ , permettant d'obtenir les informations à moyenne et longue distance, ne sont pas aisément quantifiables. L'interprétation des cartes de type NOESY ou ROESY est essentiellement qualitative ( de plus, il faut tenir compte du facteur d'inter-conversion entre les différentes conformations ).

Ainsi, les valeurs des couplages obtenus correspondent à une moyenne des différentes conformations qui peuvent coexister. On se retrouve donc avec une

distribution de différents états, n'ayant pas les mêmes probabilités. A partir des différents couplages, la structure obtenue pourra avoir une faible probabilité d'existence dans la solution, mais c'est celle qui correspondra le mieux aux observables [28].

Pour pallier ces problèmes et ceux concernant l'interprétation qualitative des spectres nOe, les mesures de RMN s'accompagnent, depuis peu, de nombreux calculs théoriques accédant aux conformations les plus stables et permettant une justification plus aisées des résultats. Ces méthodes sont de type semi-empirique ( AMPAC avec MNDO, MINDO...), empirique ( MM<sub>2</sub> ) ou développées pour les besoins de la cause, comme HSEA [29,30] et ses dérivés HSEL, HSEH,HEAH [28,31] ( Cf. partie théorique de ce chapitre ). Ces méthodes sont particulièrement prisées pour l'étude des systèmes complexes comme les oligosaccharides ou les glycanes [32-37].

Cependant, il faut noter que les résultats reposent sur des hypothèses qui seront discutées par la suite, à savoir la rigidité des cycles et celle des structures, la validité des paramètres énergétiques pris en compte... .

Récemment, les expériences de RMN et les calculs de mécanique moléculaire s'accompagnent de simulations en dynamique moléculaire [36,38]. Ces simulations, utilisés avec le calcul théoriques des effets nOe, devraient permettre d'envisager les différentes conformations coexistantes. La mobilité et la flexibilité conformationnelle, les mouvements internes de la molécule étant obtenus, l'interprétation des spectres RMN devraient être plus facile. Néanmoins, là encore, tout repose sur la crédibilité que l'on accorde aux fonctions potentielles et aux paramètres utilisés ( Cf. partie théorique de ce chapitre ).

Toutes les études RMN d'oligosaccharides ou de glycanes décrites précédemment ou existant dans la littérature, ont été effectuées pour des molécules saccharidiques seules. Ainsi, les glycanes sont étudiés séparément de leur protéine et leur conformation ainsi déterminée n'est pas forcément celle ( ou celles ) de la macromolécule complexe. A ce titre, la récente étude RMN de l'oligosaccharide d'une glycoprotéine [39], la phosvitine d'œuf de poule, a été déterminée sur la glycoprotéine intacte. Mais, dans ce cas, la conformation en solution de l'oligosaccharide ne semble pas affecté par l'attachement sur la protéine.

#### I.2.d Conclusion

Avec le développement des spectromètres à haut champs et les méthodes de calculs théoriques, la RMN permet et permettra une connaissance plus approfondie des saccharides en solution.

## I.3 ABSORPTION INFRAROUGE ET DIFFUSION RAMAN

### I.3.a Introduction:

Une molécule possède trois types d'énergies internes qui sont par ordre décroissant les énergies électroniques (  $10^2$  à  $10^5$  kcal/mole ), les énergies vibrationnelles ( 1 à 10 kcal/mole ) et les énergies rotationnelles (  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$  kcal/mole ).

Les énergies vibrationnelles sont très intéressantes car, comme leur nom l'indique, elles mettent en jeu les vibrations de la molécule. En effet, à toute température y compris au zéro absolu, toute molécule exécute continuellement des mouvements vibrationnels mettant en jeu les coordonnées internes de la molécule. Ces mouvements correspondent à ce que l'on appelle les **modes normaux de vibration**. Ce peut être des modes de vibration interne et de vibration d'ensemble ( basses fréquences ) de la molécule [40]. Si la structure tridimensionnelle d'une molécule est importante pour appréhender sa fonction, ses modes propres de vibration sont étroitement liés et fondamentaux pour comprendre son mécanisme d'action. De plus, très souvent, de nombreuses vibrations sont sensibles aux changements conformationnels apportant ainsi des informations supplémentaires sur la structure de la molécule.

Pour accéder expérimentalement à ces modes normaux de vibration, les spectroscopies d'**absorption Infrarouge** et de **diffusion Raman** sont les méthodes de choix. Avec le développement et l'apparition d'appareils plus performants comme les détecteurs multicanaux, les lasers ou les spectromètres à transformée de Fourier (FT-IR, FT-RAMAN), ces deux techniques connaissent un regain d'intérêt.

Etant à la base même des calculs de dynamique harmonique développés par la suite de ce travail, une large part sur les saccharides sera développée.

### I.3.b Principe

Bien que le traitement du phénomène relève de la mécanique quantique, une description classique, si l'on ne cherche pas à accéder aux intensités de vibration, est satisfaisante et permet de comprendre l'intérêt de ces techniques.

Lorsque l'on envoie sur une molécule une radiation monochromatique, celle-ci diffuse dans toutes les directions de l'espace. Le champ électrique oscillant  $E$ , de fréquence  $\nu_0$ , induit un moment dipolaire  $M$  défini par:

$$\underline{M} = \alpha \underline{E}$$

où  $\alpha$  est le tenseur de polarisabilité. Si l'on considère les éléments  $Q_m$  de la matrice des coordonnées normales de vibration de fréquence  $\nu_m$ , les éléments du tenseur de polarisabilité se mettent sous la forme d'un développement limité autour de la position d'équilibre:

$$\alpha = \alpha_0 + \sum_m \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q_m} \right)_0 + \frac{1}{2} \sum_{m,m'} \left( \frac{\partial^2 \alpha}{\partial Q_m \partial Q_{m'}} \right)_0 Q_m Q_{m'} + \dots$$

Le moment dipolaire résultant s'écrit donc:

$$M = \alpha_0 \mathbf{E}_0 \sin 2\pi \nu_0 t + \frac{1}{2} \mathbf{E}_0 \sum_m Q_m \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q_m} \right)_0 \{ \cos 2\pi(\nu_0 - \nu_m)t + \cos 2\pi(\nu_0 + \nu_m)t \} + \dots$$

On mesure les fréquences vibrationnelles. La diffusion Stokes (valeur absolue de la différence entre la fréquence incidente et la fréquence Raman) est la plus intense (liée à la statistique de population des niveaux d'énergie de vibration) et sera utilisée pour obtenir le spectre Raman de vibration.

De son côté, la spectrométrie infrarouge permet d'exprimer les variations périodiques du moment dipolaire de la molécule considérée par rapport à ses coordonnées normales.

Une fois les fréquences vibrationnelles déterminées, il est possible de remonter aux forces mises en jeu dans le système (si la résolution de l'équation séculaire est effectuée). Cela s'effectue sur une analyse des modes normaux de vibration (détermination d'une base de paramètres), méthode qui sera explicitée à la fin de la partie théorique. Un accord entre fréquences observées et fréquences calculées est une condition nécessaire mais non suffisante pour discriminer une base de paramètres par rapport à une autre. Ceci peut être effectué par calculs des intensités des bandes obtenues en absorption infrarouge et en diffusion Raman de résonance [41-44].

### I.3.c Spectroscopie vibrationnelle des saccharides

#### I.3.c.a Caractéristiques générales

Le nombre des travaux de spectroscopie vibrationnelle effectués sur les saccharides est très important et en donner ici une liste complète est impossible. On peut

cependant signaler les articles de Perlin - Casu [45] et de Mathlouthi - Koenig [46] qui font une revue conséquente de ces deux techniques et celui de Tipson - Parker qui traite principalement de la spectroscopie infrarouge [47].

On sait que les spectroscopies vibrationnelles sont sensibles aux changements conformationnels, ce qui est particulièrement intéressant dans l'étude des sucres [48-54] pour caractériser les différentes formes de cycle ou d'anomérisation. Les spectres peuvent être obtenus dans les différents états de la matière, mais il ne faut pas oublier que la qualité des spectres dépend de la pureté des échantillons. De nombreuses études ont été faites en solution [45-46 et références incluses], mais pour l'étude des saccharides cet état de la matière, même s'il est plus proche de la réalité biologique, présente quelques inconvénients. Dans la spectroscopie infrarouge, l'un de ces inconvénients vient de l'intense absorption de l'eau qui se produit dans les régions intéressantes du spectre. Mais, dans les deux méthodes, le problème majeur provient du mélange des formes en solution, formes anomériques conjuguées aux formes cycliques et acycliques ( Cf. phénomène de mutarotation, Chap. I ). Ainsi, s'il est bien connu que seul le  $\beta$ -D-fructopyranose se produit à l'état cristallin ( les structures rayons-X et neutrons ont été résolues [55,56] ), lorsqu'il est dissous en solution un équilibre entre les formes isomères suivantes se produit [57]:  $\beta$ -D-fructopyranose ,  $\alpha$ -D-fructopyranose ,  $\beta$ -D-fructofuranose ,  $\alpha$ -D-fructofuranose et la forme acyclique. On obtient alors un spectre contenant l'ensemble des raies caractérisant chaque forme en présence.

En effet, les bandes de vibration étant sensibles aux formes présentes, les fréquences mises en jeu par le cycle furanose sont trouvées dans des régions beaucoup plus hautes que celles du cycle pyranose [58]. Les proportions des différents isomères peuvent être aussi déterminées par rapport des intensités des bandes caractéristiques de chaque type: ces proportions rejoignent celles de la littérature.

Bien sûr l'étude de la "région anomérique" [59] permettant la différenciation entre forme  $\alpha$  et forme  $\beta$ , a été largement étudiée [48-54]. L'étude en solution montre la présence des bandes caractéristiques de chaque forme [60,61] et les travaux théoriques de Vasko d'analyse de modes normaux [21-23] permettront les premiers une attribution des différentes fréquences observées dans les spectres Raman et Infrarouge ( en solution et à l'état cristallin pour les deux molécules et certains de leurs isotopes ).

On peut aussi évoquer les études en solution sur le comportement des liaisons hydrogènes, suivant la concentration [58,63-64] et suivant la "douceur" de l'ose considéré [65].

Si l'enregistrement des spectres vibrationnels dans le domaine spectral classique ( 200 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  ) est riche en informations structurales et relativement aisé à obtenir, une connaissance des zones dites de "basses fréquences" est elle aussi importante. Son enregistrement est cependant beaucoup plus difficile. Le nombre de publications concernant ce domaine est beaucoup plus restreint [66-72]. Pourtant, certains caractères spécifiques existent dans ce domaine où prédominent les interactions intermoléculaires. Ainsi, les spectres des deux formes du glucose [71-72], bien que cristallisant dans le même système, présentent des différences importantes. Lorsque de telles différences existent dans les zones spectrales plus élevées ( 200 - 1600  $\text{cm}^{-1}$  ) les différences sont attribuées à des changements conformationnels de la molécule. Dans ce cas, les interactions intermoléculaires sont les plus fortes et il apparaît que l'enregistrement est spécifique de la forme cristallisée étudiée. Cependant, des couplages avec les vibrations intramoléculaires existent et sont importants. Par comparaison des spectres basses fréquences de monosaccharides et de disaccharides mettant en jeu ces monosaccharides, Hinenno et Yoshinaga proposent d'attribuer les nouvelles fréquences de vibration à des couplages inter-cycles [66-69].

Pour expliquer les bandes de vibration de tous les domaines spectraux, une analyse des modes normaux de vibration s'avère indispensable. Plusieurs études ont été effectuées, avec différents types de champs de forces, sur les anomères du glucose [61,62,70,73-78], du galactose et sur le mannose [75] et quelques unes sur des disaccharides comme le maltose et le cellobiose [76,77]. Dans ces calculs, on peut remarquer que les modes de vibration sont hautement couplés dans toutes les régions du spectre.

### 1.3.c.β Régions spectrales des saccharides

- 3700 - 2800  $\text{cm}^{-1}$ : Cette région concerne les vibrations des élongations O—H et C—H. La position et la forme des bandes des élongations O—H permet de définir si les liaisons sont mises en jeu dans un processus de liaisons hydrogènes ou non [65,79-81]. La région 2800 - 2900  $\text{cm}^{-1}$  concerne les élongations C—H. Récemment, des études [82,83] sur le glucose et cinq dérivés deutérés sélectivement, ont permis de différencier les contributions des C—H et d'obtenir pour ces liaisons des constantes de force spécifiques de la position, de la conformation du cycle et de l'angle de torsion HCOH (DCOH).

- 1500 - 1200  $cm^{-1}$  : Cette zone possédant de nombreuses bandes, fait intervenir des mouvements très couplés [61,62,70,73-78] mettant en jeu les déformations du groupement  $-CH_2-$ , les déformations angulaires de type CCH et HCO, et bien sûr celles des groupements COH intervenant ou non dans le réseau de liaisons hydrogènes. Sur la base d'analyse de coordonnées normales et de deutérations, certaines bandes ont pu être attribuées des mouvements particuliers ( par exemple, la fréquence 1460  $cm^{-1}$  du glucose correspond au mouvement de cisaillement du groupement  $-CH_2-$  ).

- 1200 - 950  $cm^{-1}$  : Cette région elle aussi très couplée fait intervenir principalement les déformations d'élongations C—C et C—O, qu'elles soient endo- ou exo-cycliques. Des contributions des déformations angulaires de type XCH ( avec X=C ou O ) viennent là aussi s'ajouter et rendent difficile les calculs de modes normaux. Cette zone bien que fort peu décrite, permet de caractériser , par exemple, la bande à 1155  $cm^{-1}$  du glucose  $\alpha$  comme étant celle de la déformation complète du cycle de pyranosidique [73].

- 950 - 750  $cm^{-1}$  : C'est la région dite anomérique ou empreinte, caractérise la configuration rencontrée, aussi bien dans les monosaccharides que dans les polysaccharides. Sujette à de nombreuses études [48-54,61,62,70,73-81], elle présente peu de bandes, variables et soumise la configuration considérée [46,73,84,85] ( par exemple la bande à 840  $cm^{-1}$  du glucose  $\alpha$  "glisse" à 902  $cm^{-1}$  dans la forme  $\beta$  ). Cependant, comme dans les autres parties du spectre, les couplages et par conséquent les interférences et les recouvrements avec les modes de vibration ( les élongations C—O et C—C ou les déformations angulaires ) peuvent rendre hasardeuse leur attribution [46]. Il semblerait que les zones spectrales 820-855  $cm^{-1}$ , 860-885  $cm^{-1}$  et 885-920  $cm^{-1}$  soient représentatives respectivement des orientations *ea*, *ae* et *aa* où *a* et *e* correspondent à l'orientation axiale et équatoriale du groupement  $-C—H$ . Cette région pourrait être aussi spécifique de la forme du cycle ( pyranose ou furanose ) [86,87], mais actuellement aucune analyse vibrationnelle ne permet de confirmer cette hypothèse.

- 700 - 200  $cm^{-1}$  : Cette région comme les précédentes présente des modes hautement couplés. Ce sont des vibrations correspondant aux déformations du squelette endo- et exo-cyclique CCC, CCO, COC et OCO et aux torsions  $\tau_{c-o}$  et  $\tau_{c-c}$  elles aussi endo- ou exo- cycliques [62,70,72,73]. Ce domaine est sensible à la structure comme par exemple l'orientation d'un cycle vis à vis de l'autre dans le cas de disaccharides (Cf. Chap. V ). La zone 700-500  $cm^{-1}$  semble caractéristique de la forme amorphe ou cristalline étudiée et a, par conséquent, été baptisée région cristalline [59].

- *en dessous de 200 cm<sup>-1</sup>* : Enregistrée pour la plupart sur des échantillons solides, cette zone de basses fréquences correspond principalement aux interactions intermoléculaires, qui sont cependant couplées à des modes intramoléculaires comme, par exemple, les torsions. Elles sont caractéristiques de la forme cristallisée [71-72] et certaines fréquences ont été interprétées comme des interactions entre cycles [66-69]. Actuellement, seul le calcul de Huvenne et col. [72] sur les deux formes du glucose a été effectué dans le cristal, tenant compte de cette zone de basses fréquences.

Pour les polysaccharides, quelque soit leur nature, les spectroscopies vibrationnelles infrarouge et Raman sont aussi très intéressantes car elles permettent de les caractériser [45,88-90]. A ma connaissance, seules les analyses en coordonnées normales de la cellulose [91] et l'amylose V [92] ont été réalisées pour des polysaccharides par Koenig et col.

### I.3.d Conclusion

La spectroscopie vibrationnelle est très riche en informations structurales: dans le cas des saccharides, le caractère anomérique, la forme du cycle considéré ( pyranose ou furanose ) .... peuvent être caractérisés par ces méthodes. Toutefois, l'étude en solution qui serait la plus proche des conditions biologiques, présente le désavantage de fournir des résultats mixtes et ne permet pas aussi facilement d'attribuer des bandes de vibrations. Une étude en milieu cristallin, conjuguée avec une analyse des modes normaux de vibration dans le cristal, devraient permettre d'obtenir des paramètres de la fonction énergie potentielle fiables pour les saccharides ( Cf. partie théorique ).

## I.4 AUTRES METHODES

D'autres méthodes expérimentales peuvent être utilisées pour obtenir des informations structurales et dynamiques. Ce sont, par exemple, la dépolarisation de fluorescence, la résonance paramagnétique électronique ( RPE ), la diffusion inélastique incohérente des neutrons, la spectroscopie Mössbauer, la spectrométrie de masse... Cependant, ces méthodes n'étant soit pas utilisées pour les saccharides, soit n'apportant pas de données conformationnelles précises, ne seront pas développées ici.

## 11. LES MÉTHODES THÉORIQUES

### INTRODUCTION

Les méthodes théoriques sont elles aussi des moyens d'exploration de la structure et de la dynamique des molécules biologiques. La diversité des calculs mis en jeu, les nombreux modèles théoriques existant etc..., sont à l'origine des progrès importants de prédiction structurale des macromolécules biologiques.

Une molécule est un ensemble d'atomes qui, selon leur nature, leur position et leur hybridation ( nature des liaisons ), engendrent une structure dans l'espace. Ces atomes sont eux mêmes constitués de noyaux et d'électrons. Pour chaque configuration considérée il est alors possible d'attribuer l'**énergie moléculaire**. C'est l'évaluation de ce terme d'énergie qui entraîne toutes les conséquences géométriques de faisabilité du système étudié. Une structure est dite stable lorsqu'elle possède l'énergie la plus basse.

La détermination de l'énergie de la molécule peut se faire selon plusieurs types de calculs:

- théoriquement, le traitement en **mécanique quantique *ab initio*** est la méthode la plus directe d'obtention: l'énergie totale du système est la solution exacte de l'équation de Schrödinger non relativiste

$$H\Psi = E\Psi$$

Cependant, nous verrons que cette méthodologie est "lourde", inappropriée aux systèmes complexes macromoléculaires rencontrés en biologie ( la résolution exacte de l'équation de Schrödinger n'est connue que pour les atomes hydrogénoïdes! ) et qu'elle est très coûteuse en temps de calcul. Néanmoins, avec des approximations et des hypothèses simplificatrices il est possible d'envisager, par exemple avec des méthodes de champs auto-cohérents, de tels calculs *ab initio* sur des petites molécules ( d'une vingtaine à une trentaine d'atomes lourds ) pouvant servir de systèmes de référence ( dans le cadre de ce travail des monosaccharides ).

- Contrairement aux calculs *ab initio* qui n'utilisent aucune donnée expérimentale autre que les constantes fondamentales mises en jeu, les méthodes dites **semi-empiriques** emploient des données expérimentales connues, pour lesquelles les paramètres utilisés ont été ajustés. Ces méthodes sont un compromis entre les calculs *ab initio* et les calculs empiriques. Il en existe de nombreux types qui ont tous un objectif identique, celui de réduire le nombre des intégrales à calculer du système et en particulier, celui des intégrales biélectroniques. Avec les moyens de calculs actuels des systèmes d'une cinquantaine à une centaine d'atomes sont envisageables.

- Enfin, l'énergie moléculaire peut-être déterminée par les méthodes **empiriques**. La limitation des deux méthodologies précédentes provient du nombre d'atomes considérés. En biochimie la taille des systèmes macromoléculaires étudiés est de plusieurs centaines, voire plusieurs milliers d'atomes. De nouvelles méthodologies doivent donc être employées qui ont toutes comme caractéristique principale de ne plus traiter explicitement les électrons, mais de s'intéresser aux comportements des noyaux dans le champ moyen créé par les électrons.

Différentes formes analytiques de la fonction énergie potentielle existent et sont utilisés dans les méthodes de mécanique moléculaire et de dynamique moléculaire. A l'origine la mécanique moléculaire incluait le comportement statique, la cinétique et la dynamique de la molécule, il semblerait qu'actuellement sous le développement intense de la dynamique moléculaire il y ait dissociation et que ce terme de mécanique moléculaire ne corresponde plus qu'au comportement statique de la molécule [93]. La minimisation d'énergie obtenue dans ce cas ne renseigne que sur l'encombrement structural de la molécule: ce que l'on appelle le minimum local est alors déterminé. Il dépend fortement de la structure initiale et en est bien souvent fort peu éloigné. Il ne représente donc pas forcément la conformation stable de la molécule.

Le minimum, correspondant cette conformation la plus stable, peut-être atteint à l'aide de la dynamique moléculaire. Dans cette méthodologie, on simule dans le temps les mouvements internes de la molécule à partir d'une fonction potentielle empirique et on engendre ainsi un ensemble de conformations possibles. Le minimum global de la molécule peut-être alors obtenu.

Cependant, il existe plusieurs inconvénients à cette méthode: les résultats de la dynamique moléculaire dépendent énormément du modèle de la fonction énergie potentielle, des conditions envisagées et des paramètres utilisés. Si, en général, la fonction énergie potentielle permet de refléter un grand nombre de propriétés moléculaires (géométrie, propriétés 'macroscopiques' telle que la chaleur de formation...), les paramètres de la littérature ne sont pas adaptés à la reproduction des modes de vibration.

Or, si la conformation d'une macromolécule conditionne sa spécificité, ses modes de vibrations internes sont fondamentaux pour comprendre son mode d'action.

Après avoir développé les méthodes de mécanique quantique et semi-empiriques, les méthodes empiriques de mécanique moléculaire et de dynamique moléculaire seront décrites. La dynamique harmonique et le formalisme du calcul des modes normaux de vibration, utilisés par la suite dans ce travail, seront explicités. Pour chaque méthode théorique, les principales applications de la chimie des saccharides seront envisagées.

## II.1 LES METHODES QUANTIQUES *Ab Initio*

### II.1.a Introduction

En principe, toutes les données conformationnelles statiques et dynamiques peuvent être obtenues par un traitement quantique. La résolution exacte de l'équation de Schrödinger permet d'accéder à l'énergie du système. Sans entrer dans le détail du formalisme lié au traitement quantique d'une molécule, les principales notions et approximations vont être abordées dans ce paragraphe.

### II.1.b Fondements

#### II.1.b.α Equation de Schrödinger

Lorsque l'on considère un système ( une molécule par exemple ) de N particules de masses  $m_1 \dots m_i \dots m_N$  n'évoluant pas dans le temps, l'opérateur associé à l'énergie est l'opérateur *Hamiltonien*:

$$\mathcal{H} = \sum_{i=1,N} -\hbar^2/2m_i \Delta_i + V(\underline{r}_1, \dots, \underline{r}_i, \dots, \underline{r}_N)$$

où le premier et le second termes correspondent respectivement au terme d'énergie cinétique et au terme d'énergie potentielle.

L'équation de conservation de l'énergie du système considéré s'écrit, dans son état d'énergie stationnaire E:

$$\Delta \Psi + 2m/\hbar^2 (E-V) \Psi = 0,$$

soit en tenant compte de la forme de l'opérateur hamiltonien

$$\mathcal{H} \Psi = E \Psi$$

ce qui correspond à la forme de l'équation de Schrödinger de première espèce ( la différentiant de la forme plus générale tenant compte de l'évolution du système dans le temps ). Cette équation est typique d'une équation aux valeurs propres: les fonctions  $\Psi$  étant les fonctions propres de l'opérateur  $\mathcal{H}$  et l'énergie  $E$  étant la valeur propre associée.

Tout le problème consiste alors à déterminer les solutions de cette équation, c'est à dire obtenir des fonctions normables. Cette condition impose une contrainte à l'énergie qui ne peut prendre que des valeurs bien précises, régies par:

$$E_n = - \text{cste} \cdot 1/n^2 \quad n = 1,2,3\dots$$

C'est la *quantification*: de l'énergie

Avant de s'intéresser aux fonctions propres, l'approximation la plus couramment utilisée dans les calculs quantiques, va être abordée: il s'agit de l'approximation de Born-Oppenheimer.

### II.1.b.β Approximation de Born-Oppenheimer

Lorsque l'on s'intéresse à une molécule, l'opérateur hamiltonien est plus complexe que celui explicité précédemment. Il comprend un terme d'énergie cinétique nucléaire, un terme d'énergie cinétique électronique, trois termes d'énergie potentielle correspondant à l'attraction des électrons par les noyaux, l'interaction des électrons entre eux et la répulsion des noyaux entre eux.

Considérant le fait que les masses des noyaux sont plus grandes devant celles des électrons ( $m_N = 1836 m_e$ ), l'approximation de Born-Oppenheimer permet d'étudier le comportement des électrons en supposant que les noyaux occupent des positions fixes dans l'espace. Ceci simplifie l'hamiltonien par la suppression du terme d'énergie cinétique nucléaire. Les coordonnées nucléaires jouent alors le rôle de paramètres dans l'expression de  $\Psi$  et dans celle de la valeur propre correspondante. La fonction d'onde totale peut s'écrire alors sous forme du produit entre la fonction propre nucléaire et la fonction propre électronique.

### II.1.b.γ Notion de spinorbitale et principe de Pauli

Ayant considéré cette approximation, fondamentale dans un traitement quantique, il est nécessaire d'aborder une notion tout aussi importante: *le spin*. Cette notion n'a pas d'équivalent en mécanique classique: elle traduit la rotation propre de l'électron autour de son axe et permet ainsi de décrire complètement son mouvement. Dans le cas général, il y a interaction entre le mouvement de l'électron et son spin, mais ce couplage est en pratique négligé.

Il est alors possible de mettre la fonction propre totale sous la forme du produit entre la fonction propre monoélectronique, appelée *Orbitale Atomique (OA)*, et la fonction de spin (caractérisée sur la base de deux fonctions  $\alpha$  et  $\beta$ ). Ceci constitue une *spinorbitale*. Pour un atome hydrogénoïde, la fonction propre se met en coordonnées polaires, du produit entre une fonction radiale et une partie angulaire (harmonique sphérique):

$$\varphi_{nlm} = R_{n,l}(r) \cdot Y_l^m(\Theta, \chi)$$

où les nombres entiers  $n$ ,  $l$  et  $m$  sont respectivement les nombres quantiques principal, azimutal et magnétique.

En raison du principe d'indiscernabilité des électrons, il est impossible de trouver deux électrons possédant les mêmes caractéristiques dans une même spinorbitale, ou plus généralement une fonction d'onde multiélectronique doit changer de signe lors de la permutation des coordonnées de deux électrons quelconques: c'est le *principe de Pauli*. Ce principe est fondamental dans des cas plus complexes, comme par exemple celui de "l'organisation" de molécules.

### II.1.b.δ Orbitales Moléculaires et déterminant de Slater

Une molécule étant constituée de plusieurs atomes, le problème précédent va être accru et entre autre, à la notion d'Orbitale Atomique, va se soustraire la notion d'*Orbitale Moléculaire (OM)*.

Les OM traduisent les fonctions d'onde de la molécule et s'obtiennent comme étant une combinaison linéaire d'OA, obtenue par les déterminants de Slater. Ceux-ci proviennent de l'approximation orbitale et du principe de Pauli. Ils se construisent comme des produits anti-symétrique de spinorbitales  $\chi_i$ ,

$$\chi_i = \varphi_i \eta_i$$



L'énergie du système est évaluée à partir de l'hamiltonien moléculaire précédemment cité, où l'on a vu que seule la partie hamiltonien électronique était prise en compte. Ainsi, par méthode variationnelle et sous la condition de normation des fonctions d'onde, les équations permettant la détermination des coefficients  $c_{\mu i}$  engendrent le système suivant:

$$\sum c_{\mu i} ( H_{\mu\nu} - E_i S_{\mu\nu} ) = 0$$

où  $H_{\mu\nu} = \int \chi_{\mu}^* H \chi_{\nu} dv$  est l'intégrale coulombienne si  $\mu = \nu$  et l'intégrale d'échange si  $\mu \neq \nu$

et  $S_{\mu\nu} = \int \chi_{\mu}^* \chi_{\nu} dv$  est l'intégrale de recouvrement.

Ce système admet des solutions non triviales, les énergies, si le déterminant est nul ( déterminant séculaire )

$$| H_{\mu\nu} - E_i S_{\mu\nu} | = 0$$

L'évaluation des intégrales précédentes et la résolution du déterminant séculaire nécessitent bien souvent, suivant la taille des molécules, des approximations plus ou moins importantes.

#### II.1.d Approximations

Dans les calculs quantiques à proprement parlé, les approximations les plus courantes sont celles de Hückel et du Champ Auto-cohérent ( SCF 'Self Consistent Field' ), que nous allons aborder.

##### II.1.d.α Approximations de Hückel et de Hückel généralisée

- La première des deux méthodes ne considère que les OM à électrons  $\pi$ , les intégrales de recouvrement sont négligées, les intégrales  $H_{\nu\nu}$  sont traitées comme des paramètres caractéristiques de l'atome porteur de l'orbitale  $\phi_{\nu}$  et les intégrales  $H_{\mu\nu}$  comme des paramètres caractéristiques de la liaison entre les deux atomes portant

respectivement l'orbitale  $\phi_\nu$  et l'orbitale  $\phi_\mu$ . Lorsque ces deux atomes ne sont pas liés, elles sont nulles.

- Dans la seconde méthode les OM sont développées sur une base d'OA de Slater limitée à la couche de valence, les intégrales de recouvrement sont négligées dans la résolution des équations séculaires, les intégrales  $H_{\nu\nu}$  sont évaluées comme étant au signe près le potentiel d'ionisation, c'est à dire l'énergie qu'il faut fournir au système pour arracher de l'atome un électron, enfin les intégrales  $H_{\mu\nu}$  sont données par la formule d'approximation de Wolfsberg-Helmholtz

$$H_{\nu\nu} = 1/2 K S_{\mu\nu} ( H_{\mu\mu} + H_{\nu\nu} ) \text{ avec } K = 1,75.$$

Cette méthode n'étant pas des plus usitées dans la chimie des saccharides, ne sera pas plus développée.

### II.1.d.β Champ Auto-cohérent

Une molécule étant un ensemble de N atomes ayant au total n électrons, la complexité des calculs s'accroît et les termes d'interaction mutuelle entre particules ne peuvent plus être forcément considérés comme négligeables. Ainsi, dans les méthodes précédentes la fonction d'onde obtenue décrivait le mouvement de l'électron dans le champ central du noyau indépendamment des autres électrons. Dans la méthode SCF ce n'est plus le cas.

En considérant que l'hamiltonien  $\mathcal{H}$  du système s'écrive comme étant la somme de l'hamiltonien de cœur  $H^c$  et des termes dûs aux interactions mutuelles ( pouvant correspondre à un potentiel effectif ), l'énergie du système a pour expression:

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

Si on choisit une OM pour un des n électrons, on définit un potentiel rendant compte des interactions mutuelles avec les n-1 autres électrons qui se trouvent selon une certaine distribution de charges. Ceci revient à considérer un hamiltonien appelé *hamiltonien de Hartree-Fock*  $\mathcal{F}$  qui est la somme de l'hamiltonien de cœur relatif à un électron, de l'hamiltonien du terme coulombien et de celui d'échange appliqué à une spinorbitale autre  $\chi_l$ . On obtient ainsi les équations de Hartree-Fock:

$$\mathcal{F} \chi_k = \epsilon_k \chi_k$$

qui sont récursives, d'où le nom de méthode du champ "self-consistant". Elles définissent la fonction d'onde multiélectronique du système précédent.

Si l'on applique cette méthode à la méthode LCAO ( LCAO-SCF ) on aboutit à un système séculaire équivalent à celui précédemment cité et qui définit les équations de Roothan :

$$\sum_{\eta} c_{\eta i} [ F_{\eta\mu} - e_i S_{\eta\mu} ] = 0$$

Elles peuvent se résoudre de façon équivalente.

### II.1.e Les méthodes de calcul *ab initio*

Les fondements du problème multidimensionnel étant exposés, les calculs quantiques d'évaluation de l'énergie et de recherche de la fonction d'onde correspondante, peuvent être abordés.

De nouvelles approximations doivent néanmoins être envisagées: elles permettent de calculer les éléments des matrices, correspondants aux intégrales coulombiennes et d'échange notées  $(\lambda\mu | \nu\eta)$  et utilisant pour le calcul des OM différentes bases caractérisées par le nombre de fonctions gaussiennes décrivant une OA.

#### II.1.e.α Nombre et nature des intégrales à calculer

Si on considère un système moléculaire avec  $\alpha$  OA les intégrales à calculer sont:

- celles provenant de l'hamiltonien de cœur  $H^c$  et qui sont au nombre de

$$p = 1/2 \alpha (\alpha + 1)$$

Elles se calculent facilement avec des orbitales de Slater.

- celles provenant de l'expression de l'énergie de répulsion des électrons entre eux  $(\lambda\mu | \nu\eta)$ , correspondant aux termes coulombien et d'échange, qui se dénombrent de la façon suivante:

$$p = 1/2 \alpha (\alpha + 1)$$

couples d'orbitales  $\varphi_{\lambda} \varphi_{\mu}$  et par conséquent pour les différentes combinaisons du type  $(\lambda\mu | \nu\eta)$  :

$$n = 1/2 p (p + 1)$$

ce qui fait que le nombre d'intégrales à calculer croît comme la puissance de 4 du nombre d'OA.

De plus, l'utilisation d'orbitales de la forme d'orbitales de Slater amène un problème d'ordre mathématique supplémentaire: la partie exponentielle  $e^{-\zeta r}$  est difficilement calculable pour un problème multicentrique ( les 4 intégrales qui participent au terme  $(\lambda\mu | \nu\eta)$  peuvent être centrées sur 4 atomes différents ) et rend la transformation en termes à un ou deux centres souvent impossible.

### II.1.e.β Différentes bases de calcul

Pour pallier ce problème, la partie  $e^{-\zeta r}$  peut être décomposée sur une base de fonctions gaussiennes  $\exp(-\alpha r^2)$ , plus faciles à calculer et qui sont telles que le produit de deux gaussiennes centrées en deux points différents est équivalent à une gaussienne unique. On est alors ramené à l'évaluation d'intégrales monocentriques.

Les résultats obtenus dépendent évidemment de la complexité de la base choisie et bien sûr, plus une base est compliquée plus le temps de calcul s'allonge.

- Base STO-3G: sur cette base chaque orbitale de Slater (STO) est développée en utilisant 3 gaussiennes (3G), **STO-3G**. C'est une des bases les plus simples présentant une précision moyenne. Cependant, sur des systèmes moléculaires complexes elle est déjà performante pour obtenir la structure optimisée et les charges résiduelles ( Cf. Chap.IV sur les deux formes anomériques du glucose ).

- Bases contractées: pour chaque état monoélectronique ce n'est plus une gaussienne mais une combinaison de deux ou trois gaussiennes qui est utilisée, prenant alors le nom de contractions. Ainsi sur une base **3-21G** chaque OA est développée sur un ensemble de trois gaussiennes. Les orbitales de valence utilisent une contraction de deux gaussiennes pour la fonction correspondant au plus grand  $\zeta$  de l'orbitale de Slater et la dernière gaussienne est utilisée pour la fonction externe.

La précision des calculs provient du perfectionnement des bases utilisées. Le nombre de ces bases est important correspondant aux différentes combinaisons qui peuvent être utilisées. Parmi les plus performantes, on peut citer **4-31G** et **6-31G** et si l'on tient compte des orbitales de polarisation **6-31G\*** ou par exemple **6-31G\*\***.

### II.1.f Application des calculs *ab initio* aux saccharides

Comme nous venons de le voir, les calculs quantiques *ab initio* sont "lourds" d'utilisation et demandeurs de ressources informatiques. Ceci explique sans doute pourquoi il n'existe que fort peu de tels calculs appliqués aux saccharides.

Les principaux calculs dans des bases sophistiquées ont été développés sur des molécules modèles de monosaccharides [102-109], caractérisant principalement le groupement hémiacétal. Ainsi, dans la base 4-31G le méthanediol [102], le méthoxy-méthanol [103], le diméthoxyméthane [104], le diméthoxyéthane [105] et aussi, par exemple, le 2-méthoxytétrahydropyranne [106] ont été effectués, permettant d'obtenir des informations sur le comportement anomérique et exo-anomérique des molécules [107 et références incluses]. De plus, il faut insister sur le fait que ces calculs, développés sur des bases de précision correcte, ont été effectués sur des molécules presque toutes linéaires. Bien que celles-ci soient caractéristiques du groupement hémiacétal, elles ne traduisent pas le caractère cyclique des oses. Néanmoins, ces résultats servent de données de base dans de nombreux calculs semi-empiriques et empiriques.

Pour ce qui est des saccharides à proprement parlé [109-113], les méthodes utilisées sont principalement de type SCF-MO et LCAO-MO le plus souvent à un niveau STO-3G. Le glucose [109,112], le fructose [111,112] ont été les molécules les plus étudiées. Peu d'autres études ont actuellement été réalisées.

### II.1.g Conclusion [94-101]

Dans l'absolu la mécanique quantique peut prétendre être la méthode qui renseigne le mieux sur l'état d'un système moléculaire. Cependant, la complexité des calculs entraîne un nombre considérable d'approximations et de simplifications qui amènent des résultats dont la précision et la fiabilité peuvent être discutables. L'autre limitation vient du nombre de calculs à effectuer et en particulier, le nombre d'intégrales biélectroniques à déterminer. Ce problème se traduit matériellement par des temps de machine très importants et des capacités de stockage en conséquence. Toutes ces ressources informatiques limitent la méthode à des systèmes moléculaires de petite taille. Toutefois, l'apparition de supercalculateurs de plus en plus puissants devraient permettre l'application de ces méthodes quantiques, à des niveaux suffisants, à des systèmes moléculaires de la taille des monosaccharides.

## II.2 LES METHODES SEMI-EMPIRIQUES

### II.2a Introduction

Toutes les méthodes semi-empiriques ont pour objectif commun de réduire de façon considérable le nombre des intégrales à calculer, en particulier celui des intégrales biélectroniques. Ceci étant, elles permettent de considérer des molécules de taille plus importante et leur traitement, à mi-chemin entre le calcul *ab initio* pur et l'empirique, donne le plus souvent des résultats satisfaisants.

### II.2.b Approximations

Toutes les méthodes reposent sur la série d'approximations [97] suivantes:

- La base d'OA utilisée est constituée par les orbitales de Slater de la couche de valence.
- Les intégrales de recouvrement sont négligées dans la résolution des équations SCF.
- Les intégrales multiples, ainsi que certaines biélectroniques ( selon la méthode choisie ), sont négligées.
- Certains termes sont déduits à partir de données expérimentales (spectres électroniques par exemple ).

Il existe de nombreuses méthodes semi-empiriques et seules les principales, utilisées dans la chimie des saccharides, seront envisagées.

### II.2.c Modèles semi-empiriques et applications aux saccharides

II.2.c.α Méthode PCILO ( Pertubative Configuration Interaction using Localised Orbitals ) [114-116]

Dans cette méthode d'interactions de configurations ( dans lesquelles l'approximation de la fonction d'onde totale est obtenue par combinaison de la configuration de l'état fondamental et des états excités ), une méthode de perturbations est appliquée de façon à limiter le nombre des éléments de la matrice des configurations.

Cette limitation est bien souvent arbitraire et peut entraîner des inconvénients, diminuant ainsi sa fiabilité.

La méthode PCILO est sûrement actuellement la méthode semi-empirique qui a été la plus utilisée à l'étude des saccharides [107,117-124]. Elle l'a été pour des petites molécules, modèles de monosaccharides [107], pour des monosaccharides [118,119] mais aussi beaucoup pour des disaccharides comme, entre autre, le maltose [117,120,124], le cellobiose [117,121,124], le di-N-acétyl glucosamine [119] ou le mannobiose [123]. C'est en fait la première méthode semi-empirique qui ait été utilisée pour étudier les entités de base des oligosaccharides ( unités disaccharidiques d' environ 45 atomes ). Sur les études récentes [121-124], elle est le plus souvent couplée avec d'autres types de calcul.

#### II.2.c.β Méthode NDDO ( Neglect of Diatomic Differential Overlap) et méthode MNDO ( Modified Neglect Differentail Overlap).

Dans la méthode NDDO [125], toutes les intégrales intervenant dans le recouvrement différentiel de deux orbitales sont négligées ( $S_{\mu\nu} = \delta_{\mu\nu}$  où  $\delta$  est le symbole de Kronecker). Cette méthode a été modifiée par DEWAR pour donner naissance à la méthode MNDO [126]. Dans ce cas, le recouvrement différentiel monoatomique n'est retenu que pour les intégrales monocentriques [Cf. 97,126]. Cette méthode fournit correctement les grandeurs comme l'énergie de formation, les géométries moléculaires, les moments dipolaires... .

Elle a été utilisée pour quelques calculs de saccharides comme, par exemple, la N-acétyl-glucosamine [127] ou les formes anomères du galactose [128]. Cette approximation sera utilisée dans le chapitre IV, relatif aux deux anomères du glucose, pour lesquels les géométries ont été optimisées et les charges déterminées.

#### II.2.c.γ Méthode AM1 ( Austin Model )

Cette méthode AM1 [129] utilise la méthodologie des méthodes CNDO et MNDO, précédemment décrites. Mais en plus, elle permet de rendre compte, par exemple, du phénomène de liaison hydrogène, des différentes conditions d'emploi et de l'expression du terme d'énergie de répulsion entre les noyaux, reparamétré en conséquence. C'est une méthode qui tend à être employée de plus en plus et qui semble donner, en comparaison aux autres méthodes semi-empiriques, les résultats les plus précis pour des temps de calcul raisonnable.

Cette méthode, relativement récente n'a pas encore été utilisée pour les saccharides. Cependant, aux vus des résultats obtenus pour les deux anomères du glucose ( Cf. Chap. IV ), c'est elle qui a été choisie pour déterminer la géométrie optimisée et les charges de tous les monosaccharides et disaccharides étudiés dans ce travail.

### II.2.c.δ Les méthodes de type CNDO ( Complete Neglect Differential Overlap ) et de type INDO ( Intermediate Neglect Differential Overlap ):

La méthode CNDO [130] néglige tous les recouvrements différentiels et amène à une simplification "exagérée" des différents termes intervenant dans le calcul. Néanmoins, comme le signale J.L. RIVAIL [97], "cette méthode incontestablement la plus simple des méthodes de type SCF conduit à des résultats intéressants en ce qui concerne les liaisons, les angles de valence et les distributions de charges". En revanche, les valeurs d'énergie déterminées sont toujours éloignées des grandeurs expérimentales et certaines grandeurs, par exemple liées au spin, ne sont pas reproduites.

La méthode INDO [131a-131e] intermédiaire entre les méthodes NDDO et CNDO a été développée pour pallier les problèmes précédemment cités. On ajoute pour cela aux intégrales biélectroniques considérées dans CNDO les intégrales d'échange monocentriques évaluées comme étant les paramètres de Slater-Condon [97]. Plusieurs versions modifiées selon la méthode MNDO ont été testées et la version MINDO/3 semble être celle qui convienne le mieux.

Pour les saccharides, le nombre d'études est relativement restreint [132,135]. Dans le calcul CNDO [135] du glucose, les constantes de force sont déterminées mais il apparait que cette méthodologie, comme toutes les méthodes *ab initio* et semi-empiriques, surestime les constantes de force diagonales, d'où l'application de facteurs d'échelle qui sont nécessaire pour retrouver correctement les différentes bandes de vibration. Si ces facteurs sont déterminés avec assez de précision pour les fréquences liées aux élongations OH ou CH, il semblerait que leurs valeurs soient beaucoup plus incertaines pour tous les groupements de déformation [135]. Or, c'est dans le domaine spectral inférieur à 1600  $\text{cm}^{-1}$  que ces déformations se produisent. L'importance et la complexité des couplages entraînent des attributions très précaires et il est difficile d'appréhender correctement le mouvement réelle de déformation de la molécule.

La version MINDO/3 sera utilisée dans le chapitre IV pour optimiser et déterminer la distribution de charges des formes anomères du glucose.

### II.2.d Conclusion

Les méthodes semi-empiriques sont beaucoup moins gourmandes en ressources informatiques ( temps de calcul et espace mémoire ) que les méthodes quantiques *ab initio* pures. Comme ces dernières, elles reposent sur différents niveaux d'approximation qui permettent d'obtenir des informations plus ou moins précises sur les caractéristiques moléculaires. Cependant, pour des systèmes de la taille des saccharides ( les monosaccharides, les disaccharides et même plus maintenant ), elles permettent d'obtenir des informations précieuses qu'il n'était pas, jusqu'à présent, possible de collecter avec les méthodes quantiques plus sophistiquées.

La méthode PCILO, bien que présentant des imperfections, les méthodes MNDO et CNDO ont été les plus utilisées, mais une méthode comme AM<sub>1</sub> devrait les supplanter et s'imposer comme une méthode de choix pour l'étude de ces molécules plus complexes. Cependant, de nouvelles méthodes, telles que PM<sub>3</sub>, sont développées et permettront peut-être connaître plus précisément les saccharides.

## II.3 LES METHODES EMPIRIQUES

### II.3.a INTRODUCTION

Pour obtenir théoriquement des informations structurales sur les macromolécules, il a été nécessaire d'envisager d'autres types de méthodologie que celles qui viennent d'être évoquées. Leur principale caractéristique est de s'intéresser aux comportements des noyaux dans le champ moyen des électrons.

L'énergie moléculaire est bien sûr évaluée à partir de la fonction énergie potentielle. Cependant, la forme analytique de celle-ci étant inconnue, plusieurs modèles sont proposés rendant compte des différents termes d'énergie mis en jeu. A ces notions de modèles, sont associés les paramètres de chacun des termes d'énergie. L'ensemble définit un champ de forces moléculaire ( dans la terminologie des spectroscopistes le champ de forces correspond à l'ensemble des constantes de force déterminées à partir des spectres de vibration ).

Les champs de forces moléculaire doivent donc permettre la détermination, *a priori*, des structures et énergies moléculaires les plus favorables, ainsi que les différentes caractéristiques macroscopiques et microscopiques.

La méthode accédant à ces informations est la Mécanique Moléculaire (MM). Elle englobe la statique de la molécule, sa cinématique et sa dynamique. Cependant, le développement intense depuis une quinzaine d'années de la Dynamique Moléculaire (DM) tend à la dissocier de la mécanique moléculaire "statique" [93].

Dans une première partie, la fonction énergie potentielle empirique, les principaux programmes de mécanique moléculaire appliqués aux saccharides seront présentés. Ensuite, le formalisme de la dynamique moléculaire et les récentes applications aux oses seront abordés.

Cependant, il faut bien insister sur le fait qu'en amont de tous les calculs de mécanique moléculaire et de dynamique moléculaire, se trouve l'ensemble des paramètres utilisés dans la fonction énergie potentielle. L'obtention des structures géométriquement et énergétiquement les plus favorables, la détermination des mouvements de déformation et leur relation avec l'activité de la molécule, dépendent complètement de la valeur de ces paramètres et du crédit que l'on peut leur accorder. Ceux-ci sont en général déterminés à partir de données cristallographiques pour les constantes géométriques, de données de spectroscopie vibrationnelle infrarouge et Raman pour les constantes de force, de comparaison avec les grandeurs thermodynamiques telles que l'énergie de liaison [136-138], l'énergie de sublimation [136,137], l'enthalpie vibrationnelle [139,140] ou l'énergie de transition conformationnelle [141] pour les paramètres de non liaisons et de calculs *ab initio* et semi-empiriques pour les charges atomiques résiduelles.

La fonction énergie potentielle et les paramètres qui l'accompagnent doivent donc être fiables et capables de reproduire le maximum des propriétés moléculaires. Ainsi, "quelle est la crédibilité à accorder à une fonction potentielle qui reproduit parfaitement une ou plusieurs grandeurs expérimentales et qui est incapable de retrouver une autre grandeur ?" [142]. De même, que doit on penser des paramètres existants actuellement dans la littérature qui s'avèrent inaptes à la reproduction des spectres de vibration, pourtant incontournables pour expliquer correctement une dynamique moléculaire.

Dans une dernière partie, l'analyse des modes normaux de vibration, à partir desquels sont déterminés nos paramètres, les différents modèles de fonction énergie

potentielle ( spécifique à la reproduction des données de spectroscopie vibrationnelle ), ainsi que les travaux existants sur les saccharides seront exposés.

### II.3.b MECANIQUE MOLECULAIRE

Il existe de nombreux programmes de Mécanique Moléculaire, utilisant des modèles d'énergie potentielle et des algorithmes de minimisation plus ou moins proches (Cf. [93,143] dans lesquels une description des principaux programmes est effectuée ). Ils permettent tous la détermination *a priori* des structures et des énergies moléculaires les plus favorables.

En mécanique moléculaire, la structure d'équilibre de la molécule est obtenue par minimisation d'énergie.

#### II.3.b.α Fonction énergie potentielle empirique

A la base de la minimisation d'énergie se trouve la fonction énergie potentielle qui peut s'écrire comme étant l'addition de plusieurs termes:

$$E = E_b + E_\theta + E_\tau + E_\omega + E_{vdw} + E_{el} + E_{hb} + E_{ctr} \quad \text{où}$$

$E_b$  représente le potentiel des liaisons,  $E_\theta$  et  $E_\tau$  ceux respectivement des angles de valence et de torsion,  $E_\omega$  celui des torsions impropres, ces quatre premiers termes décrivant l'énergie potentielle interne.  $E_{vdw}$  et  $E_{el}$  sont respectivement les termes d'interaction de Van der Waals et le potentiel électrostatique, ces deux termes correspondant aux interactions non liantes ( qui peuvent être régies par des fonctions de coupure ), enfin il y a  $E_{hb}$  le terme propre aux liaisons hydrogènes et parfois  $E_{ctr}$  un terme de contraintes au potentiel permettant de restreindre les variations importante de structure.

#### II.3.b.β Minimisation d'énergie

Le problème, pour obtenir la structure d'équilibre par minimisation d'énergie, consiste à déterminer les extrêmes multidimensionnels d'une hypersurface, c'est à dire trouver les coordonnées qui rendent minimale la fonction énergie potentielle empirique de la molécule considérée. En raison du nombre important de degrés de liberté et de la non linéarité de la fonction, ce problème mathématique est compliqué. Il existe en effet plusieurs minima d'énergie et celui déterminé par minimisation n'est souvent pas très

éloigné de la conformation de la molécule de départ. C'est alors un minimum local qui est déterminé.

Il faut cependant insister sur le fait que le résultat de la minimisation dépend de la forme analytique de la fonction énergie potentielle. Si celle-ci n'est pas correcte des différences importantes peuvent être observées.

### II.3.b.γ Algorithmes de minimisation

Le minimum peut-être atteint par des méthodes de minimisation itératives, utilisant soit les dérivées premières, soit les dérivées secondes .

- *méthodes aux dérivées premières*

Ce sont les méthodes du 'Steepest Descent' (SD) [144] ou du Gradient Conjugué (CG) [145,146] qui permettent l'élimination rapide des contacts non liants. La première de ces méthodes conduit rapidement au minimum le plus proche, mais possède une faible convergence. La seconde, tenant compte des étapes de minimisation antérieures et du gradient obtenu pour déterminer l'étape suivante, a une convergence beaucoup plus rapide.

- *méthodes aux dérivées secondes*

Ces méthodes convergent très rapidement lorsque la surface du potentiel est quadratique. Ceci implique que l'on doit se trouver très près d'un minimum. Les algorithmes les plus employés sont ceux de 'Newton Raphson' (NR) [147], limité à 200 atomes et 'Adapted Basis Newton Raphson' (ABNR) [148] développé pour les macromolécules biologiques. Dans cette dernière méthode, tous les vecteurs de base du système ne sont pas utilisés mais seuls des sous-espaces sont considérés pour lesquels la méthode NR est appliquée.

Le plus souvent la minimisation est le résultat d'une succession des méthodes aux dérivées premières, éliminant des mauvais contacts, et des méthodes aux dérivées secondes, permettant une convergence très rapide.

La plupart des programmes de mécanique moléculaire existants ont été conçus pour des petites molécules organiques, pour des peptides, des protéines et pour des bases d'acides nucléiques. Parmi ceux-ci, on peut citer par exemple, les programmes suivants: CCF de Lifson *et al.* [139], QCFF/ $\pi$  - MCA de Warshel [149], MM2/MMP2 de ALLINGER [143]... .

Certains ont été adaptés aux saccharides et leurs paramètres ont été plus ou moins "ajustés" pour reproduire la géométrie ou les caractéristiques des molécules ( par exemple, rapport entre les formes anomériques en solution... ). Ils vont être maintenant décrits de façon plus précise selon leur importance.

### II.3.b.δ Application de la Mécanique Moléculaire aux saccharides

#### modèles de RASMUSSEN

Contrairement aux protéines et aux acides nucléiques il n'existe, en terme de champs de forces à proprement parlé, que très peu de modèles dans le domaine de la chimie théorique des saccharides. A ce titre, les travaux réalisés par K. RASMUSSEN et son équipe peuvent être considérés comme une référence.

A l'origine de ceux-ci [150], en 1977, le développement d'un champ de forces pour les saccharides s'était avéré nécessaire pour plusieurs raisons:

La principale étant le manque total de modèle: aucun champ de forces spécialisé et par conséquent aucun paramètre n'existaient. Les calculs de conformations et de propriétés des oligosaccharides et des polysaccharides n'étaient envisageables qu'avec les données obtenues pour d'autres classes de composés.

La deuxième découle directement de la première: un modèle empirique n'existant pas *a fortiori* des données provenant de calculs *ab initio* ou semi-empiriques ne pouvaient être obtenues et utilisées, ceci étant dû en partie à la taille ( 24 atomes pour un monosaccharide ), à la complexité des structures et à la capacité des ordinateurs de l'époque.

La dernière vient de ce qu'aucune analyse conformationnelle n'avait été réalisée avec relaxation de tous les degrés de liberté. Pour simplifier les calculs et diminuer leurs temps, les polysaccharides ont été et sont bien souvent encore ( par exemple, dans la méthode HSEA de Lemieux [29,30] ), considérés comme construits d'entités totalement rigides ( les cycles ) liées entre elles par des zones flexibles ( les liaisons glycosidiques ). Seule la flexibilité autour des angles rotationnels,  $\phi$ ,  $\psi$  ou  $\omega$  (liaison en 6), est envisagée. Rasmussen entreprend donc des calculs conformationnels avec relaxation totale du système.

Par la suite, la philosophie de leur travail a été de restreindre au maximum les termes énergétiques considérés [151-153] et de limiter le plus possible le nombre des paramètres utilisés. La simplification de la forme du potentiel et la limitation des paramètres devaient permettre des calculs plus rapides sur des oligoholosides de taille supérieure à deux, sans nuire toutefois à la reproduction des données expérimentales et à l'obtention des géométries de plus basse énergie. Cependant, nous verrons que ces simplifications amènent une limitation du modèle, certaines imperfections, par exemple, apparaissant lors de la reproduction des spectres de vibration [154,155] ou encore en considérant l'influence des termes torsionnels [156].

Le champ de forces de RASMUSSEN et ses dérivés peuvent donc être considérés comme les premiers qui aient été développées pour tenir compte du caractère spécifique des saccharides. Nous allons maintenant décrire ces différentes formes.

Leur point de départ a été le modèle de champ de forces CFF ( Consistent Force Field ) développé par LIFSON et WARSHEL [139]. Différentes combinaisons des termes énergétiques ont été testées sur les deux formes anomériques du glucose et ces potentiels ont été comparés entre eux. Les termes d'énergie utilisés sont les suivants:

- Elongation des liaisons:

$$E_b = \sum_{\text{bonds}} 1/2 K_b (b-b_0)^2$$

- Déformation des angles de valence:

$$E_\theta = \sum_{\text{angles}} 1/2 K_\theta (\theta-\theta_0)^2$$

$$E_{UB} = \sum_{\text{angles}} \{ 1/2 F (d-d_0)^2 + F' (d-d_0) \}$$

- Déformation des angles de rotation:

$$E_\phi = \sum_{\text{torsions}} 1/2 K_\phi (1 + \cos 3\phi)$$

- Interactions non liées:

$$E_{BUC} = \sum_{i < j} \{ A_{ij} \exp(-B_{ij} r_{ij}) - C_{ij}/r_{ij}^6 \}$$

$$E_{LJ} = \sum_{i < j} \epsilon_{ij}^* \{ (r_{ij}^*/r_{ij})^{12} - 2(r_{ij}^*/r_{ij})^6 \}$$

$$E_{el} = \sum_{i < j} q_i q_j / r_{ij}$$

La nomenclature adoptée par RASMUSSEN [150,153] sera suivie: FF pour 'Force Field' et PEF 'Potential Energy Function'. Les potentiels testés sont les suivants:

$$FF_1 = E_b + E_\theta + E_\phi + E_{BUC} \text{ avec 46 paramètres}$$

$$FF_2 = E_b + E_\theta + E_{UB} + E_\phi + E_{LJ} + E_{el} \text{ avec 61 paramètres}$$

$$FF_3 = E_b + E_\theta + E_\phi + E_{BUC} \text{ avec 46 paramètres}$$

où FF<sub>3</sub> diffère de FF<sub>1</sub> par la nature des paramètres utilisés. Les paramètres de FF<sub>1</sub> proviennent de différentes fonctions potentielles avec optimisation [157,158] ou non [159-161] pour plusieurs types de molécules. Les résultats obtenus n'étant pas satisfaisant la fonction test plus compliquée FF<sub>2</sub> a été essayée avec des paramètres optimisés sur les lactames [157,158,162]. Les résultats étant décevants la forme FF<sub>3</sub> a été envisagée avec des paramètres ayant été optimisés pour les molécules de  $\alpha$  et  $\beta$  D-glucose [150]. La forme FF<sub>3</sub> sera donc le point de départ des autres fonctions tests: elle permet de reproduire convenablement les géométries, à l'exception de la taille plus courte de la liaison anomérique [150,153] et les spectres de vibrations [155] ( avec toutefois une déviation standard entre fréquences calculées et fréquences observées qui semble très importante,  $>$  à 20 cm<sup>-1</sup> ). Les minima globaux des deux formes anomériques du glucose sont déterminés et leur rapport à l'équilibre est en accord avec l'expérience (0,39 : 0,61) [163]. Les calculs des molécules sont réalisés dans un état de gaz hypothétique, c'est à dire sans prise en compte des interactions intermoléculaires ( par exemple dans le cristal les forces cristallines ). En molécule isolée d'importants changements pour les torsions C—O exo-cycliques sont donc observés.

Il est à noter que la forme de la fonction FF<sub>2</sub> est semblable à celle qui sera utilisée dans ce travail hormis le terme d'interactions non liées ici de type Lennard-Jones (Cf. Chap. IV).

Les autres modèles consisteront en une simplification de la forme FF3. Ainsi, dans PEF<sub>300</sub> [152,154], il y a suppression du terme relatif aux torsions sans que cela entraîne de grosses modifications de la géométrie et du calcul vibrationnel. Ceci semble surprenant lorsque l'on voit la prépondérance des termes torsionnels pour la reproduction des spectres de vibration dans la région inférieure à 500 cm<sup>-1</sup> aussi bien dans les attributions en molécule isolée [60-62,70,73-77] que dans le cristal [72,78] ( Cf Chap. IV ). De plus, il semble que ces auteurs ont rencontrés des difficultés pour reproduire les spectres de certains composés, imines et oximes et qu'ils ont été obligés alors de réintroduire ce terme de torsion [156]. L'obtention de géométries correctes pour des disaccharides ( maltose [164], cellobiose [165], gentiobiose [151] et galactobiose [166] ), où les torsions inter-cycliques sont prépondérantes, semble pourtant vérifiée.

Dans le but de limiter encore plus le nombre de paramètres, une fonction de type Lennard-Jones remplace la fonction de Buckingham des interactions non liées: ceci constitue le modèle PEF<sub>301</sub> [153]. Des vérifications théoriques [110,154,155] et l'influence sur les calculs de vibration [167,168] ont été effectuées par RASMUSSEN. Il apparait que le passage d'une fonction de trois à deux paramètres ne modifie pas les résultats.

Dans le champ de forces PEF<sub>400</sub> [151] un terme électrostatique de type Coulomb est introduit en plus des interactions non liées. Une charge nette est attribuée pour chaque type d'atomes ( C,O et H). Un autre modèle sera proposé, PEF<sub>422</sub> [153], avec une charge différente sur le carbone anomérique: la longueur de la liaison C—O ne sera toujours pas reproduite. Cependant, l'introduction des termes électrostatiques amène un aplanissement de la surface énergie potentielle [151]. Autre fait marquant, il n'apparait pas de changements dans le calcul des spectres vibrationnels avec PEF<sub>400</sub> et PEF<sub>422</sub>. Cela signifierait que les charges n'influeraient pas le calcul vibrationnel, ce qui n'est pas le cas dans la région des basses fréquences d'un calcul effectué dans le cristal (Cf. Chap. IV).

*Conclusion:* A travers tous ces modèles, l'approche de RASMUSSEN a été d'obtenir le maximum de données fiables sur les saccharides à partir de paramètres non optimisés. La simplicité du champ de forces permet de reproduire avec précision les propriétés conformationnelles et macroscopiques des mono- et disaccharides étudiés [169] ( forme chaise <sup>4</sup>C<sub>1</sub>, minima des squelettes les torsions exo-cycliques n'étant pas prises en compte, chemins conformationnels et barrière de rotation entre minima ), ainsi qu'avec suffisamment d'exactitude les propriétés microscopiques comme les spectres vibrationnels. Il faut quand même remarquer que ce champ de forces n'a pas été validé, à

ma connaissance, sur des oligo- ou poly-saccharides. De plus, ces paramètres, utilisés pour des simulations de dynamique moléculaire, ne semblent pas appropriés ( Cf. § de dynamique moléculaire ).

### Méthode HSEA

En 1980, LEMIEUX et al.[29] en voulant étudier la spécificité d'anticorps avec des chaînes oligosaccharidiques, éprouvent le besoin d'obtenir plus d'informations structurales sur la conformation de ces dernières. Même si les forces intermoléculaires interviennent sur la géométrie de la molécule ( les longueurs de liaison, les angles de valence), les auteurs montrent que l'effet exo-anomérique et les interactions non liantes engendrées par rotation autour des liaisons glycosidiques dominent tous les autres effets qui, dans une première approximation, peuvent être négligés. Donc, les préférences conformationnelles autour de la liaisons glycosidique ne résultent que de la combinaison d'un calcul de sphères dures et de l'effet exo-anomériques ( HSEA 'Hard-Sphere Exo-Anomeric' ).

Dans ce premier article, LEMIEUX et al. avaient utilisés directement les résultats de calculs *ab initio* sur le diméthoxyméthane [105]. Par la suite [30,170], il utilise encore ces calculs *ab initio* mais en plus, ils les "couplent" avec des calculs de sphères dures et d'effet exo-anomérique sur une fonction énergie potentielle introduite par BURKERT [171] et qui s'écrit:

$$E_{\text{tor}} = (V_1/2) (1-\cos\Phi) + (V_2/2) (1-\cos2\Phi) + (V_3/2) (1-\cos3\Phi) + \dots \quad \text{où } V_1=0, \\ V_2=-1.80 \text{ et } V_3=0.66 \text{ kcal/mol.}$$

Les courbes de sphères dures ajoutées aux courbes de d'effet exo-anomérique rendent compte des courbes quantiques. En prenant des points particulier et en effectuant une interpolation des courbes, un système d'équations de "Burkert" est obtenu pour chaque type d'anomère. L'effet exo-anomérique peut être alors évalué à partir des valeurs des angles torsionnels.

Cette méthode HSEA est largement employée [28,31,35,122,172-174] et le plus souvent utilisée pour corroborer des résultats de résonance magnétique nucléaire, comme les effets nOe pour lesquels on cherche quels angles de torsion correspondent à la distance séparant les deux protons considérés.

Cependant cette méthode présente plusieurs imperfections et limitations:

- L'établissement des équations de base de l'EA ont été faites à partir de la molécule de méthoxyméthane, qui bien qu'elle rende compte par calculs de l'effet anomérique et effet exo-anomérique, est une molécule linéaire. Donc, la rotation autour de l'angle  $\Phi$  est symétrique et ne représente pas le comportement d'un cycle pyranose.

- Les calculs quantiques à la base de la détermination des paramètres de l'équation traduisant cet effet, sont obtenus par PCILO. Or, cette méthode (Cf. § II.B ) ne semble pas très fiable dans l'obtention des minima d'énergie.

- Dans HSEA la contribution de l'effet exo-anomérique se traduit par un terme de fonction énergie potentielle de torsion. Dans l'évaluation de l'énergie moléculaire le terme correspondant aux torsions existe et donc l'effet exo-anomérique joue un rôle "de double emploi".

- Si l'effet exo-anomérique permet l'obtention d'équations en fonction de l'angle de torsion  $\Phi$ , aucune information n'est prise en compte sur l'angle caractérisant la deuxième partie de la liaison glycosidique, c'est dire l'angle  $\Psi$  (*a fortiori* l'angle  $\omega$  dans le cas d'une liaison 1—6).

- Enfin, les calculs HSEA, accompagnant certaines mesures expérimentales comme les effets  $nOe$ , sont effectués pour des structures rigides dénuées de toute flexibilité et de toute adaptabilité conformationnelle.

Ces quelques "imperfections" sont sûrement à l'origine des différents modèles utilisant comme base HSEA et essayant d'ajuster au mieux des données expérimentales que la méthode seule ne permet d'obtenir dans de nombreux cas, comme, par exemple, HEAH correspondant à la contribution de HSEA et d'un terme empirique de liaisons hydrogènes [28,31].

#### Les programmes MM<sub>1</sub>CARB et MM<sub>2</sub>CARB:

En 1980, JEFFREY et TAYLOR [175] proposent une série de paramètres de saccharides, développés spécifiquement pour le programme de Mécanique Moléculaire MM<sub>1</sub> de ALLINGER [176]. Ces paramètres sont déterminés en relation avec les études quantiques de Jeffrey ( Cf. § II.A ) sur les fragments acétals et le comportement anomérique et exo-anomérique de ces fragments Ils ont été appliqués à treize pyranoses

et méthyl-pyranoses et permettent de retrouver toutes les caractéristiques structurales de ces oses.

En 1986, TVAROSKA et PEREZ [177] proposent d'utiliser les paramètres de JEFFREY et TAYLOR à la version MM<sub>2</sub> de ALLINGER [143,178]. Ainsi MM<sub>2</sub>CARB a été testé sur les molécules modèles du fragment acétal et sur des mono- et disaccharides [177]. Cette méthode étant sur des disaccharides très couteuse en temps machine, ces auteurs proposent de la comparer à d'autres méthodes comme PF ( 'Potential Function' ) [177] dans laquelle ne sont considérés que les termes d'interactions non-liantes Van der Waals et les termes de torsion, comme NBEA ( 'Non Bonded Exo-Anomeric' ) [177] comprenant un terme de contributions exo-anomériques déterminés à partir de calculs quantiques (PCILO) sur le fragment acétal et un terme d'interactions non liantes, ou enfin comme PFOS ( 'Potential Function for Oligosaccharide Structure' ).[179], comprenant les trois types de contributions précédemment citées.

Ces différentes méthodes permettent de déterminer les régions conformationnelles les plus favorables en établissant, dans le cas des disaccharides, des cartes ( $\Phi, \Psi$ ) qui sont appelées "rigides" car ne résultant pas de la relaxation de tous les paramètres moléculaires. Une fois les minima déterminés, il est possible d'effectuer pour les géométries correspondantes un calcul MM<sub>2</sub>CARB. Ce procédé a été et est encore largement utilisé [180-184]. Cependant, les calculs des cartes "relaxées" montrent un élargissement des cartes "rigides" déterminées sans optimisation de tous les paramètres, et des gués conformationnels apparaissent [184]. ( Fig. II 1).

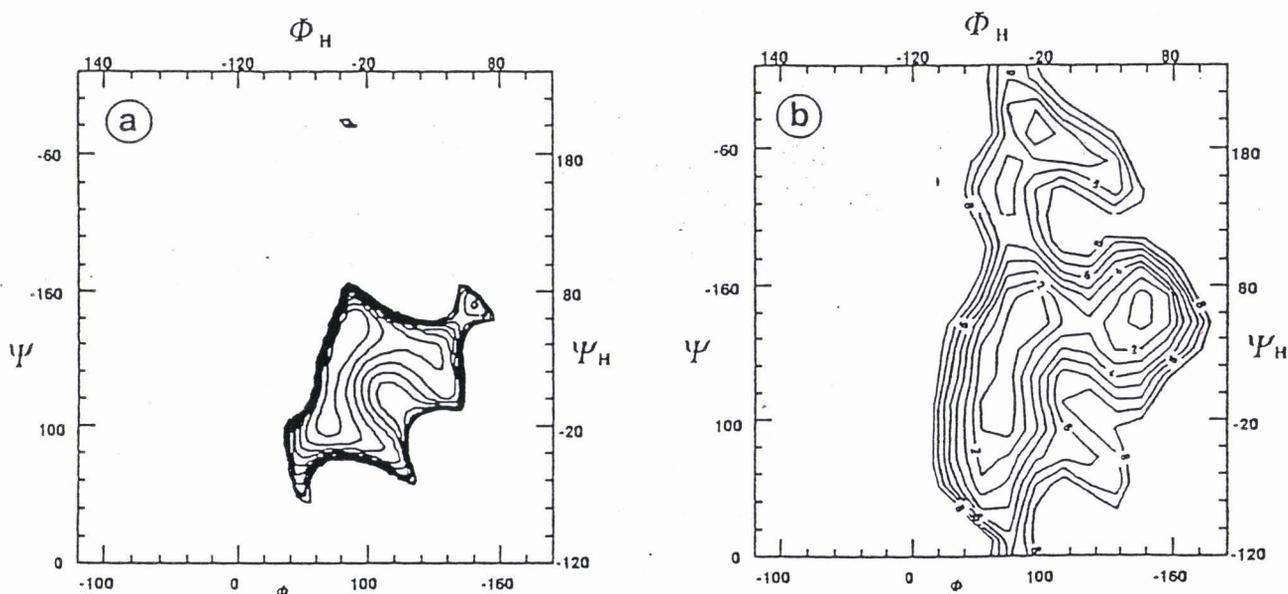


Figure II 1: Cartes rigides et relaxées du man( $\alpha$ 1-3)man [184]

Ces méthodes sont le point de départ à des études des conformations en solution et permettent, par évaluation de l'énergie de solvation de chaque conformère, l'évaluation d'une carte relaxée spécifique du solvant considéré [180].

### Le programme AMII:

Développé par l'équipe de V.G. DASHEVSKII, V.M ANDRIANOV et R.G. ZHBANKOV le programme AMII ( de l'anglo-saxon Additive Model of Interatomic Interactions ) [76,77] a aussi comme architecture celui du programme de Lifson et Warshel [139] et des termes d'énergie équivalents à ceux de Rasmussen. Toutefois, le terme de déformation des angles de rotation est le suivant

$$E_{tw} = U_0/2 \sum_j (1 + \cos 3\phi_j)$$

avec  $U_0$  est une constante empirique qui vaut 3 kcal/mole pour les torsions mettant en jeu les C—C et 1,1 kcal/mole pour les C—O.

Les interactions non-liantes sont représentées par une fonction de type Lennard-Jones.

Ce champ de forces permet d'obtenir une géométrie correcte du cycle mais il ne s'avère pas très fin dans la prédiction des caractéristiques anomériques: ainsi, la longueur de liaison  $C_1—O_1$  plus courte n'est pas retrouvée et les angles de valence mettant en jeu le carbone anomérique et le groupement hydroxyle primaire sont éloignés de plusieurs degrés des valeurs de la cristallographie. Ce calcul a été effectué sur le  $\beta$ -D-glucose [76]. Une analyse des modes normaux de vibration a été aussi effectuée: sur tout les vibrations du spectre, un écart standard de  $31 \text{ cm}^{-1}$  est obtenu, en particulier les zones sensibles à l'anomérie sont difficilement reproduites. Les saccharides différant seulement sur l'anomérie, les groupements OH et la conformation du groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$ , un tel écart semble peu favorable à la caractérisation d'une molécule et les paramètres qui sont utilisés ne doivent pas prédire correctement une structure plus complexe.

Ce champ de forces a été déterminé pour calculer les spectres de vibration des formes anomères du galactose, du gulose, de l'allose, du  $\beta$ -mannose et du  $\beta$ -altrose [77] et du cellobiose [185]. Cependant, aucune comparaison avec des données expérimentales ne semblent avoir été faites.

Le programme REFINE:

Le programme Refine [186] est un programme de mécanique moléculaire dérivé du programme MM<sub>2</sub> de N. ALLINGER [143,178].

La définition des différents termes d'énergie est la suivante:

$$E = E_{\text{liée}} + E_{\text{non liée}} + E_{\text{torsion}} \quad \text{avec:}$$

$$E_{\text{liée}} = E_{\text{liaison}} + E_{\text{angles de liaison}} + E_{\text{angles de torsion}}$$

$$= \omega_l \sum 1/2 k_l (l-l_0)^2 + \omega_\theta \sum 1/2 k_\theta (\theta-\theta_0)^2 + \omega_\rho \sum 1/2 k_\rho (\rho-\rho_0)^2$$

où  $\omega_l$ ,  $\omega_\theta$ ,  $\omega_\rho$  désignent les facteurs de pondération,  $k_l$ ,  $k_\theta$ ,  $k_\rho$  sont les constantes de force spécifiques de chaque terme d'énergie,  $l$  ( $l_0$ ),  $\theta$  ( $\theta_0$ ),  $\rho$  ( $\rho_0$ ) représentent les longueurs de liaison, les angles de valence et les angles de torsions ( respectivement leur valeur à l'équilibre ).

et

$$E_{\text{non liée } i} = \sum_j (A_{ij}/r_{ij}^{12} - B_{ij}/r_{ij}^6 + (Dc q_i q_j)/r_{ij})$$

où le terme d'énergie non liée est représenté par une fonction énergie potentielle Lennard-Jones et par un terme d'énergie électrostatique  $q_i q_j$  étant les charges des atomes considérés de l'interaction et  $Dc$  une constante d'homogénéité de la formule prenant en compte la constante diélectrique.

enfin le dernier terme:

$$E_{\text{torsion}} = \sum_{j=1}^3 V_j (1 - (\cos(n_j(\varphi - \varphi_{0j}))))$$

où  $V_j$  est la barrière de potentiel à la rotation,  $n_j$  est le nombre de minima du potentiel et  $\varphi_{0j}$  est l'angle de rotation pour lequel l'énergie est minimale.

La présence de ce terme de torsion est surprenante: ce terme s'ajoute à celui déjà existant dans l'énergie liée et fait donc "double emploi". Il n'entre en jeu que pour les atomes formant un angle de torsion dont la valeur est susceptible d'être modifiée par rotation. Il n'est pas précisé [186] si, dans le cas où ce terme est fonctionnel, celui intervenant dans la fonction énergie potentielle liée se trouve occulté. Si cela n'était pas le cas, ce terme n'aurait pas lieu d'exister et la justification du terme, en relation avec le

comportement exo-anomérique et les torsions autour de la liaison glycosidique, ne semble pas satisfaisante. Il est à noter que dans la méthode HSEA, décrite précédemment, ces mêmes types de fonctions sont présents et que là aussi les deux termes de rotation sont pris en compte pour justifier l'effet exo-anomérique.

Ce programme Refine a cependant été assez souvent utilisé pour modéliser des oligosaccharides, comme par exemple celui dérivé de l'héparine [188] ou celui de base du dermatane sulfate ( IdoA- $\alpha$ ,1—3-GalNac-(4-OSO<sub>3</sub>), où  $\alpha$ -L idopyrannosyl uronique acide est principalement dans une conformation <sup>2</sup>S<sub>0</sub>) [24].

### II.3.b.ε Conclusion

La liste complète des différentes méthodes de mécanique moléculaire et de détermination des paramètres pour les saccharides est longue. De nombreux auteurs ont en effet adaptés plus ou moins des paramètres et des programmes à leurs propres problèmes [189,190].

Les champs de forces de Rasmussen sont cependant ceux qui présentent la plus grande universalité et qui même s'il existe quelques imperfections pour reproduire les spécificités anomériques, ils sont ceux qui ont été appliqués dans des conditions diverses pour plusieurs sortes de molécules saccharidiques. Cependant, s'ils sont capables de reproduire de façon très satisfaisante les données statiques ils ne sont pas adaptés aux simulations de dynamique moléculaires ( Cf. § II.C.3 ).

La méthode HSEA est elle aussi très prisée malgré ses limitations et ses imperfections. Elle est en général utilisée parallèlement à des données expérimentales de résonance magnétique nucléaire, comme les distances des effets nOe pour lesquelles elle permet d'obtenir des valeurs d'angles.

Il faut bien noter que toutes ces fonctions et tous ces paramètres sont adaptés par leurs auteurs de façon à reproduire et ajuster au mieux les données expérimentales dans chacun des cas précis. Ils permettent de modéliser le plus souvent de petites molécules (quelques unités ) et ne sont pas adaptés aux oligo- et polysaccharides. Ils reproduisent les données statiques mais semblent inappropriés aux données dynamiques, ce qui est gênant pour des saccharides qui par excellence sont des molécules flexibles.

### II.3.c DYNAMIQUE MOLECULAIRE

La dynamique moléculaire, qui elle aussi est une méthode de mécanique moléculaire, permet de simuler les mouvements internes de la molécule. Le point de départ de la dynamique moléculaire est une structure d'équilibre, qui provient soit de la structure radiocristallographique, soit de la structure minimisée par mécanique moléculaire.

Cette méthode permet d'accéder à de nombreuses informations qu'il n'est pas possible d'obtenir autrement, soit théoriquement, soit expérimentalement. Après avoir déterminé la structure, la flexibilité de la molécule peut être appréhendée et rapprochée de son activité et de sa fonction biologique. De plus, un traitement de la molécule solvatée, par différents types de solvants [191-201], est envisageable et les résultats ainsi obtenus sont beaucoup plus réalistes et proches du comportement en milieu biologique. Les conditions thermodynamiques de la simulation sont elles aussi très importantes dans l'interprétation des résultats.

Cette méthodologie a pris un essor considérable depuis une quinzaine d'années [202], de nombreux articles et ouvrages en décrivent les caractéristiques [3,202-207]. Bien quelle ait été exclusivement consacrée, pour l'instant, à l'étude des protéines et des acides nucléiques, de nouveaux horizons semblent apparaître pour d'autres types de molécules, en particulier les saccharides, molécules flexibles par excellence.

#### II.3.c.α Principes des méthodes de dynamique

L'enjeu de la dynamique moléculaire étant de simuler les mouvements internes de la molécule, il faut pouvoir connaître les positions atomiques ainsi que les vitesses de chacun de ces atomes en fonction du temps. Cela est régi par les lois de la mécanique classique et en particulier par la résolution des équations de Newton du mouvement:

$$\underline{F} = m \underline{\gamma} = -\underline{\nabla} V$$

C'est à dire, en fonction de la masse et de la position d'un atome  $i$

$$m_i (\partial^2 r_i / \partial t^2) = -\nabla (V(r_1, r_2, \dots, r_N))$$

où  $V(r_1, r_2, \dots, r_N)$  est la fonction énergie potentielle empirique dépendant des positions des  $N$  particules du système.

Donc l'intégration numérique en fonction du temps de ces équations permet de déterminer  $r_i(t)$  et  $v_i(t)$  à tout instant. On obtient une description complète du mouvement de tous les atomes du système moléculaire et l'on accède alors aux trajectoires de la molécule.

Avant d'aborder les différentes étapes d'une dynamique moléculaire, il faut bien avoir à l'esprit plusieurs choses:

La dynamique moléculaire dépend du choix de la fonction potentielle empirique, des paramètres qui l'accompagnent, du temps de simulation, des pas d'intégration, de la présence ou non du solvant et de sa nature, des conditions aux limites du système, des conditions thermodynamiques... . De cet ensemble de critères dépendront la validité des résultats et leur interprétation.

L'énergie du système est conservée tout au long de la simulation. Les propriétés calculées sont celles d'un ensemble microcanonique et découlent de la physique statistique et donc les valeurs moyennées des variables caractéristiques sont déterminées.

### II.3.c.β Suivi d'une simulation

#### • Point de départ

Il est bien évident que pour effectuer une dynamique moléculaire il faut posséder une structure de départ: celle-ci est en général celle de la cristallographie. Cependant, cette évidence n'en est pas forcément une lorsque l'on considère un oligosaccharide ou un hétéropolysaccharide ( Cf. Chap.I et II ).

Or la structure de départ d'une dynamique moléculaire doit être proche de la configuration réelle car les temps de simulation ainsi que les champs de forces utilisés ne permettent pas forcément d'envisager toutes les solutions conformationnelles de la molécule. Dans le cas des saccharides, avec un champ de forces approprié, les nombreuses données de résonance magnétique nucléaire et en particulier les distances des effets  $nOe$  devraient permettre, en appliquant des contraintes de géométrie sur la molécule, d'obtenir des trajectoires.

Donc, bien souvent, une minimisation d'énergie préalable est nécessaire. Elle permet d'enlever les mauvais contacts ou les contraintes locales ( distorsion des longueurs de liaison et/ou des angles de valence ) qui pourraient entraver le bon déroulement de la dynamique.

### • "Thermalisation"

L'étape de "thermalisation" consiste à équilibrer le système avec ajustement de la température.

On place la molécule dans une "boîte" dans laquelle des molécules de solvant ont pu être introduites ( dans ce cas la boîte a été pré-équilibrée ). L'emplacement initial de la molécule est importante et peut influencer sur les conditions aux limites. En présence de solvant deux ou trois couches autour de la molécule sont nécessaires au minimum. L'ensemble macromolécule-solvant est alors minimisé avec les algorithmes de minimisation habituels de la mécanique moléculaire.

A chaque atome du système on affecte alors une vitesse tirée d'une distribution de Maxwell, à une température inférieure à celle souhaitée ( en général une température proche du zéro, approximation correspondant à l'équilibre thermodynamique ). On intègre les équations du mouvement tout en ajustant la température. Le système se trouve équilibré. L'augmentation de température s'effectue progressivement jusqu'à la température souhaitée en modifiant les vitesses des atomes soit par un facteur, soit en choisissant une nouvelle distribution de Maxwell. Il est nécessaire que cette montée en température se fasse sans variation brusque.

Le gain d'énergie cinétique, selon le théorème de l'équipartition de l'énergie, se répartit en énergie cinétique et en énergie potentielle. A tout instant  $t$ , la température  $T(t)$  est fonction de l'énergie cinétique moyenne et s'écrit:

$$T(t) = \frac{1}{(3N-n)k_B} \sum_{i=1}^N m_i |v_i|^2$$

où  $N$  est le nombre d'atomes,  $n$  le nombre de contraintes,  $k_B$  la constante de Boltzmann,  $m_i$  et  $v_i$  respectivement la masse et la vitesse de l'atome  $i$ .

La période d'équilibrage initial de la boîte dure environ 10 picosecondes (ps) et celle de "thermalisation" de l'ordre de 50-60ps.

### • Equilibration

Cette période correspond au moment où le système "cherche" son équilibre. Ce moment est très important car il permet d'obtenir les propriétés stables du système et le bon déroulement de la suite de la dynamique en dépendra. Durant cette période l'intégration est effectuée prudemment de façon à ne pas perturber le système pour que la température reste proche de celle désirée et que l'énergie totale soit conservée. Le système évolue donc vers son état d'équilibre, d'entropie maximale et d'énergie libre minimale. Cette période n'est en rien significative du point de vue dynamique à proprement parlé et,

de l'intégration des équations du mouvement, aucune information significative ne peut être représentative du comportement de la molécule. L'équilibration dure de 10 à 25 ps.

#### • Dynamique

C'est la période durant laquelle les trajectoires de chaque atome sont calculées. Elle se déroule lorsque le système est considéré comme stable. C'est cette période qui sera sujette à analyse, fournissant les propriétés dynamiques du système ( vitesse et position, histoire des coordonnées internes le long de la simulation comme par exemple les angles de torsion  $\Phi$  et  $\Psi$  ( ou  $\omega$ ) de la liaison glycosidique ou les paramètres de déformation Cremer-Pople du cycle pour des saccharides ), mais aussi les grandeurs thermodynamiques, les amplitudes quadratiques moyennes r.m.s. ( 'Root Mean Square') ou encore la densité spectrale ... .

En principe, lorsque la simulation a été effectuée sur une période suffisamment longue, les propriétés moyennes calculées sur l'ensemble du temps de la dynamique moléculaire devraient convergées vers les valeurs 'vraies' thermodynamiques au sens propriétés canoniques du système. Cependant, atteindre ces valeurs nécessite un temps de calcul très important. Pour l'instant les périodes de simulation varient entre 10-20 ps à 300 ps voire plus. Avec les ordinateurs actuellement sur le marché et qui apparaitront, des temps de simulation de l'ordre de 500ps à plusieurs nanosecondes ( sur des molécules de taille moyenne ) pourront être effectués.

#### II.3.c.γ Algorithmes de résolution des équations du mouvements

Les équations du mouvement sont intégrées à l'aide d'algorithmes qui reposent tous sur une petite variation d'accélération entre chaque pas d'intégration. Les algorithmes habituellement utilisés sont les suivants, celui de Verlet [208], de Beeman [209], le "leap frog" [210] qui engendrent tous les trois les mêmes trajectoires, les deux derniers permettant cependant, d'appliquer des conditions de température constante, mais aussi l'algorithme de correction-prédiction Gear [211] beaucoup plus précis mais aussi beaucoup plus gourmand en temps de calcul. Toutes ces méthodes sont décrites [3,207-211] mais aussi comparées les unes aux autres [206,210,212].

Autres types d'algorithmes ceux qui appliquent des contraintes à la géométrie. Le plus couramment utilisé est l'algorithme Shake [210]. Il permet de contraindre par exemple des liaisons, des angles ou des distances internucléaires ( intéressant dans le cas de distances nOe connues ).

En général, les algorithmes Verlet et Shake sont combinés.

### II.3.c.δ Différents types de dynamique moléculaire

Les méthodes de simulation décrites jusqu'à présent ne tenaient pas compte explicitement du solvant. Lorsque celui-ci est ajouté, le nombre d'atomes de la simulation augmente de façon non négligeable et en plus, viennent s'ajouter des problèmes de conditions aux frontières ( qui n'existaient pas pour des simulations dans le vide). Les méthodes ont donc été modifiées pour tenir compte de ces effets.

Des calculs de dynamique moléculaire avec conditions aux limites périodiques, avec conditions aux frontières stochastiques, à partir d'un potentiel de forces moyennes, par une dynamique activée... peuvent être effectués. Ces différentes méthodes sont présentés dans les références [3,143,206].

### II.3.c.ε Programmes de simulation dynamique de macromolécules

Avec le développement intense de la dynamique moléculaire, plusieurs programmes de simulation de macromolécules sont apparus. Parmi les principaux on peut citer AMBER [213], CHARMM [148], DISCOVER [214], GROMOS [210], SYBYL [215] ... .

Ils ont tous à peu près les mêmes caractéristiques et ne diffèrent que dans la formulation de certains termes de la fonction potentielle empirique, des conditions de coupure et surtout dans la nature et la détermination des paramètres. Ils permettent de reproduire les géométries et les propriétés physiques de la molécule considéré avec plus ou moins de précision ( très souvent, il existe des problèmes de reproduction des spectres de vibration ).

La multiplicité des programmes et, par conséquent, des types de fonction potentielle et des champs de forces, prouve qu'aucun de ces programmes n'est totalement satisfaisant. Le terme de modèle de fonction potentielle est donc bien approprié.

### II.3.c.ζ Application de la dynamique moléculaire aux saccharides

Si les acides nucléiques et les protéines ont été les molécules les plus étudiées en dynamique moléculaire, les saccharides ne l'ont pas été de façon intensive. Seuls quelques travaux existent: sur les deux formes  $\alpha$  et  $\beta$  du glucose dans le vide [216,217] et en solution [218], sur un methyl-monosaccharide [219], sur des disaccharides, le maltose [220], le Man $\alpha$ ,1—3Man et le Man $\alpha$ ,1—6Man [36], le Man $\alpha$ ,1—2Man [221] et plus récemment le sucrose [222], sur le substrat du lysozyme un hexa N-acétyl-glucosamine [223], sur les cyclodextrines [224-226] ou sur des oligosaccharides des groupes sanguins [227].

Ce nombre restreint de publications est en partie dû au manque cruel de paramètres spécifiques des saccharides. Ceux utilisés sont pris à partir d'autres types de molécules ou à partir des paramètres de mécanique moléculaire. Ainsi, il s'avère que les paramètres d'un champ statique comme celui de Rasmussen se révèlent inappropriés à la reproduction des caractéristiques dynamiques [228]. Ces données, très correctes pour la détermination de conformations statiques, engendrent des conformations hautement improbables ( forme bateau de façon prolongée ) le long des trajectoires d'une simulation de dynamique moléculaire [229]. Une amélioration des paramètres, adaptés aux saccharides dans leurs différents environnements, devrait permettre, dans un avenir proche, de pallier ces problèmes.

### II.3.d DYNAMIQUE HARMONIQUE: CALCUL DES MODES NORMAUX DE VIBRATION

#### II.3.d.α Introduction

L'intérêt du calcul des modes normaux de vibration ne provient pas seulement de l'accord entre fréquences calculées et fréquences observées, ceci pour expliquer une hypothèse d'attribution. Il provient aussi et surtout de l'ensemble des valeurs des constantes de force obtenues à partir de cet attribution dans le modèle de champ de forces choisi au départ. Cet ensemble de constantes de force, bien que vérifiant l'équation séculaire, ne doit pas être considéré comme une suite de paramètres obtenus par résolution de cet équation. Il se veut caractéristique d'une réalité chimique, affecté à un groupement d'atomes, à un ensemble de groupements d'atomes ou à une molécule modèle. Il peut être utilisé par la suite sur ces mêmes groupements ou molécules modèles dans des systèmes plus complexes. Cette caractéristique, purement empirique, est celle de **transférabilité**, énoncée par T. SHIMANOUCI [230].

Ainsi, les valeurs des constantes de force déterminées pour une molécule comme le glucose ( par exemple forme  $\alpha$  ), doivent pouvoir être utilisées dans toutes les structures présentant cette forme  $\alpha$  du glucose, que ce soit dans des petites structures comme des disaccharides ou dans des polysaccharides, par exemple l'amylose. Elles seront à la base de calculs de dynamique moléculaire, utilisables dans des programmes comme CHARMM [148] ou AMBER [213], ce dernier étant actuellement modifié au laboratoire pour tenir compte des termes spécifiques à la reproduction correcte des spectres vibrationnels.

Les conditions de transférabilité s'expriment de façon évidente dans certains systèmes de coordonnées plus que dans d'autres. Ce paragraphe est consacré à la méthodologie de calcul des fréquences et des modes associés dans les différentes base de coordonnées à partir des données cinématiques ( matrice de l'énergie cinétique ) et dynamiques ( matrice de l'énergie potentielle ). Les différents modèles de champ de forces, utilisés *a priori* , seront envisagés et les calculs des saccharides abordés.

### II.3.d.β Aspect théorique: problème séculaire

Ayant obtenu les spectres vibrationnels Infrarouge et Raman, il faut effectuer un calculs de modes normaux de vibration pour pouvoir obtenir une hypothèse d'attribution. L'hamiltonien vibrationnel s'exprime sous forme du produit de deux matrices, la première étant la matrice inverse de l'énergie cinétique ( dépendant des masses et de la géométrie ), la seconde étant la matrice énergie potentielle ( uniquement fonction des grandeurs dynamiques ).

#### • Traitement des redondances

Lorsque l'on considère une molécule de N atomes, les conditions d'Eckart-Sayvetz [231,232] imposent  $3N-6$  vibrations internes. Bien souvent la description des mouvements de vibration nécessite la présence de plus de  $3N-6$  coordonnées. Le système alors obtenus devient linéairement dépendant et les m coordonnées supplémentaires définissent les conditions de redondance. Elles entraînent des termes supplémentaires de tension dans la forme de la fonction énergie potentielle. Le traitement de certains types de redondance et la relation avec la base des coordonnées de symétrie locale ont été longuement développés dans la thèse d'état de J.P. Huvenne [78].

Dans le formalisme décrit par la suite, le traitement est considéré comme étant réalisé sans redondance.

#### • Base des coordonnées cartésiennes, approximation harmonique et problème vibrationnel

Si l'on considère une molécule dans sa géométrie de départ, les N atomes sont repérés par les  $3N$  coordonnées cartésiennes  $x_i$  ( vecteur X ). Si l'on se place dans la base des coordonnées cartésiennes pondérées, on définit un vecteur colonne q dont les éléments sont  $q_{\alpha i} = \sqrt{m_i} x_{\alpha i}$ , avec  $m_i$  masse du *ième* atome.

Dans ce système l'énergie cinétique moléculaire s'écrit:

$$2T = \sum_{i=1}^{3N} \dot{q}_i^2$$

ou en notation matricielle

$$2T = \dot{q}^+ \dot{q} \quad \text{avec } \dot{q} \text{ vecteur dérivé par rapport au temps et } \dot{q}^+ \text{ le vecteur transposé.}$$

De même nous allons exprimer l'énergie potentielle moléculaire. La forme analytique  $V$  de celle-ci n'est pas connue, mais on sait qu'elle est fonction des déplacements atomiques autour de leur position d'équilibre. On peut donc la développer comme une série de Taylor au voisinage de la configuration d'équilibre et dans l'approximation des faibles déplacements on a:

$$V = V_0 + \sum_i \left( \frac{\partial V}{\partial q_i} \right)_0 q_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j} \left( \frac{\partial^2 V}{\partial q_i \partial q_j} \right)_0 q_i q_j + \frac{1}{3!} \sum_{i,j,k} \left( \frac{\partial^3 V}{\partial q_i \partial q_j \partial q_k} \right)_0 q_i q_j q_k + \dots$$

Le premier terme  $V_0$  du développement, étant indépendant des coordonnées de déplacement, peut être choisi comme nul, le deuxième terme est lui aussi nul puisque la molécule est considérée dans un état d'énergie minimal, donc sa dérivée est nulle. Si l'on se place dans l'approximation harmonique le quatrième terme ( terme cubique ) et ceux d'ordre supérieur sont négligés.

Dans cette hypothèse de potentiel harmonique les constantes de force quadratiques sont définies par:

$$f_{ij} = \left( \frac{\partial^2 V}{\partial q_i \partial q_j} \right)_0$$

et la fonction potentielle s'écrit:

$$V = \frac{1}{2} \sum_{i,j} f_{ij} q_i q_j$$

soit en notation matricielle

$$V = q^+ f q$$

Dans le système des coordonnées cartésiennes pondérées, les formes des fonctions énergie cinétique et énergie potentielle ayant été déterminées, la fonction qui permet d'exprimer les mouvements de vibration est la fonction de la fonction de Lagrange

$$L = T - V$$

L'équation de Lagrange correspondante est:

$$\frac{d}{dt} \left( \frac{\delta L}{\delta \dot{q}_i} \right) - \frac{\delta L}{\delta q_i} = 0$$

ce qui amène un ensemble de  $3N$  équations différentielles du second ordre tel que:

$$\ddot{q}_i + \sum_j f_{ij} q_j = 0$$

dont les solutions sont du type oscillateur harmonique et conduisent au déterminant séculaire suivant:

$|f_{ij} - \lambda \delta_{ij}| = 0$  avec  $\lambda = 4 \pi^2 c^2 v^2$  et  $v$  est le nombre d'onde que l'on nomme par abus de langage fréquence exprimée en  $\text{cm}^{-1}$ .

Les solutions sont donc les  $3N$  fréquences harmoniques parmi lesquelles 6 sont nulles, imposées par les conditions d'Eckart-Sayvetz[231,232] et qui correspondent aux trois translations et aux trois rotations d'ensemble de la molécule. Les  $3N-6$  autres conduisent aux modes normaux de vibration, dont la combinaison linéaire définit le mouvement de déformation réel de la molécule autour de sa position d'équilibre.

Du point de vue pratique, la base des coordonnées cartésiennes ou cartésiennes pondérées pose des problèmes de calcul, car la matrice  $f$  carrée, symétrique d'ordre  $3N$  n'est pas diagonale et le problème vibrationnel ne peut donc pas être divisé en  $3N$  problèmes distincts.

Dans toute la suite du traitement, il faudra chercher des bases de coordonnées dans lesquelles les matrices énergies potentielle et cinétique sont diagonales et ne s'expriment pas de façon trop compliquées ( la structure des matrices et en particulier de la matrice  $f$  dépend du choix du système considéré ).

- Base des coordonnées internes

Au lieu de considérer les coordonnées cartésiennes, l'espace des coordonnées internes peut être investi: il décrit les modifications des longueurs de liaison, des angles de valence et des angles torsionnels entre liaisons chimiques de la molécule.

Si  $R$  est le vecteur des coordonnées internes et  $B$  la matrice de passage des coordonnées cartésiennes aux coordonnées internes ( matrice rectangulaire déterminée par la géométrie ), on a

$R = B X$  . Si l'on considère les 6 coordonnées externes la matrice B est rendue carrée et dans le cas où elle est non singulière, son inverse est calculable et on a  $X = B^{-1} R$  ( les éléments de B sont calculés à l'aide des vecteurs de Wilson [233] ).

La matrice énergie cinétique s'écrit:

$$2T = \dot{q}^+ \dot{q} = \dot{X}^+ M \dot{X} = \dot{R}^+ (B^{+1} M B^{-1}) \dot{R} \quad \text{c'est à dire}$$

$$2T = \dot{R}^+ G_R^{-1} \dot{R} \quad \text{avec } G_R = B M^{-1} B^+ \text{ matrice carrée symétrique non diagonale.}$$

De même dans cette base des coordonnées internes, l'énergie potentielle dans l'approximation harmonique s'écrit:

$$2V = R^+ F_R R \quad \text{avec } F_R = B^{+1} f_x B^{-1} \text{ où } f_x = M^{1/2} f M^{1/2} \text{ est la matrice des constantes de force exprimée dans la base des coordonnées cartésiennes. La matrice } F_R \text{ est carrée symétrique et ses éléments sont les constantes de force.}$$

A partir de l'équation de Lagrange, définie précédemment, on obtient l'équation séculaire suivante:

$$G_R F_R L = L \Lambda$$

avec  $\Lambda$  matrice diagonale des valeurs propres  $\lambda_i = 4 \pi^2 c^2 \nu_i^2$  et L matrice des vecteurs propres correspondants.

Si  $G_R$  et  $F_R$  sont symétriques, leur produit  $G_R F_R$  ne l'est pas. Il faut donc effectuer une diagonalisation des matrices [234] et le problème permet d'introduire alors les coordonnées normales.

La réalisation de ce problème est réalisable en diagonalisant dans un premier temps la matrice  $G_R$  par une transformation orthogonale, ce qui conduit à la matrice des valeurs propres  $\Lambda_G$  et des vecteurs propres  $L_G$  tels que

$$L_G^+ G_R L_G = \Lambda_G$$

Cette matrice  $G_R$  est alors transformée en matrice unité E par l'intermédiaire de la matrice de la transformation  $L^0_G$  telle que  $L^0_G = L_G (\Lambda_G)^{-1/2}$ , ce qui s'écrit:

$$L^0_G^+ G_R L^0_G = E$$

Puisque la matrice  $G_R$  a été transformée en matrice unité par  $L^0_G$ , ce qui simplifie le problème, on regarde dans un deuxième temps l'action de cette transformation sur la matrice  $F_R$  et on obtient la matrice symétrique  $F_C$  suivante:

$$F_C = L^0_G^+ F_R L^0_G \quad \text{qui est ensuite diagonalisée par}$$

$$L_C^+ F_C L_C = \Lambda_C$$

Si l'on se ramène au problème séculaire, les valeurs propres du produit des matrices et les vecteurs propres correspondants sont tels que:

$$\Lambda = \Lambda_C \quad \text{et}$$

$$L = L^0_G L_C$$

• Base des coordonnées normales

La matrice précédente des vecteurs propres définit, à partir des coordonnées internes R utilisés au départ, la base des coordonnées dites normales Q par la relation:

$$R = L Q$$

Dans cette base, les matrices énergies potentielles et cinétiques s'écrivent simplement

$$2V = Q^+ \Lambda Q = \sum_{k=1}^{3N-6} \lambda_k Q_k^2 \quad \text{et}$$

$$2T = \dot{Q}^+ \dot{Q} = \sum_{k=1}^{3N-6} \dot{Q}_k^2$$

Donc, nous avons la possibilité de séparer théoriquement le problème de dimension 3N-6 en 3N-6 problèmes distincts. Une coordonnée normale est associée à chaque mode normal et inversement. La base de ces coordonnées semble alors idéale pour décrire les modes de vibration de la molécule considérée.

Seulement les coordonnées normales se heurtent au caractère de transférabilité et sont spécifiques du cas envisagé. Le choix du système engendrant la forme de la matrice F, les constantes de force  $f_{ij}$  ainsi déterminées ne sont pas exploitables pour des systèmes moléculaires équivalents à celui étudié.

Il faut donc définir une base qui se trouve entre celle des coordonnées internes et celle des coordonnées normales: c'est la base des coordonnées de symétrie.

• Base des coordonnées de symétrie

Elle doit vérifier certaines propriétés décrites par T. Shimanouchi [230]

- ♦ Les coordonnées doivent toutes être indépendantes les unes des autres.
- ♦ Il doit exister une relation simple avec les coordonnées internes.
- ♦ Les coordonnées doivent être aussi proches que possible des coordonnées normales, les constantes de force non diagonales devenant alors très petites devant les diagonales. Il en résulte que chaque coordonnée est alors un vecteur propre de l'équation, ce qui facilite l'attribution des spectres étant associé à la valeur propre correspondante.
- ♦ Les coordonnées sont symétriques, anti-symétriques ou dégénérées par rapport aux opérations de symétrie locale des groupements moléculaires (  $C_{3v}$  pour un groupement méthyle,  $C_{2v}$  pour un groupement méthylène... ), mais pas forcément par rapport aux opérations de symétrie de la molécule entière.

Dans ces conditions, le champ de forces déterminé est empiriquement transférable .

Dans cette base, les coordonnées constituent un vecteur S lié aux coordonnées internes par la relation:

$$S = U R$$

où la matrice de passage des coordonnées internes aux coordonnées de symétrie est une matrice orthonormée, unitaire, ce qui entraîne ( $U^+ U = E$ ):

$$R = U^+ S$$

Lorsque l'on considère les formes des matrices énergie potentielle et énergie cinétique, il vient:

$$2V = R^+ F_R R = S^+ (U F_R U^+) S = S^+ F_S S \quad \text{avec } F_S = U F_R U^+ \text{ et}$$

$$2T = \dot{R}^+ G_R^{-1} \dot{R} = \dot{S}^+ (U G_R^{-1} U^+) \dot{S} = \dot{S}^+ G_S^{-1} \dot{S} \quad \text{avec } G_S = U G_R U^+$$

Le produit  $F_S G_S$  donne alors:

$F_S G_S = U G F U^+$  ce qui traduit le fait que  $F_S G_S$  et  $G F$  sont semblables et ont donc mêmes valeurs propres:

$L_S^{-1} F_S G_S L_S = \Lambda$  et les vecteurs propres  $L_S$  sont tels que

$$L = U^+ L_S .$$

L'emploi de la base des coordonnées de symétrie amène de façon satisfaisante à une résolution du problème séculaire et permet la transférabilité du champ de forces.

• **Conclusion**

Le calcul des fréquences ( matrice diagonale des valeurs propres ) et des modes de vibration ( matrice orthogonale des vecteurs propres ) s'effectue à partir des données cinématiques ( matrice G ) et des données dynamiques ( matrice F ). La résolution du problème séculaire vibrationnel peut s'effectuer dans différentes bases de coordonnées. Cependant, il ne faut pas perdre de vue que la matrice F dépend du choix du système de coordonnées. La base des coordonnées de symétrie possède en outre la propriété fondamentale de transférabilité.

Les différentes bases et les expressions des énergies cinétique et potentielle sont donnés dans le tableau II.1.

Energies	Coordonnées			
	cartésiennes	internes	de symétrie	normales
	X	R	S	Q
		$R=BX$	$S=UR$	$Q=L_S^{-1}S$
$2T =$	$\dot{X}^+ M \dot{X}$	$\dot{R}^+ G_R^{-1} \dot{R}$	$\dot{S}^+ G_S^{-1} \dot{S}$	$\dot{Q}^+ \dot{Q}$
	$G_R = B M^{-1} B^+$	$G_S = U G_R U^+$	$E = L_S^{-1} G_S L_S^{-1+}$	
$2V =$		$R^+ F_R R$	$S^+ F_S S$	$Q^+ \Lambda Q$
		$F_S = U F_R U^+$	$\Lambda = L_S^+ F_S L_S$	
		→ Equation séculaire $G_S F_S L_S = L_S \Lambda$		

**Tableau II.1:** Systèmes de base de coordonnées et expressions des énergies cinétiques et potentielles dans ces bases.

Un exemple de résolution de l'équation séculaire et les différentes étapes mis en jeu avec l'utilisation du champ de forces Urey-Bradley Shimanouchi modifié a été développé dans la thèse de P. DERREUMAUX [142].

### II.3.d.γ Problème séculaire inverse: affinement des constantes de force

La connaissance de la contribution des différentes coordonnées de symétrie de la molécule à chaque fréquence de vibration est fondamentale pour réaliser correctement une analyse de modes normaux. De plus, elle permet d'obtenir un ajustement le plus parfait possible entre fréquences calculées et fréquences observées, par le biais des variations des constantes de force qui sont attachées à ces coordonnées. L'attribution des modes normaux de vibration et la détermination des constantes de force correspond à la résolution du problème séculaire inverse [236].

La contribution partielle des coordonnées de symétrie à chaque mode est fournie par la matrice de Distribution d'Energie Potentielle ( **PED** de l'anglais 'Potential Energy Distribution' ). Un élément de cette matrice dans la base S est donné par:

$$(\text{PED})_{ij} = \frac{(L_{ij})^2 (F_s)_{ii}}{\lambda_j} \times 100$$

Au même titre que pour la contribution partielle à chaque mode de vibration des coordonnées de symétrie, est définie pour ceux-ci une contribution partielle des constantes de force. Les fréquences calculées diffèrent en général des valeurs expérimentales. Le problème consiste à diminuer l'erreur que constitue l'écart  $v_i^{\text{obs}} - v_i^{\text{cal}}$  et ceci se réalise en faisant varier les constantes de force:

$$\Delta v_i = \frac{\partial v_i}{\partial k_j} \Delta k_j$$

ce qui permet d'introduire la matrice Jacobien **J** dont les éléments sont les dérivées partielles de  $v_i$  par rapport aux constantes de force. Les propriétés de **J** définissent l'affinement des constantes de force. Il est à noter que le résultat du calcul d'affinement n'est pas unique [78,236] et que d'autres ensembles de constantes de force pourraient donner des résultats similaires. Pour une molécule de  $N$  atomes, il existe  $2^N$  champs de forces possibles. Ceux-ci peuvent être discriminés par calculs sur des molécules

substituées isotopiquement et par des calculs d'intensité infrarouge ou Raman de Résonance.

En utilisant l'écriture du jacobien, la contribution partielle des constantes de force à chaque mode de vibration définit une matrice ( PEF 'Potential Energy distribution for Force constants' ):

$$(PEF)_{ij} = \frac{J_{ij} k_j}{v_i} \times 200$$

La méthode d'affinement des constantes de force, par exemple utilisation de la matrice des contraintes Z, a été parfaitement décrite par T. Shimanouchi [230], et dans d'autres articles [235-236].

### II.3.d.δ Calcul dans le cristal

Tout le formalisme jusqu'à présent décrit concernait les molécules à l'état isolé, c'est à dire sans aucune considération d'interactions intermoléculaires. Il est possible d'envisager un calcul du cristal parfait, correspondant au calcul de la molécule et de celles constituant la cellule primaire, et dans lequel les interactions intermoléculaires amenées par les molécules des cellules voisines sont prises en compte, ainsi que les contributions des liaisons hydrogènes décrites par une fonction spécifique. Ce calcul revient à l'étude du comportement de la matrice dynamique [238,242].

Un tel calcul est fondamental pour expliquer toutes les vibrations de basse fréquence, dans lesquelles les contributions des interactions intermoléculaires sont majoritaires. De même, le traitement explicite des liaisons hydrogènes est lui aussi important dans cette région des basses fréquences. Les contributions de ces liaisons hydrogènes peuvent même exister et être importantes pour de nombreuses vibrations dans tous les domaines du spectre, influençant ainsi la valeur des constantes de force intramoléculaires.

Le calcul dans le cristal s'organise de la façon suivante:

- A partir de la molécule de base ( $A_1$ ) de la cellule origine, les autres molécules ( $A_n$ ) mises en jeu dans le système cristallin sont engendrées par l'intermédiaire d'une matrice de rotation W et du vecteur de translation T tels que  $A_n = WA_1 + T$ .

- Les molécules des cellules voisines sont alors obtenues en "construisant" le cristal au moyen de la matrice V des paramètres de la maille du système cristallin

considéré. Un cristal est bien construit si l'on retrouve correctement les vibrations acoustiques selon les bonnes représentations irréductibles données dans les tables de caractères.

- Le nombre des cellules prises en compte est obtenu en considérant les liaisons hydrogènes existantes et la façon dont elles s'établissent. Le calcul peut être au premier ordre autour de la cellule de base ( 27 mailles au total, Cf. glucose ), au deuxième ordre ( 125 mailles, par exemple Cf. trehalose ) ou parfois au troisième ordre ( 343 mailles, Cf. sophorose).

De la même façon que pour la molécule isolée, la matrice B des interactions intermoléculaires est définie ( construction des coordonnées internes définies dans le cadre des liaisons hydrogènes ), ainsi que la matrice des contraintes intermoléculaires ( matrice  $Z_{SI}$  ) [40].

### II.3.d.ε Modèles de champ de forces

La seule certitude que l'on ait sur la fonction énergie potentielle, est qu'elle s'écrit sous la forme d'un développement limité autour de sa position d'équilibre et que donc, elle est fonction des coordonnées de déplacement par rapport à cette position. Les différents termes d'énergie traduisant ces coordonnées et les paramètres qui s'y rapportent, constituent, comme déjà signalé, *le champ de forces moléculaire*.

Plusieurs modèles existent suivant les termes d'énergie et les approximations considérés. Il est bien évident que la construction de la matrice F dépend non seulement de la base des coordonnées utilisées mais aussi de la forme du champ de forces considéré.

#### • Champ de Force de Valence: 'Valence Force Field' (VFF) [230,240]

C'est le plus simple, provenant directement de la forme de la fonction énergie potentielle dans le cadre de l'approximation harmonique mettant en jeu de petits déplacements. Il se développe suivant les modifications des coordonnées internes de la molécule.

$$V = \frac{1}{2} \sum K_{ij} (\Delta r_{ij})^2 + \frac{1}{2} \sum H_{ijk} (\Delta \Phi_{ijk})^2 + \frac{1}{2} \sum Y_{ijkl} (\Delta \tau_{ijkl})^2$$

formule dans laquelle K, H et Y correspondent respectivement aux élongations des liaisons ( $\Delta r$ ), aux modifications des angles de valence ( $\Delta \Phi$ ) et des angles de torsion ( $\Delta \tau$ ).

Ce champ donne en règle général un mauvais ajustement des fréquences de vibration [240].

- Champ de Force de Valence Généralisé: 'General Valence Force Field' (GVFF) [230,240]

Ce champ de forces est le même que le champ de forces de valence précédent, mais il prend en compte en plus tous les termes non diagonaux. Les constantes de force sont transférables de façon satisfaisante [240,243].

- Champ de Force Central: 'Central Force Field' (CFF) [230]

La fonction énergie potentielle correspondant à ce modèle s'écrit sous forme des modifications des liaisons et des distances interatomiques. Il s'exprime comme:

$$V = \frac{1}{2} \sum K_{ij} (\Delta r_{ij})^2 + \frac{1}{2} \sum F_{ij} (\Delta q_{ij})^2$$

où K est la constante de force relative à l'élongation ( $\Delta r$ ) et F celle de la modification de la distance interatomique  $i,j$  ( $\Delta q$ ). F correspond en fait à une constante de force répulsive entre les atomes  $i$  et  $j$ .

- Champ de Force Urey-Bradley: 'Urey-Bradley Force Field' (UBFF) [230,244]

En 1931, Urey et Bradley [244] proposent d'attribuer les termes non diagonaux du champ de forces de valence généralisé comme étant dus aux interactions entre atomes non liés. Ce modèle s'exprime comme étant:

$$V = \frac{1}{2} \sum K_{ij} (\Delta r_{ij})^2 + \frac{1}{2} \sum H_{ijk} (\Delta \Phi_{ijk})^2 + \frac{1}{2} \sum Y_{ijkl} (\Delta \tau_{ijkl})^2 + \sum F_{ij} (\Delta q_{ij})^2$$

K, H, Y et F sont respectivement les constantes de force d'élongation des liaisons, de modification des angles de valence et de torsion et de répulsion entre atomes non liés.

- Champ de Force de Urey-Bradley-Shimanouchi modifié: 'modified Urey-Bradley-Shimanouchi' (mUBSFF)

Le point de départ de ce champ de forces est celui précédemment décrit, complété par les termes linéaires de chaque partie énergétique, introduisant ainsi les tensions internes et surtout par des termes d'interactions angles de valence - angles de valence comme l, t ou g, d'où le nom de modifié. Une description complète de ce champ

de forces est donnée par T. Shimanouchi [245] et des exemples d'utilisation sont décrits [246,247]. Il sera envisagé en détail dans le chapitre IV.. On peut cependant signaler que ce champ de forces mUBSFF est généralement proche de GVFF.

- Champ de Force de Symétrie Locale: 'Local Symmetry Force Field' (LSFF), appelé aussi 'Group Coordinate Force Field' (GCFF) [230]

Le point de départ de ce champ de forces est le mUBSFF, mais les groupements méthyle et méthylène sont considérés suivant leur symétrie propre c'est à dire respectivement  $C_{3v}$  et  $C_{2v}$ . On définit des coordonnées de symétrie locale pour chaque groupement ( Cf. Chapitre sur le glucose ), les constantes de force associées peuvent alors être transférées à des groupements similaires dont l'environnement immédiat est le même que celui du groupement considéré [230,245].

Les coordonnées de symétrie locale, comme nous l'avons vu plus haut, permettent d'envisager correctement le principe de transférabilité des constantes de force.

Les champs de forces mUBSFF et LSFF seront ceux utilisés dans la suite de ce travail.

#### II.3.d.ζ Analyse des modes normaux de vibration des saccharides

Les saccharides étant des molécules assez importantes ( 24 atomes pour un monosaccharide  $\Rightarrow 3 \times 24 - 6 = 66$  modes de vibration et 45 atomes pour un disaccharide  $\Rightarrow 3 \times 45 - 6 = 129$  modes de vibration ), il n'existe pas énormément de calculs d'analyse de modes normaux.

Le premier travail conséquent a été effectué par D. VASKO et J. KOENIG [60,62,73] sur les deux formes anomères du glucose, sur la base de spectres en solution et à l'état cristallin, et pour des composés deutérés. Le champ de forces utilisé [248] s'apparente au GVFF et est capable de reproduire les spectres et les différences entre les deux anomères. De plus, sur la base des constantes de force ainsi déterminées, des attributions de fréquences ont été proposées pour des disaccharides ( maltose et cellobiose ) et sur leurs polymères, c'est à dire sur la forme V de l'amylose [92] et sur la molécule de cellulose [91]. Pour l'instant, il semblerait que ce soit le seul exemple d'exploitation des constantes de force, déterminées pour les entités modèles saccharidiques, transférées à des polysaccharides.

Une autre étude est celle de H. WELLS [75] sur les anomères du glucose avec un champ de force "à mi-chemin" entre le VFF et le GVFF ( certaines constantes non diagonales sont rejetées ) et dont les constantes de force sont utilisées sur le mannose et

les anomères du galactose. Cependant, Wells propose certaines attributions de modes de vibration qui ne semblent pas satisfaisantes [72] et qui perturbent beaucoup l'ensemble des résultats sur le reste de la molécule, l'ensemble des modes de vibration étant très couplés.

Avec leur champ de forces AMII [76,77] Andrianov *et col.* ont effectué un calcul sur le  $\beta$ -D-glucose. Une attribution a été proposée alors sur le cellobiose. On peut cependant noter que sur le bêta glucose l'écart standard moyen sur l'ensemble des modes de vibration est de  $31 \text{ cm}^{-1}$ , ce qui est une valeur trop importante.

En 1977, HINENO M. [70] propose pour le  $\beta$ -D-glucose un calcul utilisant un champ de Urey-Bradley UBFF sur la base d'une étude infrarouge entre  $50\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ . C'est le seul calcul actuellement connu utilisant le UBFF.

Toutes les analyses de modes normaux précédemment citées ont été effectuées sur des molécules isolées, donc sans interactions intermoléculaires. Le seul calcul dans le cristal existant a été effectué au laboratoire par J.P. HUVENNE [72,78] sur les deux anomères du glucose. Ils seront tous détaillés dans le calcul effectué sur les anomères du glucose (Cf. Chap. IV).

#### *II.3.d.ξ Conclusion*

Bien que le formalisme de l'analyse des modes normaux de vibration soit assez complexe, les moyens informatiques actuels permettent d'envisager des systèmes moléculaires plus importants. Le choix du modèle de champ de forces utilisé est fondamental pour la suite des études. Le critère de transférabilité des constantes et la fiabilité que l'on peut leur accorder, reste encore les conditions majeures pour choisir ce modèle. L'ensemble de ces paramètres devraient pouvoir satisfaire les modélisations moléculaires de molécules oligosaccharidiques ou polysaccharidiques.

- [1] 'Thermal vibrations in crystallography'  
WILLIS B., PRYOR A., (1975), Cambridge University Press.
- [2] 'Crystallographic studies of the dynamix properties of lysozyme'.  
ARTYMIUK P.J., BLAKE C., GRACE D., OATLEY S., PHILILIPS D.,  
STERNBERG M.  
Nature, **280**, (1979), 563.
- [3] 'Dynamics of proteins and nucleic acids'  
McCAMMON J., HARVEY S., (1987), Cambridge University Press.
- [4] 'Low frequency dynamics of proteins studied by neutron time-of-flight spectroscopy'  
CUSAK S., SMITH J., FINNEY J., KARPLUS M., TREWHELLA J.  
Physica, **136B**, (1986), 256.
- [5] 'Inelastic neutron scattering anlysis of picosecond internal protein dynamics'.  
CUSAK S., SMITH J., FINNEY J., TIDOR B., KARPLUS M.  
J. Mol. Biol., **202**, (1988), 903.
- [6] 'The Protein Data Bank: a computer based archival file for macromolecular structures.'  
BERNSTEIN F., KOETZLE T. WILLIAMS G., MEYER E., BRICE M., RODGERS J., KENNARD O., SHIMANOUCI T., TASUMI M.  
J. Mol. Biol., **112**, (1977), 535.
- [7] 'The crystal and molecular structure of a 3:2 mixture of laminarabiose and O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1->3)- $\beta$ -D-glucopyranose.'  
TAKEDA H., YASUOKA N., KASAI N.  
Carbohydr. Res., **53**, (1977), 137.
- [8] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **30**, (1974), 445-466.
- [9] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **31**, (1975), 347-371.
- [10] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **32**, (1976), 353-384.
- [11] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **34**, (1977), 345-378.
- [12] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **37**, (1980), 373-436.
- [13] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **38**, (1981), 417-529.
- [14] JEFFREY G., SUNDARALINGAM M.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **43**, (1985), 203-421.
- [15] 'Conformational features of C-glycosyl compounds: crystal structure and molecular modelling of "methyl C-gentiobioside".'  
NEUMAN A., LONGCHAMBON F., ABBES O., GILLIER-PANDRAUD H., PEREZ S., ROUZAUD D., SINAY P.  
Carbohydr. Res., **195**, (1990), 187.

- [16] 'Carbohydrate-binding proteins: tertiary structures and protein-sugar interactions'.  
QUIOCHO F.  
Ann. Rev. Biochem., **55**, (1986), 287.
- [17] 'Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.8- and 2.8 Å resolution.'  
DEISENHOFER J.  
Biochemistry, **20/9**, (1981), 2361.
- [18] HARLOS K., BOYS C., HOLLAND S., ESNOUF M., BLAKE C.  
FEBS Lett., **224**, (1987), 97.
- [19] 'Human leukocyte and porcine pancreatic elastase: X-rays crystal structures, mechanism, substrate specificity and mechanism-based inhibitors.'  
BODE W., MEYER E., POWERS J.  
Biochemistry, **28/5**, (1989), 1951.
- [20] 'Etude cristallographique de l'interaction entre une lectine végétale (*Lathyrus ochrus*) et divers saccharides.'  
BOURNE Y.  
Thèse Université d'Aix-Marseille III, (1990).
- [21] 'Protein structures from NMR'  
KAPTEIN R., BOELENS R., SCHEEK R., VAN GUNSTEREN W.  
Biochemistry, **27**, (1988), 5389.
- [22a] 'NMR of proteins and nucleic acids.'  
WÜTHRICH K.  
Wiley, (1986), New-York.
- [22b] 'Protein structure determination in solution by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy.'  
WÜTHRICH K.  
Science, **243**, (1989), 45.
- [23] 'Determination of three-dimensional structures of proteins and nucleic acids in solution by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy.'  
CLORE M., GRONENBORN A.  
Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, **24/5**, (1989), 479.
- [24] 'Etude structurale et conformationnelle de polysaccharides par Résonance Magnétique Nucléaire.'  
BOSENNEC V.  
Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VI, (1989).
- [25] 'Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy.'  
HARRIS R.  
PITMAN books, (1983), London.
- [26] 'Modern NMR spectroscopy: a guide for chemists.'  
SANDERS J., HUNTER B.  
Oxford University Press, (1988), Oxford.
- [27] 'The Nuclear Overhauser Effect.'  
NOGGLE J., SCHIRMER R.  
Academic Press, (1971), New-York.

- [28] 'Virtual and solution conformations of oligosaccharides.'  
CUMMING D., CARVER J.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6664.
- [29] 'The conformations of oligosaccharides related to the *ABH* and *Lewis* human blood group determinants.'  
LEMIEUX R., BOCK K., BELBAERE L., KOTO S., RAO V.  
Can. J. Chem., **58**, (1980), 631.
- [30] 'Further justification for the exo-anomeric effect. Conformational analysis based on nuclear magnetic resonance spectroscopy of oligosaccharides.'  
THOGERSEN H., LEMIEUX R., BOCK K., MEYER B.  
Can. J. Chem., **60**, (1982), 44.
- [31] 'Reevaluation of rotamers populations for 1,6 linkages: reconciliation with potential energy calculations.'  
CUMMING D., CARVER J.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6676.
- [32] 'Solution conformation of Asparagine-linked oligosaccharides:  $\alpha(1-2)$ ,  $\alpha(1-3)$ ,  $\beta(1-2)$ ,  $\beta(1-4)$  linked units.'  
BRISSEON J.R., CARVER J.  
Biochemistry, **22**, (1983), 3671.
- [33] 'Solution conformation of Asparagine-linked oligosaccharides:  $\alpha(1-6)$  linked moiety.'  
BRISSEON J.R., CARVER J.  
Biochemistry, **22**, (1983), 3680.
- [34] 'Conformational transitions in N-linked oligosaccharides.'  
HOMANS S., DWEK R., BOYD J., MAHMOUDIAN M., RICHARDS W., RADEMACHER T.  
Biochemistry, **25**, (1986), 6342.
- [35] 'Solution conformations of N-linked oligosaccharides.'  
HOMANS S., DWEK R., RADEMACHER T.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6574.
- [36] 'Structure and dynamics in oligomannose-type oligosaccharides.'  
HOMANS S.W., PASTORE A., DWEK R.A., RADEMACHER T.W.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6649.
- [37] 'Solution conformation of the branch points of N-linked glycans: synthetic model compounds for tri'antennary and tetraantennary glycans.'  
CUMMING D., SHAH R., KREPINSKY J., GREY A., CARVER J.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6655.
- [38] 'Molecular dynamics simulations and the conformational mobility of blood group oligosaccharides.'  
YAN Z., BUSH A.  
Biopolymers, **29**, (1990), 799.
- [39] 'Structure of the oligosaccharide of Hen phosphovitin as determined by two-dimensional  $^1\text{H}$  NMR of the intact glycoprotein.'  
BROCKBANK R., VOGEL H.  
Biochemistry, **29**, (1990), 5574.

- [40] 'Mouvements de vibration intra et intermoléculaires de molécules chaînes.'  
VERGOTEN G., Thèse d'Etat, USTLFA, LILLE, (1977).
- [41] 'The use of resonant Raman intensities in refining molecular force fields for Wilson GF calculations and obtaining excited state molecular geometries.'  
PETICOLAS W.L., STROMMEN D.P., LAKSHMINARAYANAN V.  
J. Chem. Phys., **73/9**, (1980), 4185.
- [42] PETICOLAS W.L.  
Ber. Bunsenges. Phys. Chem., **85**, (1981), 481.
- [43] CHEAM T., KRIMM S.  
J. Chem. Phys., **82/5**, (1985), 1631.
- [44] CLARK R., DINES T.  
In Advances in Infrared and Raman Spectroscopy, Vol 9, Heyden Ed., (1981).
- [45] 'Spectroscopic methods.'  
PERLIN A., CASU B.  
In The Polysaccharides, Vol 1/4, (1982), 172, Ed. ASPINALL G., Academic Press, Londres.
- [46] 'Vibrational spectra of carbohydrates.'  
MATHLOUTHI M., KOENIG J.  
Adv.in Carbo. Chem. & Biochem., Vol **44**, (1986), 7.
- [47] 'The Carbohydrates'.  
TIPSON R., PARKER F.,  
In PIGMAN W., HORTON D. Ed., Vol **1B**, (1980), 1394, Academic Press, New-York.
- [48] BARKER S., BOURNE E., STACEY M., WHIFFEN D.  
J. Chem. Soc., (1954), 171.
- [49] BARKER S., BOURNE E., STEPHENS R., WHIFFEN D.  
J. Chem. Soc., (1954), 3468.
- [50] BARKER S., BOURNE E., STEPHENS R., WHIFFEN D.  
J. Chem. Soc., (1954), 4211.
- [51] BARKER S., BOURNE E., PINKARD J., WHIFFEN D.  
Chem. Ind. (London), (1958), 658.
- [52] TIPSON R., ISBELL H.  
J. Res. Natl. Bur. Stand., Sect. A, **62**, (1959), 257.
- [53] TIPSON R., ISBELL H.  
J. Res. Natl. Bur. Stand., Sect. A, **64**, (1960), 230.
- [54] TIPSON R., ISBELL H.  
J. Res. Natl. Bur. Stand., Sect. A, **66**, (1962), 31.
- [55] 'The crystal and molecular structure of  $\beta$ -D-fructose, with emphasis on anomeric effect and hydrogen-bond interactions.'  
KANTERS J., ROELOFSEN G., ALBLAS B., MEINDERS I.  
Acta Cryst., **B33**, (1977), 665.

- [56] 'A neutron diffraction study of the crystal structure of  $\beta$ -D-fructopyranose.'  
TAKAGI S., JEFFREY G.  
*Acta Cryst.*, **B33**, (1977), 3510.
- [57] PERLIN A., DU PENHOAT P., ISBELL H.  
*Adv. Chem. Ser.*, **32**, (1973), 39.
- [58] 'Laser-Raman spectra of D-fructose in aqueous solution.'  
MATHLOUTHI M., LUU D.  
*Carbohydr. Res.*, **78**, (1980), 225.
- [59] 'Study of the infrared spectra of oligosaccharides in the region 1000 - 40  $\text{cm}^{-1}$ .'  
TUL'CHINSKY V., ZURABIAN S., ASANKOZHAEV K., KOGAN G.,  
KHORLIN A.  
*Carbohydr. Res.*, **51**, (1976), 1.
- [60] 'Spectroscopic and vibrational studies of carbohydrates.'  
VASKO D.  
Case Western Reserve University, Ph.D., (1971), Cleveland, Ohio, USA.
- [61] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates: Part I: identification of O-H and C-H related vibrational modes for D-glucose, maltose, cellobiose and dextran by deuterium-substitution methods.'  
VASKO P., BLACKWELL J., KOENIG J.  
*Carbohydr. Res.*, **19**, (1971), 297.
- [62] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates: Part II: normal coordinate analysis of  $\alpha$ -D-glucose.'  
VASKO P., BLACKWELL J., KOENIG J.  
*Carbohydr. Res.*, **23**, (1972), 407.
- [63] 'Laser-Raman spectra of D-glucose and sucrose in aqueous solution.'  
MATHLOUTHI M., LUU D.  
*Carbohydr. Res.*, **81**, (1980), 203.
- [64] 'Laser-Raman study of solute-solvent interactions in aqueous solutions of D-fructose, D-glucose and sucrose.'  
MATHLOUTHI M., LUU C., MEFFROY-BIGET A.M., LUU D.  
*Carbohydr. Res.*, **81**, (1980), 213.
- [65] 'A Raman and infrared study of crystalline D-fructose, L-sorbose and related carbohydrates. Hydrogen bonding and sweetness.'  
SZAREK W., KÖRPPİ-TOMMOLA S., SHURVELL H., SMITH V., MARTIN O.  
*Can. J. Chem.*, **62**, (1984), 1512.
- [66] 'Far-infrared spectra of glucose, sorbose, saccharose and cellobiose at liquid He temperature.'  
HINENO M., YOSHINAGA H.  
*Spectrochimica Acta*, **28A**, (1972), 2263.
- [67] 'Far-infrared spectra of galactose and lactose at liquid He temperature.'  
HINENO M., YOSHINAGA H.  
*Spectrochimica Acta*, **29A**, (1973), 301.

[68] 'Far-infrared spectra of  $\beta$ -D-glucose, cellobiose, galactose, lactose,  $\alpha$ -D-glucose and saccharose in 50-30  $\text{cm}^{-1}$  at liquid He temperature.'

HINENO M., YOSHINAGA H.

Spectrochimica Acta, **29A**, (1973), 1575.

[69] 'Far-infrared spectra of mono-, di- and tri-saccharides in 50-16  $\text{cm}^{-1}$  at liquid He temperature.'

HINENO M., YOSHINAGA H.

Spectrochimica Acta, **30A**, (1974), 411.

[70] 'Infrared spectra and normal vibrations of  $\beta$ -D-glucopyranose.'

HINENO M.

Carbohydr. Res., **56**, (1977), 219.

[71] 'Low frequency vibrations of molecules with biological interest.'

VERGOTEN G., FLEURY G., MOSCHETTO Y.

Advances in Infrared and Raman Spectroscopy, Vol 4/5, (1978), Heyden and sons.

[72] 'Champ de forces de symétrie locale de molécules cycliques: III. Interprétation des spectres de vibration du glucose cristallisé sous les deux formes alpha et beta.'

HUVENNE J.P., VERGOTEN G., FLEURY G., LEGRAND P.

Journal of molecular structure, **74**, (1981), 169.

[73] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates: Part IV: identification of configuration and sensitive modes for D-glucose by normal coordinate analysis.'

CAEL J., KOENIG J., BLACKWELL J.

Carbohydr. Res., **32**, (1974), 79.

[74] CAEL J., KOENIG J., BLACKWELL J.

Carbohydr. Res., **29**, (1973), 123.

[75] 'An investigation of the vibrationnal spectra of glucose, galactose and mannose.'

WELLS H., PhD Thesis, (1977), Appleton.

[76] 'Calculation of the conformation and vibrational spectrum of  $\beta$ -D-glucose within the framework of the additive model of interatomic interactions.'

ANDRIANOV V., ZHBANKOV R., DASHEVSKII V.

Zhurnal Strukturnoi Khimii, **21/1**, (1980), 35.

[77] 'A theoretical study of the vibrational spectrum of cellobiose within the framework of the additive model of interatomic interactions.'

ANDRIANOV V., ZHBANKOV R., DASHEVSKII V.

Zhurnal Strukturnoi Khimii, **21/3**, (1980), 85.

[78] 'Redondance et symétrie locale de molécules cycliques.'

HUVENNE J.P., Thèse, (1979), Lille.

[79] CASU B., REGGIANI M., GALLO G., VIGEVANI A.

Tetrahedron, **22**, (1966), 3061.

[80] MICHELL, A.

Aust. J. Chem., **21**, (1968), 1257.

[81] 'Study of hydrogen bonds in crystalline monosaccharides. The spectra of monosaccharide derivatives in the middle- and far-infrared regions.'

KOGAN G., TUL'CHINSKY V., SHULMAN M., ZURABYAN S., KHORLIN A.

Carbohydr. Res., **26**, (1973), 191.

- [82] 'Vibrational spectroscopy of D-glucose: the C-H stretching region.'  
LONGHI G., PATERLINI G., ABBATE S., RICARD L., ZERBI G.  
Journal of molecular structure, **142**, (1986), 403.
- [83] 'Conformational dependence of CH(CD)- stretchings in D-glucose and some deuterated derivatives as revealed by Infrared and Raman spectroscopy.'  
LONGHI G., ZERBI G., PATERLINI G., RICARD L., ABBATE S.  
Carbohydr. Res., **161**, (1987), 1.
- [84] 'Identification of the characteristic, anomeric bands in the infrared spectrum of lyxose in aqueous solution.'  
MICHALSKA D., BACK D., POLAVARAPU P.  
Carbohydr. Res., **131**, (1984), 29.
- [85] 'Infrared-spectral characteristics of some acetylated, anomeric glycosides.'  
VARMA R., KURLKARNI S., JOSE C., PANSARE V.  
Carbohydr. Res., **133**, (1984), 25.
- [86] BARKER S., STEPHENS R.  
J. Chem. Soc., (1954), 4550.
- [87] VERSTRAETEN L.  
Anal. Chem., **36**, (1964), 1040.
- [88] 'Band assignments in the Raman spectra of celluloses.'  
WILLEY J., ATALLA R.  
Carbohydr. Res., **160**, (1987), 113.
- [89] 'Second derivative F.T. I.R. spectra of celluloses I and II and related mono- and oligo-saccharides.'  
MICHELL A.  
Carbohydr. Res., **173**, (1988), 185.
- [90] 'Laser-Raman spectroscopic study of cyclohexaamylose and related compounds: spectral analysis and structural applications.'  
TU A., LEE J., MILANOVICH F.  
Carbohydr. Res., **76**, (1979), 239.
- [91] CAEL J.J., GARDNER K., KOENIG J.L., BLACKWELL J.  
J. Chem. Phys., **62**, (1975), 1145.
- [92] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. Part VI. Normal coordinate analysis of V-amylose.'  
CAEL J.J., KOENIG J.L., BLACKWELL J.  
Biopolymers, **14**, (1975), 1885.
- [93] 'Potential Energy Function in conformational analysis.'  
RASMUSSEN K.  
Lecture notes in Chemistry, Vol.37, Springer-Verlag, (1985).
- [94] 'Approximate Molecular Orbital Theory.'  
POPLE J.A. & BEVERIDGE D.L.  
McGraw Hill, New York, (1970).
- [95] 'Modern Quantum Chemistry'  
SZABO A. & OSTLUND N.S.  
Mc Millian, New York, (1982).

- [96] 'Semi-empirical methods of electronic structure calculation.'  
Part B, GERALD A. Ed., Plenum Publishing Corporation, (1977).
- [97] 'Eléments de chimie quantique à l'usage des chimistes.'  
RIVAIL J.L.  
Savoirs Actuels, InterEditions/Editions de CNRS, Paris, (1989).
- [98] JUG K.  
Theoret. Chim. Acta (Berl), **14**, (1969), 91.
- [99] 'Chimie Théorique. Concept et Problèmes.'  
CONDAT M., KAHN O., LIVAGE J.  
Hermann, Paris, (1972).
- [100] 'Mécanique quantique.'  
COHEN-TANNOUJDI C., DIU B., LALOE F.  
Hermann, Paris, (1973).
- [101] 'Molecular Quantum Mechanics.'  
ATKINS P.W.  
Oxford University Press, Oxford, (1983).
- [102] 'The application of *ab initio* molecular orbital theory to the anomeric effect. A comparison of theoretical predictions and experimental data on conformations and bond lengths in some pyranoses and methyl pyranosides.'  
JEFFREY G., POPLÉ J., RADOM L.  
Carbohydr. Res., **25**, (1972), 117.
- [103] JEFFREY G., POPLÉ J., RADOM L.  
Carbohydr. Res., **38**, (1974), 81.
- [104] TVAROSKA I., BLEHA T.  
J. Mol. Struct., **24**, (1975), 249.
- [105] JEFFREY G., POPLÉ J., BINKLEY J., VISHVESHWARA S.  
J. Am. Chem. Soc., **100**, (1978), 373.
- [106] TVAROSKA I., KOZAR T.  
J. Am. Chem. Soc., **102**, (1980), 6929.
- [107] 'Anomeric and exo-anomeric effects in carbohydrate chemistry.'  
TVAROSKA I. & BLEHA T.  
Adv.in Carbo. Chem. & Biochem., Vol **47**, (1989), 45.
- [108] 'Application of *ab initio* molecular orbital calculations to the structural moieties of carbohydrates. PART VI.'  
JEFFREY G., YATES J.  
Carbohydr. Res., **79**, (1980), 155.
- [109] 'Application of *ab initio* molecular orbital calculations to the structural moieties of carbohydrates.'  
JEFFREY G., YATES J.  
Carbohydr. Res., **96**, (1981), 205.
- [110] 'The non-bonded interactions in D-glucose and  $\beta$ -maltose: an *ab initio* study of conformations produced by empirical force-field calculations.'  
MELBERG S., RASMUSSEN K., SCORMADAGLIA R., TOSI C.  
Carbohydr. Res., **76**, (1979), 23.

[111] 'Examination of the molecular properties of D-fructose and L-sorbose by *ab initio* LCAO-MO calculations.'

SZAREK W., KORPPI-TOMMOLA S., MARTIN O., SMITH V.H.  
Can. J. Chem., **62**, (1984), 1506.

[112] '*Ab initio* LCAO-MO calculations on  $\alpha$ -D-glucopyranose,  $\beta$ -D-fructopyranose and their thiopyranoid ring analogues. Application to a theory of sweetness.'

WOODS R., SMITH V., SZAREK W., FARAZDEL A.  
J. Chem. Soc., Chem. Commun., (1987), 937.

[113] '*Ab initio* SCF energy calculations of the rotational orientation of each of the exocyclic groups of 6-O-methyl- $\beta$ -D-tagatofuranose.'

DARSEY J., VOLL R., YOUNATHAN E., KOERNER T.  
Carbohydr. Res., **173**, (1988), 197.

[114] DINER S., MALRIEU J.P., CLAVERIE P., JORDAN F.  
Chem. Phys. Lett., **2**, (1968), 319.

[115] DINER S., MALRIEU J.P., CLAVERIE P.  
Theor. Chim. Acta, **13**, (1969), 1.

[116] 'The PCILO method'.  
MALRIEU J.P.

In 'Semi empirical methods of electronic structure calculation.', Chap 3,  
Part B, GERALD A. Ed., Plenum Publishing Corporation, (1977).

[117] GIACOMINI M., PULLMAN B., MAIGRET B.  
Theor. Chim. Acta, **19**, (1970), 347.

[118] 'Quantum chemical studies on the conformational structure of Bacterial peptidoglycan. II. PCILO calculations on the mono-saccharides'.

YADAV J.S., BARNICKEL G., BRADACZEK H., LABISHINSKI H.  
J. Theor. Biol., **95**, (1982), 151.

[119] 'Quantum chemical studies on the conformational structure of Bacterial peptidoglycan. IV. PCILO calculations on the disaccharide part of the glycan moiety'.

YADAV J.S., BARNICKEL G., BRADACZEK H., LABISHINSKI H.  
J. Theor. Biol., **95**, (1982), 285.

[120] 'Theoretical studies on the conformation of saccharides. IV. Solvent effect on the stability of  $\beta$ -maltose conformers.'

TVAROSKA I.  
Biopolymers, **21**, (1982), 1887.

[121] 'Theoretical studies on the conformation of saccharides. VIII. Solvent effect on the stability of  $\beta$ -cellobiose conformers.'

TVAROSKA I.  
Biopolymers, **23**, (1984), 1951.

[122] 'An attempt to derive the potential function for evaluation of the energy associated with the exo-anomeric effect.'

TVAROSKA I.  
Carbohydr. Res., **125**, (1984), 155.

[123] 'Solvent effect on the stability of mannobiose conformers'.

TVAROSKA I., PEREZ S., NOBLE O., TARAVEL F.  
Biopolymers, **26**, (1987), 1499.

[124] 'Potential energy surfaces of cellobiose and maltose in aqueous solution: a new treatment of disaccharide optical rotation.'  
STEVENS E. S., SATHYANARAYANA B.K.  
J. Am. Chem. Soc., **111**, (1989), 4149.



[125] POPLÉ J., SEGAL G.  
J. Chem. Phys., **43**, (1965), 5129.

[126] 'Ground states of molecules. The MNDO method. Approximations and parameters.'  
DEWAR M., THIEL W.  
J. Am. Chem. Soc., **99**, (1977), 4899.

[127] 'Quantum chemical studies on the conformational structure of Bacterial peptidoglycan. I. MNDO calculations on the glycan moiety.'  
YADAV J.S., LABISCHINSKI H., BARNICKEL G., BRADACZEK H.  
J. Theor. Biol., **88**, (1981), 441.

[128] 'Different rotamer populations around the C5-C6 bond for  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-galactopyranosides through the combined interaction of the gauche and anomeric effects: A 300-MHz  $^1\text{H-N.M.R.}$  and MNDO study.'  
DE VRIES N., BUCK H.  
Carbohydr. Res., **165**, (1987), 1.

[129] 'AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model.'  
DEWAR M., ZOEBISCH E., HEALY E., STEWART J.  
J. Am. Chem. Soc., **107**, (1985), 3902.

[130] POPLÉ J., SEGAL G.  
J. Chem. Phys., **44**, (1966), 3298.

[131a] BINGHAM R., DEWAR M, LO D.  
J. Am. Chem. Soc., **97**, (1975), 1285  
[131b] J. Am. Chem. Soc., **97**, (1975), 1294  
[131c] J. Am. Chem. Soc., **97**, (1975), 1303  
[131d] J. Am. Chem. Soc., **97**, (1975), 1307  
[131e] J. Am. Chem. Soc., **97**, (1975), 1311

[132] 'Quantum chemical studies on the conformational structure of Bacterial peptidoglycan. III. CNDO and INDO calculations on the N-acetyl-glucosamine.'  
YADAV J.S., BARNICKEL G., BRADACZEK H., LABISHINSKI H.  
J. Theor. Biol., **95**, (1982), 167.

[133] 'Non-bonded interactions and the allylic and anomeric effects.'  
DODZIUK H.  
Carbohydr. Res., **70**, (1979), 19.

[134] 'Conformational analysis of glycosaminoglycans. I. charge distributions, torsional potentials and steric maps.'  
POTENZONE R., HOPFINGER A.  
Carbohydr. Res., **40**, (1975), 323.

[135] 'CNDO force constants for glucose.'  
BACK D., POLAVARAPU P.  
Journ. Comput. Chem., **8/6**, (1987), 772.

- [136] HAGLER A., LIFSON S.  
J. Am. Chem. Soc., **96**, (1974), 5319
- [137] HAGLER A., LIFSON S.  
J. Am. Chem. Soc., **96**, (1974), 5327
- [138] MOMANY F., CARRUTHERS L., McGUIRE R., SCHERAGA H.  
J. Phys. Chem., **78**, (1974), 1595.
- [139] 'Consistent Force Field for calculations and conformations'.  
LIFSON S., WARSHEL A.  
J. Chem. Phys., **49/11**, (1968), 5116.
- [140] WARSHEL A., LIFSON S.  
J. Chem. Phys., **33/2**, (1968), 582.
- [141] WEINER S., KOLLMAN P., NGUYEN D., CASE D.  
J. Comp. Chem., **7**, (1986), 230.
- [142] 'Dynamique harmonique de l'inhibiteur de la trypsine pancréatique de bœuf (BPTI).'  
DERREUMAUX P.  
Thèse d'Etat, Université de LILLE II, (1988).
- [143] 'Molecular Mechanics'.  
BURKERT U., ALLINGER N.  
American Chemical Society, Washington DC, (1983).
- [144] WIBERG K.  
J. Am. Chem. Soc., **87**, (1965), 1070.
- [145] WILLIAMS J., STANG P., SCHLEYER P.  
Am. Rev. Phys. Chem., **19**, (1968), 531.
- [146] 'Effect of constraints on the dynamics of macromolecules'.  
VAN GUNSTEREN W., KARPLUS M.  
Macromolecules, **15**, (1982), 1528.
- [147] BOYD G.  
J. Chem. Phys., **49**, (1968), 2574.
- [148] 'CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization and dynamics calculations.'  
BROOKS B., BRUCCOLERI R., OLAFSON B., STATES D., SWAMINATHAN S.,  
KARPLUS M.  
J. Comput. Chem., **4/2**, (1983), 187.
- [149] 'The QCFF/ $\pi$  - MCA program package efficiency and versatility in molecular mechanics.'  
Warshel A.  
Computers & Chemistry, **1**, (1977), 195.
- [150] 'Conformations of  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-glucopyranose from an empirical force field.'  
KILDEBY K., MELBERG S., RASMUSSEN K.  
Acta Chemica Scandinavica, **A31**, (1977), 1.

[151] 'Conformations of disaccharides by empirical force-field calculations: part III,  $\beta$ -Gentiobiose.'

MELBERG S., RASMUSSEN K.  
Carbohydr. Res., **78**, (1980), 215.

[152] 'A simplified force field for glucopyranose.'

MELBERG S., RASMUSSEN K.  
Acta Chemica Scandinavica, **A32**, (1978), 187.

[153] 'Conformation and anomer ratio of D-glucopyranose in different Potential Energy Function.'

RASMUSSEN K.  
Acta Chemica Scandinavica, **A36**, (1982), 323.

[154] 'Potential energy function for calculation of structures, vibrational spectra and thermodynamic functions of alkanes, alcohols, ethers and carbohydrates.'

MELBERG S., RASMUSSEN K.  
Journal of molecular structure, **57**, (1979), 215.

[155] 'The Consistent Force Field: a documentation.'

NIKETIC S., RASMUSSEN K.  
Lecture notes in Chemistry, Vol.3, Springer-Verlag, (1977).

[156] 'Small imines and oximes as model compounds in the optimization of a consistent force field potential energy function.'

HUIGE C.J., HEZEMANS A.M., RASMUSSEN K.  
Journ. Comput. Chem., **8/3**, (1987), 204.

[157] KARPLUS M., LIFSON S.  
Biopolymers, **10**, (1971), 1973.

[158] WARSHHELL A., LEVITT M., LIFSON S.  
J. Mol. Spectrosc., **33**, (1970), 84.

[159] 'Theoretical studies on the conformations of aldo-hexopyranose penta-acetates.'

VIJAYALAKSHMI K., RAO V.S.R.  
Carbohydr. Res., **29**, (1973), 427.

[160] RAO V.S.R., VIJAYALAKSHMI K., SUNDARARAJAN P.  
Carbohydr. Res., **17**, (1971), 341.

[161] SUNDARARAJAN P.  
Biopolymers, **8**, (1969), 313.

[162] SCHELLMANN J., LIFSON S.  
Biopolymers, **12**, (1973), 315.

[163] LEMIEUX R., STEVENS J.  
Can. J. Chem., **44**, (1966), 249.

[164] 'Conformations of disaccharides by empirical force-field calculations: part I,  $\beta$ -Maltose.'

MELBERG S., RASMUSSEN K.  
Carbohydr. Res., **69**, (1979), 27.

- [165] 'Conformations of disaccharides by empirical force-field calculations: part II,  $\beta$ -Cellobiose.'  
MELBERG S., RASMUSSEN K.  
Carbohydr. Res., **71**, (1979), 25.
- [166] 'Conformations of disaccharides by empirical force field calculations: Part IV.  $\beta$ -galactobiose.'  
RASMUSSEN K.  
Acta Chemica Scandinavica, **A40**, (1986), 149.
- [167] 'Inclusion of non-bonded interactions in calculations of vibrational frequencies.'  
SUNDIUS T., RASMUSSEN K.  
Journal of molecular structure, **65**, (1980), 215.
- [168] 'Three-dimensional description of molecular normal vibrations.'  
RASMUSSEN K.  
Computers & Chemistry, **10/4**, (1986), 309.
- [169] 'Development of potential energy functions for use in conformational analysis.'  
RASMUSSEN K.  
Strategies for Computer Chemistry, Ed. TOSI, **13**, (1989), Kluwer Academic Publishers.
- [170] 'The synthesis and conformational properties of the diastereoisomeric  $\beta$ -D-Gal(1->4)  $\beta$ -D-GlcNAc(1->6)6-C-CH<sub>3</sub>-D-Gal trisaccharides.'  
LEMIEUX R., WONG T., THOGERSEN H.  
Can. J. Chem., **60**, (1982), 81.
- [171] BURKERT U.  
Tetrahedron, **33**, (1977), 2237.
- [172] 'Conformational energy calculations and proton nuclear overhauser enhancements reveal a unique conformation for blood group A oligosaccharides.'  
BUSH A., YAN Z., RAO B.  
J. Am. Chem. Soc., **108**, (1986), pp 6168-6173.
- [173] PAULSEN H., PETERS T., SINNWELL V., LEBUHN R., MEYER B.  
Liebigs Ann. Chem., (1984), 951.
- [174] PAULSEN H., PETERS T., SINNWELL V., LEBUHN R., MEYER B.  
Liebigs Ann. Chem., (1985), 489.
- [175] 'The application of molecular mechanics to the structures of carbohydrates.'  
JEFFREY G., TAYLOR R.  
J. Comput. Chem., **1/1**, (1980), 99.
- [176] ALLINGER N., CHUNG D.  
J. Am. Chem. Soc., **98**, (1976), 6798.
- [177] 'Conformational-energy calculations for oligosaccharides: a comparison of methods and a strategy of calculation.'  
TVAROSKA I., PEREZ S.  
Carbohydr. Res., **149**, (1986), 389.
- [178] ALLINGER N.  
J. Am. Chem. Soc., **99**, (1977), 8127.

- [179] PEREZ S.  
Thèse d'Etat, (1978), Université de Grenoble.
- [180] 'Solvent-specific energy surfaces of carbohydrates: the mannobiose case.'  
JIMENEZ-BARBERO J., NOBLE O., PFEFFER C., PEREZ S.  
New J. Chem., **12**, (1988), 941.
- [181] 'Rigid- and relaxed-residue conformational analyses of cellobiose using the computer program MM<sub>2</sub>.'  
FRENCH A.D.  
Biopolymers, **27**, (1988), 1519.
- [182] 'Comparisons of rigid and relaxed conformational maps for cellobiose and maltose.'  
FRENCH A.  
Carbohydr. Res., **188**, (1989), 206.
- [183] 'Relaxed potential energy surfaces of maltose.'  
TRAN V., BULEON A., IMBERTY A., PEREZ S.  
Biopolymers, **28**, (1989), 679.
- [184] 'Data bank of three-dimensional structures of disaccharides, a tool to build 3D structures of oligosaccharides. Part I. Oligo-mannose type N-glycans.'  
IMBERTY A., GERBER S., TRAN V., PEREZ S.  
Glycoconjugate Journal, **7**, (1990), 27.
- [185] 'Calculation of the conformations and frequencies of the vibrational spectra of various monosaccharides.'  
ANDRIANOV V., ZHBANKOV R., DASHEVSKII V.  
Zhurnal Strukturnoi Khimii, **21/1**, (1980), 42.
- [186] HERMANS J., McQUEEN J.  
Acta Cryst., **A30**, (1974), 730.
- [187] ALLINGER N., YUH Y.  
QCPE 395, Chemistry Department, Indiana Univ., Bloomington, USA.
- [188] FERRO D., PROVASOLI A., RAGAZZI M., TORRI G., CASU B. GATTI G., JACQUINET J., SINAY P., PETITOU M. CHOAY J.  
J. Am. Chem. Soc., **108**, (1986), 6773.
- [189] 'Calculation of the conformation of glycosphingolipids 1.  $\beta$ -D-glucosyl-N-(2-D-hydroxyoctadecanoyl)-D-dihydrosphingosine (glucosyl-ceramide) and  $\alpha$ -D-N-acetylneuraminyl-(2->3)- $\beta$ -D-galactose.'  
WYNN C.H., MARSDEN A., ROBSON B.  
J. Theor. Biol., **119**, (1986), 81.
- [190] 'Derivation of parameters for calculations on carbohydrate systems, including Bacterial Cell Wall peptidoglycan.'  
MARSDEN A., ROBSON B., THOMPSON S.  
J. Chem. Soc., *Faraday Trans.1*, **84/8**, (1988), 2519.
- [191] STILLINGER F., RAHMAN A.  
J. Chem. Phys., **60**, (1974), 1545.
- [192] OWICKI J., SHERAGA H.  
J. Am. Chem. Soc., **99**, (1977), 7413.

- [193] SWAMINATHAN S., HARRISON S., BEVERIDGE D.  
J. Am. Chem. Soc., **100**, (1978), 5705.
- [194] DANG L., PETTITT B.  
J. Chem. Phys., **86**, (1987), 6560.
- [195] OKAZAKI S., NAKANISHI K., TOUHARA H.  
J. Chem. Phys., **81**, (1984), 890.
- [196] TANAKA H., NAKANISHI K., TOUHARA H.  
J. Chem. Phys., **81**, (1984), 4065.
- [197] KUHARSKI R., ROSSKY P.  
J. Am. Chem. Soc., **106**, (1984), 5794.
- [198] TANAKA H., NAKANISHI K., TOUHARA H.  
J. Chem. Phys., **82**, (1985), 5184.
- [199] ROSSKY P., KARPLUS M.  
J. Am. Chem. Soc., **101**, (1979), 1913.
- [200] RAVISHANKER G., MEZEI M., BEVERIDGE D.  
J. Comp. Chem., **7**, (1986), 345.
- [201] AHLSTROM P., TELEMAN O., JÖNSSON B.  
J. Am. Chem. Soc., **110**, (1988), 4198.
- [202] 'Dynamics of folded proteins.'  
McCAMMON J., GELIN G., KARPLUS M.  
Nature, **267**, (1977), 585.
- [203] 'Dynamics of proteins: elements and function'.  
KARPLUS M., McCAMMON J.  
Ann. Rev. Biochem., **53**, (1983), 263.
- [204] 'Molecular mechanics and dynamics in protein design'.  
KOLLMAN P., VAN GUNSTEREN W.  
Methods in Enzymology, **154**, (1987), 430.
- [205] 'La dynamique des protéines'.  
KARPLUS M., MCCAMMON J.  
Pour la Science, **Juin**, (1986), 42.
- [206] 'Molecular Dynamics and Protein Structure'.  
Proc. of a workshop, North-Carolina,  
HERMANS J. Edt., (1984).
- [207] 'Proteins :A theoretical perspective of dynamics, structure and thermodynamics'.  
BROOKS C., KARPLUS M., PETTITT B.  
Advances in Chemical Physics, Vol LXXI, Wiley-Interscience, New-York.
- [208] 'Computer experiments on classical fluids. I Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules'.  
VERLET L.  
Phys. Rev., **159**, (1967), 98.

- [209] 'Some multistep methods for use in molecular dynamics calculations'.  
BEEMAN D.  
J. Comp. Phys., **20**, (1976), 130.
- [210] VAN GUNSTEREN W., BEREDSEN H.  
Mol. Phys., **34**, (1977), 1311.
- [211] 'Numerical initial value problems in ordinary differential equations'.  
GEAR C.  
Prentice Hall, England Cliff, NY, (1977).
- [212] 'Molecular dynamics of native protein: computer simulation of trajectories'.  
LEVITT M.  
J. Mol. Biol., **168**, (1983), 595.
- [213] 'A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins'.  
WEINER S., KOLLMAN P., CASE D., SINGH U., GHIO C., ALAGOMA G., PROFETA S., WEINER P.  
J. Am. Chem. Soc., **106**, (1984), 765.
- [214] 'DISCOVER', BIOSYM technologies Inc.,  
10065 Barnes Canyon Road Suite A, San Diego, CA, 92 121, USA.
- [215] 'Validation of the general purpose Tripos 5.2 force field'.  
CLARK M., CRAMER III R., VAN OPDENBOSCH N.  
Tripos 5.3 Force Field. SYBYL. *Tripos associates*, 1699s Hanle road, suite 303, St Louis, MO, 63144, SYBYL 5.2 1988.
- [216] 'Molecular dynamics simulations of  $\alpha$ -D-glucose.'  
BRADY J.  
J. Am. Chem. Soc., **108**, (1986), 8153.
- [217] 'Molecular dynamics simulations of  $\beta$ -D-glucopyranose.'  
BRADY J.  
Carbohydr. Res., **165**, (1987), 306.
- [218] 'Molecular dynamics simulations of  $\alpha$ -D-glucose in aqueous solution.'  
BRADY J.  
J. Am. Chem. Soc., **111**, (1989), 5155.
- [219] 'Solvent effect on the conformation of the hydroxymethyl group established by molecular dynamics simulations of methyl- $\beta$ -D-glucoside in water.'  
KROON-BATENBURG L., KROON J.  
Biopolymers, **29**, (1990), 1243.
- [220] 'Conformational analysis and molecular dynamics simulations of maltose.'  
HA S., MADSEN L., BRADY J.  
Biopolymers, **27**, (1988), 1927.
- [221] '500-picosecond molecular dynamics in water of the Man, $\alpha$ 1—2Man $\alpha$  glycosidic linkage present in Asn-linked oligomannose type structures on glycoproteins.'  
EDGE C., SINGH U., BAZZO R., TAYLOR G., DWEK R., RADEMACHER T.  
Biochemistry, **29/8**, (1990), 1971.

[222a] 'Disaccharide conformational flexibility. I. An adiabatic potential energy map for sucrose.'

TRAN V., BRADY J.  
Biopolymers, **29**, (1990), 961.

[222b] 'Disaccharide conformational flexibility. II. Molecular dynamics simulations of sucrose.'

TRAN V., BRADY J.  
Biopolymers, **29**, (1990), 977.

[223] POST C., BROOKS B., KARPLUS M., DOBSON C., ARTYMIUK P.,  
CHEETHAM J., PHILLIPS D.  
J. Mol. Biol., **190**, (1986), 455.

[224] 'Asymmetric oscillations in cyclodextrin - A molecular dynamics study.'  
PRABHAKARAN M., HARVEY S.  
Biopolymers, **26**, (1987), 1087.

[225] KOEHLER J., SAENGER W., VAN GUNSTEREN W.  
Eur. Biophys. J., **15**, (1987), 197.

[226] KOEHLER J., SAENGER W., VAN GUNSTEREN W.  
Eur. Biophys. J., **15**, (1987), 211.

[227] 'Molecular dynamics simulations and the conformational mobility of blood group oligosaccharides.'  
YAN Z., BUSH A.

[228] 'A revised potential energy surface for molecular mechanics studies of carbohydrates'.  
HA S., GIAMMONA A., FIELD M., BRADY J.  
Carbohydr. Res., **180**, (1988), 207.

[229] V. TRAN  
Communication personnelle.

[230] 'The molecular force field.'  
SHIMANOUCI T.  
In Physical Chemistry an Advance treatise, Vol 4, Ed. Henderson, Academic Press, (1970).

[231] ECKART C.  
Phys. Rev., **47**, (1935), 552.

[232] SAYVETZ A.  
J. Chem. Phys., **6**, (1939), 383.

[233] 'Molecular vibrations.'  
WILSON E., DECIUS J., CROSS P.  
Mc Graw Hill, New York, (1958).

[234] MIYAZAWA T.  
J. Chem. Phys., **29**, (1958), 246.

[235] 'Intermolecular force field calculations: methods and applications.'  
LEVIN I., PEARCE R.  
In vibrational spectra and structure, Vol 4/3, Ed. DURIG J., Elsevier, (1975).

- [236] 'Analyse vibrationnelle de molécules du type  $C_2O_2XY$ .'  
FLEURY G.  
Thèse de l'Université de Montpellier, (1970).
- [237] 'Vibrating molecules.'  
GANS P.  
Chapman & Hall, (1977).
- [238] 'Molecular vibrations of crystal.'  
DECIUS J., HEXTER R.  
McGraw Hill, (1977), New-York.
- [239] 'Molecular spectroscopy.'  
GRAYBEAL J.  
McGraw Hill, (1988), New-York.
- [240] 'Vibrational states.'  
CALIFANO S.  
J. WILEY & Sons Ltd., (1976).
- [241] 'Spectrochimie moléculaire.'  
WOJCOWIAK & CHABANEL  
CNRS, (1976), Paris.
- [242] 'Spectres de vibration et symétrie des cristaux.'  
POULET H., MATHIEU J.P.  
Gordon & Breach
- [243] 'Vibrational analysis of n-paraffins.'  
SNYDER R., SCHACHTSCHNEIDER J.  
Spectrochimica Acta, **19**, (1963), 117.
- [244] UREY H., BRADLEY C.  
Phys. Rev., **38**, (1931), 1969.
- [245] 'Force constants of small molecules.'  
SHIMANOUCI T.  
Pure Appl. Chem., **7**, (1963), 131.
- [246] 'A vibrational molecular force field of model compounds with biological interest. I. Harmonic dynamics of crystalline urea at 123K.'  
DERREUMAUX P., VERGOTENG., LAGANT P.  
J. Comput. Chem., **11**, (1990).
- [247] 'A vibrational molecular force field of compounds with biological interest.'  
DAUCHEZ M., DERREUMAUX P., LAGANT P., VERGOTEN G.  
*Modelling of molecular structures and properties*, Proc.Int. Meet., Nancy, France;  
RIVAIL J.L. Ed.  
Studies in Physical and Theoretical Chemistry, Vol. 71, (1990), Elsevier, Amsterdam.
- [248] BOERIO F., KOENIG J.  
J. Polym. Sci., **A2/9**, (1971), 157.

## CHAPITRE III

# Modélisation moléculaire de la partie glycanique d'une glycoprotéine.

I. Introduction	p 108
II. Présentations du glycanne et de la modélisation moléculaire	p 108
II.1 La structure du glycanne	p 109
II.2 Présentation de la modélisation moléculaire	p 110
II.2.a Matériel informatique et logiciels	p 110
II.2.b Conditions de la modélisation moléculaire	p 110
III. Résultats et discussion de la modélisation moléculaire	p 112
Liaison glycosidique $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-4GlcNAc}$	p 112
Liaison glycosidique $\text{Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}$	p 112
Liaison glycosidique $\text{Fuca}\alpha,1\text{-6GlcNAc}$	p 113
Liaison glycosidique $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$	p 115
Liaison glycosidique $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$	p 115
Liaison glycosidique $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\alpha$	p 115
Liaison glycosidique $\text{Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	p 118
Liaison glycosidique $\text{NeuAc}\alpha,2\text{-6Gal}\beta$	p 118
Liaison glycosidique dans la structure glycanique	p 120
Construction de différents glycannes	p 120
Conclusion	p 122
IV. Dynamique moléculaire du glycanne	p 123
IV.1 Conditions de la dynamique moléculaire	p 123
IV.2 Résultats et discussion	p 124
V. Conclusion	p 126

# Modélisation moléculaire de la partie glycanique d'une glycoprotéine.

## I. Introduction

L'importance des glycoconjugués dans le milieu biologique n'est plus à démontrer. Pour comprendre leurs activités et leurs mécanismes d'action, il est indispensable de ne pas dissocier le comportement de la partie glycanique de celui de la partie macromoléculaire. Or, ce n'est que depuis une quinzaine d'années que l'on s'intéresse à cette partie glucidique qui, pendant longtemps, avait été considérée comme dénuée de toute "intelligence biologique". Il est maintenant admis que la plupart des mécanismes mettant en jeu des glycoconjugués ne peuvent pas s'interpréter sans prendre en considération le glycanne.

Ceci est notamment le cas dans la chimie des glycoprotéines [1,2]. Il faut cependant, pour comprendre la fonction d'une glycoprotéine, essayer de déchiffrer le message contenu par le glycanne. On est donc tout naturellement amené à se poser les questions suivantes [3-5]:

- pourquoi les protéines sont-elles glycosylées?
- quels sont les modes d'action des glycannes et comment agissent-ils:
  - dans les mécanismes de reconnaissance et d'association avec des virus, avec des enzymes ( pendant la biosynthèse des glycannes ), avec des lectines,
  - dans la protection de la chaîne peptidique contre des attaques protéolytiques,
  - dans l'induction et dans le maintien de la conformation de la protéine,
  - dans la diminution de l'immunogénicité des protéines,
  - dans l'adhésion intra-cellulaire, la reconnaissance et l'inhibition de contact... ?.

Pour répondre à ces questions, la seule connaissance de la structure primaire des chaînes glycaniques n'est pas suffisante. Une connaissance précise de la structure tridimensionnelle, de la flexibilité et par conséquent de l'adaptabilité conformationnelle est fondamentale pour tenter d'expliquer les différents rôles fonctionnels qui leur sont ou pourraient leur être attribués.

Malheureusement, nous avons vu que, pour les glycanes, les méthodes physico-chimiques permettant d'accéder aux données conformationnelles sont relativement réduites ( Cf. Chap I. et II. ). Les méthodes théoriques de modélisation moléculaire sont donc tout à fait adaptées à ce type d'étude.

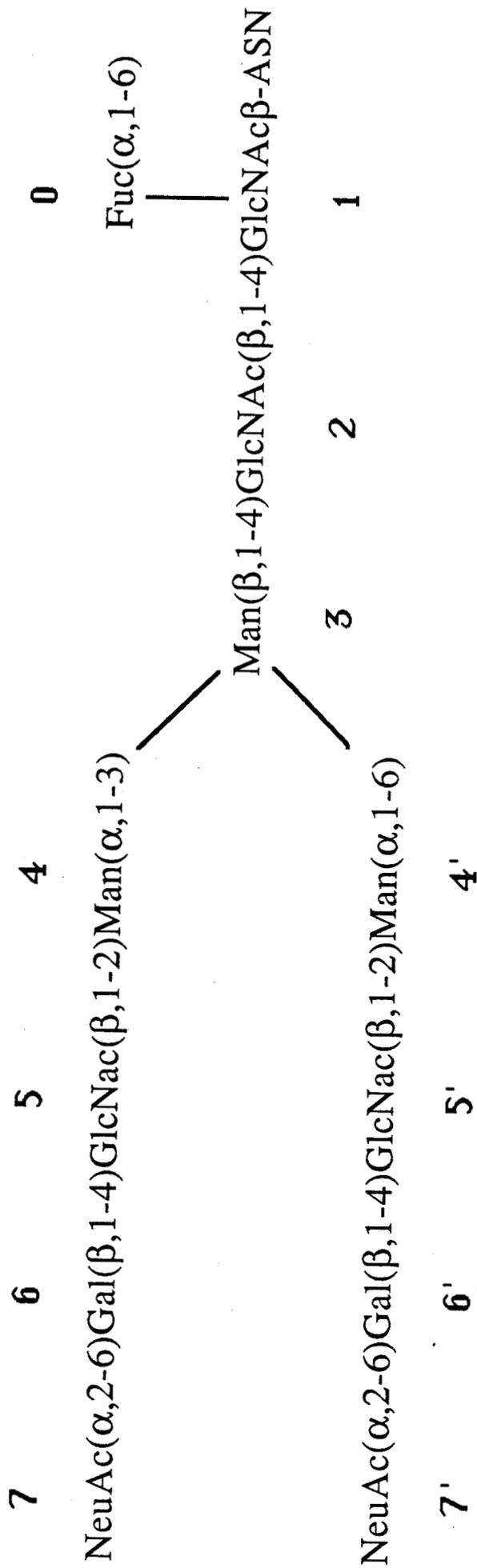
C'est dans ce but que nous avons réalisé, en collaboration avec le laboratoire de Chimie-Biologique du Professeur Montreuil de l'Université de Lille I, une modélisation moléculaire de glycanne existant dans la lactotransferrine humaine [6]. Après avoir décrit la structure du glycanne et la technique de modélisation moléculaire utilisée, les résultats seront présentés et comparés aux différentes études existantes. Des structures présentant des conformations différentes sont obtenues et tout naturellement il était intéressant d'effectuer un calcul de dynamique moléculaire pour essayer d'appréhender le passage entre les différentes structures. Ces résultats sont présentés dans le dernier paragraphe.

## II. Présentations du glycanne et de la modélisation moléculaire

### II.1 La structure du glycanne

Les glycanes peuvent appartenir à deux classes de glycoprotéines: les O-glycosylprotéines et les N-glycosylprotéines [1-5]: celui étudié ici, fait parti de la seconde classe, c'est à dire qu'il est relié à la protéine par une liaison N-glycosyle par l'intermédiaire d'un résidu asparagine. Dans cette classe de glycoprotéine, il est de type N-acétyl lactosaminique caractérisé par les résidus qui le constituent: N-acétyl glucosamine, mannose, galactose, fucose et acide sialyque [1-5].

La molécule étudiée est celle rencontrée dans la lactotransferrine humaine [6], un glycanne biantenné disialylé monofucosylé ( Fig. III.1). Il est constitué d'un corps commun (  $\text{Asn-GlcNAc}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta,1\text{-4Man}\alpha,1\text{-3[Man}\alpha,1\text{-6]}$  ) qui se retrouve dans



**Figure III.1:** Structure du glycanne biantenné disialylé monofucosylé de type N-acétyl lactosaminique.

toutes les N-glycosylprotéines. Sur ce corps commun viennent se brancher des résidus saccharidiques qui constituent les antennes du glycanne. Cette partie du glycanne et la flexibilité qui l'accompagne, confèrent au glycanne sa spécificité.

## II.2 Présentation de la modélisation moléculaire

Comme déjà signalé dans les chapitres d'introduction, les données conformationnelles expérimentales étaient, lorsque nous avons commencé ce travail, inexistantes sur une structure complète. L'infographie moléculaire nous a permis de pallier ces problèmes.

### II.2.a Matériel informatique et logiciels

La construction du glycanne a été réalisée sur un écran graphique tridimensionnel haute résolution PS350 Evans & Sutherland. Celui-ci est relié à l'ordinateur hôte Vax 6320 du Centre d'Etudes et de Recherches en Informatique Médical (CERIM) du CHR de LILLE sur lequel les calculs sont effectués.

Le logiciel de modélisation moléculaire utilisé est le logiciel SYBYL [7] avec son champ de forces Tripos 5.3 associé [8]. Ce dernier, bien que non spécialisé à l'étude des saccharides, semble toutefois capable de reproduire correctement les géométries de certains oses, comme le mannose, la N-acétyl glucosamine, le galactose ou l'arabinose [8].

Certaines visualisations ont été obtenues à l'aide des logiciels de modélisation moléculaire HYDRA [9] et MANOSK [10].

### II.2.b Conditions de la modélisation moléculaire

Le point de départ de la construction du glycanne a été l'utilisation des données cristallographiques pour des fragments existants: GlcNAc $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$  [11], Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc [12], Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$ ,1-4GlcNAc [13]. La géométrie des cycles est celle de la cristallographie et pour les autres monosaccharides les données des unités seules ont été utilisées. Tous sont supposés dans la forme  ${}^4C_1$  sauf l'acide sialique qui lui est en forme  ${}^1C_4$ . La nomenclature des liaisons glycosidique est celle explicitée au chapitre I. Les angles torsionnels sont définis par rapport aux hydrogènes ( nomenclature rencontrée en RMN ). Les groupements hydroxyles primaires ont l'orientation de la structure cristalline correspondante.

Dans un premier temps, nous avons construit le glycanne complet et essayer d'envisager ses différentes conformations. Devant la complexité du travail, lié au nombre important de degrés de liberté, nous avons modifié notre stratégie.

A l'aide de la sous-routine SEARCH du logiciel SYBYL, permettant le balayage conformationnel de l'espace tridimensionnel, nous avons étudié les différentes conformations possibles pour tous les disaccharides constituant le glycanne. Ceci a été réalisé au moyen d'un quadrillage de l'espace de  $10^\circ$  en  $10^\circ$  pour les angles torsionnels  $\Phi_H$ ,  $\Psi_H$  et  $\omega_H$ . Pour chaque conformation, une minimisation d'énergie à l'aide de la sous-routine MAXIMIN2 de SYBYL, avec relaxation de toutes les coordonnées internes, a été effectuée. Pour chaque disaccharide, une ou plusieurs "familles" de conformères étaient obtenues ( par le terme de famille sont rassemblés les conformères correspondants à la combinaison des angles diédraux à plus ou moins 10 ou 20 degrés ).

Pour les disaccharides suivants, GlcNAc $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ , Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ , Man $\alpha$ 1-3Man $\beta$ , des calculs semi-empiriques utilisant l'hamiltonien AM<sub>1</sub> ont été réalisés pour chaque conformère observé, ceci en vue de comparer les énergies et les structures relatives à chaque conformère à celles obtenues par le champ de forces TRIPOS 5.3. Il apparaît que les résultats concordent correctement et que le champ de forces Tripos 5.3 puisse être utilisé sur des unités plus complexes. Celui-ci comprend les termes du potentiel intramoléculaire classique et les termes intermoléculaires de van der Waals et électrostatique ( les charges provenant de AM<sub>1</sub> ).

Ainsi, pour chaque disaccharide l'influence du résidu se trouvant en position réduite ou non a été envisagée. Les conformations de chaque liaison glycosidique ont donc, de la même manière que pour les disaccharides seuls, été obtenues dans l'environnement trisaccharidique. Pour des raisons de temps de calcul, l'espace conformationnel a été balayé pour chaque angle torsionnel, entre les différents résidus, de  $15^\circ$  en  $15^\circ$ .

Le point de ramification du glycanne étant être une zone clé, ses conformations ont non seulement été étudiées dans les différents environnements trisaccharidiques mais aussi dans des structures plus complexes. Dans un premier calcul, la tétrasaccharide Man $\alpha$ 1-3[Man $\alpha$ 1-6]Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$  a été envisagé avec cependant la liaison glycosidique Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$  fixée dans sa configuration la plus favorable. Ensuite, ce point de branchement a été étudié dans les pentasaccharides suivants:

Man $\alpha$ 1-3[GlcNAc $\beta$ 1-2Man $\alpha$ 1-6]Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$  et

Man $\alpha$ 1-6[GlcNAc $\beta$ 1-2Man $\alpha$ 1-3]Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ .

La complexité des structures ne permet pas de faire varier chaque angle torsionnel, les temps de calcul étant alors beaucoup trop importants. Là encore, la liaison glycosidique Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$  a été fixée dans sa configuration la plus favorable. Les liaisons glycosidiques GlcNAc $\beta$ 1-2Man $\alpha$  et Man $\alpha$ 1-3Man $\beta$  sont elles considérées

respectivement avec leur quatre et trois conformères correspondant aux énergies les plus basses.

Enfin, à partir de tous ces résultats, une structure, correspondant pour chaque liaison glycosidique à la conformation la plus favorable, a été construite et minimisée (Cf. Photo 1 ). Le calcul pour chaque liaison glycosidique a alors été entrepris, de façon à évaluer l'influence de la structure complète sur cette liaison.

### III. Résultats et discussion de la modélisation moléculaire

L'ensemble des résultats pour les principales liaisons glycosidiques est donné dans les tableaux III.1 à III.9. Les résultats pour chacune des liaisons glycosidiques dans l'environnement glycanique complet sont dans le tableau III.10 et les principales structures favorables sont envisagées dans le tableau III.11.

#### Liaison glycosidique GlcNAc $\beta$ .1-4GlcNAc

Quelque soit l'environnement, la valeur de l'angle  $\varphi_H$  reste à  $60^\circ$  et celle de  $\psi_H$  entre  $-10$  et  $-15^\circ$  ( selon la structure où elle se trouve, la liaison glycosidique n'est pas évaluée avec le même pas ). Ceci est en accord avec les valeurs de la cristallographie [11]. Cependant, dans des modélisations différentes, Biswas et al. [14] décrivent des couples ( 51, 6 ) et ( 10, -40 ) différents et Imberty et al. [15] envisagent des variations de  $25^\circ$  à  $145^\circ$  et de  $-50^\circ$  à  $210^\circ$  pour  $\varphi_H$  et  $\psi_H$  respectivement. Ces différences peuvent provenir des termes de l'énergie potentielle pris en compte et des valeurs des paramètres qui les accompagnent. La présence d'une liaison hydrogène intra-moléculaire O<sub>5</sub>...O<sub>3</sub>' doit stabiliser le disaccharide. La présence ou non de l'asparagine dans le calcul ne modifie en rien les résultats.

#### Liaison glycosidique Man $\beta$ .1-4GlcNAc

Les résultats concernant cette liaison glycosidique sont résumés dans le tableau III.1. Les valeurs calculées sont relativement constantes, autour de ( 50, -20 ), les différences peuvent provenir du pas d'intégration selon la structure étudiée. Les résultats de la littérature [14,15] sont accords avec ceux-ci. Ici encore, la présence d'une liaison

hydrogène intra-moléculaire O<sub>5</sub>...O<sub>3</sub>' doit stabiliser le disaccharide. Cependant, la présence du mannose sur l'antenne en 6 semble bouleverser légèrement les valeurs de la liaison glycosidique ( 75, -15 ) et attribuer à cette liaison une faible mobilité qui pourrait alors perturber la liaison hydrogène intramolécule.

**Tableau III.1:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$  dans ses différents environnements.

Structure	( $\varphi_H, \psi_H$ )	$\delta E$
Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	( 40,-20 )	0,
Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	( 45,-30 )	0,
Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$ ,GlcNAc $\beta$	( 60,-15 )	0,
Man $\alpha$ ,1-6Man $\beta$ ,GlcNAc $\beta$	( 75,-15 )	0,

Liaison glycosidique Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc

**Tableau III.2:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc $\beta$  dans ses différents environnements, avec et sans le résidu asparagine ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Structure	*	( $\varphi_H, \psi_H, \omega_H$ )	$\delta E$
Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc $\beta$	I	( 60,170,180 )	0,
	II	( 60,180, 50 )	0,38
	III	(60,180,-60 )	1,40
	IV	(-60,150,170 )	3,58
Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc $\beta$ -Asn	I	( 60,170,170 )	0,
	II	( 60,180, 50 )	0,49
	VI	( 60,-60,-40 )	0,83
	V	( 40, 90,-60 )	1,17
	IV	(-60,180,170 )	1,32
GlcNAc $\beta$ ,1-4[Fuc $\alpha$ ,1-6]GlcNAc $\beta$	I	( 60,180,170 )	0,
GlcNAc $\beta$ ,1-4[Fuc $\alpha$ ,1-6]GlcNAc $\beta$ -Asn	I	( 60,180,165 )	0,

Les résultats pour cette liaison sont donnés dans le tableau III.2. On peut noter pour cette liaison présentant une grande flexibilité ( liaison 1-6 avec trois angles diédraux ) des différences notables selon l'environnement considéré. Ainsi, les conformères I et II ne varient pas dans le disaccharide avec et sans Asn. Ceci n'est pas vrai pour les autres conformères et, par exemple, des modifications d'angles notables apparaissent ( conformère III ( 60, 180, -60 ) au conformère V ( 60, 90, -60 ) ) et des différences d'énergies relativement importantes existent ( conformère IV ). Lorsqu'une glucosamine est ajoutée, les conformères II à V disparaissent par différence d'énergie trop importante et seule le conformère I reste stable. Ceci est en accord avec les résultats expérimentaux de RMN [16,17] qui procurent la valeur ( 60, 150, 180 ).

**Tableau III.3:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$  dans ses différents environnements trisaccharidiques et pentasaccharidiques ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Structure	*	( $\varphi_H, \psi_H$ )	$\delta E$
$\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$	I	( -60,-30 )	0,
	II	( -30, 60 )	1,52
$\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	I	( -60,-30 )	0,
	II	( -30,-45 )	0,71
	III	( 45, 30 )	3,39
$\text{Man}\alpha,1\text{-3}[\text{Man}\alpha,1\text{-6}]\text{Man}\beta$	I	( -60,-20 )	0,32
	II	( -40, 40 )	0,
	III	( 40, 40 )	0,62
	IV	( 80, 60 )	0,09
$\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$	I	( -60,-45 )	0,
	II	( -30, 45 )	3,21
$\text{Man}\alpha,1\text{-3}[\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha,1\text{-6}]\text{-Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	I	( -60,-40 )	0,
	II	( -20, 40 )	4,70
$\text{Man}\alpha,1\text{-6}[\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha,1\text{-3}]\text{-Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	I	( -60,-40 )	0,
	II	( -20, 40 )	4,94

Il semble donc que, dans un environnement plus complexe que celui du disaccharide, des conformations soient impossibles et que la mobilité du fucose soit réduite, en partie due au groupement acétamido de la glucosamine 2. De plus, il faut considérer que ces calculs sont effectués pour une molécule isolée et que le fucose pourrait adopter une autre conformation en présence de la chaîne peptidique.

#### Liaison glycosidique Man $\alpha$ .1-3Man $\beta$

Les conformères I et II sont retrouvées dans toutes les structures. En particulier, le conformère I est en accord avec les valeurs observées ( -57.6, -19.4 ) dans la structure cristalline de Warin *et al.* [13] et dans les résultats de RMN [16,17]. Le conformère II a lui été décrit par Imberty *et al.* [15]. On peut toutefois remarquer que ce conformère II devient le plus favorable dans le trisaccharide lorsque le mannose en 6 est ajouté. De même, il est intéressant de constater que de nouveaux conformères ( avec un  $\phi_H$  positif ) peuvent apparaître dans certaines structures trisaccharidiques ( Cf. tableau III.3 ). Ceux ci disparaissent dans les structures pentasaccharidiques. Le conformère II dans les pentasaccharides qui, bien que présentant une différence d'énergie assez importante, est conservé. En effet, pour ces valeurs ( -20, 40 ) toutes les conformations des autres liaisons glycosidiques peuvent être retrouvées avec une différence d'énergie égale à celle de la liaison Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$ .

#### Liaison glycosidique GlcNAc $\beta$ .1-2Man $\alpha$

Pour cette liaison deux conformères sont trouvés dans le disaccharide ( Cf. Tableau III.4 ) alors que Brisson *et al.* [16,17] n'en trouvent qu'un à l'aide de la méthode HSEA ( 40,30 ). Cependant, récemment dans une interprétation de données de RMN, deux populations de conformères sont obtenues [18]. Ceci prouve que les résultats de RMN ne peuvent être interprétés en terme de conformation unique. Le fait d'ajouter des unités ( trisaccharides ou pentasaccharides ) augmente le nombre de possibilité et alors le conformère II devient le plus probable. Il est à noter que les valeurs de la liaison glycosidique sur l'antenne en 3 sont de 20° à 40° plus faibles que celles de l'antenne en 6.

#### Liaison glycosidique Man $\alpha$ .1-6Man $\alpha$

Les résultats concernant ce point stratégique sont donnés dans les tableaux III.5 à III.7.

**Tableau III.4:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$  dans ses différents environnements trisaccharidiques et pentasaccharidiques ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Structure	*	( $\varphi_H, \psi_H$ )	$\delta E$
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$	I	( 70, 55 )	0,
	II	( 40, -55 )	0,60
Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$	I	( 75, 45 )	0,29
	II	( 30,-60 )	0,
	III	( -30, -60 )	0,09
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$	I	( 75, 30 )	2,0
	II	( 45, -60 )	0,
	III	( -15, -45 )	1,82
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ ,1-6Man $\beta$	I	( 60, 30 )	1,63
	II	( 30, -60 )	0,
	III	( -30, -60 )	0,21
Man $\alpha$ ,1-3[GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ ,1-6]- Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	I	( 80, 60 )	2,65
	II	( 60,-40 )	0,
	III	( -20,-40 )	1,70
Man $\alpha$ ,1-6[GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ ,1-3]- Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	I	( 60, 20 )	1,36
	II	( 20, -60 )	0,
	III	( -20, -40 )	0,77
	IV	( 100, -40 )	2,74

Le disaccharide présente 6 conformères dont 5 avec une valeur  $\varphi_H$  négative ( Tableau III.5 ). Ces résultats corroborent les données de RMN [18] si ce n'est qu'un conformère supplémentaire avec un  $\omega_H$  de 50° apparaît. Le conformère VI avec les trois valeurs négatives n'est pas retrouvé dans les autres structures. L'addition d'une glucosamine en position réduite ou non interdit certains conformères et en amène un autre ( -60, 90, -75 ).

Si l'on considère maintenant cette liaison avec les conformères les plus favorables existant pour la liaison Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$  on obtient les résultats du tableau III.6. Ainsi, pour le couple ( -60, -40 ) de Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$  tous les conformères précédents sont retrouvés et vient s'ajouter la solution VIII. Lorsque l'énergie des couples de la liaison en trois augmente, le nombre de possibilités diminue et n'est plus

que de trois pour le couple ( 80, 60 ). Ceci démontre que les valeurs de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$  dépendent de celles de  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$ .

**Tableau III.5:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$  dans ses différents environnements trisaccharidiques ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Structure	*	( $\varphi_H, \psi_H, \omega_H$ )	$\delta E$
$\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$	I	( -60, 180, 180 )	0,
	II	( -60, 180, -50 )	0,59
	III	( -70, 80, 170 )	0,69
	IV	( -60, 180, 60 )	1,03
	V	( 50, 180, 50 )	1,26
	VI	( -40, -50, -40 )	1,33
$\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	I	( -60, 180, 180 )	4,08
	II	( -60, 180, -75 )	0,
	III	( -60, 90, 165 )	4,62
	IV	( -60, 180, 60 )	4,58
	VII	( -60, 90, -60 )	5,42
$\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$	I	( -60, 180, 180 )	0,
	II	( -60, 180, -60 )	0,50
	IV	( -60, 180, 45 )	0,86
	VII	( -60, 75, -75 )	1,51

De même, lorsque l'on ajoute sur l'une ou l'autre branche la glucosamine, pour étudier le comportement de la liaison  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$  dans le pentasaccharide correspondant, on obtient les résultats du tableau III.7. Les conformères I à III se retrouvent pour chaque couple de  $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$ . Cependant, pour la valeur ( 120, -40 ) ces conformères n'existent que dans le pentasaccharide portant la glucosamine sur la branche en 6. Ceci souligne le comportement asymétrique des deux antennes.

Si l'on considère ces mêmes calculs avec le couple ( -20, 40 ) de  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$ , les résultats obtenus sont identiques à ceux-ci avec un décalage en énergie de 4,94 kcal/mol ( Cf. tableau III.3 ).

**Tableau III.6:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$  dans le tétrasaccharidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-3}[\text{Man}\alpha,1\text{-6}]\text{Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$  et calculés pour les trois valeurs de plus basses énergie de la liaison  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$ , la liaison  $\text{Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}$  étant pris dans la conformation ( 60, -15 ) ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Conformation de la liaison $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$	*	( $\varphi_H, \psi_H, \omega_H$ )	$\delta E$
$\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$ ( -60, -40 )	I	( -60, 180, 180 )	0,33
	II	( -60, 180, -60 )	0,37
	III	( -60, 90, 180 )	0,85
	IV	( -60, 180, 40 )	0,53
	V	( 60, 180, 40 )	0,32
	VII	( -60, 80, -60 )	2,56
	VIII	( 60, 180, -40 )	1,74
	$\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$ ( -40, 40 )	I	( -60, 180, 180 )
II		( -60, 180, -60 )	0,04
III		( -60, 80, 160 )	1,40
V		( 60, 180, 40 )	0,
IX		( -60, 180, 0 )	1,89
$\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$ ( 80, 60 )		I	( -60, 180, 180 )
	II	( -60, 180, -60 )	0,19
	III	( -60, 80, 160 )	1,09

#### Liaison glycosidique $\text{Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$

Les valeurs obtenues sont relativement constantes autour de ( 60, -15 ) et sont données dans le tableau III.8. On les retrouve quelle que soit la structure et elles sont en accord avec les valeurs de la littérature ( 60, 0 ) [19].

#### Liaison glycosidique $\text{NeuAc}\alpha,2\text{-6Gal}\beta$

Pour cette liaison, l'angle  $\omega_H$  est principalement en conformation trans-gauche ( Tableau III.9 ). L'angle  $\psi_H$  ne peut prendre que les valeurs 180° et -90°, alors que  $\varphi_H$  peut balayer tout l'espace conformationnel. L'addition du galactose amène un nouveau conformère ( -60, 210, -60 ). avec l'orientation gauche-trans. Ces résultats sont en accord avec ceux de Breg *et al.*[19] déterminés en solution.

**Tableau III.7** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\alpha$  suivant l'influence des valeurs de la liaison  $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$  dans les deux pentasaccharidiques. Les valeurs de  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}$  et de  $\text{Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta 1$  sont respectivement de ( -60, -40 ) et de ( 60, -15 ) ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Liaison $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$	*	$(\varphi_H, \psi_H, \omega_H)$	Bras en 6	Bras en 3
			$\delta E$	$\delta E$
$\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$ ( 60, -40 )	I	( -60, 180, 180 )	2,05	3,22
	II	( -60, 180, -60 )	0,25	0,
	III	( -60, 80, 160 )	0,	3,77
	VII	( -60, 80, -60 )	3,91	4,93
$\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$ ( -20, -40 )	I	( -60, 180, 180 )	1,70	4,70
	II	( -60, 180, -60 )	2,25	0,77
	III	( -60, 80, 160 )	—	4,38
	VII	( 60, 100, -80 )	2,87	—
$\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$ ( 80, 40 )	I	( -60, 180, 180 )	2,65	4,42
	II	( -60, 180, -60 )	2,89	1,37
	III	( -60, 80, 160 )	3,34	5,09
$\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$ ( 120, -40 )	I	( -60, 180, 180 )	3,59	—
	II	( -60, 160, -60 )	2,74	—
	III	( -60, 80, 160 )	3,58	—

**Tableau III.8:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique  $\text{Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$  dans ses différents environnements .

Structure	$(\varphi_H, \psi_H)$	$\delta E$
$\text{Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	( 50,-15 )	0,
$\text{NeuAc}\alpha,2\text{-6Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$	( 60,-15 )	0,
$\text{Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$	( 45,-30 )	0,

**Tableau III.9:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de la liaison glycosidique NeuAc $\alpha$ ,2-6Gal $\beta$  dans ses différents environnements ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Structure	*	( $\varphi_H, \psi_H, \omega_H$ )	$\delta E$
Neuac $\alpha$ ,2-6Gal $\beta$	I	( -60, 180, 60 )	0,
	II	( -170, 180, 60 )	0,96
	III	( -70, -90, 70 )	1,09
	IV	( 50, 180, 60 )	1,33
Neuac $\alpha$ ,2-6Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	I	( -60, 180, 60 )	0,
	III	( -60, -90, 60 )	1,49
	V	( -60, 210, -60 )	0,68

#### Liaison glycosidique dans la structure glycanique

Ces résultats sont présentés dans le tableau III.10. Cette structure complète a été obtenu en additionnant les conformations de plus basse énergie de chaque liaison et en effectuant une minimisation d'énergie de cette structure au moyen de MAXIMIN2. Ce tableau montre des résultats équivalent pour les disaccharides constituant le corps commun mais amène des valeurs modifiées pour les les disaccharides entrant dans la construction des antennes. Ainsi, le conformère III de GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$  ( -30, -50 ) présente une diminution de son énergie et devient ce couple le plus probable. De même, pour la liaison de Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$  les valeurs de la liaison glycosidique tombent à ( 45, -30 ) et un nouveau conformère apparait ( 170, 0 ).

#### Construction de différents glycannes

La combinaison de tous ces conformères les plus probables peut engendrer une centaine de structures glycaniques complètes. Toutefois, certaines valeurs de liaison sont, pour des raisons géométriques, incompatibles entre elles. Cet ensemble de possibilités peut cependant se réduire à une trentaine de structures.

Parmi celles-ci, il est possible de retrouver les conformations en "Y", en "T" et en "aile brisée" précédemment décrites par MONTREUIL [3-5].

Certaines de ces structures sont présentées dans le tableau III.11.

**Tableau III.10:** Valeurs des angles de torsion ( en degrés ) et des énergies relatives ( en kcal/mol ) de chacune des liaisons glycosidiques pris dans la structure complète du biantenné. Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs de plus basse énergie, utilisées dans la structure globale et obtenue après minimisation à l'aide du champ de forces Tripos 5.3. Les numéros correspondent aux résidus de la figure III.1, le prime étant sur les résidus de l'antenne en 6. ( \* numéro du conformère utilisé dans le texte ).

Structure	*	( $\varphi_H, \psi_H$ )	$\delta E$
GlcNAc $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$ ( 63, -25 )	I	( 60, -20 )	0,
Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc $\beta$ ( 54, 161, 180 )	I	( 60, 170, 170 )	0,
	IV	( -60, 150, 170 )	0,91
	II	( 40, 90, -60 )	1,69
Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$ ( 63, -25 )	I	( 60, -15 )	0,
Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$ ( -61, -31 )	I	( -60, -30 )	0,
	II	( -40, 30 )	0,10
Man $\alpha$ ,1-6Man $\beta$ ( -64, 164, -58 )	VII	( -60, 80, -60 )	0,
	II	( -60, 180, -60 )	1,03
	III	( -60, 80, 180 )	1,74
	I	( -60, 180, 180 )	4,49
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ [5,4] ( 50, -47 )	III	( -30, -50 )	0,
	I	( 75, 70 )	0,16
	II	( 45, -50 )	0,67
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ [5',4'] ( 50, -47 )	III	( -30, -50 )	0,
	II	( 75, 55 )	1,16
	I	( 60, -30 )	1,93
Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$ [6,5] ( 45, -44 )	I	( 45, -30 )	0,
Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$ [6',5'] ( 45, -44 )	I	( 45, -30 )	0,
	II	( 170, 0 )	0,28
NeuAc $\alpha$ ,2-6Gal $\beta$ [7,6] ( -60, 210, -60 )	V	( -60, 210, -60 )	0,
	I	( -60, 180, 60 )	0,60
NeuAc $\alpha$ ,2-6Gal $\beta$ [7',6'] ( -60, 210, -60 )	I	( -60, 210, -60 )	0,51
	V	( -60, 180, 60 )	0,

**Tableau III.11:** Valeurs pour chaque liaison glycosidique des angles de torsion que l'on rencontre dans 6 structures caractéristiques de la modélisation du biantenne monofucosylé disialylé de type lactosaminique.

Liaison glycosidique	Structure	( $\phi_H, \psi_H, \omega_H$ )
GlcNAc $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	A-F	( 60, -10 )
Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc $\beta$	A-F	( 60, 170, 170 )
Man $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	A-F	( 60, -15 )
Man $\alpha$ ,1-3Man $\beta$	A-E	( -60, -30 )
	F	( -20, 40 )
Man $\alpha$ ,1-6Man $\beta$	A,B,D,F	( -60, 180, -60 )
	C	( -60, 80, -80 )
	E	( -60, 80, 180 )
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ [5,4]	A,C,E,F	( 20, -60 )
	B	( 80, 40 )
	D	( -20, -60 )
GlcNAc $\beta$ ,1-2Man $\alpha$ [5',4']	A,C,E,F	( 40, -60 )
	B	( 80, 40 )
	D	( -20, -60 )
Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc $\beta$	A-E	( 45, -30 )
NeuAc $\alpha$ ,2-6Gal $\beta$	A-E	( -60, 210, -60 )

### Conclusion

L'ensemble des structures déterminées dans ce travail de modélisation moléculaire corrobore parfaitement les résultats expérimentaux existants ( cristallographie et RMN ) et les seules prédictions spatiales décrites [3-5]. Il apparaît que, pour une structure saccharidique ramifiée et possédant des liaisons glycosidiques autres que celles en position 1-4, une structure complète ne peut être décrite comme la somme des conformères de plus basse énergie pour chacune des liaisons glycosidiques intervenant dans cette structure. De plus, de nouvelles conformations sont obtenues qui modifient l'allure tridimensionnelle de la molécule.

Il faut cependant rappeler que ces calculs ont été effectués pour une molécule isolée, sans aucune considération de l'influence de la chaîne peptidique sur la structure

entière du glycanne. Un moyen de vérifier les conformations acceptables, serait de fixer ces glycannes sur la protéine.

Les coordonnées complètes de la lactotransferrine n'étant pas connues lors de ce travail ( seules la position des carbones  $\alpha$  étaient disponibles ) nous n'avons pas pu vérifier et tester chacune de ces structures. Néanmoins, la cristallographie de la serotransferrine étant accessible [20], nous avons entrepris de fixer le glycanne correspondant, qui diffère de celui de la lactotransferrine par l'absence du résidu fucose. Il apparait que certaines structures sont parfaitement adaptées à la conformation de la protéine.

Pour envisager le passage entre les différentes structures obtenues "statiquement" une étude de dynamique moléculaire semblait tout à fait appropriée. C'est ce que nous allons envisager maintenant.

#### IV. Dynamique moléculaire du glycanne

La dynamique moléculaire est la méthode privilégiée pour balayer l'espace configurationnel d'un oligosaccharide et déterminer les différentes structures caractéristiques et leur passage entre elles. Actuellement sur ce type de glycanne, seule une étude existe, s'intéressant aux liaisons  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}$  et  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}$  [21]. Cependant, comme nous venons de le voir pour le biantenné, il ne suffit pas de connaître le comportement local d'un branchement pour déduire des informations sur l'ensemble de la molécule. La présence ou non de résidus voisins et les conformations qui les accompagnent, régissent la structure globale du glycanne. De même, la dynamique moléculaire de telle ou telle liaison d'un disaccharide de la molécule totale ne peut régir ou expliquer la dynamique moléculaire du glycanne complet.

Ainsi, avant de commencer la dynamique moléculaire de la structure complète nous avons regardé le comportement de la liaison  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}$  dans un environnement trisaccharidique ( 30 picosecondes (ps)) et pentasaccharidique ( 50 ps ). Cela a conforté nos hypothèses et il apparait qu'une dynamique moléculaire de l'ensemble est indispensable pour étudier une liaison particulière.

##### IV.1 Conditions de la dynamique moléculaire

Ayant réalisé la modélisation moléculaire du glycanne à l'aide du logiciel SYBYL et de son champ de force associé Tripos 5.3, le problème était de savoir s'il

valait mieux effectuer la dynamique avec Tripos 5.3, qui s'était avéré correct pour reproduire les conformations de la littérature, ou alors utiliser un logiciel classique de dynamique moléculaire, avec des paramètres de la fonction énergie potentielle pas forcément identiques à ceux utilisés par Tripos 5.3. Par souci de continuité du travail, la première solution a été retenue.

La structure de départ choisie est celle obtenue arbitrairement par l'ensemble des conformères les plus favorables ( Cf. Tableau III.10 ). Cette structure a été minimisée et comprend ( avec l'asparagine ) 321 atomes ( Cf. Photo 1 ).

La stratégie utilisée pour la dynamique est celle de la sous-routine DYNAMICS de SYBYL. A chaque atome est attribuée une vitesse initiale extraite d'une distribution de Boltzmann et ce à la température choisie, c'est à dire ici 300°K. Celle-ci est atteinte après un recuit simulé à 2000°K, permettant d'accéder à toutes les conformations de la molécule, par refroidissement progressif jusqu'à stabilisation autour de la température choisie.

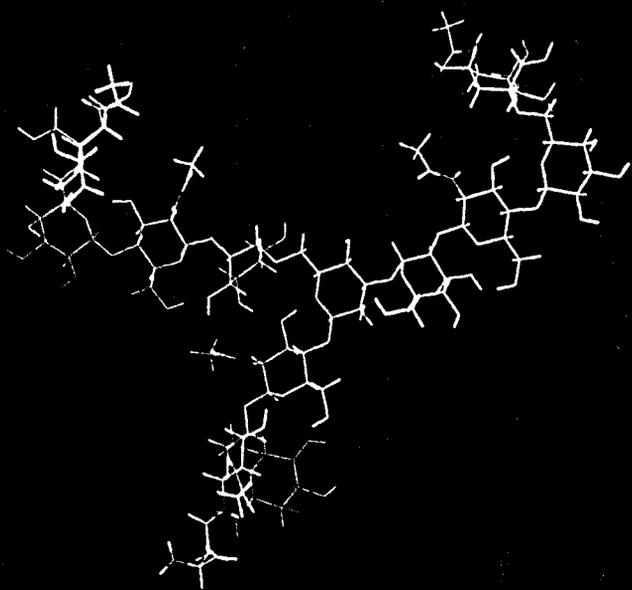
L'algorithme d'intégration utilisé est celui de Verlet et le pas d'intégration est de 5 femtosecondes.

La simulation a été effectuée sur une période de 200 ps pour la molécule isolée. Le fait de ne pas tenir compte du solvant ( molécules d'eau ) est certes très gênant pour ce type de molécule, mais il faut savoir que les temps de calcul sont à multiplier par un facteur 10 par rapport à la molécule isolée. Or, cette simulation, sur un Vax 6320, a nécessité un temps machine de 19 jours et 20 heures (CPU)!. De plus, sur un disque de stockage de 400000 blocs, le fichier historique contenant la trajectoire occupait 385000 blocs. Ces deux raisons nous ont conduit à limiter ce calcul au biantenné isolé.

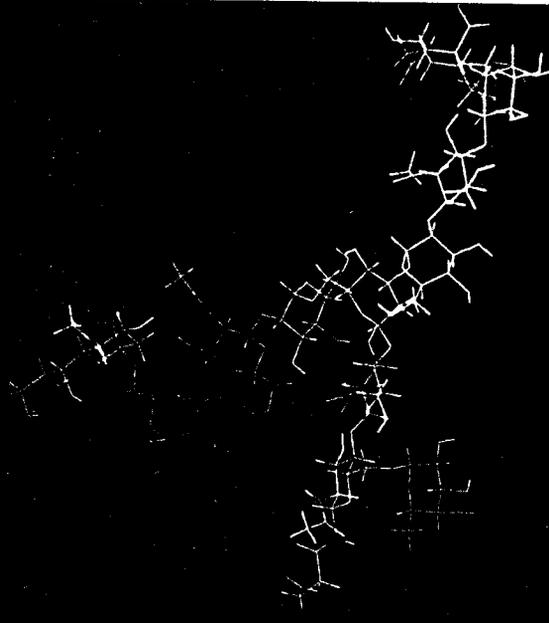
#### IV.2 Résultats et discussion

L'ensemble des résultats est donné dans les figures III.2 à III.12. Pour chacune des liaisons glycosidiques, les variations des angles  $\phi_H$ ,  $\psi_H$  et  $\omega_H$  sont données au cours du temps.

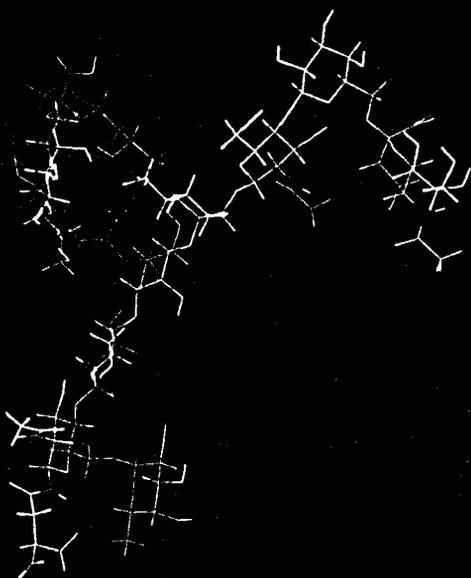
Dans le tableau III.12, sont regroupées les liaisons hydrogènes inter-résidus saccharidiques des structures initiales, finales et de 9 structures intermédiaires prises au cours du temps. Dans ce tableau, la numérotation atomique est celle décrite dans le chapitre I ( le carbone anomérique de l'acide sialique est numéroté 2 et les carbones de la chaîne hydroxyle portée par le carbone 6 ont les numéros 7, 8 et 9 ). Entre parenthèses sont donnés les résidus mis en jeu, avec le numéro de figure III.1.



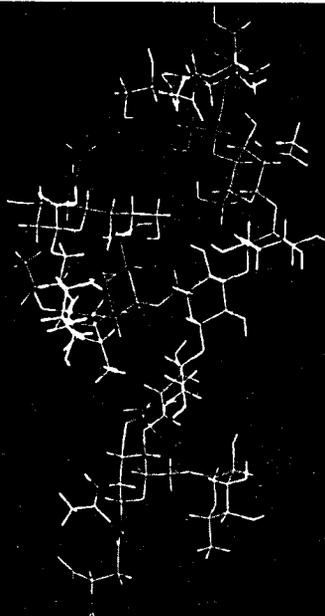
0 ps



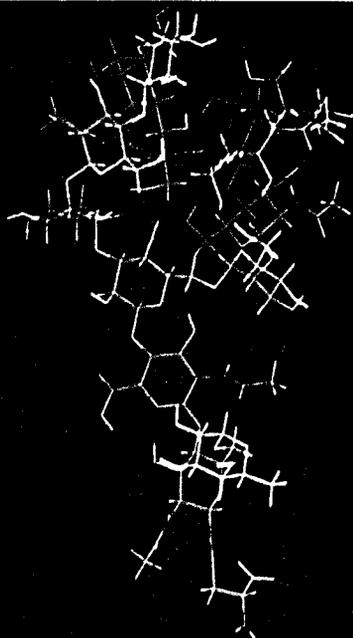
12 ps



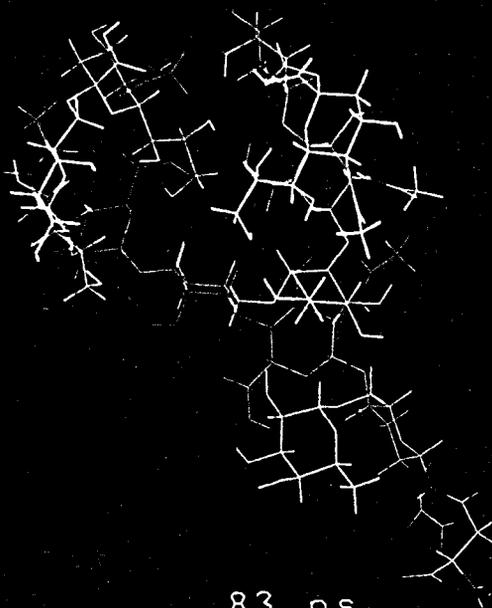
25 ps



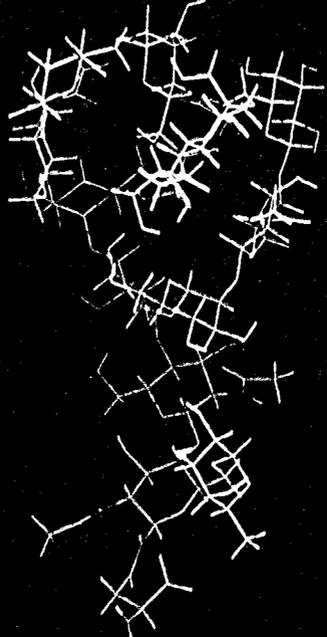
33 ps



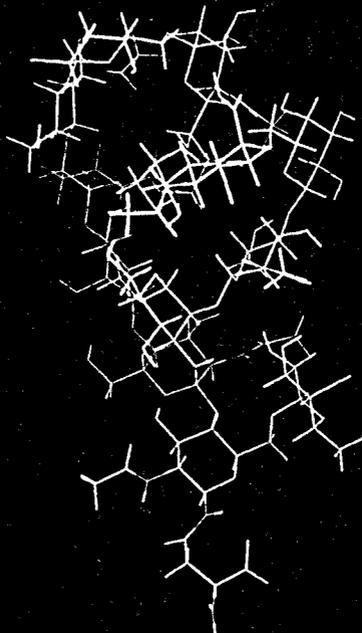
70 ps



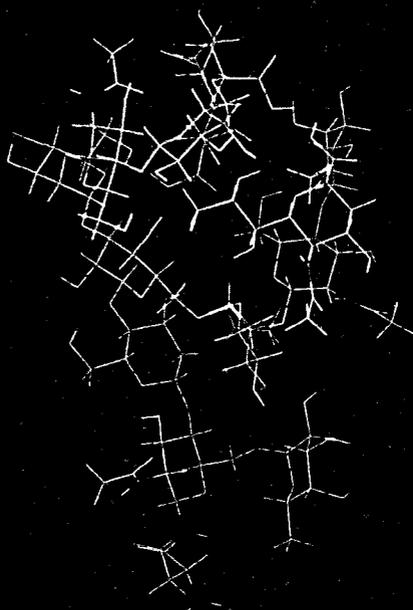
83 ps



117 ps



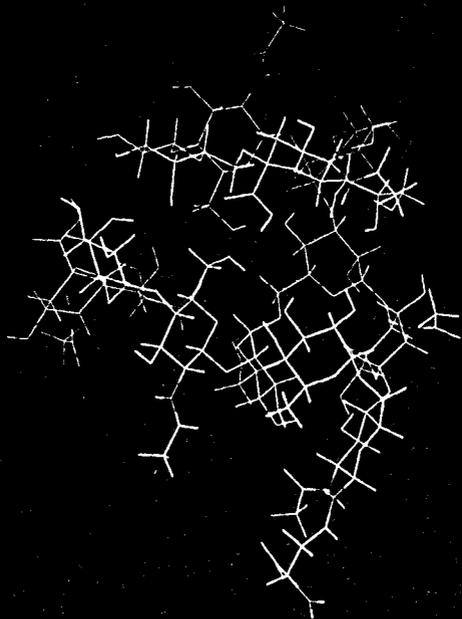
124 ps



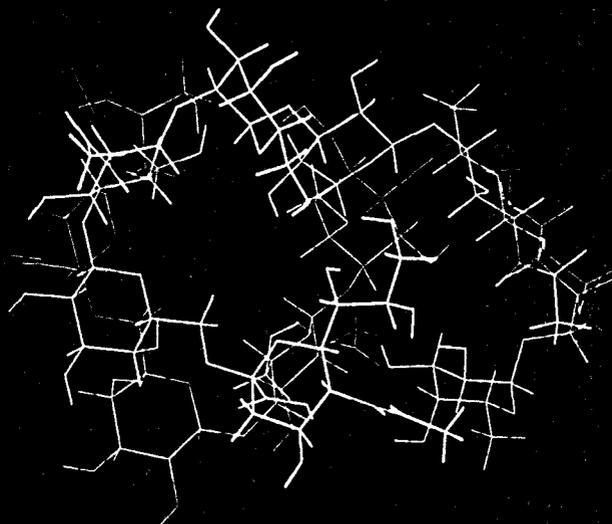
144 ps



154 ps



200 ps



200 ps

Si l'on s'intéresse à chacune des liaisons glycosidiques, on peut être surpris par le nombre restreint de changements qu'elles peuvent adopter.

Ainsi, la liaison  $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-4GlcNAc}$  ne présente qu'une réelle transition, vers 117 ps, bien marquée pour l'angle  $\psi_H$  (autour de  $-15^\circ$  à  $-60^\circ$ ) mais peu pour l'angle  $\phi_H$  (autour de  $-60^\circ$  à  $-45^\circ$ ). La première partie correspond donc au couple déterminée dans l'étude précédente, mais là apparaît en plus la solution assez peu éloignée ( $-45, -60$ ).

Pour la liaison  $\text{Man}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$  une transition importante se produit à 83 ps. Un nouveau couple de valeurs (75, 200) vient se substituer à celui de la structure de départ. On peut cependant observer que pendant les 83 ps de départ des variations importantes de l'angle  $\psi_H$  sont observées.

La liaison glycosidique  $\text{Fuc}\alpha,1\text{-6GlcNAc}$  quant à elle reste presque constante au cours du temps autour de la valeur de départ (60, 170, 170). Aucun des deux autres conformères du tableau III.10 ne sont retrouvés.

La liaison  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}\beta$  reste elle aussi à peu près stable au cours du temps autour du couple (60, -45). Là encore, le deuxième conformère du tableau III.10 n'est pas retrouvé.

Pour ce qui est de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-6Man}\beta$  les résultats concernant l'angle  $\phi_H$  et l'angle  $\psi_H$  sont équivalents à ceux de l'étude précédente. Cependant, l'angle  $\psi_H$  reste autour de la valeur  $-60^\circ$  et ne prend pas la valeur  $180^\circ$  décrite précédemment. L'angle  $\psi_H$  est un des rares angles torsionnels du biantenné qui montre plusieurs transitions pendant les 20 ps.

Pour les liaisons glycosidiques  $\text{GlcNAc}\beta,1\text{-2Man}\alpha$  des deux antennes, on passe très vite des valeurs du conformère I du tableau III.10 à celles du conformère II respectives à chaque antenne. Le couple positif-positif semble donc le plus favorable pour cette liaison glycosidique.

Les deux liaisons  $\text{Gal}\beta,1\text{-4GlcNAc}\beta$  présentent une transition, ce qui n'était pas trouvé dans l'antenne 3. De plus, celle de l'antenne 6 ne correspond pas au deuxième couple de valeurs (170, 0) de l'étude précédente.

Enfin, la liaison  $\text{NeuAc}\alpha,2\text{-6Gal}\beta$  présente une dissymétrie entre les deux antennes. Dans le cas de l'antenne 3, seul l'angle  $\omega_H$  montre une courte transition (pendant 15 ps). Par contre la liaison de l'antenne en 6 montre plusieurs transitions

franches. Ainsi, on peut obtenir les valeurs approximatives suivantes: ( -150, 180, -60 ), ( 180, 180, -60 ), ( 30, 180, 180 ) et ( -160, -120, 45 )

D'une façon générale, on peut dire que de la forme large et étendue de départ, on observe un repliement progressif de chacune des branches, pour très vite venir s'approcher l'une proche de l'autre et finir par un enroulement inverse face à face ( Cf. la série de photos au cours de la simulation). Les interactions branche à branche semble favorable énergétiquement comme le montre la figure III.16. Cependant, la structure finale à 200 ps qui, bien que décrivant une structure parfaitement symétrique ( Cf. photos ) apparaît comme moins favorable énergétiquement. Cette structure étant très compacte, des interaction défavorables, par exemple entre les groupements COOH des acides sialiques peuvent expliquer cette différence d'énergie.

## V. Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus dans la modélisation moléculaire et dans la dynamique moléculaire semblent corroborer et affiner ceux déjà existants. De plus, de nouvelles structures peuvent être déterminées, montrant ainsi la grande flexibilité des glycanes. Cette adaptabilité conformationnelle est sûrement à l'origine des nombreux mécanismes d'action de ces molécules.

Cependant, cette étude met en évidence plusieurs problèmes:

- Une molécule oligosaccharidique ramifiée, avec des branchements autres que en 1-4, ne peut résulter simplement de l'addition des conformères de plus basse énergie de chacun des disaccharides qui le constitue comme décrit dans la littérature [15].

- Les résultats du balayage conformationnel et de la minimisation d'énergie pour chaque liaison glycosidique dépendent des termes de la fonction potentielle considérés et des paramètres associés. L'évaluation de l'énergie en est donc tributaire et il se peut que des conformères se trouvent rejetés pour une différence d'énergie trop importante avec des paramètres non spécifiques.

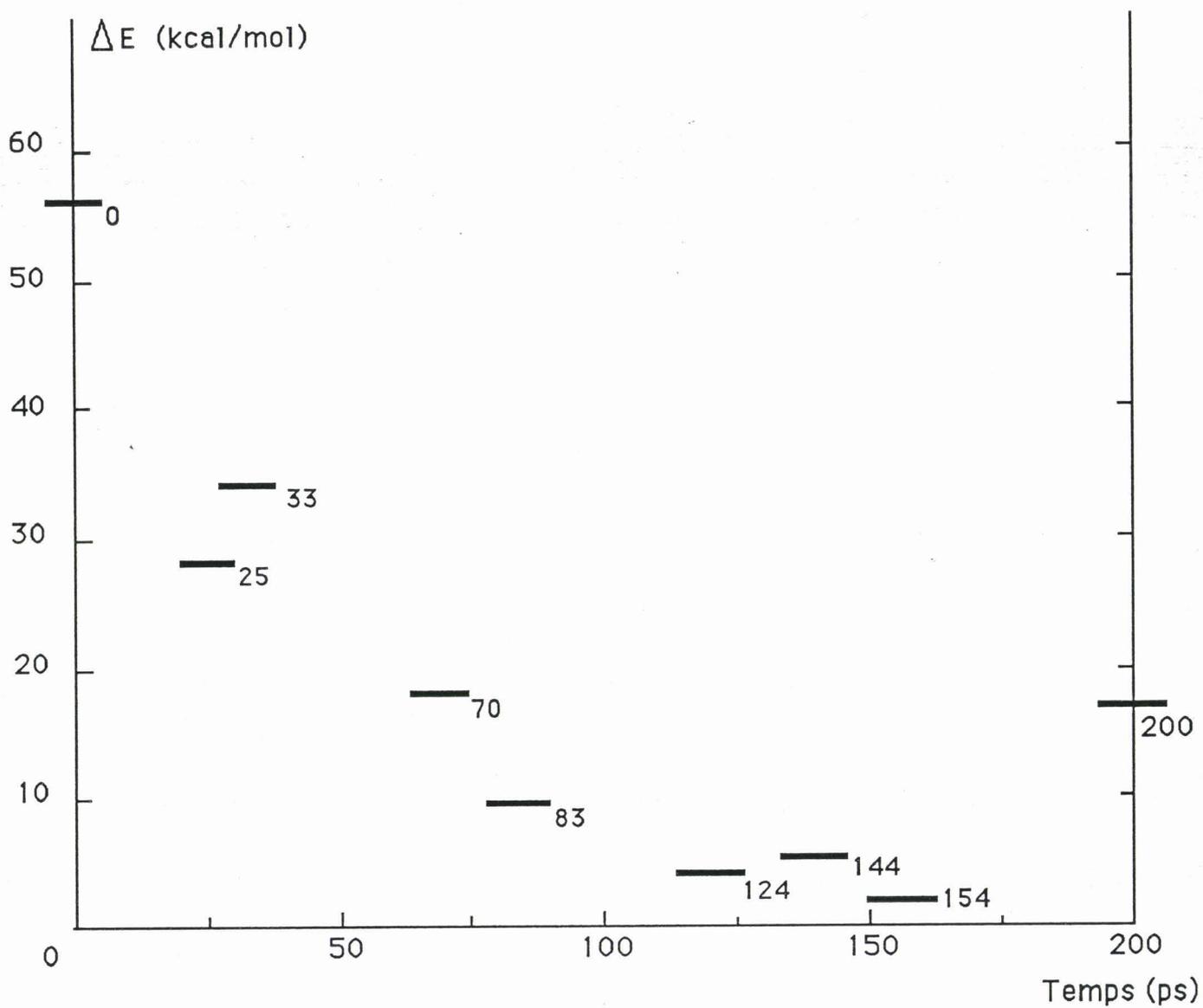
- Les résultats de la dynamique moléculaire démontre que toutes les structures précédemment décrites ou existantes dans la littérature [3-5] ne sont pas forcément

retrouvées. Cela démontre que l'espace configurationnel n'a pas été convenablement envisagé, ce qui peut provenir de plusieurs faits:

1- le temps de simulation n'est pas assez long pour parcourir tout l'espace des conformations mais ici, on tend rapidement vers une structure "hélicoïdale" peu éloignée de la structure finale.

2 - Les paramètres de la fonction énergie potentielle ne sont pas spécifiques des saccharides et, mêmes s'ils sont aptes à reproduire correctement une géométrie, ils s'avèrent peu adaptés à une simulation de dynamique moléculaire ( Cf., par exemple, les paramètres de Rasmussen utilisés dans CHARMM, Chap. I et II ).

Ce fait n'est pas spécifique des saccharides. En effet, les premières bases de paramètres ( CHARM [22], AMBER [23] ou GROMOS [24] ) disponibles pour les protéines et les acides nucléiques conduisaient, lors de l'analyse des modes normaux de vibration, à des fréquences négatives ( voire "très négatives" ). Ces bases sont depuis environ 1985 en cours d'amélioration de façon à reproduire mieux les spectres de vibration [25]. La même démarche a donc été adoptée pour l'étude des saccharides et c'est l'obtention de ces paramètres qui va occuper les deux prochains chapitres.

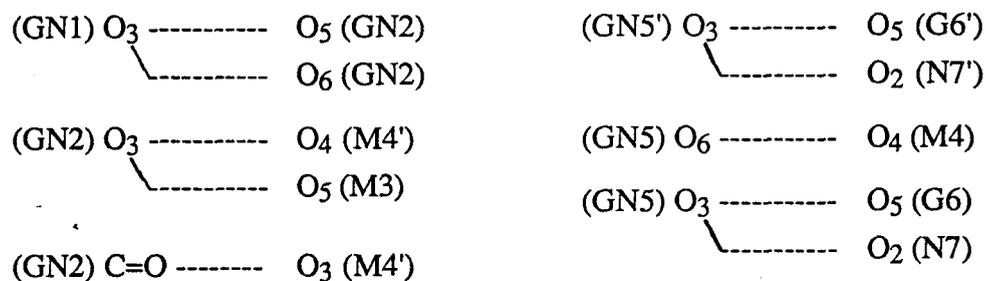


**Figure III.16**

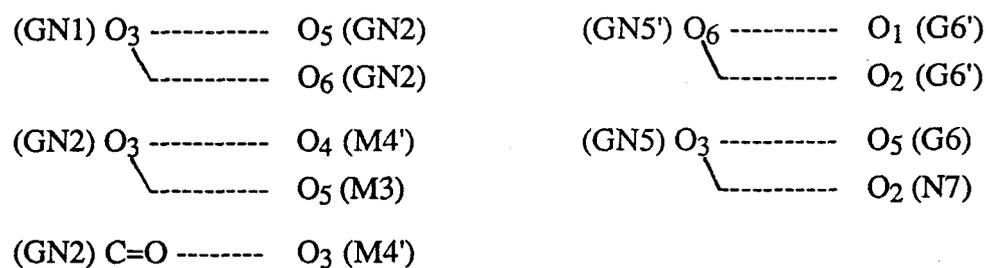
Diagramme énergétique des différentes conformations du biantenné au cours de la simulation.

**Tableau III.12:** Réseau des liaisons hydrogènes inter-résidus saccharidiques dans différentes structures intermédiaires rencontrées lors de la simulation en dynamique moléculaire.

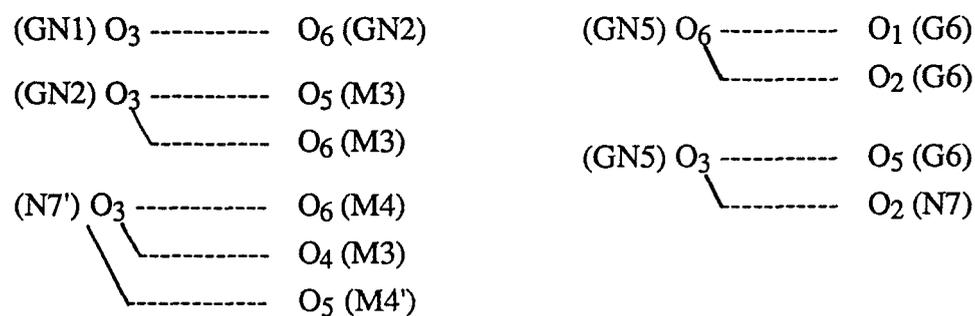
Structure de départ



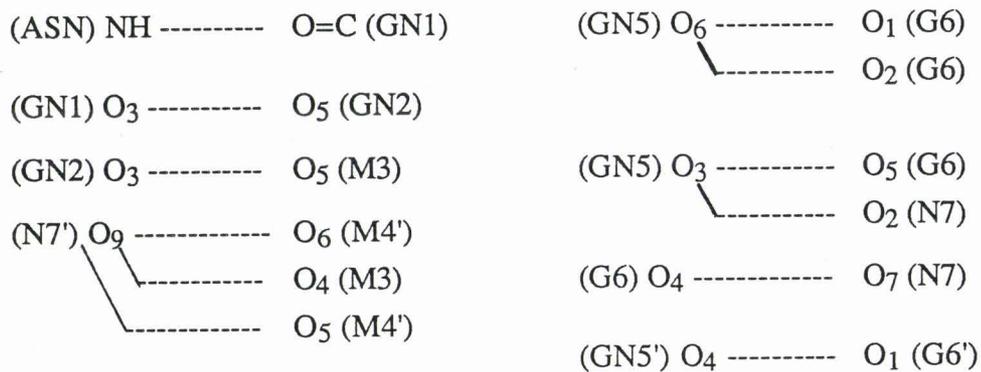
Structure après 12 ps



Structure après 25 ps



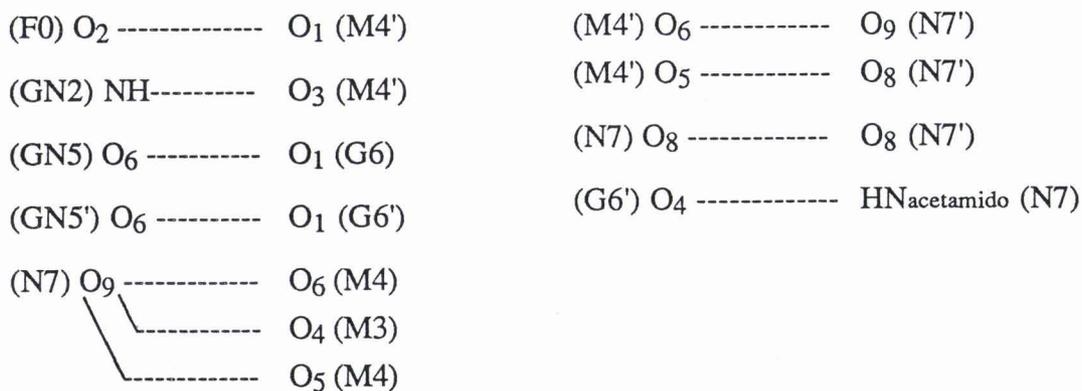
Structure après 33 ps



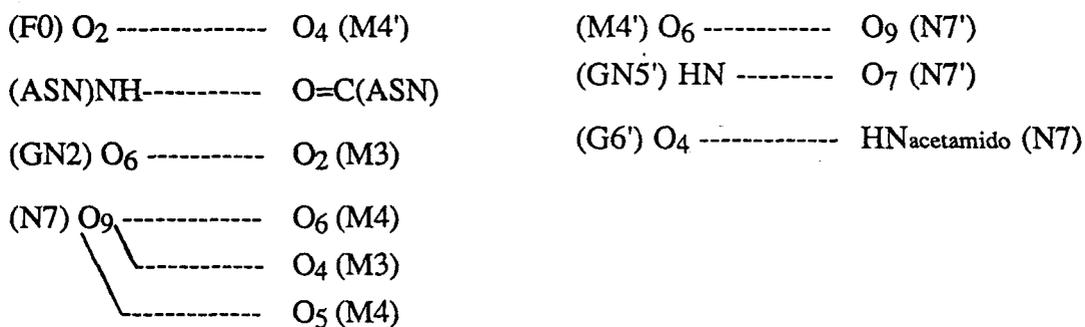
Structure après 70 ps



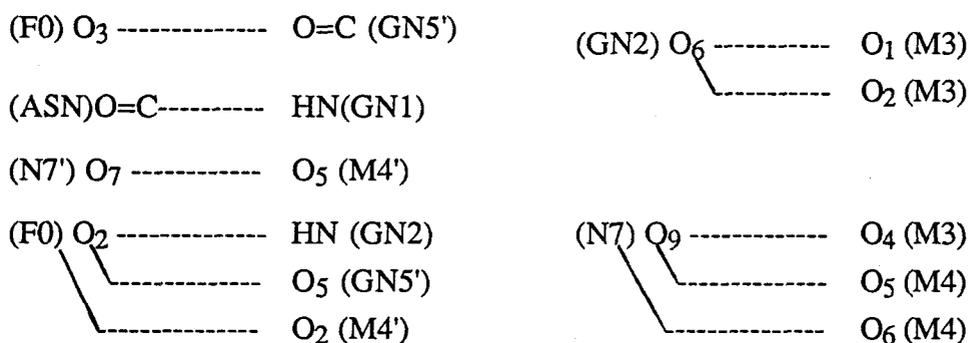
Structure après 83 ps



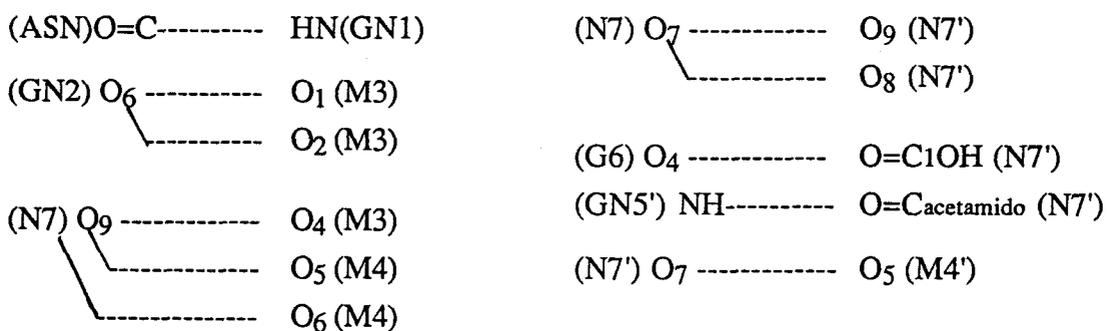
Structure après 117 ps



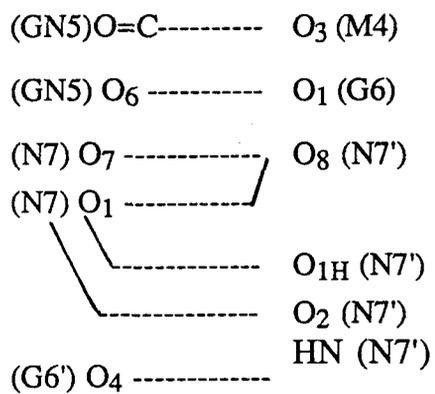
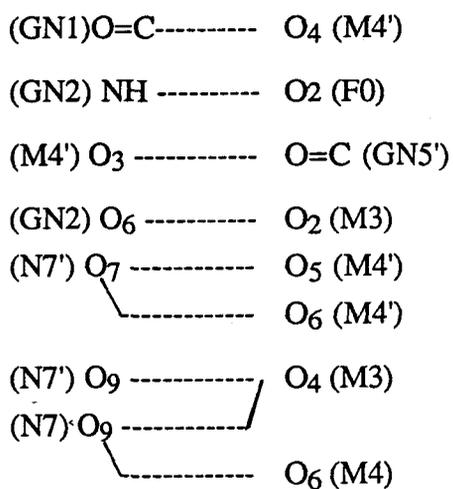
Structure après 124 ps



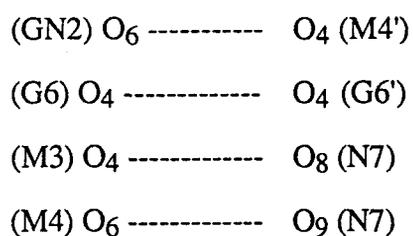
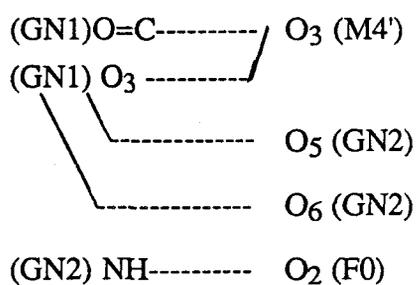
Structure après 140 ps



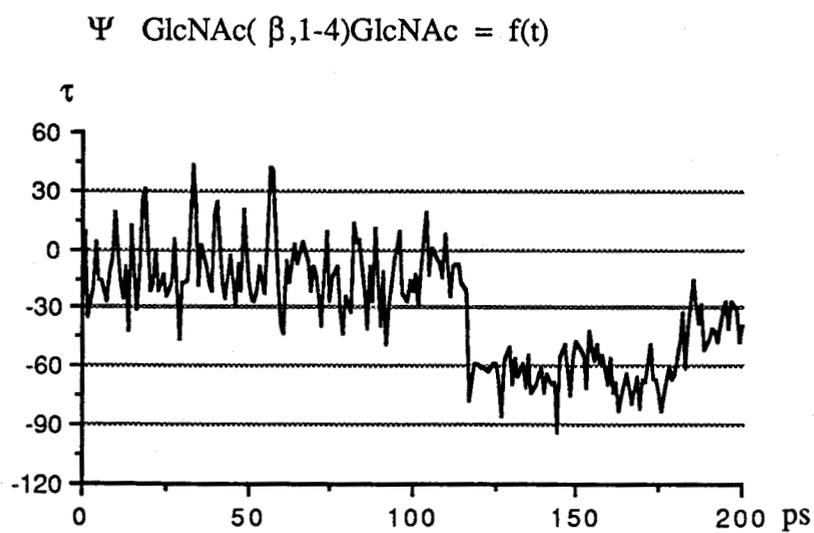
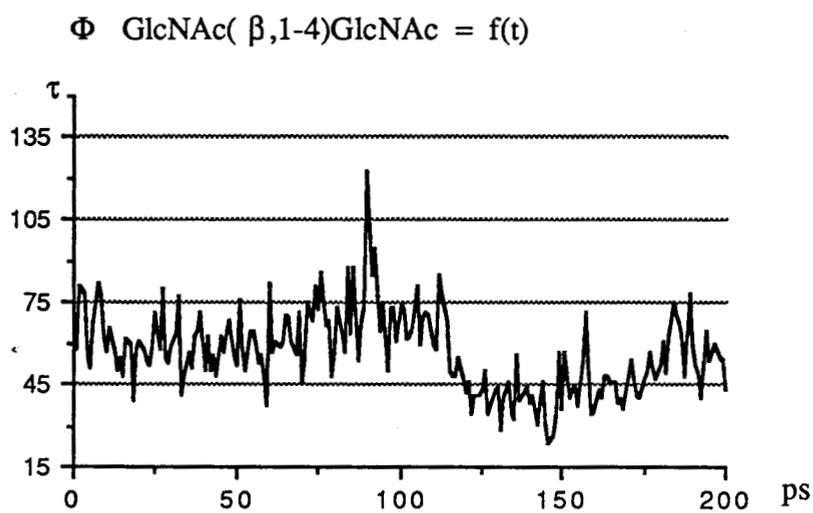
Structure après 154 ps



Structure finale (après 200 ps)

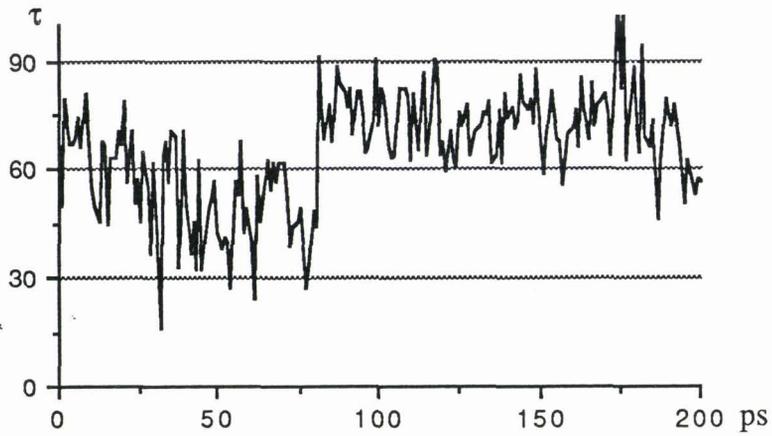


Figures III.2.a et b: Variations des angles de torsion  $\phi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique GlcNAc $\beta$ ,1-4GlcNAc au cours du temps.

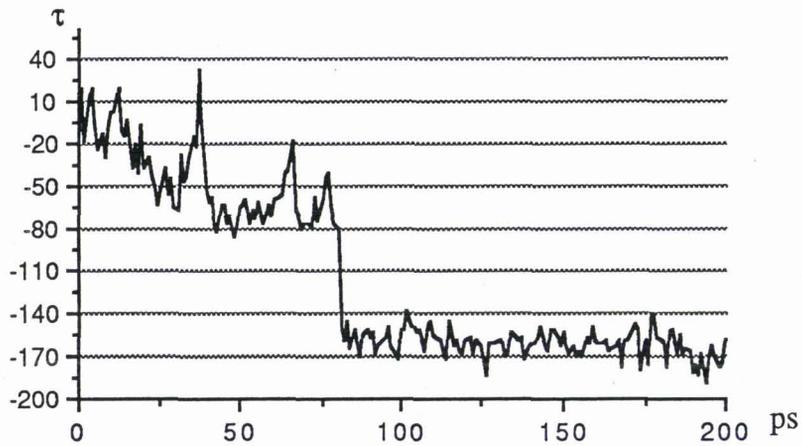


Figures III.3.a et b: Variations des angles de torsion  $\phi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique Man $\beta$ ,1-4GlcNAc au cours du temps.

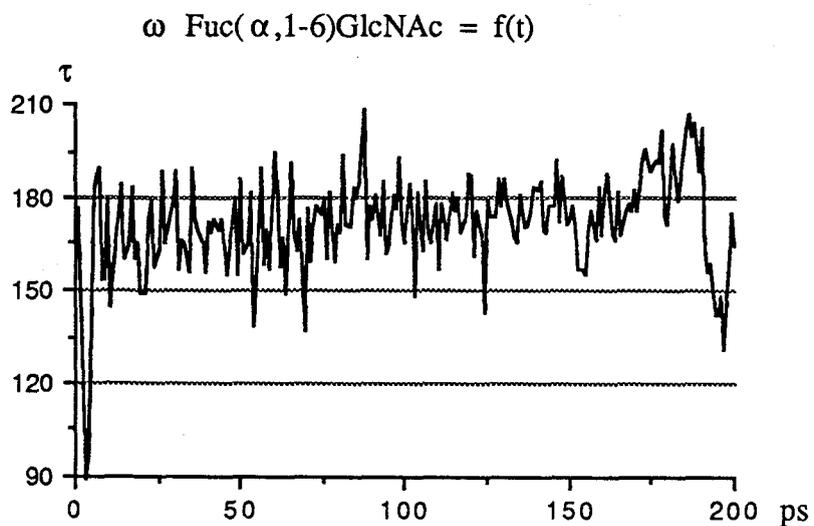
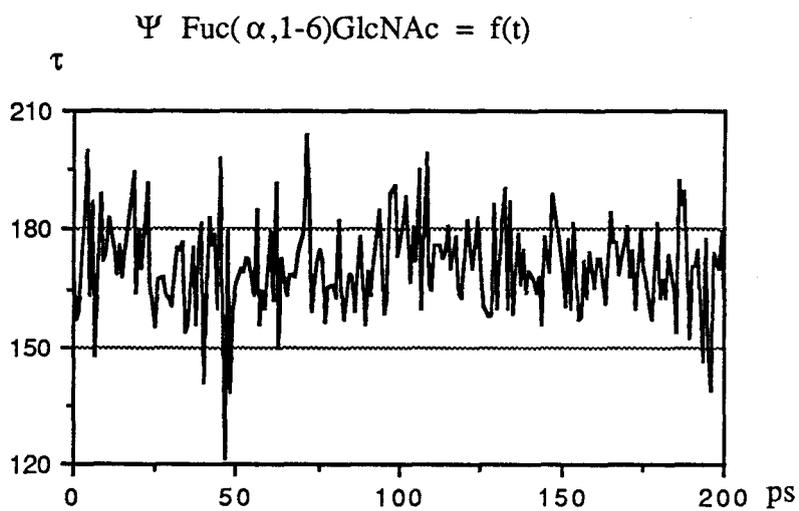
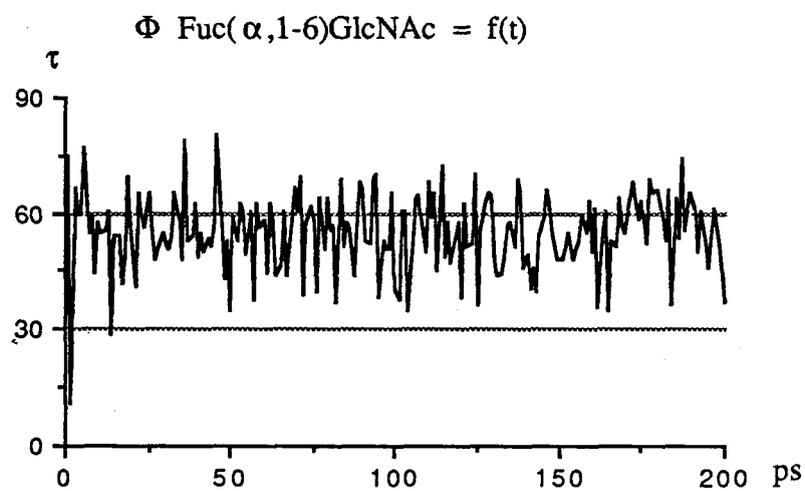
$$\Phi \text{ Man}(\beta,1-4)\text{GlcNAc} = f(t)$$



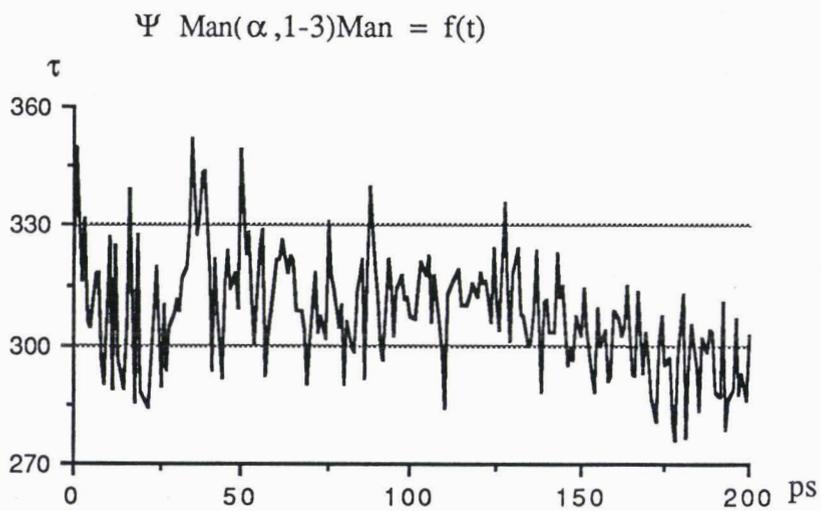
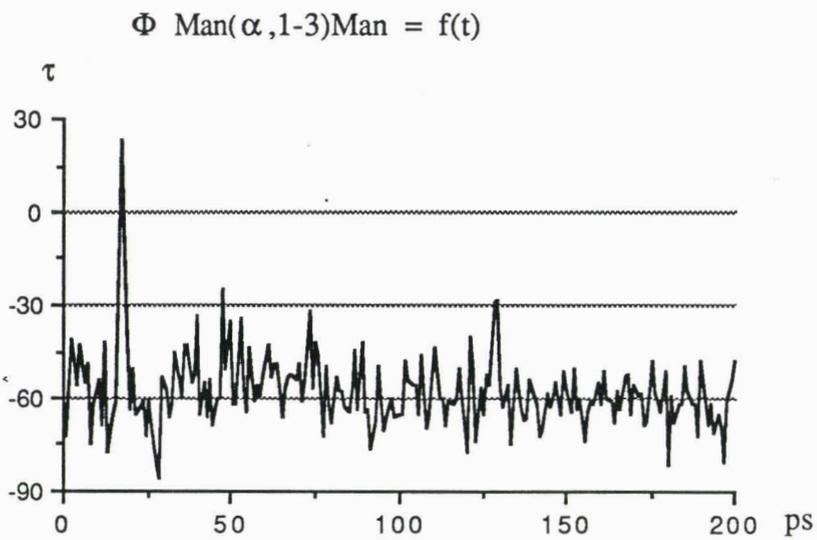
$$\Psi \text{ Man}(\beta,1-4)\text{GlcNAc} = f(t)$$



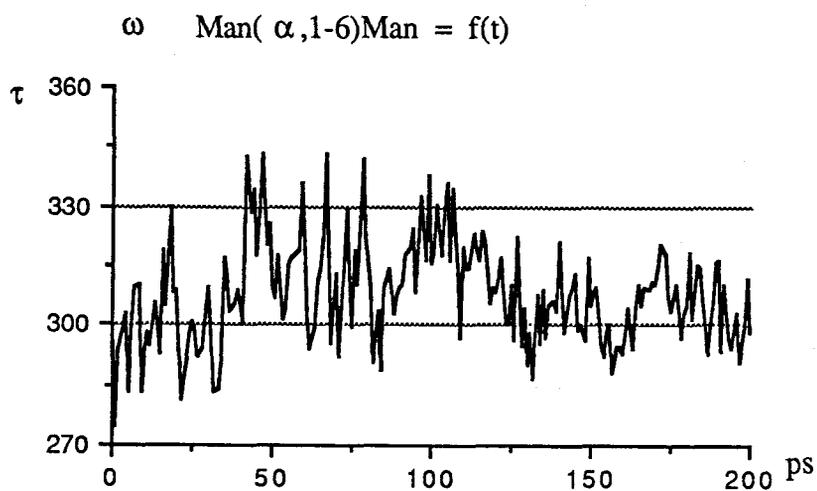
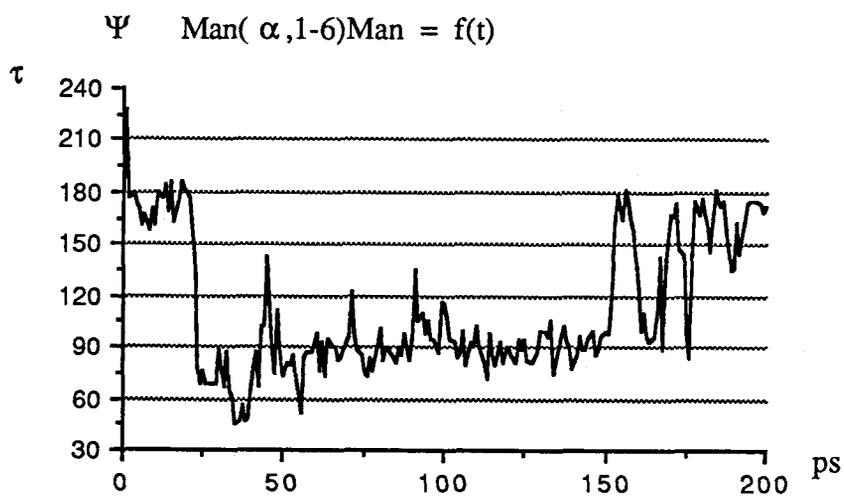
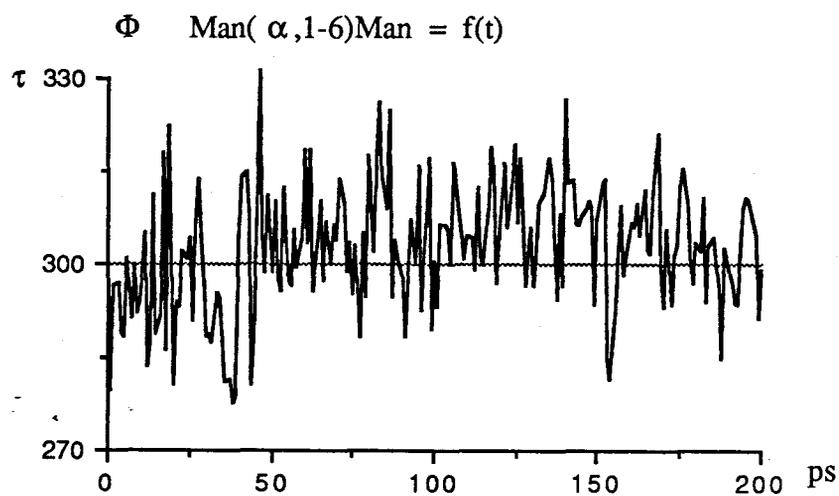
Figures III.4.a, b et c: Variations des angles de torsion  $\phi_H$ ,  $\psi_H$  et  $\omega_H$  de la liaison glycosidique Fuc $\alpha$ ,1-6GlcNAc au cours du temps.



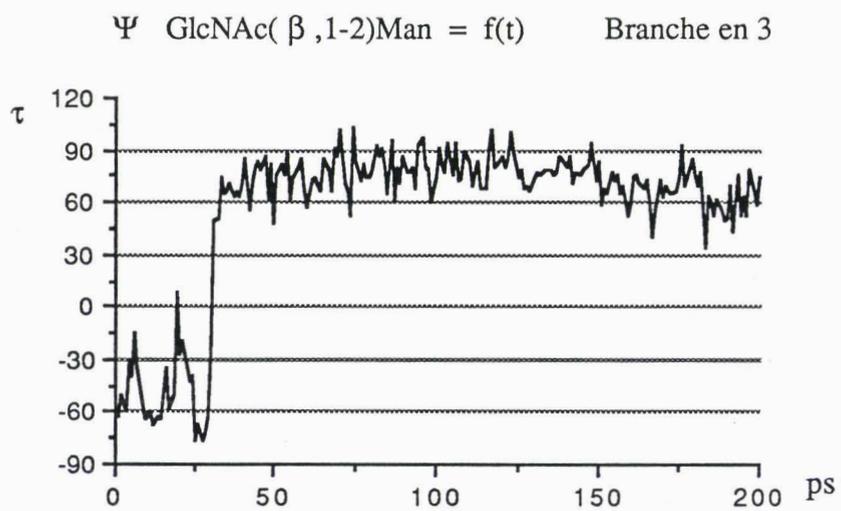
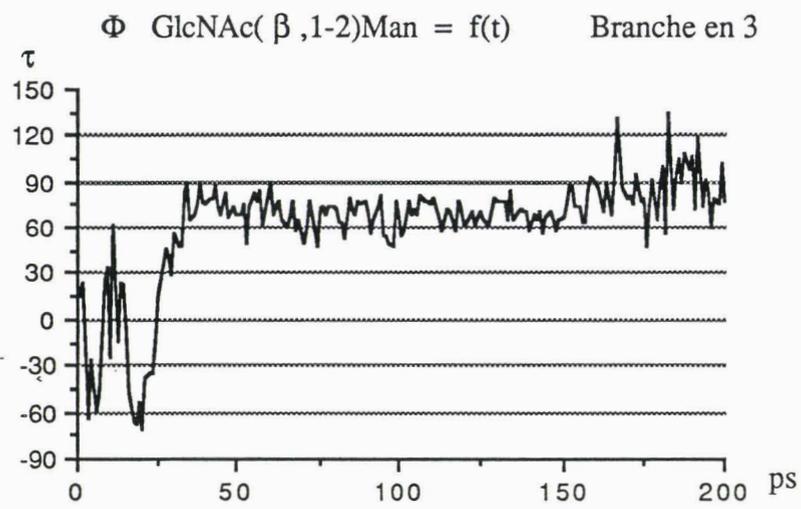
Figures III.5.a et b: Variations des angles de torsion  $\phi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique  $\text{Man}\alpha,1\text{-3Man}$  au cours du temps.



Figures III.6.a, b et c: Variations des angles de torsion  $\Phi_H$ ,  $\Psi_H$  et  $\omega_H$  de la liaison glycosidique Man $\alpha$ ,1-6Man au cours du temps.

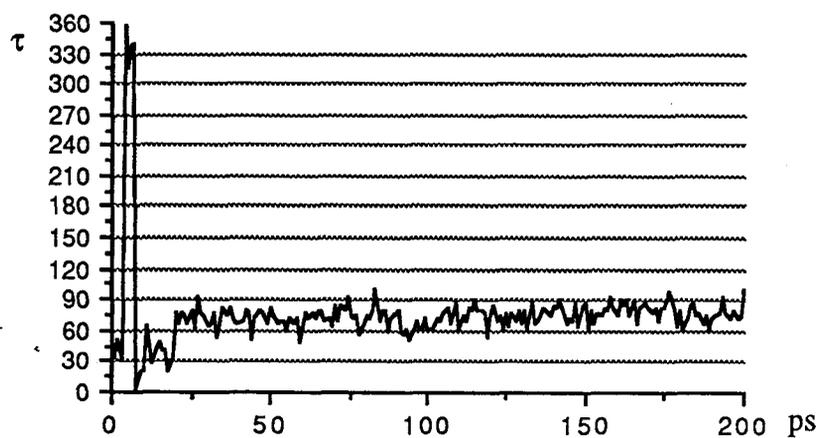


Figures III.7.a et b: Variations des angles de torsion  $\phi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique GlcNAc $\beta$ ,1-2Man de l'antenne en 3 au cours du temps.

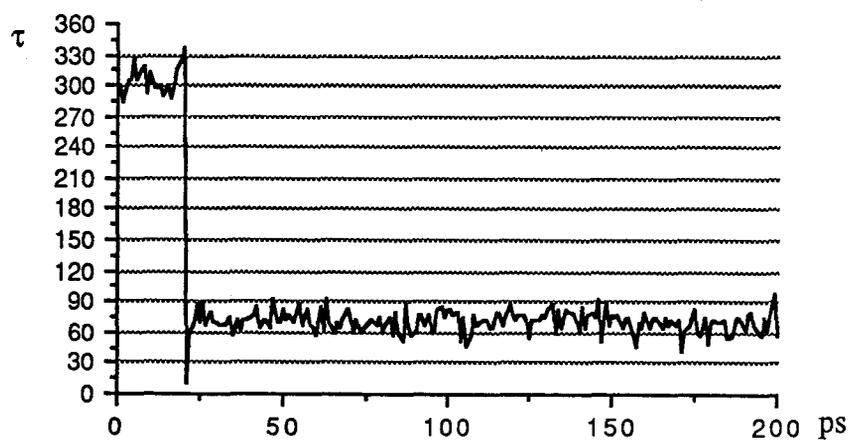


Figures III.8.a et b: Variations des angles de torsion  $\phi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique GlcNAc $\beta$ ,1-2Man de l'antenne en 6 au cours du temps.

$\Phi$  GlcNAc( $\beta$ ,1-2)Man = f(t) Branche en 6

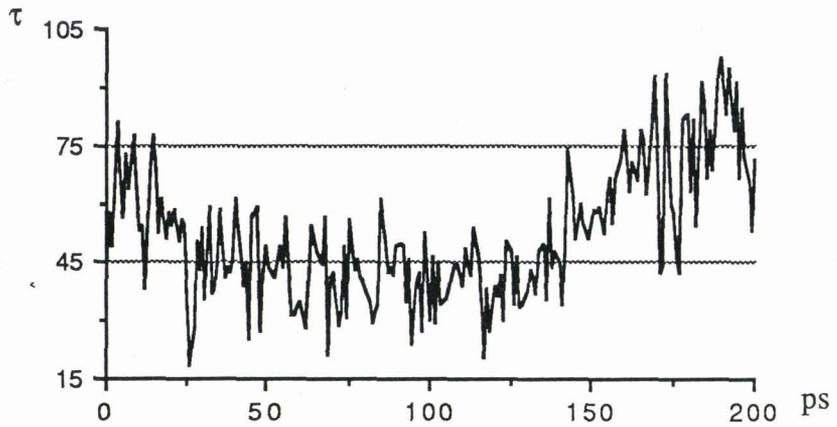


$\Psi$  GlcNAc( $\beta$ ,1-2)Man = f(t) Branche en 6

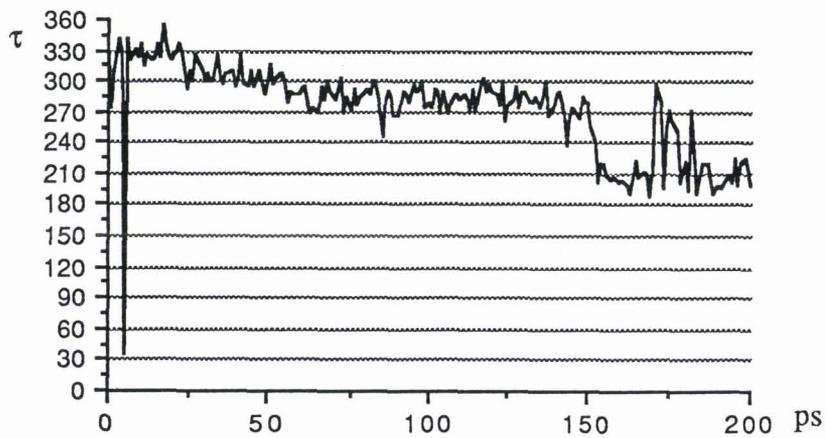


Figures III.9.a et b: Variations des angles de torsion  $\varphi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc de l'antenne en 3 au cours du temps.

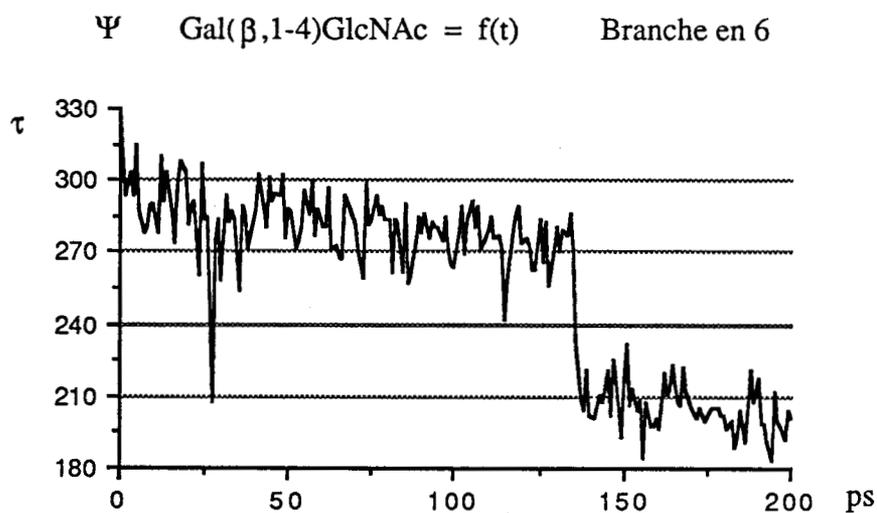
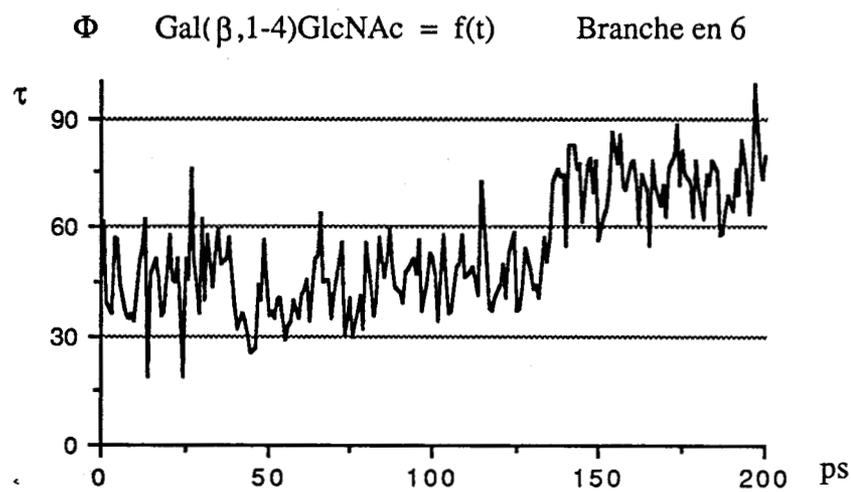
$\Phi$  Gal( $\beta$ ,1-4)GlcNAc = f(t) Branche en 3



$\Psi$  Gal( $\beta$ ,1-4)GlcNAc = f(t) Branche en 3

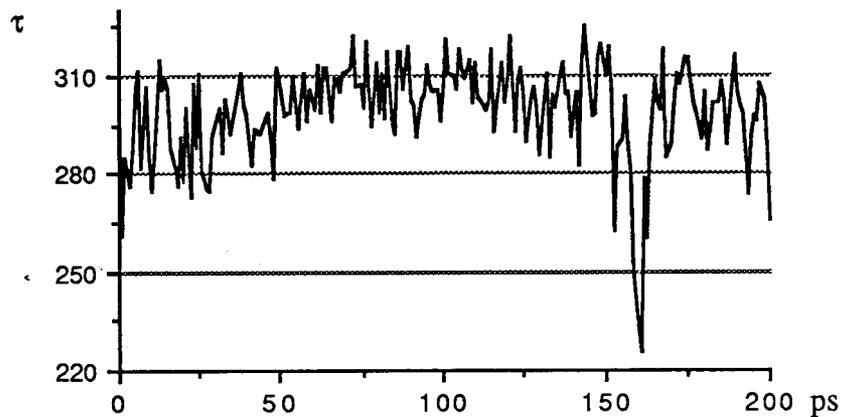


Figures III.10.a et b: Variations des angles de torsion  $\phi_H$  et  $\psi_H$  de la liaison glycosidique Gal $\beta$ ,1-4GlcNAc de l'antenne en 6 au cours du temps.

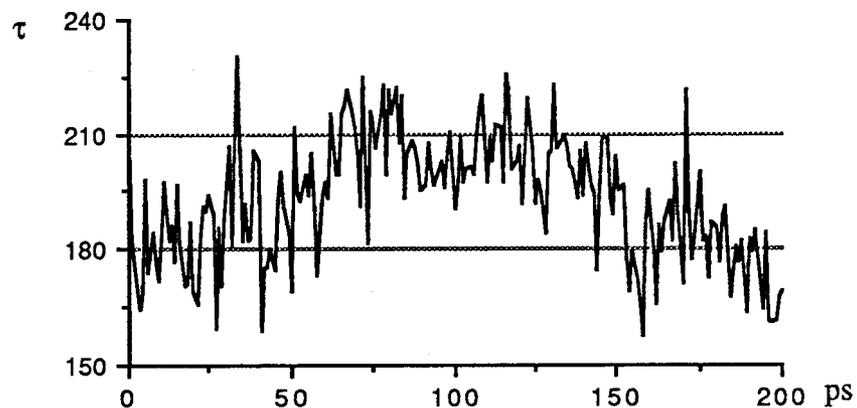


Figures III.11.a,b et c: Variations des angles de torsion  $\phi_H$ ,  $\psi_H$  et  $\omega_H$  de la liaison glycosidique NeuAc $\alpha$ ,2-6Gal de l'antenne en 3 au cours du temps.

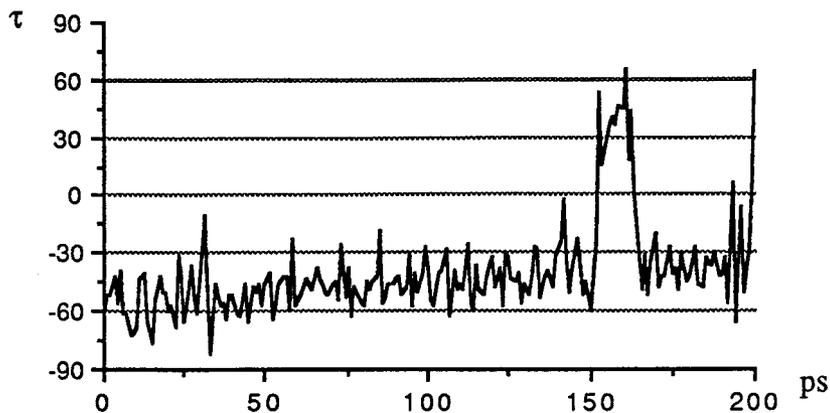
$\Phi$  NeuAc( $\alpha$ ,2-6)Gal = f(t) branche en 3



$\Psi$  NeuAc( $\alpha$ ,2-6)Gal = f(t) branche en 3

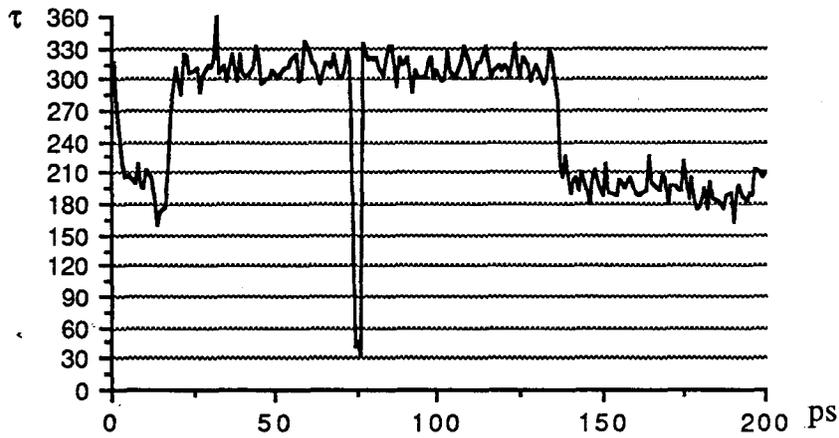


$\omega$  NeuAc( $\alpha$ ,2-6)Gal = f(t) branche en 3

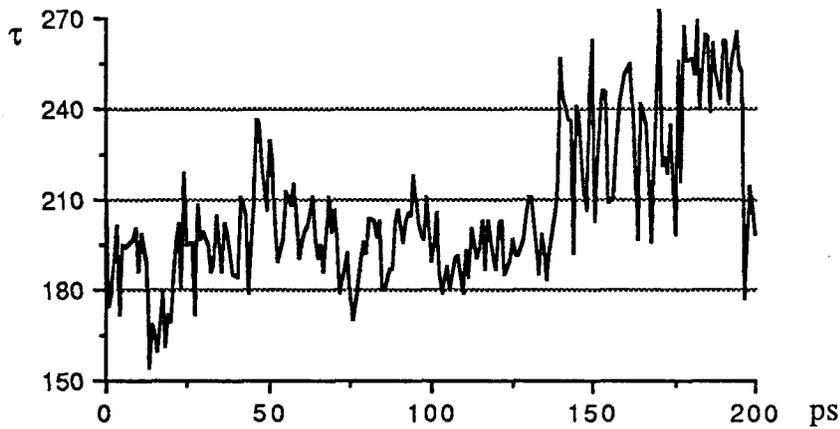


Figures III.12.a,b et c: Variations des angles de torsion  $\phi_H$ ,  $\psi_H$  et  $\omega_H$  de la liaison glycosidique NeuAc $\alpha$ ,2-6Gal de l'antenne en 6 au cours du temps.

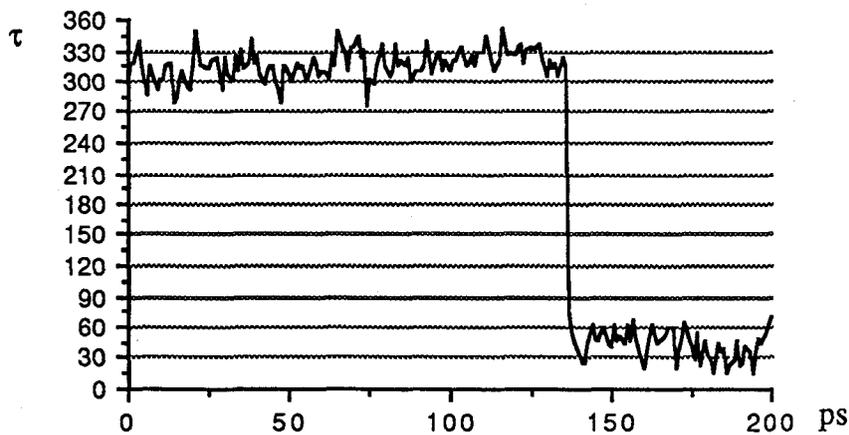
$\Phi$  NeuAc( $\alpha$ ,2-6)Gal = f(t) branche en 6



$\Psi$  NeuAc( $\alpha$ ,2-6)Gal = f(t) branche en 6



$\omega$  NeuAc( $\alpha$ ,2-6)Gal = f(t) branche en 6



- [1] 'Glycoproteins.'  
MONTREUIL J.  
In *Comprehensive Biochemistry*, NEUBERGER A., Van DEENEN L. Ed., Elsevier, Amsterdam, (1982), **19B**, 1.
- [2] 'Primary structure of glycoprotein glycans. Basis for the molecular biology of glycoproteins.'  
MONTREUIL J.  
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **37**, (1985), 157.
- [3] 'Spatial conformation of glycans and glycoproteins.'  
MONTREUIL J.  
Biol. Cell., **51**, (1984), 115.
- [4] 'Spatial structures of glycan chains of glycoproteins in relation to metabolism and function, survey of a decade of research.'  
MONTREUIL J.  
Pure & Appl. Chem., **56**, (1984), 859.
- [5] 'Glycoprotein glycans: primary structure and conformation, metabolism and molecular biology'.  
MONTREUIL J.  
Lecture Note, Forum peptides, Le Cap d'Agde, (1984), 289.
- [6] 'Primary structure of the glycans from human lactotransferrin.'  
SPIK G., STRECKER G., FOURNET B., BOUQUELET S., DORLAND L., Vliegenthart J., MONTREUIL J.  
Eur. J. Biochem., **121**, (1982), 413.
- [7] SYBYL. *Tripos associates*, 1699s Hanle road, suite 303, St Louis, MO, 63144, SYBYL 5.3 (1988).
- [8] 'Validation of the general purpose Tripos 5.3 force field'  
CLARK M., CRAMER III R., VAN OPDENBOSCH N.  
J. Comput. Chem. (1989).
- [9] 'HYDRA'.  
HUBBARD R.  
University of YORK, UK.
- [10] 'MANOSK'  
CHERFILS J., VANEY M.C., MORIZE I., SURCOUF E., COLLOCH N., MORNON J.P.  
J. Mol. Graph., **6**, (1988), 155.
- [11] 'The crystal structure of a  $\beta$ 1-4 linked disaccharide,  $\alpha$ NN'-diacetylchitobiose monohydrate.'  
MO F., JENSEN L.  
Acta Cryst., **B34**, (1978), 1562.
- [12] 'Structure de la N-acétyl lactosamine ( acétamido-2-désoxy-2  $\beta$ galactopyrannosyl1-4  $\alpha$ -glucopyrannose.'  
LONGCHAMBON F., OHANESSIAN J., GILLIER-PANDRAUD H., DUCHET D., JACQUINET J.C., SINAY P.  
Acta Cryst., **3**, (1981), 601.

[13] 'The crystal and molecular structure of O- $\alpha$ -mannopyranosyl,1-3-O- $\beta$ -mannopyranosyl,1-4-2-acetamido-2deoxy- $\alpha$ -glucopyranose.'  
WARIN V., BAERT F., FOURET R., STRECKER G., SPIK G., FOURNET B.,  
MONTREUIL J.  
Carbohydr. Res., **76**, (1979), 11.

[14a] 'Complex carbohydrates: 1. Conformational studies on some oligosaccharides related to N-glycosyl proteins which interact with concanavalin A.'  
BISWAS M., SEKHARUDU C., RAO V.S.R  
Int. J. Biol. Macromol., **8**, (1986), 2.

[14b] 'Complex carbohydrates: 2. The modes of binding of complex carbohydrates to concanavalin A - a computer modelling approach.'  
SEKHARUDU C., BISWAS M., RAO V.S.R  
Int. J. Biol. Macromol., **8**, (1986), 9.

[15] 'Data bank of three-dimensional structures of disaccharides, a tool to build 3D structures of oligosaccharides. Part I. Oligo-mannose type N-glycans.'  
IMBERTY A., GERBER S., TRAN V., PEREZ S.  
Glycoconjugate Journal, **7**, (1990), 27.

[16] 'Solution conformation of Asparagine-linked oligosaccharides:  $\alpha$ (1-2),  $\alpha$ (1-3),  $\beta$ (1-2),  $\beta$ (1-4) linked units.'  
BRISSEON J.R., CARVER J.  
Biochemistry, **22**, (1983), 3671-.

[17] 'Solution conformation of Asparagine-linked oligosaccharides:  $\alpha$ (1-6) linked moiety.'  
BRISSEON J.R., CARVER J.  
Biochemistry, **22**, (1983), 3680-.

[18] 'Reevaluation of rotamers populations for 1,6 linkages: reconciliation with potential energy calculations.'  
CUMMING D., CARVER J.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6676.

[19] BREG J., KROON-BATENBURG L., STRECKER G., MONTREUIL J.  
Eur. J. Biochem., **178**, (1989), 727.

[20] BAKER, communication privée J. MAZURIER.

[21] 'Structure and dynamics in oligomannose-type oligosaccharides.'  
HOMANS S.W., PASTORE A., DWEK R.A., RADEMACHER T.W.  
Biochemistry, **26**, (1987), 6649.

[22] 'CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization and dynamics calculations.'  
BROOKS B., BRUCCOLERI R., OLAFSON B., STATES D., SWAMINATHAN S.,  
KARPLUS M.  
J. Comput. Chem., **4/2**, (1983), 187.

[23] 'A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins'.  
WEINER S., KOLLMAN P., CASE D., SINGH U., GHIO C., ALAGOMA G.,  
PROFETA S., WEINER P.  
J. Am. Chem. Soc., **106**, (1984), 765.

[24] VAN GUNSTEREN W., BEREDSEN H.  
Mol. Phys., **34**, (1977), 1311.

[25] 'Dynamique harmonique de l'inhibiteur de la trypsine pancréatique de bœuf (BPTI).'  
DERREUMAUX P.  
Thèse d'Etat, Université de LILLE II, (1988).

## CHAPITRE IV

# Dynamique harmonique des formes anomères $\alpha$ et $\beta$ du glucose.

I. Introduction	p 146
II. Données cristallographiques et Représentation irréductible des modes normaux de vibration.	p 148
III. Fonction potentielle et conditions du calcul.	p 151
III.1 Fonction énergie potentielle	p 151
III.2 Conditions du calcul	p 153
IV. Résultats de la dynamique harmonique.	p 158
IV. Discussion des résultats de l'analyse harmonique	p 176
V. Résultats des calculs quantiques.	p 181
VI. Conclusion	p 185

# Dynamique harmonique des formes anomères $\alpha$ et $\beta$ du glucose.

## I. Introduction

Les propriétés particulières des macromolécules dépendent de leur structure tridimensionnelle. Avant de s'intéresser à la conformation et à la dynamique des macromolécules, il est nécessaire d'étudier les entités qui les constituent.

A ce titre, dans l'étude des oligosaccharides de grande taille et des polysaccharides, le **glucose**, dans ses deux formes anomères, est un élément fondamental.

Polycondensé il constitue des macromolécules de différentes natures:

- les polyosides de réserve:

- dans le règne végétal sous forme d'**amidon** [1,2] qui peut être séparé en deux macromolécules, l'une linéaire, l'**amylose**, l'autre ramifiée, l'**amylopectine**

- dans le règne animal sous forme de **glycogène** [1,2], macromolécule fortement branchée

- les polyosides de structure:

- la **cellulose** [1,2], polysaccharide linéaire de structure de la paroi cellulaire, constituant le plus abondant du règne végétal.

On le retrouve mis en jeu dans de nombreux mécanismes, comme celui de la glycolyse, une des voies cataboliques [1,2], dont sa dégradation à l'intérieur des cellules a pour objectif essentiel la formation d'énergie sous forme d'ATP (adénosine triphosphate), celui de la fermentation alcoolique [1,2] ou encore, dans des rôles beaucoup plus inattendus, comme celui de protecteur dans la cryoconservation du sperme d'étalon! [3].

Sur les deux formes anomères, de nombreuses études conformationnelles ont été réalisées et les structures résolues par diffraction des neutrons du glucose  $\alpha$  et par diffraction des rayons X du glucose  $\beta$  sont connues. De même, de nombreuses données de spectroscopie vibrationnelle existent ( Cf. Chap. II, § I.C.3 ), sur les molécules en solution ou dans un environnement cristallin, et sur des molécules deutérées sélectivement.

L'ensemble de ces données n'ayant pu être totalement exploité, des calculs d'analyse de modes normaux de vibration se sont avérés indispensables pour expliquer autrement que qualitativement les spectres de vibration. Ainsi, il est possible de confirmer ou de proposer une hypothèse d'attribution de chacune des bandes de vibration.

A ce titre, la première analyse complète a été réalisée par Vasko [4,5] sur le glucose  $\alpha$ . Viennent ensuite les travaux de Koenig *et al.* [6,7], de Wells [8], d'Hineno [9] et de Andrianov [10,11] sur les deux formes anomères ( Cf. Chap. II, § II.C.4.f ).

Cependant, il faut noter plusieurs choses: tous ces calculs ont été effectués sur des molécules isolées, donc sans tenir compte d'interactions intermoléculaires qui peuvent influencer l'attribution des bandes de vibration, avec des champ de forces provenant d'autres molécules ( alcanes [12,13], ethers aliphatiques [14] et acides carboxyliques [15,16] ) et des constantes de force pas forcément adaptées ni affinées, enfin, à partir de spectres vibrationnels pour la plupart obtenus en solution, c'est à dire contenant les différents conformères. De plus, l'attribution des raies dans la zone spectrale des basses fréquences n'est dans ce cas que très approximative.

Il était donc nécessaire d'effectuer un calcul permettant de prendre en compte ces observations. Ceci a été réalisé par J.P. Huvenne [17,18] au laboratoire il y a une dizaine d'années. Les deux formes cristallisant dans le même système cristallin, il avait été remarqué, dans la zone de basses fréquences (  $< 200 \text{ cm}^{-1}$  ), des différences importantes, caractéristiques de chacune des formes [19]. Ces différences ne pouvaient pas s'expliquer seulement avec le comportement intramoléculaire, mais trouvaient leur justification avec l'influence des interactions intermoléculaires et en particulier celle des liaisons hydrogènes. L'interprétation des spectres dans ce domaine devait donc en tenir compte, de même que dans toutes autres zones spectrales ( certaines bandes sont justifiées par le terme des interactions intermoléculaires ).

Le calcul avait été effectué au moyen d'un champ de forces de symétrie locale (LSFF) avec quelques simplifications liées aux moyens informatiques et aux programmes du moment ( limitation de la matrice des contraintes Z intervenant dans l'élaboration de la matrice dynamique F et donc simplification de la matrice U, limitation du nombre des constantes de force de symétrie locale, limitation du nombre d'interactions

intermoléculaires au moyen de distances de coupure assez faibles ). De plus, le terme électrostatique dans le potentiel n'était pas pris en compte.

Toutes ces remarques nous ont amenés à reprendre ces calculs pour les deux formes anomériques du glucose, en vue d'obtenir une base fiable de paramètres de la fonction énergie potentielle, avec des spécificités liées à chaque forme, qui pourra, par la suite, être transférée et complétée à des structures saccharidiques plus complexes. Les spectres de Huvenne et ses hypothèses d'attribution, ainsi que celles des travaux antérieurs, ont servi de point de départ aux calculs qui suivent.

Afin d'obtenir des charges résiduelles, utilisées dans le terme d'énergie coulombique du calcul de dynamique harmonique, des calculs de mécanique quantique pure *ab initio* et semi-empiriques type AMPAC [32,33] ont été effectués sur les deux formes. La comparaison des différentes géométries optimisées obtenues reflète les principales caractéristiques des carbohydrates, à savoir la forme chaise  ${}^4C_1$  conservée, la plus petite longueur de la liaison anomérique  $C_1-O_1$  observée. Des valeurs différentes de torsion des groupements hydroxyles sont obtenues, ceci étant dû aux calculs effectués pour une molécule isolée. A partir des structures optimisées des calculs de fréquences de la molécule isolée ont été effectués et comparés à ceux obtenus dans le cadre de la dynamique harmonique. Ces résultats et les comparaisons sont présentés dans la dernière partie de ce chapitre.

## II. Données cristallographiques et Représentation irréductible des modes normaux de vibration.

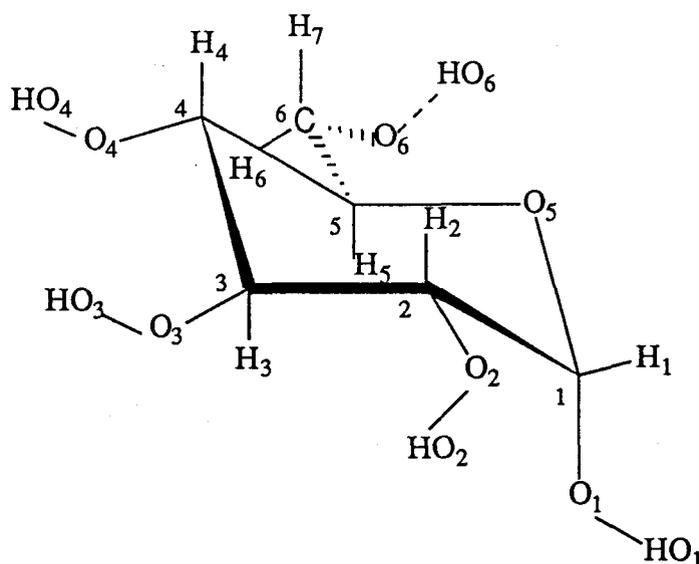
Les deux formes anomériques cristallisent dans le système orthorhombique avec comme groupe spatial  $P2_12_12_1$  ( $D_2^4$ ). Le glucose  $\alpha$  a été résolu par diffraction des neutrons [20,21] alors que la forme  $\beta$  a été obtenue par diffraction des rayons X [22]. Si le glucose  $\alpha$  présente un facteur de fiabilité R correcte (  $R = 0,048$  ), celui du glucose  $\beta$  est moins bon (  $R = 0,073$  ) et nous verrons que dans l'analyse harmonique il sera nécessaire de "replacer" certains atomes à des valeurs classiques ( en fait, trois hydrogènes ).

La maille primitive contient 4 molécules et les paramètres a,b et c sont respectivement les suivants:

$\alpha$ -D-glucose [21]	10,3662 Å	14,8506 Å	4,9753 Å
$\beta$ -D-glucose [22]	9,205 Å	12,640 Å	6,654 Å

Si la molécule de référence est définie par ( x, y, z ) les autres molécules sont obtenues par les opérations de symétrie ( x+1/2, 1/2-y, -z ), ( 1/2-x, -y, z+1/2 ) et par l'opération ( -x, y+1/2, 1/2-z ) ( sachant que  $A_n = WA_1 + T$  ).

La nomenclature et la numérotation adoptées pour les deux formes anomériques sont données respectivement sur les figures IV.1 et IV.2.



**Figure IV.1** Nomenclature atomique adoptée pour le Glucose  $\alpha$  ( identique pour le glucose  $\beta$  ).

Dans les deux cas, le cycle est dans la forme chaise  ${}^4C_1$  et les seules différences, caractérisant l'anomérisation, sont la présence de l'hydrogène équatorial sur le carbone 1 dans le glucose  $\alpha$  alors que tous les hydrogènes sont trans dans la forme  $\beta$ , la seconde différence concernant l'orientation du groupement hydroxyle primaire  $CH_2OH$  par rapport au carbone 5. Selon la nomenclature de Sundaralingam [23], la conformation gt

(c'est à dire gauche-trans ) est préférentielle dans la forme  $\alpha$  du glucose, alors que la conformation gg ( gauche-gauche) l'est plutôt pour le  $\beta$  glucose ( Figure IV.3). Cette nomenclature s'explique par la position de l'oxygène O<sub>6</sub> par rapport à l'oxygène du cycle O<sub>5</sub> et du carbone C<sub>4</sub> respectivement pour la première et deuxième lettre.

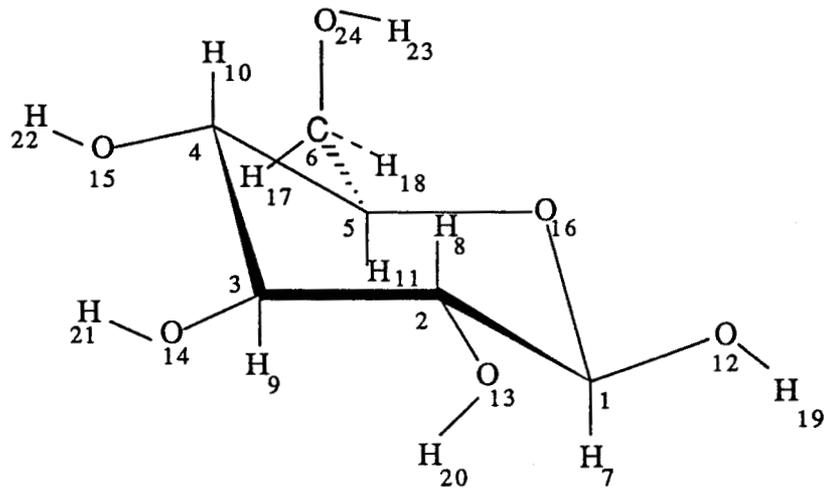


Figure IV.2 Numérotation atomique adoptée pour le Glucose  $\beta$  ( identique pour le glucose  $\alpha$  ).

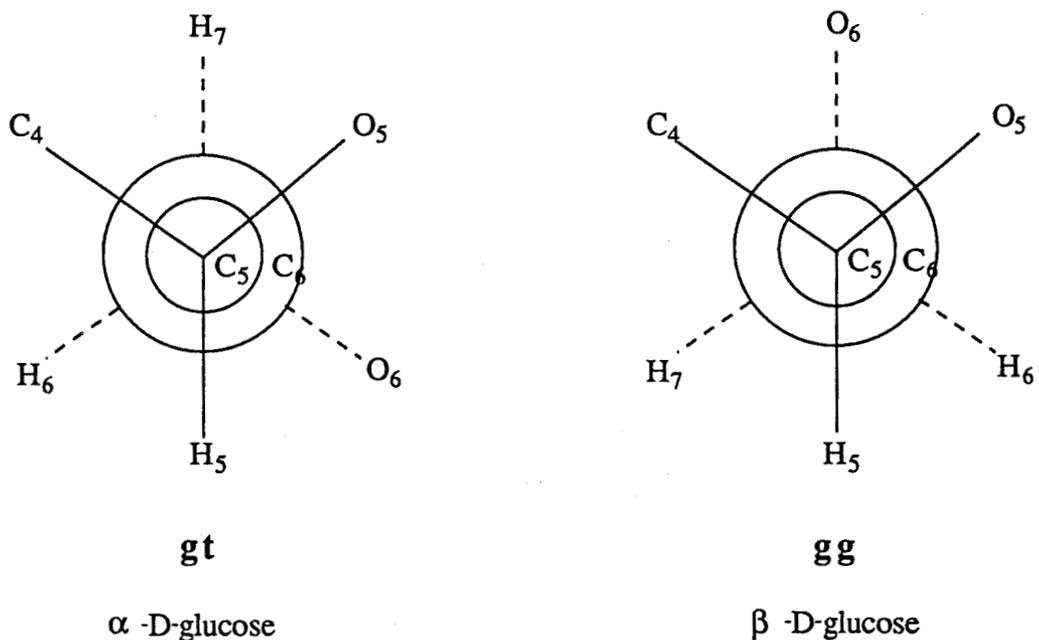
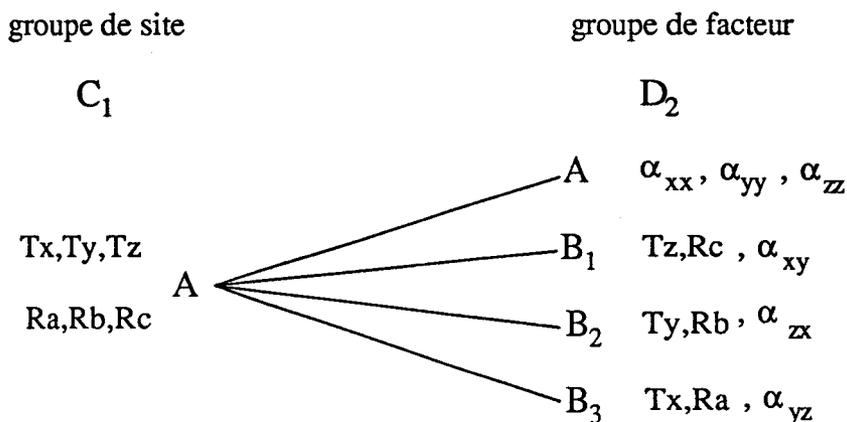


Figure IV.3. Conformation du groupement hydroxyle primaire CH<sub>2</sub>OH

Ces deux caractéristiques seront différenciées par des constantes de force spécifiques de chacune des interactions gauches et trans.

Le glucose ne possédant pas de symétrie, son groupe moléculaire est  $C_1$ . De même le groupe de site est  $C_1$ .

Les modes de vibration du réseau se couplent selon les éléments de symétrie du groupe facteur  $D_2$  selon le diagramme de corrélation:



Leur représentation irréductible est alors

$$\Gamma_{\text{réseau}} = 6 A + 5 B_1 + 5 B_2 + 5 B_3 .$$

Lorsque les 6 modes de rotation et de translation sont associés aux 66 modes de vibration de la molécule isolée (  $3 \times 24 - 6$  ) la représentation irréductible des vibrations du cristal est alors la suivante:

$$\Gamma_{\text{cristal}} = 72 A + 71 B_1 + 71 B_2 + 71 B_3 .$$

les translations d'ensemble optiquement inactives étant d'espèce  $B_1, B_2, B_3$ . Un calcul du glucose en corps rigide a été effectué de façon à retrouver les fréquences acoustiques selon les bonnes représentations, c'est à dire de façon à retrouver les phases vibrationnelles des molécules 2, 3, 4 par rapport à la molécule 1.

### III. Fonction potentielle et conditions du calcul.

#### III.1 Fonction énergie potentielle

L'expression analytique de la fonction énergie potentielle choisie est celle de Urey-Bradley Shimanouchi modifié (mUBSFF) [24] dont la forme est:

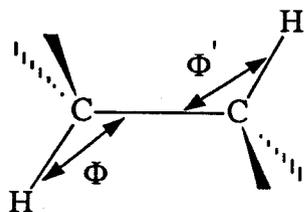
$$\begin{aligned}
V(r) = & \frac{1}{2} \sum_{\text{liaisons}} K_b (r_{ij} - r_o)^2 + \frac{1}{2} \sum_{\text{angles}} H_\theta r_{ij} r_{jk} (\theta_{ijk} - \theta_o)^2 + \frac{1}{2} \sum_{\text{opb}} \gamma_{ijkl} (\Delta\pi_{ijkl})^2 \\
& + \frac{1}{2} \sum_{\text{torsions}} Y_{il} (\Delta\tau_{il})^2 + \sum_{\substack{\text{paires non liées} \\ r < 6 \text{ \AA}}} A_{ij} \exp(-B_{ij} r_{ij}) - \frac{C_{ij}}{r^6} + \sum_{\substack{\text{paires non liées} \\ r < 6 \text{ \AA}}} \frac{q_i q_j}{r} \\
& + \frac{1}{2} \sum_{\text{distances } 1,3} F_{ij} (q_{ij} - q_o)^2 + \sum_{\text{distances } 1,3} F'_{ij} q_{ij} (q_{ij} - q_o) + V_{\text{red}} \\
& + V_{\text{lh}}
\end{aligned}$$

avec  $V_{\text{red}}$ , la contribution à l'énergie potentielle de la tension interne  $\kappa$  qui, pour la géométrie d'un tétraèdre parfait, s'exprime par:

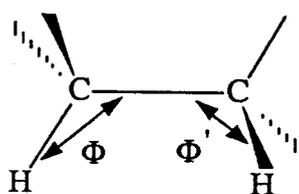
$$V_{\text{red}} = \frac{1}{2} \sum_{\substack{\text{angles} \\ \text{tétraédriques}}} \frac{3}{\kappa\sqrt{8}} (\theta_{ijk} - \theta_o)^2 + \sum_{\substack{\text{angles} \\ \text{tétraédriques}}} \frac{\kappa}{\sqrt{2}} (\theta_{ijk} - \theta_o)(\theta_{ijl} - \theta_o)$$

Dans ces expressions, les constantes  $K_b$ ,  $H_\theta$ ,  $Y_{il}$ ,  $\gamma_{ijkl}$  représentent respectivement les constantes de force associées aux mouvements d'élongation, de déformation angulaire, de torsion et de déformations hors du plan. La constante de force  $\kappa$  est donc la tension interne appliquée à un tétraèdre parfait. Les constantes de force  $F_{ij}$  et  $F'_{ij}$  ( $F'_{ij} = -0,1 F_{ij}$ ) sont respectivement associées aux répulsions de type 1,3 et aux termes linéaires de l'énergie de répulsion.

A ces termes d'énergie intramoléculaire viennent s'ajouter d'autres termes, importants qui mettent en jeu des interactions de type déformation angulaire - déformation angulaire [24] telles que les interactions trans ou gauche définies comme:

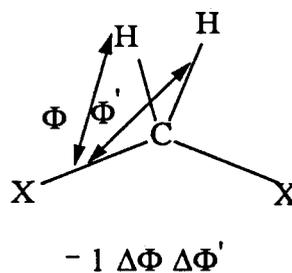
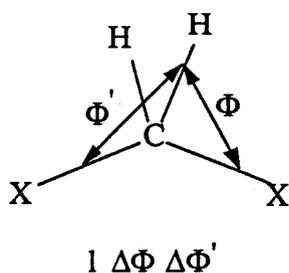


interaction trans



interaction gauche

ou la constante d'interaction angulaire  $l$ , permettant d'ajuster les coordonnées de symétrie de balancement et de rotation, définie par:



Toutes les constantes de force précédentes définissent la fonction énergie potentielle intramoléculaire.

La fonction potentielle intermoléculaire est définie par les autres termes, à savoir:

- le potentiel d'interaction entre paires d'atomes non liés de type Buckingham, dans lequel  $A_{ij}$ ,  $B_{ij}$  et  $C_{ij}$  sont des paramètres spécifiques des atomes mis en jeu [25,27].
- le terme d'interaction électrostatique de type coulombique, avec des charges résiduelles déterminées pour les molécules par des calculs quantiques annexes.
- enfin, le terme  $V_{lh}$  lié au potentiel des liaisons hydrogènes qui, dans notre calcul, est une fonction spécifique de type Urey-Bradley et qui prend la forme suivante

$$\begin{aligned}
 V_{lh} = & \frac{1}{2} K_{O...H} (\Delta r_{O...H})^2 + \frac{1}{2} H_{O-H...O} r_{OH} r_{O...H} (\Delta \theta_{O-H...O})^2 \\
 & + \frac{1}{2} H_{H...O-C} r_{H...O} r_{O-C} (\Delta \theta_{H...O-C})^2 + \frac{1}{2} H_{H...O-H} r_{H...O} r_{O-H} (\Delta \theta_{H...O-H})^2 \\
 & + \frac{1}{2} Y_{O-H} (\Delta \tau_{O-H})^2 + \frac{1}{2} Y_{H...O} (\Delta \tau_{H...O})^2
 \end{aligned}$$

dans laquelle  $K_{O...H}$ ,  $H_{OH...O}$ ,  $H_{H...OC}$ ,  $H_{H...OH}$ ,  $Y_{O-H}$  et  $Y_{O...H}$  sont respectivement les constantes de force associées aux élongations de la liaison hydrogène, aux 3 angles de valence intervenant dans le processus donneur-accepteur et aux deux torsions supplémentaires amenées par la présence d'une liaison hydrogène.

### III.2 Conditions du calcul

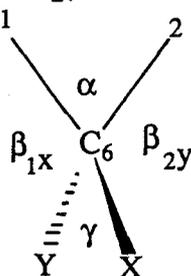
Les coordonnées cartésiennes sont donc pour les deux formes celles rencontrées dans la littérature [20-22].

Pour construire la matrice U, passage des coordonnées internes aux coordonnées de symétrie, nous avons défini l'ensemble des coordonnées internes spécifiques de la molécule ( la même définition est prise dans les deux formes anomériques ) et celles-ci sont données dans le tableau IV.1.

Ensuite, nous avons obtenu les coordonnées de symétrie avec la matrice U, construite de la façon suivante:

- pour éliminer les 11 redondances celles de cycle (6) et celles associées aux carbones tétraédriques le constituant (5), les coordonnées internes suivantes ont été considérées: les 6 liaisons du cycle, les 31 déformations angulaires définies par les atomes du cycle et leurs substituants (  $31 = 1 + 5 \times 6$  ) et par les 6 torsions du cycle. L'expression des coordonnées de symétrie ainsi obtenues est très complexe et met en jeu pour chaque coordonnée une combinaison linéaire de toutes les coordonnées internes considérées. Pour cette raison, elles ne seront pas données dans ce travail.

- un traitement spécifique du carbone C<sub>6</sub> de l'hydroxyle primaire permet d'éliminer la dernière redondance et les coordonnées de symétrie liées à un groupement de symétrie C<sub>2v</sub> sont définies par



Sci C <sub>6</sub> = 4 α - β <sub>1x</sub> - β <sub>2x</sub> - β <sub>1y</sub> - β <sub>2y</sub>	cisaillement
Wag C <sub>6</sub> = β <sub>1x</sub> + β <sub>2x</sub> - β <sub>1y</sub> - β <sub>2y</sub>	balancement
Tw C <sub>6</sub> = β <sub>1x</sub> - β <sub>2x</sub> + β <sub>1y</sub> - β <sub>2y</sub>	torsion
Ro C <sub>6</sub> = β <sub>1x</sub> - β <sub>2x</sub> - β <sub>1y</sub> + β <sub>2y</sub>	rotation
Déf C <sub>6</sub> = 5γ - α - β <sub>1x</sub> - β <sub>2x</sub> - β <sub>1y</sub> - β <sub>2y</sub>	déformation

- pour toutes les autres coordonnées de symétrie la matrice U est diagonale et donc les coordonnées de symétrie correspondent donc aux élongations restantes, aux déformations angulaires et aux 6 dernières torsions C—O exo-cycliques.

L'ensemble définit donc 66 coordonnées de symétrie ( 78 - 12 ) auxquelles s'ajoutent les six coordonnées correspondant aux trois rotations et aux translations externes.

**Tableau IV.1:** Définition des coordonnées internes des liaisons, des déformations angulaires et des torsions pour les deux formes anomères du glucose.

Longueurs de liaison

R1	C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	R9	C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	R17	O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>
R2	C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	R10	C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	R18	O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>
R3	C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	R11	C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	R19	O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>
R4	C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	R12	C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	R20	O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>
R5	C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	R13	C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	R21	C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>
R6	C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	R14	C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	R22	C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>
R7	C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	R15	C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	R23	C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>
R8	C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	R16	O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	R24	O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>

Angles de valence

R25	C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	R39	C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	R53	H <sub>1</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>
R26	C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	R40	H <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	R54	O <sub>1</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>
R27	C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	R41	O <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	R55	H <sub>1</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>
R28	H <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	R42	H <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	R56	C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>
R29	O <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	R43	C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	R57	C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>
R30	H <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	R44	C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	R58	C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>
R31	C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	R45	C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	R59	C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>
R32	C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	R46	C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	R60	C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>
R33	C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	R47	H <sub>5</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	R61	C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>
R34	H <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	R48	C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	R62	C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>
R35	O <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	R49	C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	R63	H <sub>6</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>
R36	H <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	R50	O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	R64	H <sub>7</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>
R37	C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	R51	O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	R65	H <sub>6</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>
R38	C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	R52	O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	R66	C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>

Angles de torsion

R67	C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	R71	C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	R75	C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>
R68	C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	R72	O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	R76	C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>
R69	C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	R73	C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	R77	C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>
R70	C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	R74	C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	R78	C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>

Le calcul est effectué dans le cristal et la première couche de mailles, entourant celle de départ, est nécessaire pour retrouver les 5 liaisons hydrogènes du glucose  $\alpha$  ( $O_3(1,1)\dots O_2(2,6)$ ,  $O_6(1,1)\dots O_3(4,3)$ ,  $O_4(1,1)\dots O_4(3,5)$ ,  $O_2(1,1)\dots O_6(4,22)$ ,  $O_1(1,1)\dots O_5(3,24)$ , avec le nom de l'atome et entre parenthèse le numéro de la molécule et celui de la cellule auxquelles il appartient) et les 4 du glucose  $\beta$  ( $O_1(1,1)\dots O_6(1,10)$ ,  $O_2(1,1)\dots O_3(3,8)$ ,  $O_2(1,1)\dots O_6(4,2)$ ,  $O_3(1,1)\dots O_5(4,2)$ ).

Au total 27 mailles sont donc utilisées ( Cf.Chap. V, Annexe 3 ) pour la numérotation des mailles ) et le calcul des interactions non liées et coulombique est effectué au sein de ces 27 cellules dans la limite de  $d_{\max} = 6\text{\AA}$ . Des calculs ont été réalisés avec des distances de coupure supérieures, mais aucune différence notable des fréquences calculées a été observée ( inférieure au maximum à  $0,2\text{ cm}^{-1}$  ). Par contre, pour des distances  $d_{\max}$  inférieures à  $6\text{\AA}$ , des contacts peuvent ne pas être pris en considération ce qui entraîne des modifications des fréquences calculées.

Les paramètres de la fonction de Buckingham et les distances de coupure sont donnés dans les tableaux IV.2.a et IV.2.b respectivement pour le glucose  $\alpha$  et le glucose  $\beta$ .

**Tableau IV.2.a:** Paramètres de la fonction des interactions non liantes Van der Waals de type Buckingham pour le glucose  $\alpha$ .

Type	$V(r) = A e^{-Br} - C/r^6$			$r_{\min} < r < r_{\max}$	
	A(kcal/mol)	B( $\text{\AA}^{-1}$ )	C(kcal/mol)	$r_{\min}(\text{\AA})$	$r_{\max}(\text{\AA})$
C.....C	83630.	3.600	568.0	2.80	6.
C.....O	63700.	3.881	441.0	2.65	6.
C.....H	8766.	3.670	125.0	2.46	6.
O.....O	96500.	4.333	346.0	2.70*	6.
O.....H	57500.	4.727	122.0	2.29	6.
H.....H	2654.	3.740	27.3	2.10	6.

(\* Un contact 1,3 O...O à  $2.85\text{\AA}$  a été supprimé.)

Après avoir déterminé le champ de forces du glucose  $\alpha$ , les constantes de force ont été transférées au glucose  $\beta$ . Or, à ce niveau et après plusieurs essais, il s'est avéré

qu'il y avait des problèmes de reproduction de fréquences ( par exemple dans la zone des basses fréquences) et ces problèmes semblaient liés à la géométrie du glucose  $\beta$  et en particulier à la position de certains hydrogènes ( contact 1,3 très court et angle de valence très important,  $128,4^\circ$  pour  $C_6OH$  dans la forme  $\beta$  contre  $107,7$  dans la forme  $\alpha$  ).

**Tableau IV.2.b:** Paramètres de la fonction des interactions non liantes Van der Waals de type Buckingham pour le glucose  $\beta$  .

Type	$V(r) = A e^{-Br} - C/r^6$			$r_{\min} < r < r_{\max}$	
	A(kcal/mol)	B( $\text{\AA}^{-1}$ )	C(kcal/mol)	$r_{\min}(\text{\AA})$	$r_{\max}(\text{\AA})$
C.....C	83630.	3.600	568.0	2.80	6.
C.....O	63700.	3.881	441.0	2.65	6.
C.....H	8766.	3.670	125.0	2.25	6.
O.....O	96500.	4.333	346.0	2.65*	6.
O.....H	57500.	4.727	122.0	2.20	6.
H.....H	2654.	3.740	27.3	1.90*	6.

( \* Un contact 1,3 O...O à 2.78  $\text{\AA}$  a été supprimé, de même qu'un contact 1,3 H...H à 2.0  $\text{\AA}$ .)

Ainsi, trois atomes d'hydrogènes ont été "replacés avec des valeurs provenant des calculs semi-empiriques  $AM_1$  et en considérant les valeurs des angles de torsion auxquels ils appartenaient. Leurs coordonnées corrigées sont données, par rapport aux coordonnées cartésiennes des autres atomes, dans le tableau suivant

H <sub>19</sub>	-0,034	3,180	4,160
H <sub>21</sub>	-0,901	-1,685	1,111
H <sub>23</sub>	1,065	4,670	-0,598

De même, après plusieurs essais, les différents ensembles de charges ( Cf. tableaux IV.11 et IV.12 ), obtenus avec les hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et  $AM_1$  et dans les bases STO-3G et 3-21 G ont été testées avec des constantes diélectriques différentes.

L'ensemble des résultats est présenté dans le paragraphe suivant.

#### IV. Résultats de la dynamique harmonique.

Les fréquences calculées de chaque espèce de symétrie, à partir du programme C.V.O.A. [28], pour les anomères  $\alpha$  et  $\beta$  sont données et comparées aux fréquences observées respectivement dans les tableaux IV.3 et IV.4. Une hypothèse d'attribution de chaque mode normal de vibration est donnée à partir de la distribution d'énergie potentielle des constantes de force ( PEF ), car la complexité des coordonnées de symétrie ne permet pas de donner des résultats facilement interprétables.

Cependant, cette description est simplement qualitative, pour évaluer l'allure du mode en question, et n'est exprimée qu'en fonction des principaux groupements mis en jeu, par ordre décroissant, et sans donner le pourcentage selon lequel ils interviennent.

En effet, pour de nombreuses vibrations, la contribution des interactions non liantes est très importantes, de même celle des liaisons hydrogènes. Dans la description elles ne sont pas données pour des raisons de simplicité.

De plus, pour une déformation angulaire, la contribution des constantes de force H et F de ce groupement sont cumulés mais il est bien évident que dans toutes régions ces deux constantes de force n'ont pas la même prépondérance.

Les constantes de force comme les tensions internes  $\kappa$ , les interactions angulaires trans - gauche ou la constante l ne sont pas non plus décrites.

Enfin, pour la région des basses fréquences et par commodité, les descriptions sont faites avec les coordonnées externes, qui ne devraient pas apparaître, et qui correspondent plus exactement des combinaisons des termes d'interactions non liantes.

Ces attributions s'expriment donc en terme de constantes de force mettant en jeu les coordonnées internes décrites. Seuls les atomes spécifiques (  $C_1$ ,  $C_5$ ,  $C_6$ , et  $O_5$  ), ayant nécessité une différenciation des constantes de force, sont numérotés, les atomes qui les accompagnent ne le sont en général pas sauf en cas d'ambiguïté. Lorsqu'aucune précision n'est donnée, cela peut être tous les atomes sauf les atomes spécifiques précédemment cités.

Les tableaux de comparaison des fréquences calculées et observées des différentes espèces isotopiques du glucose  $\alpha$  sont données dans les tableaux IV.5 à IV.8.

L'ensemble des constantes de force du glucose  $\alpha$  sont présentées dans le tableau IV.9 et dans le tableau IV.9.bis. Les constantes de force du  $\alpha$  ayant été transférées au glucose  $\beta$ , puis affinées pour cet anomère, seules les valeurs différentes entre les deux formes sont fournies dans le tableau IV.10. Dans ce tableau sont données aussi les valeurs des constantes de force des interactions angulaires de type trans-gauche intervenant pour les atomes caractérisant l'anomérisation ( $C_1$  et  $C_6$ ).

**Tableau IV.3** Résultats et hypothèses d'attribution des modes normaux de vibration du glucose alpha.

Fréq. observées		Fréq. calculées				Attribution des modes normaux de vibration.
Raman	IR	Espèces de symétrie				
		A	B1	B2	B3	
3415.	3500.	3421.	3423.	3423.	3421.	O—H
	bande	3415.	3411.	3411.	3415.	O—H
3405.		3400.	3402.	3408.	3407.	O—H
	large	3398.	3398.	3402.	3400.	O—H
3385.	3100.	3371.	3371.	3370.	3370.	O—H
2959.		2958.	2958.	2958.	2958.	C—H
		2953.	2952.	2952.	2952.	C—H
2946.	2947.	2948.	2948.	2948.	2948.	C—H
		2939.	2939.	2939.	2939.	C—H
2914.	2920.	2930.	2930.	2930.	2930.	C—H
2890.	2898.	2884.	2884.	2884.	2884.	AS C <sub>6</sub>
2877.	2885.	2857.	2857.	2857.	2857.	SS C <sub>6</sub>
1460.	1460.	1460.	1460.	1460.	1460.	HCH + HC6O
1440.	1440.	1440.	1440.	1442.	1442.	HC5O + C6C5O + CCH
		1417.	1417.	1417.	1417.	HCO + CC1H + CCH + HC1O5 + C1OH
1407.	1407.	1405.	1406.	1402.	1401.	HCO + COH + CCH + CC1H
1372.	1375.	1376.	1375.	1375.	1375.	HC1O1 + CC1H + CCH + HCO + COH + C1OH
		1370.	1371.	1371.	1370.	HCO + CCH + COH + C6OH + C1OH + HC1O1

		1369.	1369.	1368.	1369.	$C_6OH + COH + CCH + C_1OH$
1347.		1348.	1347.	1348.	1348.	$HCO + CCH + COH + C_1OH$
1332.	1340.	1333.	1331.	1331.	1333.	$HC_1O_5 + CCH + HCO + COH$
		1328.	1329.	1328.	1327.	$CCH + HCO + COH + C_6OH + HC_1O_5$
		1319.	1318.	1318.	1317.	$CCH + COH + HCO$
1296.	1295.	1307.	1306.	1312.	1314.	$COH + CCH + C_6OH + C_6C_5H$
1279.	1275.	1279.	1279.	1280.	1280.	$CC_6H + HC_6O + C_6OH + COH + CCH + C_1OH$
		1276.	1277.	1276.	1277.	$COH + C_1OH + CCH + C_5C_6H + C_6OH$
		1267.	1267.	1269.	1269.	$CCH + CO_1H$
		1255.	1255.	1255.	1254.	$CCH + COH + C_1OH$
1226.	1222.	1227.	1226.	1226.	1227.	$CCH + COH$
1204.	1202.	1208.	1209.	1210.	1210.	$HC_6O + CC_6H + C_6C_5H + C_5C_6$
1153.		1160.	1160.	1160.	1161.	$CO + CC_{cyc} + CCH + HCO$
1133.	1145.	1138.	1139.	1140.	1140.	$C_5O_5 + C_1O_5 + CC_{cyc} + CO + HC_6O$
1123.		1122.	1122.	1124.	1123.	$CC_{cyc} + C_1O_1 + CO + C_5C_6 + C_1OH$
1113.		1118.	1120.	1120.	1120.	$CCH + CC_{cyc} + C_6C_5H + C_5C_6$
1105.	1105.	1101.	1100.	1100.	1101.	$CC_{cyc} + CCH + O_5C_1 + C_6O_6 + CO$
1078.	1078.	1078.	1078.	1078.	1079.	$C_6O_6 + O_5C_1 + CC_{cyc} + HC_6O + CCH$
1070.		1053.	1054.	1054.	1053.	$CO + CC_{cyc} + C_5O_5 + C_1O_5 + C_6O_6$
1055.	1045.	1050.	1050.	1050.	1051.	$CC_{cyc} + C_5O_5 + C_6O_6 + C_1O_1 + CO$
1023.		1028.	1028.	1029.	1028.	$CO + C_5O_1 + C_5C_6 + CC_{cyc}$
1004.	995.	996.	996.	997.	996.	$CO + CC_{cyc} + CCO + C_5C_6$
		981.	981.	980.	980.	$CO + O_5C_1 + CC_{cyc} + C_5C_6 + CCO$
916.	917.	911.	910.	911.	912.	$C_1O_1 + CC_{cyc} + CO + OC_1O + CO + CC_1O_1$
842.	840.	845.	844.	845.	844.	$CC_6H + HC_6O + C_5O_5 + C_1O_5 + C_1O_1 + \tau C_6O_6$
773.	775.	763.	764.	761.	763.	$CO_5C + CC_1O_1 + C_1O_1 + CO + C_1O_5 + CCC$

657.	645.	658.	659.	661.	662.	CCO + CC1O1 + CO5C + OC1O
615.	618.	613.	615.	615.	617.	CCO + C4C5O + CC6O + $\tau$ C1O1
580.	572.	580.	582.	584.	578.	OC1O + CCO + CC1O5 + CC5O5
559.		559.	560.	560.	557.	$\tau$ C1O1 + CCO
542.	549.	541.	542.	541.	543.	CCO + CC5O + CC6O + OC1O
497.		511.	510.	505.	503.	$\tau$ C6O6 + CCO + OC1O
		478.	485.	483.	480.	$\tau$ CO + $\tau$ C3O3 + CCO + CCC + CC6O + CC1O1 + CC1O5
		461.	465.	462.	463.	$\tau$ CO + $\tau$ C6O6 + CCO
		454.	450.	456.	457.	$\tau$ CO + $\tau$ C3O3 + CCO
443.	442.	445.	448.	452.	446.	$\tau$ C3O3 + $\tau$ CO + CCO + CC1O5
426.	430.	427.	421.	422.	434.	$\tau$ CO + CCC + CCO
411.	412.	404.	414.	412.	404.	CCO + CCC + OC1O + CC1O1 + CC1O5
400.	399.	398.		390.	398.	CCO + CC6O + $\tau$ C5C6
369.			376.		364.	CCO + CC1O1 + C6C5O + OC1O + $\tau$ C5C6
	350.	347.		357.		CCO + CC6O + C4C5C6 + CCC
		339.	338.			CCO + C6C5O + $\tau$ CC <sub>cyc</sub>
		319.	326.	323.	322.	CCO + C5C6O + C4C5C6
312.			303.	317.	313.	CCO + C5C6O6 + C4C5C6
292.	290.	280.	284.	284.	289.	CCO + CC1O1 + CC1O5 + $\tau$ CC <sub>cyc</sub> + $\tau$ C5C6
277.	270.	266.	273.	272.	282.	C6C5O + C4C5C6 + $\tau$ C5C6 + CO5C
	255.			256.	250.	CCO + CO5C + $\tau$ CC <sub>cyc</sub> + $\tau$ C1O5
234.		237.		237.		$\tau$ C5C6 + CCO + LH
			220.		216.	CCO + C6C5O + CO5C + $\tau$ O5C1 + CCC + RB
184.		188.	183.	191.	177.	C4C5C6 + CCC + CCO + $\tau$ CC <sub>cyc</sub>
			165.		168.	C4C5C6 + $\tau$ CC <sub>cyc</sub> + $\tau$ C5C6 + CCO + CC1O5 + $\tau$ C5O5 + $\tau$ C1O5
155.		155.	158.	157.		$\tau$ C5C6 + $\tau$ CC <sub>cyc</sub> + CCC + $\tau$ CO + CCO

	152.	151.				$\tau CC_{cyc} + CO_5C + CCO + CC_6O$
142.				141.		$RA + CCO + \tau C_5C_6 + \tau CC_{cyc} + TX$
134.	136.		137.		138.	$\tau CC_{cyc} + RB + TX + \tau C_5C_6 + \tau CO$
	126.		125.			$\tau CC_{cyc} + TY + RC + RB + RA$
112.	112.			114.	114.	$TZ + RB + RC + CCO + \tau CC_{cyc} + TX$
101.	98.	101.				$TX + RA + RB + \tau C_5C_6 + TZ$
92.			93.9			$TX + TY + \tau CC_{cyc} + RA + RB$
85.	88.			85.8		$RA + TZ + \tau C_5C_6 + RC + TX + RB$
76.	77.	74.8			78.2	$RA + TX + \tau C_5C_6 + CCO + \tau CC_{cyc}$
70.	70.		72.8			$RC + TX + TY + RB$
		64.5				$TY + RC + \tau C_3O_3 + RA + TZ + RB$
		63.8			63.0	$TY + TZ + \tau C_1O_1 + RA + \tau CC_{cyc} + \tau C_3O_3 + RC$
59.	60.		57.8			$RA + RB + TY + TX + \tau C_1O_1 + RC$
49.	48.	52.1				$RC + TZ + RB + \tau C_1O_1 + TX + CCO$
				44.8		$TX + RC + \tau C_3O_3 + \tau C_6O_6$
41.		41.4		40.8	33.6	$TZ + RB + \tau CC_{cyc} + TY + \tau C_5C_6$

Tableau IV.4 Résultats et hypothèses d'attribution des modes normaux de vibration du glucose bêta.

Fréq. observées		Fréq. calculées				Attribution des modes normaux de vibration.
Raman	IR	Especes de symétrie				
		A	B1	B2	B3	
3416.	3500. bande	3433.	3433.	3433.	3433.	O—H
		3405.	3405.	3405.	3405.	O—H
		3396.	3396.	3396.	3395.	O—H
3381.		3381.	3381.	3381.	3381.	O—H
3339.		3374.	3374.	3373.	3373.	O—H
2983.	large 3100.	2980.	2980.	2981	2980.	C—H
		2977.	2977.	2977.	2976.	C—H
		2969.	2969.	2969.	2969.	C—H
2950.	2935. 2910.	2956.	2956.	2956.	2956.	C—H
		2942.	2942.	2942.	2942.	C—H
2913.	2898.	2910.	2909.	2909.	2902.	AS C6
2878.	2880.	2874.	2875.	2875.	2874.	SS C6
		1463.	1463.	1462.	1463.	HCH + CC6H + C6C5H + HC5O
		1451.	1451.	1451.	1450.	HCH + HC5O + HC6O
1405.	1412.	1432.	1434.	1433.	1432.	HCO + CCH
		1423.	1423.	1424.	1423.	HCO + HC1O1 + COH + CCH
		1404.	1403.	1403.	1404.	CC1H + CCH + HCO + HC1O1
1385.		1392.	1392.	1392.	1392.	CCH + CC6H + HC6O + C6C5H + HC1O1 + HCO
1372.	1380.	1384.	1385.	1385.	1385.	HCO + CCH + C3OH

1360.	1360.	1362.	1362.	1362.	1362.	HC1O5 + HC1O1 + CC1H + CCH
		1338.	1339.	1342	1342.	CCH + COH + HCO + C6OH
		1329.	1328.	1333.	1333.	COH + CCH + C6OH
1312.	1310.	1316.	1316.	1314.	1312.	CCH + CC1H + COH + HCO + C6OH
		1303.	1302.	1299.	1302.	C6OH + CCH
1283.		1286.	1286.	1285.	1285.	CCH + COH + C3OH
		1275.	1275.	1273.	1274.	CCH + C3OH + COH
1267.	1271.	1265.	1263.	1259.	1260.	C3OH + COH + CCH + C1OH
1251.	1257.	1253.	1253.	1253.	1253.	CCH + COH + C6OH + C1OH + CC6H
1226.	1226.	1236.	1242.	1242.	1236.	C1OH + CC1H + CCH
1206.	1205.	1212.	1208.	1209.	1212.	HC6O + CC6H + COH
1157.	1153.	1166.	1166.	1166.	1166.	C5C6 + C6O6 + CCH + C6C5H
1130.		1149.	1148.	1146.	1146.	CCH + CC <sub>cyc</sub> + CO + C1O1 + C1O5 + C5O5
1116.	1110.	1129.	1129.	1135.	1135.	CCH + CC <sub>cyc</sub> + COH
1102.	bande	1093.	1093.	1094.	1094.	CC <sub>cyc</sub> + CO + HC6O + O5C5 + COH
		1089.	1089.	1088.	1088.	CC <sub>cyc</sub> + CO + C1O1 + C5O5 + C1O5
1081.	large	1081.	1083.	1083.	1083.	CC <sub>cyc</sub> + CO + C5C6 + C1O1 + C6O6 + C5O5
1068.		1056.	1057.	1057.	1056.	C1O5 + CO + C1O1 + C6O6 + HC6O +
1052.		1046.	1046.	1047.	1046.	C6O6 + HC6O + CO + CC <sub>cyc</sub> + C1O1
1032.		1010.	1010.	1010.	1010.	C1O5 + CO
1011.		1002.	1002.	1003.	1003.	CO + CC <sub>cyc</sub> + CCH
	980.	995.	997.	997.	996.	CO + CC <sub>cyc</sub> + COH
917.	916.	923.	921.	918.	922.	C6O6 + C5C6 + C1O1 + C6C5H
902.	902.	900.	899.	899.	901.	CC6H + HC6O + C5O5 + τ C6O6 + C1O1
717.	740.	704.	708.	707.	707.	CC6O + C4C5C6 + CCO + C6C5O
677.		676.	676.	676.	676.	τ C1O1 + OC1O

635.	634.	636.	631.	633.	633.	$\text{CCO} + \text{CC1O1} + \text{CO5C}$
	607.	611.	618.	612.	629.	$\text{C4C5O} + \text{CC1O5} + \text{CO5C} + \text{CCO}$
583.		588.	597.	589.	592.	$\text{CCO} + \tau \text{C6O6} + \text{C6C5O} + \text{OC1O}$
577.		575.	563.	573.	569.	$\tau \text{CO} + \text{CCO}$
	530.	532.	534.	541.	543.	$\tau \text{C6O6} + \tau \text{CO} + \text{CC6O} + \text{CCO}$
522.		523.	522.	527.	508.	$\tau \text{CO} + \text{CCO} + \tau \text{C6O6}$
		509.	500.	500.	506.	$\tau \text{C6O6} + \text{OC1O} + \text{CCO}$
457.	467.	455.	456.	461.	456.	$\text{CCO} + \text{CC1O1} + \text{CCC}$
		438.	433.	439.	435.	$\text{CCC} + \text{CCO} + \text{C4C5O} + \text{CO5C}$
427.	426.	427.	427.	426.	427.	$\tau \text{CO} + \text{CCO}$
402.	404.	421.	420.	421.	423.	$\text{CCC} + \text{C4C5O} + \text{CC1O5} + \text{CO5C}$
		366.	364.	363.	364.	$\text{CCO}$
350.		348.	359.	340.	351.	$\text{CCO} + \text{CC1O1} + \text{OC1O} + \tau \text{CO}$
	321.	333.	337.	336.	337.	$\text{OC1O} + \text{CCO} + \text{CC6O}$
		308.	309.	298.	302.	$\text{CCO}$
		297.	292.	295.	290.	$\text{C4C5C6} + \text{C6C5O} + \tau \text{C5C6} + \text{CCO}$
281.		288.		289.		$\text{C5C6O} + \text{CC6O} + \text{CO5C} + \tau \text{C1O5} + \tau \text{C5O5} + \text{CC1O1}$
273.	268.		272.		278.	$\text{CCO} + \text{CO5C} + \tau \text{C5O5} + \tau \text{C1O5} + \text{C6C5O}$
247.		236.		254.	251.	$\text{CCO} + \tau \text{C5C6} + \text{C6C5O}$
			227.	223.		$\tau \text{C5C6} + \text{CCO} + \text{CC1O1}$
			215.		210.	$\text{CCC} + \text{CCO} + \tau \text{CC}_{\text{cyc}}$
185.		187.	185.		191.	$\text{CCO} + \tau \text{CC} + \tau \text{C5C6} + \text{R}_B + \text{CC1O1}$
169.		180.		186.		$\text{C4C5C6} + \tau \text{CC} + \text{C6C5O} + \text{CC6O}$
158.		161.		160.		$\tau \text{CC} + \text{CCC} + \text{CCO}$
			145.		149.	$\tau \text{CC}_{\text{cyc}} + \text{CCC} + \text{CCO} + \text{CO5C} + \text{C4C5C6}$
132.	124.	124.	132.		132.	$\text{R}_A + \text{T}_X + \text{CCC} + \tau \text{CC}$

116.	112.	112.	112.		114.	$R_B + \tau C_5C_6 + C_6C_5O + R_A$
105.	104.			103.		$R_B + R_A + \tau C_5C_6 + C_6C_5O$
93.			97.2			$T_Y + R_B + \tau C_5C_6 + R_C + R_A + T_X$
87.	88.			84.0		$R_A + R_C + R_B + \tau C_5C_6 + \tau C_1O_1 + CCO$
	83.		78.5			$R_C + R_B + \tau CO + \tau C_6O_6 + T_X$
76.	75.	77.0			77.0	$R_C + \tau C_5C_6$
65.		63.		70.5		$T_X + T_Y + R_B + \tau C_6O_6$
61.	59.		56.0		58.	$R_A + T_X + \tau C_5C_6 + \tau C_1O_1 + T_Y + R_C$
53.		51.0		55.0		$R_A + T_Y + T_X + \tau C_1O_1 + R_B$
45.				44.8	46.3	$T_Z + T_X + \tau CO$
38.		35.0				$T_Z + T_X + R_A + R_B + \tau CO + T_Y$

**Tableau IV.5:** Comparaison des fréquences calculées et des fréquences observées de la forme alpha du glucose-1d1. Le spectre observé provient des travaux de Vasko [4].

Fréq. observées	Fréq. calculées	Fréq. observées	Fréq. calculées
1459.	1460.		1079.
1419.	1439.	1063.	1061.
1404.	1408.	1035.	1044.
	1387.	1014.	998.
1369.	1369.	989.	996.
	1368.	940.	927.
1346.	1345.		922.
	1330.	814.	892.
1321.	1321.	810.	830.
	1317.	761.	752.
1290.	1307.	640.	651.
	1279.	612.	608.
1264.	1271.		572.
	1257.	553.	558.
1228.	1228.	534.	540.
1205.	1209.	497.	510.
	1188.		477.
1158.	1177.		460.
1131.	1139.		454.
1115.	1123.	431.	444.
1106.	1109.		425.
1090.	1088.	401.	404.

**Tableau IV.6:** Comparaison des fréquences calculées et des fréquences observées de la forme alpha du glucose-1,2d2. Le spectre observé provient des travaux de Vasko [4].

Fréq. observées	Fréq. calculées	Fréq. observées	Fréq. calculées
1457.	1460.	1053.	1059.
1447.	1439.	1032.	1006.
1420.	1405.	1003.	998.
	1376.	961.	963.
1370.	1369.	954.	936.
1341.	1342.	924.	926.
1329.	1332.	898.	915.
	1322.	849.	833.
	1315.	812.	803.
1294.	1306.	761.	747.
1268.	1279.	640.	647.
	1264.	624.	608.
	1237.		568.
1220.	1226.	552.	557.
1206.	1209.	533.	538.
1179.	1177.		510.
1163.	1165.		475.
1143.	1136.	451.	459.
	1122.		452.
1106.	1099.		443.
1088.	1079.	427.	421.
1065.	1067.	403.	403.

**Tableau IV.7:** Comparaison des fréquences calculées et des fréquences observées de la forme alpha du glucose-6,6d2. Le spectre observé provient des travaux de Vasko [4].

Fréq. observées	Fréq. calculées	Fréq. observées	Fréq. calculées
1440.	1435.	1049.	1054.
1421.	1416.	1031.	1037.
1398.	1405.		1019.
	1375.	993.	990.
1369.	1370.	967.	965.
1355.	1354.	908.	916.
	1348.		900.
	1331.	866.	863.
1322.	1324.	769.	765.
	1317.	743.	704.
1296.	1301.		651.
	1275.	621.	611.
1270.	1263.	594.	578.
1250.	1249.	558.	558.
1238.	1227.	536.	536.
	1164.	508.	510.
	1161.		475.
1142.	1152.		458.
	1129.	450.	454.
1112.	1121.		443.
1091.	1097.	418.	423.
1082.	1070.		403.

**Tableau IV.8:** Comparaison des fréquences calculées et des fréquences observées de la forme alpha du glucose-O-d5. Le spectre observé provient des travaux de Wells [8].

Fréq. observées	Fréq. calculées	Fréq. observées	Fréq. calculées
1456.	1460.	1035.	1015.
1440.	1439.	1018.	1007.
1404.	1411.	968.	976.
1380.	1391.		948.
1373.	1368.	937.	938.
1360.	1355.		914.
1339.	1340.	894.	898.
	1328.	863.	854.
1320.	1319.	835.	837.
1297.	1303.	754.	752.
1281.	1287.	630.	643.
1260.	1260.	603.	608.
1229.	1215.	589.	565.
1197.	1187.	557.	538.
1167.	1158.	480.	467.
1153.	1148.		459.
1145.	1128.	424.	407.
	1119.	410.	403.
1097.	1101.		392.
	1072.		372.
	1069.	362.	358.
1061.	1059.		343.

**Tableau IV.9** Valeurs des constantes de force du glucose alpha.

<u>Elongations</u>	$K_b$ (mdyne/Å)
C—C <sub>cyc</sub>	2.95
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	2.65
C—O <sub>cyc</sub>	2.90
C—O	2.83
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	2.99
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	3.60
C—H	3.985
O—H	5.9985

<u>Angles de valence</u>	H (mdyne/Å)	F (mdyne/Å)	F' = -0.1 F
C—C—C	0.36	0.21	
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	0.32	0.20	
C—C—H	0.19	0.412	
C <sub>2</sub> —C <sub>1</sub> —H	0.232	0.42	
C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —H	0.18	0.405	
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H	0.175	0.42	
C—C—O	0.265	0.55	
C <sub>2</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	0.40	0.655	
C <sub>2</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>5</sub>	0.36	0.65	
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	0.36	0.65	
C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	0.20	0.45	
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	0.295	0.55	
H—C—O	0.224	0.676	
H—C <sub>1</sub> —O	0.20	0.60	
H—C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	0.2635	0.808	
H—C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	0.194	0.55	
C—O—C	0.60	0.42	
O—C—O	0.37	0.68	
H—C—H	0.4285	0.07	
C—O—H	0.2575	0.636	
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub> —H	0.2840	0.612	
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub> —H	0.2995	0.645	

**Tableau IV.9 (suite)**

Angles de torsion      Y (mdyne.Å)

C—C <sub>cyc</sub>	0.1000
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	0.1500
C—O <sub>cyc</sub>	0.0615
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	0.1030
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	0.0834
C—O	0.0613

Tensions intramoléculaires    κ (mdyne.Å)

C <sub>1</sub>	0.0950
C <sub>(2-5)</sub>	0.0300
C <sub>6</sub>	0.0105

Liaisons hydrogènes

KO...H	0.15 (mdyne/Å)	H <sub>H</sub> ...OX	0.03 (mdyne/Å)
H <sub>H</sub> ...OX	0.03 (mdyne/Å)	Y <sub>H</sub> ...O	0.00 (mdyne.Å)

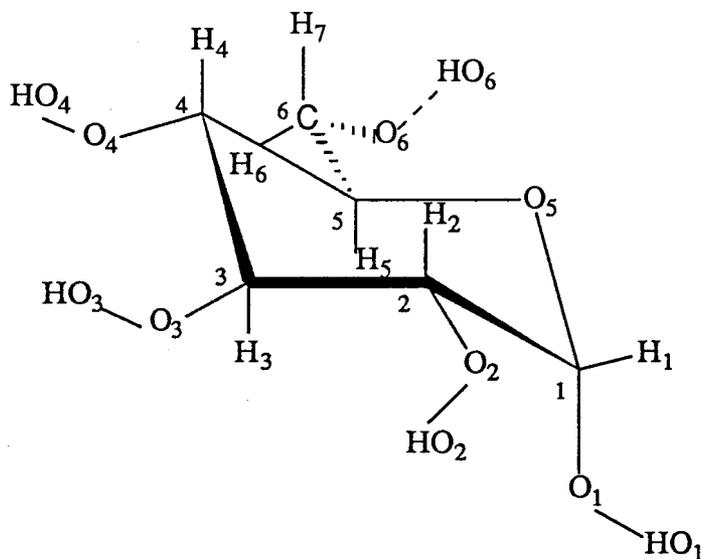
**Tableau IV.10:** Différences entre les constantes de force des deux anomères du glucose. ( K, H et F sont exprimés en mdyne/Å, Y, k, l, t et g en mdyne.Å ).

	$\alpha$	$\beta$			$\alpha$		$\beta$
K C <sub>5</sub> C <sub>6</sub>	2.65	2.50	H <sub>6</sub> -O <sub>5</sub>	t	0.096	g	0.000
K C <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	3.60	3.25	H <sub>7</sub> -H <sub>5</sub>	t	-0.090	g	-0.088
H OCO	0.37	0.32	C <sub>4</sub> -O <sub>6</sub>	t	-0.095	g	-0.097
F OCO	0.68	0.63	H <sub>2</sub> -O <sub>1</sub>	t	0.096	g	0.096
H HC <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	0.194	0.185	H <sub>1</sub> -C <sub>3</sub>	t	0.096	g	0.000
F HC <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	0.55	0.53	H <sub>6</sub> -H <sub>5</sub>	g	0.045	g	-0.047
H C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> H	0.284	0.255	H <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	g	-0.036	t	0.000
F C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> H	0.612	0.574	H <sub>7</sub> -O <sub>5</sub>	g	-0.036	t	0.096
H C <sub>6</sub> O <sub>6</sub> H	0.2995	0.295	H <sub>7</sub> -C <sub>4</sub>	g	-0.036	g	0.000
F C <sub>6</sub> O <sub>6</sub> H	0.645	0.630	O <sub>5</sub> -O <sub>6</sub>	g	0.050	g	-0.098
Y C—C <sub>cyc</sub>	0.100	0.125	H <sub>5</sub> -O <sub>6</sub>	g	0.092	t	0.095
Y C—C	0.150	0.175	H <sub>2</sub> -H <sub>1</sub>	g	-0.005	t	0.000
Y C—O	0.0613	0.0635	O <sub>2</sub> -O <sub>1</sub>	g	-0.096	g	0.092
Y C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	0.103	0.0827	H <sub>2</sub> -O <sub>5</sub>	g	0.090	g	0.000
$\kappa$ C <sub>1</sub>	0.095	0.090	O <sub>2</sub> -H <sub>1</sub>	g	0.000	g	0.092
$\kappa$ C <sub>6</sub>	0.010	0.075	O <sub>1</sub> -C <sub>3</sub>	g	0.000	t	0.000
			C <sub>6</sub>	l	0.04		0.015

**Tableau IV.9.bis** Valeurs des constantes de force des coordonnées internes du glucose  $\alpha$  et des différences observées pour le glucose  $\beta$ , converties respectivement pour K, H, F et Y en kcal/mol.Å<sup>2</sup>, kcal/mol.Å<sup>2</sup>rd<sup>2</sup>, kcal/mol.Å<sup>2</sup> et kcal/mol.

Le H de notre calcul est, de par la forme de la fonction potentielle, multiplié par les liaisons  $r_i$  et  $r_j$  de l'angle  $\alpha_{ij}$ . Or, dans la plupart des programmes la constante H correspondante n'est pas multipliée par ces liaisons.

La barrière de rotation de l'angle de torsion  $\tau$  autour d'un axe d'ordre n peut être calculée à partir de la constante de force torsionnelle, par la relation  $V_0 = 2 \cdot Y_{\text{tor}}/n^2$ , pourvu que la raie Raman corresponde à un mode pur.



<u>Elongations</u> K <sub>b</sub> (kcal/mol.Å)	Glucose $\alpha$	Glucose $\beta$
C—C <sub>cyc</sub>	212.2	
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	190.6	179.8
C—O <sub>cyc</sub>	208.6	
C—O	203.6	
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	215.1	
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	258.9	233.77
C—H	286.7	
O—H	431.5	

Tableau IV.9.bis (suite)

<u>Angles de valence</u>	Glucose $\alpha$		Glucose $\beta$	
	H(kcal.mol/rd <sup>2</sup> )	F(kcal.mol/rd <sup>2</sup> )	H(kcal.mol/rd <sup>2</sup> )	F(kcal.mol/rd <sup>2</sup> )
C—C—C	60.22	35.13		
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	53.32	33.33		
C—C—H	32.93	47.71		
C <sub>2</sub> —C <sub>1</sub> —H	28.08	50.85		
C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —H	21.61	48.63		
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H	20.82	49.97		
C—C—O	41.20	85.52		
C <sub>2</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	61.37	100.49		
C <sub>2</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>5</sub>	56.70	102.38		
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	56.55	102.09		
C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	31.03	69.80		
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	45.35	84.56		
H—C—O	25.24	76.16		
H—C <sub>1</sub> —O	21.93	65.78		
H—C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	29.91	91.70		
H—C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	21.62	61.30	20.62	59.07
C—O—C	87.91	61.54		
O—C—O	52.77	96.93	45.65	89.88
H—C—H	36.99	6.04		
C—O—H	25.51	63.01		
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub> —H	27.53	59.33	24.20	54.4
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub> —H	29.43	63.39	28.99	61.92

<u>Angles de torsion</u> Y (kcal.mol)	Glucose $\alpha$	Glucose $\beta$
C—C <sub>cyc</sub>	3.2	4.0
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	4.8	5.6
C—O <sub>cyc</sub>	1.97	
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	3.29	2.64
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	2.67	
C—O	1.96	2.03

## IV. Discussion des résultats de l'analyse harmonique

Le calcul des modes normaux de vibration réalisé dans le cristal sur 27 mailles donne, pour les deux formes anomériques, des résultats satisfaisants. La déviation standard, entre les fréquences observées et les fréquences calculées correspondantes, est de l'ordre de  $3 \text{ cm}^{-1}$  pour le glucose  $\alpha$  et de  $5 \text{ cm}^{-1}$  pour le glucose  $\beta$  (à comparer, par exemple, avec les  $31 \text{ cm}^{-1}$  obtenu avec AMII [10]).

La combinaison des potentiels intra- et inter-moléculaires semblent donc apte à reproduire les spectres de vibration complexes de ces molécules, en particulier les vibrations internes de basses fréquences le sont parfaitement. Cependant, il a été nécessaire, pour reproduire correctement toutes ces bandes de basses fréquences, d'effectuer plusieurs calculs avec les différents ensembles de charges résiduelles et pour chaque ensemble avec des valeurs variables de la constante diélectrique ( $\epsilon$  de 1 à 5 et plus selon le type de charges considéré).

Sur le tableau suivant, on peut, pour le glucose  $\alpha$ , observer les valeurs prises par l'énergie de réseau, évaluée à partir du programme C.V.O.A. pour que celle-ci devienne négative, en fonction des charges considérées et de la valeur de la constante diélectrique (en dessous des valeurs de  $\epsilon$  indiquées, l'énergie de réseau est positive et le cristal n'est donc pas physiquement stable):

Hamiltoniens	sans charges	MNDO	MINDO/3	AM1	STO-3G	3-21G
Valeur de $\epsilon$	—	$\epsilon=3$	$\epsilon=6$	$\epsilon=3$	$\epsilon=2$	$\epsilon=10$
En. Attraction	41.	41.	41.	41.	41.	41.
En. Répulsion	-60.	-60.	-60.	-60.	-60.	-60.
En. Electrostatique	—	13.	16.	14.	14.9	18.6
En. réseau	-19.	-6.	-3.	-5.	-4.1	-0.4

Les énergies sont exprimées en kcal/mole.

L'accord le meilleur obtenu dans les basses fréquences, l'a été pour les charges provenant de l'hamiltonien AM<sub>1</sub> avec une constante diélectrique de 3. La valeur de cette constante est la même que celle utilisé dans de nombreux calculs sur les saccharides comme ceux de Rasmussen ou de Brady [ Cf. Chap. II pour ces auteurs]. Avec les autres distributions de charges, il est parfois difficile de reproduire correctement toutes les

bandes de vibration et en particulier les vibrations à  $85\text{ cm}^{-1}$  pour le glucose  $\alpha$  et à  $87$  et  $93\text{ cm}^{-1}$  pour le glucose  $\beta$  sont dans certains cas absentes de cette zone de fréquences.

En plus de la reproduction correcte de l'ensemble des spectres de vibration, il a été possible de transférer les constantes de force d'une structure ( $\alpha$ ) à l'autre ( $\beta$ ) avec peu de changements pour les constantes de force intramoléculaires ( Cf Tableau IV.10 ). Sur les 67 constantes de force (sans tenir compte des interactions angulaires trans-gauche) du glucose  $\alpha$ , seules 16 diffèrent dans le glucose  $\beta$ . La plupart des différences mises en jeu le sont pour des groupements contenant un atome caractéristique de l'anomérisation ( $C_1$  ou  $C_6$  ). La modification des constantes de force torsionnelles des liaisons C—O exo-cyclique peut s'interpréter par une orientation différente de l'hydrogène qui est porté par l'oxygène, ceci en relation avec le réseau de liaisons hydrogènes spécifique de chaque forme anomérique.

Les interactions angulaires trans ( $t$ ) et gauche ( $l$ ), définies par Shimanouchi [24], ont été introduites au niveau des carbones  $C_1$  et  $C_6$  pour permettre un meilleur ajustement entre fréquences observées et fréquences calculées: ces constantes de force permettent de déplacer de quelques  $\text{cm}^{-1}$  les fréquences calculées. De même, la constante d'interaction angulaire  $l$  du  $C_6$  est nécessaire pour placer les coordonnées de symétrie de torsion et de rotation du groupement  $\text{CH}_2\text{XY}$ .

Dans les deux cas, les constantes de force intermoléculaires sont les mêmes:

Celles du terme de liaisons hydrogènes, incontournables pour expliquer tous les modes de basses fréquences et de hautes fréquences, mais participant aussi de manière prépondérante sur de nombreuses bandes de tous les autres domaines spectraux. Ces contributions influencent les valeurs des constantes de force intramoléculaires. Ainsi, on peut noter des différences non négligeables entre les constantes de force du glucose  $\beta$  déterminées par Hineno [9] pour un champ Urey-Bradley en molécule isolée avec celles obtenues dans ce travail.

Pour les autres termes intermoléculaires, on peut noter les faits suivants:

Les interactions de Van der Waals interviennent pour expliquer les spectres de basses fréquences, mais participent aussi pour quelques bandes du domaine des moyennes fréquences.

Comme déjà décrit, le terme électrostatique est fondamental pour reproduire parfaitement les fréquences inférieures à  $200\text{ cm}^{-1}$ . Sa présence ne semble pas déterminante dans la reproduction des autres domaines spectraux.

L'ensemble des paramètres obtenus définit le champ de force des formes anomériques du glucose. Cependant, il faut noter que si l'optimisation des paramètres de la fonction énergie potentielle est réalisée par simple comparaison entre fréquences calculées et fréquences observées, elle n'est pas univoque.

Dans le chapitre II, il a été donné la façon de discriminer un champ de force parmi les  $2^N$  possibles. Ceci peut être obtenu par l'utilisation des différentes substitutions isotopiques mais surtout par calcul des intensités Infrarouge, Raman et Raman de Résonance.

Pour le premier cas, les constantes de force déterminées pour le glucose  $\alpha$  ont été utilisées pour calculer les spectres du glucose deutéré sélectivement sur l'hydrogène  $H_1$  (glucose-1d1), sur les  $H_1$  et  $H_2$  (glucose-1,2d2) sur les hydrogènes du groupement hydroxyle primaire (glucose6,6d2) et enfin sur tous les groupements COH (glucose-5od) ( Cf. tableaux IV.5 à IV.8 respectivement ). Ces spectres, obtenus en solution c'est à dire présentant le mélange des deux anomères, sont correctement reproduits avec l'ensemble des constantes de force.

La deuxième possibilité de discrimination n'avait, jusque très récemment, jamais été utilisées pour les saccharides. Un calcul d'intensités Infrarouge sur le glucose  $\alpha$  a été effectué [29] pour la molécule isolée, quasi-isolée ( seuls les atomes les plus proches de la molécule référence dans le cristal sont considérés ) et dans le cristal. Le champ de force utilisé est le champ de force de valence et les intensités sont calculées au moyen de la technique CNDO/2. Les valeurs des constantes de force n'étant pas fournies, il est difficile d'effectuer une comparaison. L'ensemble des attributions corrobore les résultats existants déjà, mais la reproduction des intensités de vibration semble toutefois approximative dans certaines régions spectrales.

#### Discussion des attributions des deux formes anomères

Dans la zone des hautes fréquences, les modes de valence des liaisons O—H sont calculées entre  $3371-3421\text{ cm}^{-1}$  ( $3374-3433\text{ cm}^{-1}$ ) pour les glucose  $\alpha$  (glucose  $\beta$ , respectivement ) alors quelles sont observées entre  $3385-3415\text{ cm}^{-1}$  ( $3339-3416\text{ cm}^{-1}$ ). Pour ces bandes les liaisons hydrogènes contribuent énormément et permettent d'ajuster correctement les fréquences.

La région des modes de valence des liaisons C—H est là aussi parfaitement reproduite dans les deux cas et ceci avec une seule constante de force. En effet sur des deutérations sélectives, Longhi *et al.* [30,31] ont pu attribuer les fréquences de cette zone spectrale. Cependant, la différenciation de toutes les constantes de force C—H augmente

de façon non négligeable leur nombre total dans le calcul, ce qui peut-être une limitation lors du transfert à des molécules saccharidiques plus complexes. Plutôt que d'attribuer chacune des bandes, nous avons préféré opter pour une seule constante satisfaisant à la reproduction de la zone complète.

Le domaine spectral 1200-1500  $\text{cm}^{-1}$  met en jeu des modes de vibration hautement couplés ( Cf. description des différentes zones Chap. II, § I.C.3.b ). Ils font intervenir les déformations angulaires CCH, HCH, HCO et COH.

Les vibrations mettant en jeu les déformations COH sont fortement influencées par le potentiel des liaisons hydrogènes. Les plus hautes valeurs calculées sont à 1417  $\text{cm}^{-1}$  ( 1423  $\text{cm}^{-1}$  ), mais leur contribution est particulièrement importante entre 1200-1300  $\text{cm}^{-1}$  . Cependant, on peut retrouver de faibles contributions en dessous de 1200  $\text{cm}^{-1}$  sur certaines bandes mais l'attribution de ces fréquences n'est pas aussi 'catégorique' que celle obtenue par Vasko *et al.*.

Dans ce domaine spectral on peut aussi constater les bandes caractéristiques du groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$  observées à 1460  $\text{cm}^{-1}$  (1451  $\text{cm}^{-1}$ ), 1279  $\text{cm}^{-1}$  (1267 $\text{cm}^{-1}$ ) et 1204  $\text{cm}^{-1}$  (1206  $\text{cm}^{-1}$ ) et respectivement calculées à 1460  $\text{cm}^{-1}$  (1451  $\text{cm}^{-1}$ ), 1279  $\text{cm}^{-1}$  (1265  $\text{cm}^{-1}$ ) et 1208  $\text{cm}^{-1}$  (1208  $\text{cm}^{-1}$ ).

Dans la zone 1000-1200  $\text{cm}^{-1}$  ce sont principalement les modes de déformation des élongations C—O et C—C qui interviennent. Ils sont cependant très souvent couplés avec les déformations angulaires CCH, HCO et COH, ce qui les rend difficilement ajustables et attribuables. Le couplage 'global' est encore augmenté par celui des élongations C—C et C—O endo- et exo-cycliques. Il est très difficile d'attribuer aux modes de cycle un type de mouvement précis ( en raison de la complexité des coordonnées de symétrie locale utilisée ). Cependant, on peut remarquer que les fréquences calculées 1053  $\text{cm}^{-1}$  , 1138  $\text{cm}^{-1}$  ( 1089  $\text{cm}^{-1}$  et 1149  $\text{cm}^{-1}$  ) correspondent principalement à la déformation complète du cycle.

La zone 700-1000  $\text{cm}^{-1}$  est la zone caractéristique de l'anomérie. Elle est appelée "région empreinte". Elle ne contient que peu de bandes observées à 773  $\text{cm}^{-1}$  (717  $\text{cm}^{-1}$ ), 842  $\text{cm}^{-1}$  (902  $\text{cm}^{-1}$ ) et 916  $\text{cm}^{-1}$  (917  $\text{cm}^{-1}$ ) et sont calculées à 764  $\text{cm}^{-1}$  (708  $\text{cm}^{-1}$ ), 845  $\text{cm}^{-1}$  (901  $\text{cm}^{-1}$ ) et 911  $\text{cm}^{-1}$  (918  $\text{cm}^{-1}$ ). L'attribution de ces bandes fait intervenir exclusivement les contributions des atomes de l'anomérie. Le couplage entre les élongations et les coordonnées de symétrie de rotation et entre les élongations et les déformations angulaires CCO, OCO, CCC et COC sont importantes.

La région spectrale 200-700  $\text{cm}^{-1}$  correspond aux couplages des déformations angulaires CCC, CCO endo- et exo-cycliques, COC, OCO, et des torsions C—C, C—O endo- et exo-cycliques.

Les torsions C—O interviennent principalement dans la zone 400-600  $\text{cm}^{-1}$ . Lorsqu'elles sont exo-cycliques, elle dépendent assez fortement en contribution des liaisons hydrogènes, ce qui est normal puisqu'elles régissent la position de l'hydrogène mis en jeu dans le processus.

On peut noter les bandes à 559  $\text{cm}^{-1}$  et 497  $\text{cm}^{-1}$  du glucose  $\alpha$  qui correspondent principalement aux torsions respectivement  $\text{C}_1\text{O}_1$  et  $\text{C}_6\text{O}_6$ . Dans le glucose  $\beta$  elles sont calculées à 677  $\text{cm}^{-1}$  et 532  $\text{cm}^{-1}$ .

Là encore il est très difficile de décrire les modes de vibration du cycle par un mouvement précis les couplages étant beaucoup trop importants.

Enfin, dans la zone des basses fréquences le couplage est important entre les vibrations internes et les vibrations externes c'est à dire entre les vibrations intra- et inter-moléculaires. Les déformations angulaires précédemment décrites et les torsions C—C et plus rarement les torsions C—O participent activement jusque dans les bandes (rares) de plus basses fréquences observées. Dans le glucose  $\alpha$  la bande intense observée à 70  $\text{cm}^{-1}$  et calculée à 72,8  $\text{cm}^{-1}$  est due principalement aux modes de réseau. Cette bande n'existe pas dans la forme  $\beta$ , mais inversement la bande observée à 53  $\text{cm}^{-1}$  et calculée à 51  $\text{cm}^{-1}$  met en jeu les modes de réseau et n'apparaît pas dans le glucose  $\alpha$ .

En conclusion, le calcul dans le cristal permet de différencier et de caractériser les bandes de chaque anomère. La contribution du potentiel intermoléculaire ( Van der Waal, électrostatique et liaisons hydrogènes ) est indispensable pour ajuster parfaitement la plupart des modes normaux de vibration. De plus leur présence affecte de façon conséquente les valeurs des constantes de force intramoléculaires.

## V. Résultats des calculs quantiques.

En vue de tenir compte du terme électrostatique dans le calcul de dynamique harmonique, il était nécessaire d'obtenir des charges résiduelles pour les deux formes du glucose.

Le problème était soit de prendre les charges accessibles dans la littérature, soit de calculer de façon plus précise un jeu de charges. Les données de la littérature étant assez divergentes et peu précises, la première solution a été éliminée.

Nous avons donc choisi de déterminer les charges utilisées dans nos calculs. Une autre question s'est alors posée: Quelle méthode et quel hamiltonien sont le plus adaptés à ce type de molécule?.

Il a d'abord été décidé de calculer les charges par méthodes semi-empiriques, ce qui d'un point de vue pratique était plus facile à réaliser. Les hamiltoniens utilisés sont MNDO, MINDO/3 et AM1 ( Cf. Chap. II). Sur un Vax 6320 environ deux heures de temps CPU sont nécessaires pour optimiser la géométrie et calculer les charges.

Le laboratoire de Génie Biologique et Médical faisant partie du groupement scientifique "Modélisation Moléculaire" IBM-CNRS, il nous a été possible d'effectuer des calculs quantiques *ab initio* purs avec les bases STO-3G et 3-21G sur l'ordinateur vectoriel du CIRCE à Orsay. Des calculs avec des bases plus sophistiquées ont été essayés, mais devant le nombre d'intégrales biélectroniques à calculer, entre autre, les capacités informatiques de stockage du CIRCE se sont avérées insuffisantes!. Sur les bases précédemment décrites entre 40 et 50 heures de CPU de l'IBM 3090 sont nécessaires.

Les charges des glucoses alpha et béta sont données dans les tableaux IV.11 et IV.12. On peut observer des différences très importantes pour une même forme d'un hamiltonien à l'autre.

Ainsi, on constate par exemple qu'il y a une sur-estimation, par rapport aux autres types, des charges obtenues avec l'hamiltonien MINDO/3 et avec la base 3-21G. Ceci est à relier avec les valeurs de la constante diélectrique ( $\epsilon = 6$  et  $10$ , respectivement) nécessaires pour obtenir une énergie de réseau négative dans le calcul de dynamique harmonique ( Cf. § précédent ). Les charges obtenues avec AM<sub>1</sub> et STO-3G n'ont pas des valeurs très éloignées, mais celles provenant de STO-3G ne permettent pas d'ajuster correctement certaines fréquences.

Pour les deux formes du glucose et pour chaque type d'hamiltonien il est intéressant de constater les valeurs des charges portées par les atomes C<sub>1</sub>, O<sub>1</sub> et HO<sub>1</sub>. La charge portée par le carbone anomérique C<sub>1</sub> est beaucoup plus importante que celle des autres carbones pour un même hamiltonien. De plus, en comparant les deux formes

**Tableau IV.11:** Charges résiduelles des atomes du glucose  $\alpha$  obtenues par calculs semi-empiriques AMPAC ( Hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM1) et par calculs quantiques *ab initio* avec les bases STO-3G et 3-21G.

Atome	Types d'Hamiltoniens				
	MNDO	MINDO/3	AM1	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub>	0.2607	0.6193	0.1158	0.1638	0.3926
C <sub>2</sub>	0.0891	0.2507	0.0290	0.0564	0.0666
C <sub>3</sub>	0.0761	0.3012	0.0080	0.0583	0.0931
C <sub>4</sub>	0.1168	0.2746	-0.0304	0.0462	0.0286
C <sub>5</sub>	0.1141	0.2937	-0.0412	0.0592	-0.0034
C <sub>6</sub>	0.1710	0.4059	-0.0149	0.0007	-0.0524
H <sub>1</sub>	0.0415	-0.0859	0.1262	0.0643	0.2489
H <sub>2</sub>	0.0562	-0.0296	0.1432	0.0718	0.2601
H <sub>3</sub>	0.0182	-0.0792	0.1044	0.0544	0.2376
H <sub>4</sub>	0.0206	-0.0861	0.0994	0.0538	0.2277
H <sub>5</sub>	0.0180	-0.0593	0.1198	0.0699	0.2589
O <sub>1</sub>	-0.3537	-0.5169	-0.3575	-0.3122	-0.7134
O <sub>2</sub>	-0.3152	-0.4464	-0.2971	-0.2853	-0.6761
O <sub>3</sub>	-0.3227	-0.4689	-0.3118	-0.2890	-0.6801
O <sub>4</sub>	-0.3206	-0.4793	-0.3251	-0.2973	-0.6913
O <sub>5</sub>	-0.3519	-0.5199	-0.3116	-0.2597	-0.6914
H <sub>6</sub>	-0.0022	-0.1087	0.1064	0.0464	0.2185
H <sub>7</sub>	0.0338	-0.0883	0.0768	0.0561	0.1940
HO <sub>1</sub>	0.2007	0.2668	0.2235	0.1927	0.4022
HO <sub>2</sub>	0.1934	0.2485	0.2155	0.1887	0.3919
HO <sub>3</sub>	0.1929	0.2540	0.2180	0.1849	0.3890
HO <sub>4</sub>	0.1965	0.2545	0.2089	0.1798	0.3891
HO <sub>6</sub>	0.1790	0.2521	0.2131	0.1768	0.3909
O <sub>6</sub>	-0.3121	-0.4527	-0.3184	-0.2807	-0.6820

**Tableau IV.12:** Charges résiduelles des atomes du glucose  $\beta$  obtenus par calculs semi-empiriques AMPAC ( Hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM1) et par calculs quantiques *ab initio* avec les bases STO-3G et 3-21G.

Atome	Types d'Hamiltoniens				
	MNDO	MINDO/3	AM1	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub>	0.2707	0.6403	0.1332	0.1700	0.4515
C <sub>2</sub>	0.0862	0.2369	-0.0280	0.0460	0.0216
C <sub>3</sub>	0.1040	0.3042	-0.0035	0.0524	0.0675
C <sub>4</sub>	0.1065	0.2893	0.0105	0.0569	0.0879
C <sub>5</sub>	0.1212	0.3376	0.0025	0.0598	0.0106
C <sub>6</sub>	0.1728	0.4024	-0.0115	0.0012	-0.0642
H <sub>1</sub>	0.0054	-0.1350	0.0941	0.0473	0.2047
H <sub>2</sub>	0.0354	-0.0561	0.1153	0.0630	0.2466
H <sub>3</sub>	0.0225	-0.0743	0.1024	0.0538	0.2239
H <sub>4</sub>	0.0204	-0.0636	0.1179	0.0637	0.2542
H <sub>5</sub>	0.0129	-0.0905	0.1026	0.0573	0.2308
O <sub>1</sub>	-0.3261	-0.4870	-0.3351	-0.2984	-0.7120
O <sub>2</sub>	-0.3246	-0.4725	-0.3298	-0.2991	-0.7010
O <sub>3</sub>	-0.3259	-0.4748	-0.3305	-0.2998	-0.6997
O <sub>4</sub>	-0.3226	-0.4759	-0.3224	-0.2938	-0.6969
O <sub>5</sub>	-0.3545	-0.5349	-0.3227	-0.2765	-0.6942
H <sub>6</sub>	0.0317	-0.0800	0.0750	0.0532	0.2010
H <sub>7</sub>	0.0006	-0.0943	0.1330	0.0796	0.2550
HO <sub>1</sub>	0.2035	0.2659	0.2341	0.1922	0.4002
HO <sub>2</sub>	0.1976	0.2567	0.2243	0.1933	0.4016
HO <sub>3</sub>	0.1970	0.2566	0.2252	0.1912	0.4017
HO <sub>4</sub>	0.1970	0.2592	0.2255	0.1910	0.4024
HO <sub>6</sub>	0.1792	0.2539	0.2085	0.1846	0.3900
O <sub>6</sub>	-0.3108	-0.4640	-0.3204	-0.2894	-0.6833

anomères, on remarque que la charge portée par le  $C_1$ , pour un hamiltonien donné, est supérieure dans le glucose  $\beta$  à celle du glucose  $\alpha$ . Ces constatations pour le carbone  $C_1$  le sont aussi pour l'oxygène anomérique  $O_1$  et son hydrogène  $HO_1$ .

Cette localisation particulière des charges électroniques confère donc au carbone anomérique toute sa spécificité et vient corroborer les résultats précédemment établis sur des molécules modèles du groupement hémi-acétal ( Cf. Chap. I. et II. et références correspondantes de Jeffrey et al. et de Tvaroska et al. ). Cette différence de distribution électronique au sein de la molécule peut s'expliquer par la différence d'électronégativité entre les oxygènes et le carbone  $C_1$ , ainsi que par l'existence de la paire d'électrons libres de l'oxygène du cycle.

Pour chaque anomère et pour chaque type d'hamiltonien les calculs des structures optimisées et les fréquences ont été déterminés. Les résultats des optimisations sont donnés dans les tableaux IV.13.a-c et IV.14.a-c, ceux des fréquences calculées le sont dans les tableaux IV.15 et IV.16.

L'objectif de ce travail étant d'obtenir une base de paramètres de la fonction énergie potentielle, les calculs quantiques *ab initio* et semi-empiriques n'ont été effectués que dans le but de déterminer des charges résiduelles, donc une description complète des résultats ne sera pas faite.

On peut cependant noter que là encore MINDO/3 ne semble pas être particulièrement bien adapté aux saccharides. La géométrie optimisée est très bouleversée ( l'ensemble des valeurs sont assez éloignées des valeurs que l'on pourrait attendre ) et le cycle a tendance à "s'écraser". Par contre la densité d'états vibrationnels est assez proche de celle observé en dynamique harmonique.

Pour les autres hamiltoniens, la géométrie est reproduite correctement avec une plus grande précision obtenue dans la base 3-21G. Les calculs étant réalisés pour des molécules isolés, les structures optimisées se trouvent souvent "éloignées" de la structure cristalline. Ceci explique sans doute pourquoi, avec la base 3-21G, qui bien que présentant une géométrie précise mais différente de celle du cristal, procure un ensemble de charges résiduelles qui ne conviennent pas aux calculs de dynamique harmonique dans le cristal.

L'hamiltonien  $AM_1$  semble un bon compromis entre fiabilité et temps de calcul raisonnables pour obtenir des informations théoriques satisfaisantes.

Pour information, les densités spectrales, entre chaque intervalle de  $100\text{ cm}^{-1}$ , pour tous les types d'hamiltonien et pour un calcul de dynamique harmonique en molécule isolée, sont données sur les figures IV.4 et IV.5 pour les glucose  $\alpha$  et  $\beta$  respectivement. On peut

alors constater que les facteurs d'échelle sur les constantes de force sont absolument nécessaires pour obtenir un accord des fréquences de vibration. Devant la complexité des modes en dessous de  $1600\text{ cm}^{-1}$  et en raison de leurs couplages, la détermination de ces facteurs d'échelle est très difficile. Cependant, une détermination précise des facteurs n'est pas à exclure et de même des calculs d'intensité de vibration à partir de ces données sont envisageables.

## VI. Conclusion

A partir d'un champ de forces adapté à la reproduction des données de spectroscopie vibrationnelle, combinant un potentiel intramoléculaire de Urey Bradley Shimanouchi modifié et des termes de potentiel intermoléculaire ( interactions non liantes Van der Waals, terme électrostatique et fonction potentielle spécifique des liaisons hydrogènes ), les spectres de vibration dans le cristal des anomères du glucose et de ses dérivés isotopiques ont été parfaitement reproduits. Les constantes de force du glucose  $\alpha$  sont transférables au glucose  $\beta$  avec seulement des modifications liées à celle de l'anomérie.

Pour savoir si cet ensemble de constantes de force, obtenu pour les deux formes anomériques, est parfaitement transférable et pour pouvoir le compléter, il serait intéressant de le vérifier sur des structures saccharidiques plus complexes comme les méthyl-monosaccharides ou les disaccharides. C'est ce qui sera développé dans le chapitre suivant.

**Tableau IV.15:** Fréquences obtenues pour le glucose  $\alpha$  avec les hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM1, les bases STO-3G et 3-21G et les fréquences obtenues avec un calcul de dynamique harmonique en molécule isolée.

Calculs semi-empiriques			Calculs <i>ab initio</i>		Dynamique Harmonique
MNDO	MINDO/3	AM1	STO-3G	3-21G	
4003.	3975.	3491.	4254.	3889.	3361.
3999.	3973.	3486.	4249.	3889.	3361.
3998.	3965.	3480.	4230.	3869.	3353.
3998.	3947.	3471.	4229.	3864.	3351.
3989.	3938.	3466.	4226.	3869.	3350.
3255.	3291.	3101.	3657.	3313.	2949.
3194.	3230.	3071.	3640.	3305.	2947.
3192.	3218.	3063.	3610.	3281.	2935.
3183.	3209.	3057.	3593.	3288.	2922.
3171.	3198.	3046.	3578.	3253.	2913.
3165.	3193.	3036.	3577.	3222.	2878.
3164.	3150.	3028.	3542.	3197.	2852.
1559.	1478.	1560.	1822.	1681.	1464.
1554.	1438.	1548.	1788.	1578.	1409.
1546.	1425.	1538.	1775.	1558.	1406.
1540.	1413.	1528.	1748.	1552.	1388.
1531.	1393.	1517.	1742.	1539.	1368.
1524.	1381.	1447.	1726.	1531.	1355.
1516.	1362.	1430.	1680.	1518.	1335.
1515.	1329.	1412.	1638.	1517.	1322.
1489.	1304.	1410.	1626.	1502.	1306.
1485.	1300.	1400.	1621.	1490.	1302.
1475.	1292.	1382.	1610.	1472.	1279.
1328.	1263.	1377.	1560.	1460.	1240.
1422.	1253.	1356.	1538.	1427.	1210.
1412.	1244.	1355.	1517.	1389.	1193.
1410.	1228.	1344.	1467.	1345.	1185.
1379.	1218.	1315.	1451.	1340.	1181.
1374.	1200.	1302.	1429.	1313.	1164.
1353.	1170.	1297.	1418.	1289.	1149.

1332.	1156.	1286.	1389.	1241.	1131.
1328.	1145.	1268.	1377.	1232.	1121.
1312.	1144.	1251.	1361.	1214.	1109.
1303.	1133.	1241.	1345.	1188.	1089.
1290.	1122.	1223.	1336.	1172.	1073.
1269.	1071.	1210.	1318.	1168.	1063.
1244.	1069.	1196.	1295.	1153.	1037.
1174.	1061.	1189.	1254.	1230.	1026.
1161.	1049.	1168.	1224.	1105.	1011.
1101.	1024.	1142.	1207.	1091.	985.
1085.	979.	1128.	1185.	1063.	965.
994.	888.	1015.	1038.	959.	890.
954.	850.	931.	999.	908.	821.
798.	713.	815.	863.	824.	749.
680.	593.	680.	689.	676.	643.
629.	531.	629.	640.	643.	594.
606.	519.	601.	584.	587.	552.
581.	513.	554.	573.	558.	522.
465.	410.	459.	476.	516.	485.
446.	394.	445.	455.	501.	447.
417.	366.	412.	432.	471.	431.
397.	344.	399.	423.	458.	411.
390.	322.	390.	412.	449.	392.
355.	319.	375.	393.	420.	383.
349.	311.	340.	378.	397.	355.
344.	298.	337.	350.	373.	348.
315.	274.	314.	334.	325.	341.
305.	267.	301.	310.	318.	304.
286.	227.	284.	276.	275.	272.
267.	188.	269.	249.	259.	268.
254.	144.	242.	223.	249.	241.
207.	128.	196.	206.	199.	215.
141.	77.	134.	141.	152.	150.
92.	68.	82.	100.	133.	125.
70.	58.	65.	81.	110.	111.
55.	45.	55.	64.	82.	92.

**Tableau IV.16:** Fréquences obtenues pour le glucose  $\beta$  avec les hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM1, les bases STO-3G et 3-21G et les fréquences obtenues avec un calcul de dynamique harmonique en molécule isolée.

Calculs semi-empiriques			Calculs <i>ab initio</i>		Dynamique Harmonique
MNDO	MINDO/3	AM1	STO-3G	3-21G	
4004.	3967.	3477.	4246.	3887.	3362.
3999.	3962.	3477.	4242.	3875.	3354.
3998.	3958.	3470.	4241.	3872.	3351.
3997.	3958.	3464.	4238.	3870.	3947.
3993.	3953.	3456.	4230.	3866.	3344.
3251.	3285.	3099.	3695.	3329.	2972.
3191.	3249.	3060.	3597.	3283.	2962.
3190.	3235.	3052.	3594.	3256.	2951.
3182.	3225.	3047.	3589.	3249.	2934.
3171.	3209.	3043.	3579.	3217.	2930.
3158.	3165.	3034.	3564.	3215.	2895.
3126.	3103.	3029.	3517.	3199.	2867.
1570.	1479.	1584.	1801.	1672.	1445.
1559.	1436.	1546.	1773.	1602.	1435.
1555.	1430.	1541.	1768.	1578.	1420.
1551.	1421.	1539.	1753.	1573.	1415.
1544.	1405.	1530.	1751.	1554.	1398.
1524.	1397.	1456.	1740.	1544.	1380.
1513.	1374.	1428.	1653.	1528.	1370.
1505.	1345.	1420.	1648.	1517.	1342.
1488.	1311.	1398.	1628.	1494.	1309.
1479.	1297.	1394.	1625.	1478.	1284.
1477.	1265.	1384.	1611.	1462.	1267.
1440.	1253.	1367.	1598.	1453.	1250.
1420.	1244.	1352.	1575.	1440.	1208.
1405.	1241.	1344.	1509.	1369.	1198.
1385.	1236.	1334.	1470.	1357.	1192.
1380.	1231.	1321.	1457.	1350.	1173.
1375.	1212.	1303.	1432.	1341.	1164.
1372.	1185.	1293.	1406.	1310.	1156.

1357.	1155.	1288.	1389.	1244.	1137.
1327.	1148.	1273.	1383.	1226.	1109.
1316.	1142.	1264.	1365.	1214.	1095.
1312.	1128.	1249.	1355.	1197.	1074.
1305.	1114.	1224.	1352.	1182.	1067.
1284.	1094.	1206.	1306.	1171.	1062.
1245.	1083.	1192.	1274.	1150.	1043.
1168.	1072.	1177.	1245.	1135.	1029.
1150.	1060.	1164.	1221.	1098.	1002.
1106.	1038.	1155.	1202.	1085.	988.
1070.	972.	1124.	1189.	1079.	968.
1030.	908.	1063.	1081.	999.	902.
978.	877.	953.	1058.	968.	866.
750.	630.	745.	769.	748.	683.
658.	565.	676.	683.	666.	614.
623.	535.	611.	623.	623.	596.
609.	519.	602.	592.	594.	574.
586.	499.	585.	558.	537.	494.
483.	420.	457.	478.	515.	452.
434.	395.	452.	469.	490.	438.
423.	376.	424.	442.	471.	419.
374.	327.	387.	421.	456.	409.
363.	321.	371.	416.	448.	401.
352.	310.	342.	402.	443.	393.
336.	302.	338.	399.	427.	374.
313.	283.	333.	353.	368.	315.
304.	259.	319.	313.	301.	317.
285.	252.	284.	292.	290.	306.
282.	235.	278.	266.	279.	278.
269.	227.	259.	258.	269.	265.
257.	211.	243.	232.	233.	259.
224.	201.	174.	215.	221.	241.
130.	103.	124.	142.	154.	150.
95.	73.	93.	109.	140.	127.
62.	60.	74.	82.	101.	106.
47.	44.	57.	68.	84.	98.

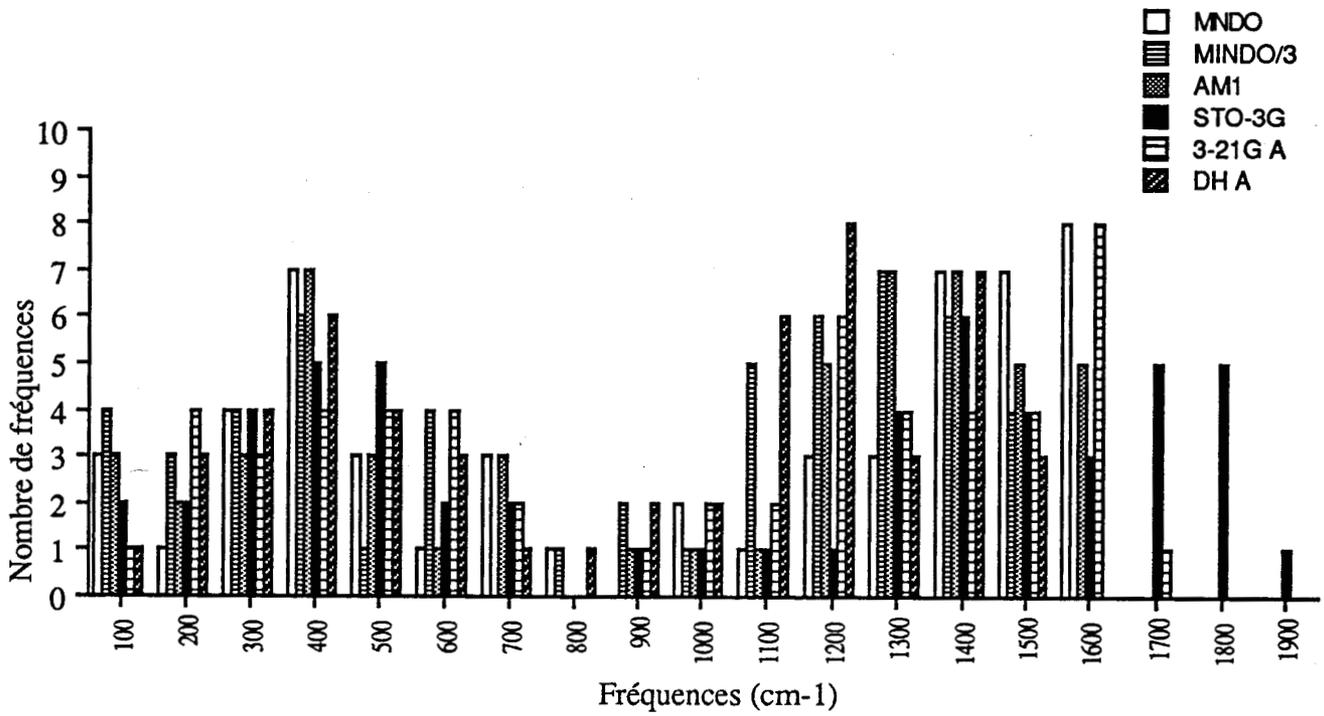


Figure IV.4 Densité spectrale du glucose  $\alpha$  pour les différents hamiltoniens

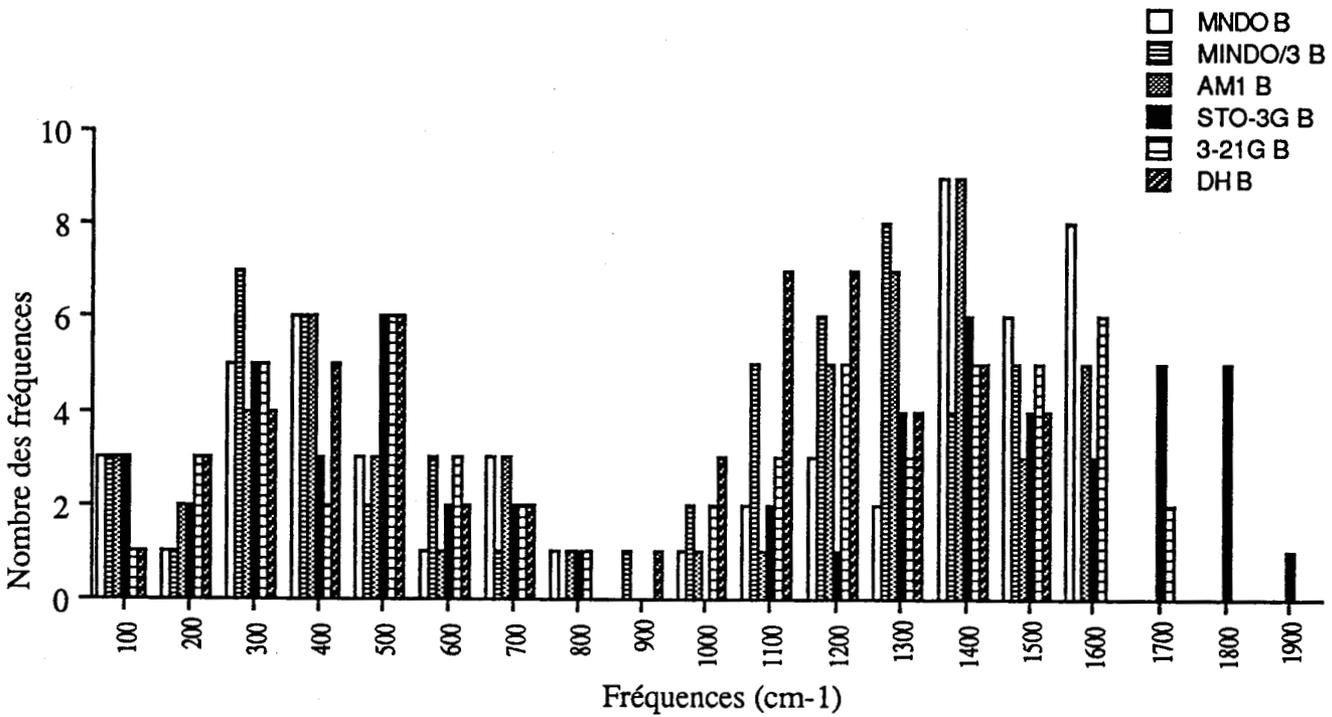


Figure IV.5 Densité spectrale du glucose  $\beta$  pour les différents hamiltoniens

**Tableau IV.13.a:** Comparaisons des différentes longueurs de liaison du glucose  $\alpha$  de la structure cristallographique, des hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM<sub>1</sub> et des bases STO-3G et 3-21G. La nomenclature est celle de la figure IV.1, les unités sont en Å.

	Neutrons [21]	MNDO	MINDO/3	AM1	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	1.5350	1.5878	1.5582	1.5428	1.5692	1.5230
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	1.5249	1.5836	1.5621	1.5358	1.5571	1.5206
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	1.5196	1.5858	1.5656	1.5404	1.5576	1.5200
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	1.5294	1.5837	1.5613	1.5326	1.5652	1.5138
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	1.4277	1.4038	1.3735	1.4313	1.4401	1.4549
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	1.4268	1.4043	1.3803	1.4127	1.4328	1.4188
C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	1.0967	1.1325	1.1483	1.1270	1.1019	1.0774
C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	1.0937	1.1269	1.1412	1.1258	1.0943	1.0775
C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	1.1072	1.1263	1.1403	1.1261	1.0982	1.0818
C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	1.1037	1.1260	1.1421	1.1251	1.0980	1.0841
C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	1.1052	1.1261	1.1394	1.1251	1.0973	1.0784
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	1.3898	1.3673	1.3638	1.4075	1.4290	1.4260
C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	1.4159	1.3939	1.3668	1.4078	1.4309	1.4274
C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	1.4166	1.3977	1.3668	1.4149	1.4328	1.4307
C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	1.4268	1.3964	1.3674	1.4194	1.4345	1.4440
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	1.5105	1.6797	1.5344	1.5316	1.5516	1.5170
C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>	1.0934	1.1221	1.1368	1.1226	1.0969	1.0787
C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>	1.0970	1.1197	1.1315	1.1222	1.0969	1.0848
O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>	0.9698	0.9474	0.9512	0.9651	0.9875	0.9663
O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>	0.9666	0.9475	0.9522	0.9674	0.9911	0.9679
O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>	0.9729	0.9468	0.9513	0.9670	0.9916	0.9677
O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>	0.9712	0.9471	0.9513	0.9645	0.9891	0.9651
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	1.4151	1.3929	1.3512	1.4099	1.4344	1.4341
O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>	0.9655	0.9470	0.9515	0.9662	0.9920	0.9677

Tableau IV.13.b: Comparaisons des différents angles de valence du glucose  $\alpha$  de la structure cristallographique, des hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM<sub>1</sub> et des bases STO-3G et 3-21G. Les unités sont en °.

	Neutrons [21]	MNDO	MINDO/3	AM <sub>1</sub>	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	111.10	112.16	113.66	110.16	109.68	109.34
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	106.85	105.41	102.48	109.68	108.74	110.23
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	110.85	112.75	114.39	109.56	110.08	108.19
H <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	108.33	108.23	107.43	110.15	108.42	108.80
O <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	112.30	112.73	116.16	112.18	112.75	113.10
H <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	107.13	104.90	100.47	104.97	107.05	107.14
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	109.83	110.76	115.52	109.87	109.99	110.00
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	109.85	108.53	106.27	110.00	108.63	109.64
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	108.10	111.62	106.47	107.24	108.70	108.27
H <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	108.70	108.43	106.92	109.44	107.57	108.48
O <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	110.58	107.30	111.20	110.02	111.06	108.70
H <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	109.76	110.14	110.34	110.22	110.84	111.73
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	111.16	110.89	116.82	110.10	109.18	111.04
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	108.20	108.18	107.02	109.65	108.61	108.18
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	108.27	110.80	106.33	105.33	105.72	105.10
H <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	108.34	108.35	105.17	110.26	108.55	110.12
O <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	110.90	108.04	111.55	111.23	113.60	110.93
H <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	109.91	110.55	109.77	110.13	111.03	111.33
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	108.68	110.77	108.89	110.41	110.12	107.46
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	111.53	112.95	118.12	111.78	112.97	113.58
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	109.84	108.11	106.36	109.97	108.41	110.14
C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	108.15	106.86	105.53	105.52	106.23	104.17
H <sub>5</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	109.63	110.47	110.34	108.89	110.91	109.81

C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	108.98	107.63	107.52	110.44	108.20	110.40
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	113.77	122.44	127.78	114.98	111.27	115.24
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	110.03	112.75	107.27	114.50	113.64	111.94
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	104.80	104.96	99.87	104.70	104.99	106.47
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	111.55	109.05	118.90	106.43	112.31	111.31
H <sub>1</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	109.07	108.05	111.02	111.18	108.95	111.27
O <sub>1</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	109.32	110.72	109.96	107.75	105.97	104.36
H <sub>1</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	111.97	111.17	109.37	112.26	111.01	111.59
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>	107.84	112.66	114.24	107.75	104.78	112.30
C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>	112.15	113.70	113.48	107.45	103.31	108.19
C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>	112.14	112.20	112.63	106.29	102.98	108.03
C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>	106.94	111.92	112.79	107.17	105.16	112.03
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	110.42	113.77	110.54	111.41	107.82	109.68
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>	109.08	108.15	109.02	109.67	109.37	110.30
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>	109.08	110.37	113.24	109.98	108.94	108.97
H <sub>6</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	110.12	110.68	110.88	105.01	111.10	107.00
H <sub>7</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	110.38	106.60	112.58	110.40	111.72	111.33
H <sub>6</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>	107.69	107.06	100.11	110.26	107.84	109.54
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>	107.65	112.07	111.10	107.07	103.96	107.44

**Tableau IV.13.c:** Comparaisons des différents angles de torsion du glucose  $\alpha$  de la structure cristallographique, des hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM<sub>1</sub> et des bases STO-3G et 3-21G. Les unités sont en °.

	Neutrons [24]	MNDO	MINDO/3	AM <sub>1</sub>	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	-51.3	-46.5	-33.3	-50.7	-50.0	-53.4
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	53.3	50.7	25.7	56.0	54.6	57.7
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	-57.5	-51.5	-29.3	-57.8	-60.7	-57.7
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	62.3	53.3	53.0	56.8	62.9	58.9
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	-61.0	-49.2	-61.4	-53.4	-59.7	-58.0
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	54.2	43.3	44.6	49.4	52.8	53.0
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	-178.1	-166.6	-177.2	-175.4	-178.7	179.8
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	-63.9	-74.4	-71.1	-72.0	-65.6	-66.4
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	68.2	72.4	85.1	69.8	67.5	65.8
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	-65.6	-68.0	-91.8	-65.5	-63.7	-63.2
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	62.4	69.7	89.6	62.4	60.8	62.0
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	60.5	74.2	64.1	65.6	60.6	58.4
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	179.7	171.7	-178.8	173.3	177.4	176.7
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	-172.0	-166.0	-157.3	-170.3	-171.8	-172.1
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	175.3	170.7	151.0	176.0	177.1	177.8
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	-176.6	-171.3	-149.6	-174.6	179.3	-172.9
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>	-49.1	-58.6	-24.4	-62.8	-48.2	-68.3
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>	68.2	58.2	86.1	58.7	68.7	52.0
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	-170.3	178.0	-146.5	-178.6	-172.6	174.1
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>	74.9	71.7	62.2	59.1	61.1	64.5
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>	-100.6	-62.3	-85.7	-64.8	-52.1	-53.1
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>	-165.9	-73.7	-153.3	179.2	175.5	177.7
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>	134.2	79.2	157.0	172.1	163.1	155.3
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>	-143.8	68.9	-175.8	-58.6	-175.2	-52.9

**Tableau IV.14.a:** Comparaisons des différentes longueurs de liaison du glucose  $\beta$  de la structure cristallographique, des hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM<sub>1</sub> et des bases STO-3G et 3-21G. Les unités sont en °.

	Rayons X [22]	MNDO	MINDO/3	AM <sub>1</sub>	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	1.5257	1.5915	1.5560	1.5404	1.5638	1.5102
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	1.5192	1.5826	1.5652	1.5336	1.5535	1.5087
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	1.5117	1.5868	1.5637	1.5382	1.5574	1.5132
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	1.5289	1.5845	1.5556	1.5371	1.5609	1.5205
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	1.4371	1.4014	1.3650	1.4291	1.4395	1.4563
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	1.4334	1.4103	1.3821	1.4204	1.4351	1.4255
C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	1.0750	1.1352	1.1532	1.1260	1.1076	1.0844
C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	1.0390	1.1254	1.1389	1.1250	1.0979	1.0817
C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	1.0759	1.1263	1.1402	1.1257	1.0983	1.0844
C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	1.0171	1.1257	1.1379	1.1261	1.0979	1.0780
C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	1.0549	1.1284	1.1460	1.1242	1.0974	1.0823
C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	1.3837	1.3936	1.3621	1.4054	1.2252	1.4090
C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	1.4285	1.3957	1.3705	1.4160	1.4316	1.4333
C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	1.4327	1.3966	1.3677	1.4169	1.4352	1.4349
C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	1.4193	1.3960	1.3666	1.4176	1.4324	1.4335
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	1.5129	1.5779	1.5321	1.5329	1.5565	1.5182
C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>	1.1081	1.1218	1.1322	1.1220	1.0966	1.0833
C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>	1.0513	1.1214	1.1346	1.1236	1.0928	1.0766
O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>	0.9527	0.9478	0.9517	0.9677	0.9893	0.9666
O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>	1.0285	0.9473	0.9516	0.9666	0.9897	0.9675
O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>	0.8935	0.9472	0.9515	0.9667	0.9794	0.9679
O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>	0.9813	0.9473	0.9515	0.9671	0.9901	0.9679
C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	1.4190	1.3910	1.3510	1.4102	1.4319	1.4369
O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>	0.9782	0.9468	0.9514	0.9660	0.9908	0.9679

**Tableau IV.14.b:** Comparaisons des différents angles de torsion du glucose  $\beta$  de la structure cristallographique, des hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM<sub>1</sub> et des bases STO-3G et 3-21G. Les unités sont en °.

	Rayons-X [22]		MNDO	MINDO/3	AM <sub>1</sub>	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	112.05	109.87	109.87	115.53	109.15	108.85	109.22
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	108.67	108.57	108.57	107.41	109.77	107.78	108.10
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	108.48	110.89	110.89	110.84	110.44	111.84	110.65
H <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	109.55	108.60	108.60	107.03	110.48	109.10	110.15
O <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	109.76	108.19	108.19	105.81	106.78	107.86	106.75
H <sub>2</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	108.21	110.66	110.66	110.07	110.14	111.33	111.93
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	110.50	110.08	110.08	116.51	109.67	109.50	109.60
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	106.06	108.49	108.49	106.41	109.91	108.01	109.10
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	108.69	111.56	111.56	111.75	111.00	112.35	111.40
H <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	109.67	108.51	108.51	106.42	110.32	108.68	109.44
O <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	109.12	107.82	107.82	105.55	106.39	107.72	106.56
H <sub>3</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	112.75	110.31	110.31	109.99	109.46	110.49	110.67
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	109.82	110.33	110.33	114.46	110.57	110.38	110.56
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	105.60	107.87	107.87	106.79	109.94	108.08	109.58
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	111.05	111.45	111.45	113.18	109.82	111.35	110.30
H <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	112.89	108.92	108.92	107.76	109.77	108.42	108.94
O <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	108.24	107.87	107.87	104.61	106.51	107.42	105.62
H <sub>4</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	109.23	110.35	110.35	109.89	110.14	111.12	111.75
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	107.63	110.45	110.45	108.76	110.94	111.86	109.08
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	114.93	116.10	116.10	123.06	110.90	111.18	111.39
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	109.41	107.85	107.85	106.85	109.76	108.41	109.16
C <sub>6</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	107.08	107.41	107.41	106.81	105.59	105.51	104.81
H <sub>5</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	111.82	109.95	109.95	109.04	109.42	110.74	110.81

C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>5</sub>	106.00	104.83	101.54	110.12	109.09	111.49
C <sub>5</sub> -O <sub>5</sub> -C <sub>1</sub>	112.72	119.75	128.57	114.15	110.91	115.47
O <sub>5</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	108.54	111.88	110.93	112.14	111.69	109.47
O <sub>5</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>1</sub>	108.14	109.75	106.60	110.69	109.90	109.73
O <sub>5</sub> -C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>	107.00	106.23	112.46	102.91	108.13	109.61
H <sub>1</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	115.26	109.95	110.43	111.61	109.02	109.87
O <sub>1</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	108.19	108.52	107.93	108.00	106.92	106.49
H <sub>1</sub> -C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>	109.38	110.42	108.44	111.11	111.13	111.57
C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub> -HO <sub>1</sub>	110.02	113.28	114.49	108.08	104.33	111.45
C <sub>2</sub> -O <sub>2</sub> -HO <sub>2</sub>	114.43	111.88	112.61	106.51	103.89	109.60
C <sub>3</sub> -O <sub>3</sub> -HO <sub>3</sub>	114.99	112.00	112.80	106.56	104.19	109.16
C <sub>4</sub> -O <sub>4</sub> -HO <sub>4</sub>	109.61	112.04	112.70	106.14	103.40	108.88
C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> -O <sub>6</sub>	111.93	115.41	112.77	112.28	111.81	109.05
C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>6</sub>	110.27	108.00	111.26	109.32	108.52	109.56
C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>7</sub>	108.68	108.06	107.76	108.89	108.94	109.32
H <sub>6</sub> -C <sub>6</sub> -O <sub>6</sub>	112.99	106.79	112.36	110.26	111.38	111.34
H <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -O <sub>6</sub>	107.64	111.86	111.58	105.32	107.81	107.49
H <sub>6</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>7</sub>	104.95	106.23	100.33	110.68	108.27	110.00
C <sub>6</sub> -O <sub>6</sub> -HO <sub>6</sub>	108.00	112.19	111.05	107.25	103.18	107.55

**Tableau IV.14.c:** Comparaisons des différents angles de torsion  $\beta$  de la structure cristallographique, des hamiltoniens MNDO, MINDO/3 et AM<sub>1</sub> et des bases STO-3G et 3-21G. Les unités sont en °.

	Rayons-X [22]	MNDO	MINDO/3	AM <sub>1</sub>	STO-3G	3-21G
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub>	-50.8	-50.7	-24.8	-54.0	-53.3	-58.6
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub>	53.4	52.6	31.0	54.4	52.0	57.0
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub>	-59.8	-52.8	-44.0	-54.8	-55.5	-53.7
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub>	66.3	56.7	55.5	57.2	60.5	56.5
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub>	-62.8	-55.7	-49.5	-58.4	-62.7	-59.0
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub>	53.7	50.0	28.4	55.8	59.2	58.3
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —H <sub>1</sub>	62.9	66.6	70.8	67.1	58.4	61.6
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —H <sub>2</sub>	-67.5	-68.7	-91.0	-65.4	-59.0	-61.5
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —H <sub>3</sub>	68.0	67.9	93.6	67.4	64.9	61.2
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —H <sub>4</sub>	-68.6	-66.3	-88.2	-67.0	-66.4	-63.1
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —H <sub>5</sub>	61.9	67.4	77.2	66.3	67.0	67.5
C <sub>5</sub> —O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub>	179.4	-173.9	-170.5	-174.2	179.9	-175.5
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub>	175.0	169.5	148.7	172.9	178.3	175.6
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub>	-170.5	-170.4	-146.3	-171.3	-172.9	-176.3
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub>	173.1	172.4	150.7	171.7	171.3	173.4
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub>	-179.0	-175.4	-166.3	-171.8	-173.1	-169.0
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>6</sub>	-174.2	-176.1	173.8	-173.3	-170.2	-175.2
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —H <sub>7</sub>	-59.7	-61.5	-77.2	-52.3	-52.5	-54.6
C <sub>4</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub>	59.1	74.6	46.5	63.9	66.5	62.7
O <sub>5</sub> —C <sub>1</sub> —O <sub>1</sub> —HO <sub>1</sub>	-102.3	-51.8	-56.9	-34.1	-54.8	-55.0
C <sub>1</sub> —C <sub>2</sub> —O <sub>2</sub> —HO <sub>2</sub>	99.8	79.8	80.0	60.7	58.6	59.7
C <sub>2</sub> —C <sub>3</sub> —O <sub>3</sub> —HO <sub>3</sub>	-114.0	-78.1	-73.5	-55.9	-56.6	-53.3
C <sub>3</sub> —C <sub>4</sub> —O <sub>4</sub> —HO <sub>4</sub>	96.0	64.5	74.4	59.5	56.7	56.5
C <sub>5</sub> —C <sub>6</sub> —O <sub>6</sub> —HO <sub>6</sub>	123.9	-83.5	177.6	57.2	53.7	53.5



- [1] 'Biochimie'  
LEHNINGER, Paris, (1975).
- [2] 'Biochimie Dynamique'  
Maloïne Edition, (1984) Paris.
- [3] 'Contribution à l'étude de la cryopréservation du sperme d'étalon.'  
MARTINOT S.  
Thèse ENV, (1990), Lyon.
- [4] 'Spectroscopic and vibrational studies of carbohydrates.'  
VASKO D.  
Case Western Reserve University, Ph.D., (1971), Cleveland, Ohio, USA.
- [5] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates: Part II: normal coordinate analysis of  $\alpha$ -D-glucose.'  
VASKO P., BLACKWELL J., KOENIG J.  
Carbohydr. Res., **23**, (1972), 407.
- [6] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates: Part IV: identification of configuration and sensitive modes for D-glucose by normal coordinate analysis.'  
CAEL J., KOENIG J., BLACKWELL J.  
Carbohydr. Res., **32**, (1974), 79.
- [7] CAEL J., KOENIG J., BLACKWELL J.  
Carbohydr. Res., **29**, (1973), 123.
- [8] 'An investigation of the vibrationnal spectra of glucose, galactose and mannose.'  
WELLS H., PhD Thesis, (1977), Appleton.
- [9] 'Infrared spectra and normal vibrations of  $\beta$ -D-glucopyranose.'  
HINENO M.  
Carbohydr. Res., **56**, (1977), 219.
- [10] 'Calculation of the conformation and vibrational spectrum of  $\beta$ -D-glucose within the framework of the additive model of interatomic interactions.'  
ANDRIANOV V., ZHBANKOV R., DASHEVSKII V.  
Zhurnal Strukturnoi Khimii, **21/1**, (1980), 35.
- [11] 'A theoretical study of the vibrational spectrum of cellobiose within the framework of the additive model of interatomic interactions.'  
ANDRIANOV V., ZHBANKOV R., DASHEVSKII V.  
Zhurnal Strukturnoi Khimii, **21/3**, (1980), 85.
- [12] 'Vibrational analysis of n-paraffins.'  
SNYDER R., SCHACHTSCHNEIDER J.  
Spectrochimica Acta, **19**, (1963), 117.
- [13] SNYDER R., SCHACHTSCHNEIDER J.  
Spectrochimica Acta, **21**, (1965), 169.
- [14] SNYDER R., ZERBI G.  
Spectrochimica Acta, **2A**, (1967), 391.
- [15] BROOKS W., HAAS C.  
J. Physical Chemistry, **71/3**, (1967), 650.

- [16] MIKAWA Y., BRASCH J., JAKOBSEN R.  
J. Mol. Spectroscopy, **24**, (1967), 314.
- [17] 'Redondance et symétrie locale de molécules cycliques.'  
HUVENNE J.P., Thèse, (1979), Lille.
- [18] 'Champ de forces de symétrie locale de molécules cycliques: III. Interprétation des spectres de vibration du glucose cristallisé sous les deux formes alpha et beta.'  
HUVENNE J.P., VERGOTEN G., FLEURY G., LEGRAND P.  
Journal of molecular structure, **74**, (1981), 169.
- [19] 'Low frequency vibrations of molecules with biological interest.'  
VERGOTEN G., FLEURY G., MOSCHETTO Y.  
Advances in Infrared and Raman Spectroscopy, Vol 4/5, (1978), Heyden and sons.
- [20] ' $\alpha$ -D-glucose: precise determination of crystal and molecular structure by neutron diffraction analysis.'  
BROWN G., LEVY H.  
Science, **147**, (1965), 1038.
- [21] ' $\alpha$ -D-glucose: further refinement based on neutron-diffraction data.'  
BROWN G., LEVY H.  
Acta Cryst., **B35**, (1979), 656.
- [22] 'The refinement of the crystal structure of  $\beta$ -D-glucose and cellobiose.'  
CHU S., JEFFREY G.  
Acta Cryst., **B24**, (1968), 830.
- [23] 'Some aspects of stereochemistry and hydrogen bonding of carbohydrates related to polysaccharide conformations.'  
SUNDARALINGAM M.  
Biopolymers, **6**, (1968), 189.
- [24] 'Force constants of small molecules.'  
SHIMANOUCI T.  
Pure Appl. Chem., **7**, (1963), 131.
- [25] KITAIGORODSKII A.  
J. Chim. Phys., **63**, (1966), 9.
- [26] WILLIAMS D.  
J. Chem. Phys., **45**, (1966), 3770 et J. Chem. Phys., **47**, (1967), 4680.
- [27] DASHEVSKII B.  
Zh. Strukt. Khim., **11**, (1970), 912.
- [28] TAKEUCHI H.  
PhD Thesis, Tokio, Japon, (1975).
- [29] 'Calculation of absorption band frequencies and intensities in the IR spectrum of  $\alpha$  glucose in a cluster.'  
KOROLEVICH M., ZHBANKOV R., SIVCHIK V.  
J. Molecular Structure, **220**, (1990), 301.

[30] 'Vibrational spectroscopy of D-glucose: the C-H stretching region.'  
LONGHI G., PATERLINI G., ABBATE S., RICARD L., ZERBI G.  
Journal of molecular structure, **142**, (1986), 403.

[31] 'Conformational dependence of CH(CD)- stretchings in D-glucose and some deuterated derivatives as revealed by Infrared and Raman spectroscopy.'  
LONGHI G., ZERBI G., PATERLINI G., RICARD L., ABBATE S.  
Carbohydr. Res., **161**, (1987), 1.

[32] 'Ground states of molecules. The MNDO method. Approximations and parameters.'  
DEWAR M., THIEL W.  
J. Am. Chem. Soc., **99**, (1977), 4899.

[33] 'AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model.'  
DEWAR M., ZOEBISCH E., HEALY E., STEWART J.  
J. Am. Chem. Soc., **107**, (1985), 3902.

**CHAPITRE V**

# Dynamique harmonique de disaccharides.

I. Introduction	p 211
II. Les méthyl-monosaccharides	p 212
II.1 Les spectres	p 212
II.2 Données cristallographiques et fonction potentielle	p 213
II.3 Discussion	p 214
III. Les disaccharides	p 216
III.1 Les spectres.	p 216
III.2 Données cristallographiques	p 217
III.3 La fonction potentielle et les conditions de calcul	p 218
III.4 Résultats et discussion	p 219
IV. Conclusion	p 226
Annexe 1	p 232
Annexe 2	p 244
Annexe 3	p 273
Annexe 4	p 276

# Dynamique harmonique de disaccharides.

## I. Introduction

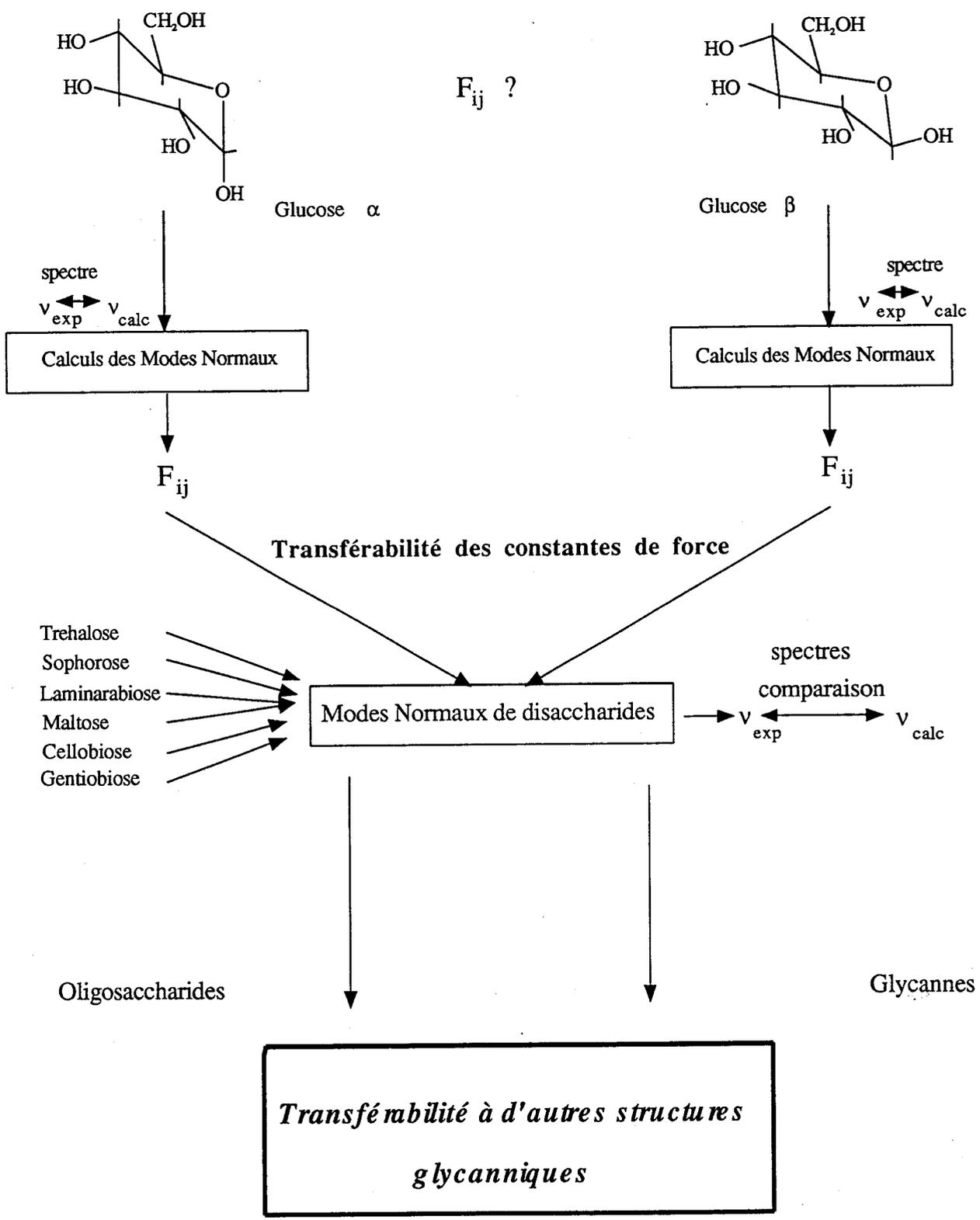
L'étude des disaccharides s'avérait non seulement intéressante mais nécessaire pour plusieurs raisons:

- des configurations différentes des liaisons glycosidiques ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) existent
- le branchement de la liaison glycosidique peut s'établir à différentes positions.
- le champ de force précédemment déterminé pour les anomères du glucose, s'il est fiable, doit pouvoir se transférer pour les structures à deux unités. De plus, les deux points évoqués devraient permettre d'affiner et de compléter la base de paramètres utilisée par la détermination des paramètres relatifs à la liaison glycosidique.

- Enfin, ces molécules sont les unités structurales de base des oligosaccharides, des glycannes et des polysaccharides.

Les spectres Raman et infrarouge étant spécifiques de la molécule, en enregistrant ceux-ci pour les disaccharides voulus dans l'état cristallin ( avec théoriquement pas de mélange des différentes formes ), des bandes caractéristiques de chaque molécule doivent apparaître. Si les constantes de force, déterminées par calcul dans le cristal des anomères du glucose, sont fiables, elles doivent permettre de reproduire correctement l'ensemble des modifications observées.

Toutes ces constatations nous ont amené à choisir des disaccharides particuliers, constitués exclusivement d'unités glucosidiques et présentant les configurations et les positions adaptées au but recherché. En affinant les paramètres de départ, une base beaucoup plus complète, avec les informations adaptées à chaque de type de liaison sera déterminée et pourra être pour la modélisation de molécules de saccharides plus complexes ( Cf. Fig. V.1 ).



Homo-polysaccharides

Hétéro-polysaccharides

Toutefois, avant de considérer les disaccharides ( une liaison glycosidique étant constituée de deux ou trois ( branchement en 6 ) éléments), il semblait intéressant de vérifier la transférabilité des paramètres sur des structures moins complexes mais présentant cependant le caractère de la liaison glycosidique. Ce travail a été réalisé sur des méthyl-monosaccharides et sera développé rapidement dans une première partie.

## II. Les méthyl-monosaccharides

Trois methyl-monosaccharides ont été étudiés. Ce sont le Me- $\alpha$ -D-glucose, le Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate et le Me- $\alpha$ -D-mannose. Les deux premières molécules ont été choisies directement à partir des deux formes du glucose.

Le choix de la dernière s'est porté pour évaluer la validité du champ de force, déterminé à partir du glucose, sur l'un de ses épimères sachant qu'il a déjà été transféré à d'autres molécules comme les galactoses  $\alpha$  et  $\beta$  [1] ou à la N-acétyl-glucosamine [2]. Le Me- $\alpha$ -D-mannose était donc tout indiqué pour ce travail.

### II.1 Les spectres

Le Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate a été obtenu, sous forme de poudre cristalline, chez Aldrich ( Aldrich-Chimie, Strasbourg France ) alors que les deux autres molécules proviennent de chez Sigma ( Sigma-Chimie, La Verpilliere France ). L'anomérie du cycle étant bloquée par le groupement méthyle, ces produits sont purs à 99%.

L'ensemble des spectres enregistrés pour ce travail, pour les méthyl-monosaccharides et pour les disaccharides, a été réalisé sur les matériels suivants:

- les enregistrements de spectroscopie Raman ont été obtenus sur le spectromètre à triple monochromateur Coderg T800 du laboratoire. La lumière excitatrice utilisée était la raie à 514.5 nm mais aussi, dans la région des basses fréquences, la raie 488 nm d'un laser argon ionisé spectraphysics 2025. Selon les produits et selon le domaine spectral étudié, la puissance du laser était de 400 à 600 mW et la résolution obtenue avec le spectromètre était de 2 à 3,5  $\text{cm}^{-1}$ .

- Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur le spectromètre InfraRouge à Transformée de Fourier, de type IFS 113V Brüker du LASIR II fonctionne sous vide, ce qui permet d'éliminer les vapeurs d'eau et de  $\text{CO}_2$ . La résolution est de 2  $\text{cm}^{-1}$ . Les spectres basses fréquences des Me- $\alpha$ -D-glucose, Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate, maltose

monohydrate et cellobiose ont été obtenus chez Brüker à l'aide d'un bolomètre ( Brüker, 67160 Wissembourg France ).

Les spectres des méthyl-monosaccharides sont donnés dans l'annexe 1 ( spectres de 1 à 12 ).

## II.2 Données cristallographiques et fonction potentielle

Les positions atomiques de ces molécules existent dans la littérature. Le Me- $\alpha$ -D-glucose a été résolu par diffraction des rayons-X [3] et par diffraction des neutrons [5], de même pour le Me- $\alpha$ -D-mannose ( [4] et [5] respectivement ). Quant au Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate il n'est connu que par diffraction des rayons X [6].

Les deux premières molécules cristallisent avec pour groupe d'espace P212121. La maille élémentaire contient 4 molécules

{ ( x, y, z ), ( x+1/2, 1/2-y, -z ), ( 1/2-x, -y, z+1/2 ), ( -x, y+1/2, 1/2-z ) }

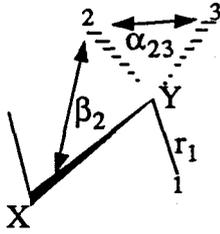
alors que le Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate appartient au groupe d'espace P41212 avec 8 molécules par maille

{ ( x, y, z ), ( 1/2-y, 1/2+x, 1/4+z ), ( 1/2+y, 1/2-x, 3/4+z ), ( -x, -y, 1/2+z ),  
( y, x, -z ), ( -y, -x, 1/2-z ), ( 1/2-x, 1/2+y, 1/4-z ), ( 1/2+x, 1/2-y, 3/4-z ) }.

Cinq, sept et quatre liaisons hydrogènes existent respectivement dans les cristaux de Me- $\alpha$ -D-glucose, de Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate et de Me- $\alpha$ -D-mannose.

La fonction potentielle intramoléculaire choisie est celle de Urey-Bradley-Shimanouchi modifiée [7] décrite dans le chapitre précédent. La fonction intermoléculaire est là aussi composée du terme d'interactions non liantes Van der Waals de type Buckingham, du terme électrostatique ( les charges sont déterminées pour chaque molécule au moyen de l'hamiltonien AM<sub>1</sub> avec une constante diélectrique de trois ) et d'une fonction spécifique des liaisons hydrogènes.

La matrice U a été construite de la même façon que pour le glucose, c'est à dire en traitant le cycle et ses substituants séparément, le groupement CH<sub>2</sub>OH et chacune des autres coordonnées internes. Ici, en plus, le groupement méthyle a été considéré à part en tenant compte de sa symétrie locale C<sub>3v</sub> et les coordonnées de symétrie suivantes ont été définies:



$ts = (\Delta r_1 + \Delta r_2 + \Delta r_3)$	élongation totalement symétrique
$ds = (2\Delta r_1 - \Delta r_2 - \Delta r_3)$	élongation dégénérée
$ds' = (\Delta r_2 - \Delta r_3)$	élongation dégénérée
$sd = (\Delta\alpha_{23} + \Delta\alpha_{31} + \Delta\alpha_{12} - \Delta\beta_1 - \Delta\beta_2 - \Delta\beta_3) / 6^{1/2}$	déformation totalement symétrique
$dd = (2\Delta\alpha_{23} - \Delta\alpha_{31} - \Delta\alpha_{12}) / 6^{1/2}$	déformation dégénérée
$dd' = (\Delta\alpha_{31} - \Delta\alpha_{12}) / 2^{1/2}$	déformation dégénérée
$dr = (2\Delta\beta_1 - \Delta\beta_2 - \Delta\beta_3) / 6^{1/2}$	rotation dégénérée
$dr' = (\Delta\beta_2 - \Delta\beta_3) / 2^{1/2}$	rotation dégénérée

### II.3 Discussion

La comparaison des spectres des formes anomères du glucose et de leur méthyl-monosaccharide respectif montre une certaine identité. Cependant, certaines bandes supplémentaires apparaissent et d'autres se déplacent.

Sur le Me- $\alpha$ -D-glucose trois fréquences supplémentaires sont observées à 1185, 1361 et 1477  $\text{cm}^{-1}$  dans le spectre Raman. Les bandes mesurées à 773, 916 et 1296  $\text{cm}^{-1}$  pour le  $\alpha$ -glucose se déplacent à, respectivement, 750, 900 et 1322  $\text{cm}^{-1}$  pour le Me- $\alpha$ -D-glucose. Ces mêmes constatations se retrouvent dans le spectre infrarouge.

De même, pour le Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate, les fréquences à 1480, 1189, 971, 492 et 381  $\text{cm}^{-1}$  du spectre Raman sont nouvelles. La fréquence observée à 902  $\text{cm}^{-1}$  dans le glucose  $\beta$  glisse à 887  $\text{cm}^{-1}$ . De plus, les fréquences à 917, 717 et 667  $\text{cm}^{-1}$  du glucose  $\beta$  ne sont pas retrouvées dans le spectre du méthyl-monosaccharide.

En transférant les constantes de force des anomères du glucose à chaque méthyl-saccharide correspondant, toutes les fréquences observées doivent être, si le champ de force est fiable, calculées et en particulier les caractéristiques précédentes doivent être retrouvées.

Sans aucune modification de constantes de force on obtient pour le calcul dans le cristal une déviation standard, pour les fréquences inférieures à 1600  $\text{cm}^{-1}$ , de 5,5  $\text{cm}^{-1}$  pour le Me- $\alpha$ -D-glucose et de 6,5  $\text{cm}^{-1}$  pour le Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate.

Les fréquences supplémentaires du Me- $\alpha$ -D-glucose sont calculées à 1162  $\text{cm}^{-1}$  ( observée à 1185  $\text{cm}^{-1}$  ), 1361  $\text{cm}^{-1}$  ( 1363  $\text{cm}^{-1}$  ) et 1477  $\text{cm}^{-1}$  ( 1477  $\text{cm}^{-1}$  ). Les fréquences déplacées sont calculées à 752  $\text{cm}^{-1}$  ( 750  $\text{cm}^{-1}$  ), 908  $\text{cm}^{-1}$  ( 900  $\text{cm}^{-1}$  ) et 1327  $\text{cm}^{-1}$  ( 1322  $\text{cm}^{-1}$  ). Sur l'ensemble du spectre seule la bande observée à 1185  $\text{cm}^{-1}$  et calculée à 1162  $\text{cm}^{-1}$  pose problème. Cependant, en différenciant les constantes de force d'élongation C—O mises en jeu avec le groupement méthyle l'écart entre la fréquence calculée et observée doit pouvoir se réduire.

Pour le Me- $\beta$ -D-glucose hemihydrate les fréquences supplémentaires sont calculées à 392  $\text{cm}^{-1}$  ( 381  $\text{cm}^{-1}$  ), 501  $\text{cm}^{-1}$  ( 492  $\text{cm}^{-1}$  ), 965  $\text{cm}^{-1}$  ( 971  $\text{cm}^{-1}$  ), 1194  $\text{cm}^{-1}$  ( 1189  $\text{cm}^{-1}$  ) et 1480  $\text{cm}^{-1}$  ( 1480  $\text{cm}^{-1}$  ). La fréquence observée à 887  $\text{cm}^{-1}$  est calculée à 873  $\text{cm}^{-1}$ . Sur l'ensemble du spectre observée les fréquences calculées sont en moyenne à quelques  $\text{cm}^{-1}$  mais deux fréquences observées à 1227  $\text{cm}^{-1}$  et 1377  $\text{cm}^{-1}$  sont difficilement reproductibles sans modification de constantes de force.

Donc, pour ces deux molécules, les constantes de force provenant du glucose dans ces deux formes sont capables de reproduire l'ensemble des spectres. Des modifications de constantes de force pourraient toutefois améliorer la déviation standard. Celles-ci concerneraient, par exemple, les constantes de force des groupements mis en jeu dans les liaisons hydrogènes. Cependant, aucun affinement n'a été effectué car une simple vérification de la validité des paramètres de la fonction énergie potentielle était envisagée.

Pour le Me- $\alpha$ -D-mannose, épimère du Me- $\alpha$ -D-glucose, l'ensemble des constantes de force de cette dernière molécule a été utilisé. La déviation standard sur le spectre en dessous de 1600  $\text{cm}^{-1}$  est de 6,1  $\text{cm}^{-1}$ . Par comparaison aux autres molécules, les spectres du Me- $\alpha$ -D-mannose présentent certaines caractéristiques et en particulier l'existence de 6 bandes très intenses dans la région 650  $\text{cm}^{-1}$  - 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Dans le spectre calculé, sur ce même domaine spectral, exactement 6 bandes sont obtenues avec des valeurs de 679  $\text{cm}^{-1}$  ( 666  $\text{cm}^{-1}$  ), 795  $\text{cm}^{-1}$  ( 817  $\text{cm}^{-1}$  ), 839  $\text{cm}^{-1}$  ( 845  $\text{cm}^{-1}$  ), 903  $\text{cm}^{-1}$  ( 889  $\text{cm}^{-1}$  ), 921  $\text{cm}^{-1}$  ( 913  $\text{cm}^{-1}$  ) et 967  $\text{cm}^{-1}$  ( 973  $\text{cm}^{-1}$  ). Toutes ces fréquences peuvent être ajustées plus précisément avec des modifications de constantes de force.

Il semble donc que le champ de force du glucose puisse être transféré sans trop de problème à des molécules proches. Ceci laisse supposer que cette transférabilité sera effective sur des disaccharides.

### III. Les disaccharides

Pour valider et améliorer le champ de force des saccharides, le choix des disaccharides s'est effectué de la façon suivante: ils devaient être constitués de résidus de même nature ( du glucose dans l'une ou l'autre forme ), présenter les caractéristiques de configuration et de position de la liaison glycosidique choisies, avoir leur résolution radiocristallographique effectuée et être disponible dans le commerce.

Ces considérations nous ont amené à envisager les 6 disaccharides suivants:

- le Trehalose  $2H_2O$  (**1**):  $\alpha$ -D-glucopyrannosyl-(1—1)- $\alpha$ -D-glucopyrannose,  $2H_2O$
  - le Sophorose  $H_2O$  (**2**):  $\beta$ -D-glucopyrannosyl-(1—2)- $\alpha$ -D-glucopyrannose,  $H_2O$
  - le Laminarabiose (**3**):  $\beta$ -D-glucopyrannosyl-(1—3)- $\beta$ -D-glucopyrannose
  - le Maltose  $H_2O$  (**4**):  $\alpha$ -D-glucopyrannosyl-(1—4)- $\beta$ -D-glucopyrannose,  $H_2O$
  - le Cellobiose (**5**):  $\beta$ -D-glucopyrannosyl-(1—4)- $\beta$ -D-glucopyrannose
  - le Gentiobiose (**6**):  $\beta$ -D-glucopyrannosyl-(1—6)- $\beta$ -D-glucopyrannose
- ( Cf. Photos V.1 à V.6 respectivement ).

Les molécules de maltose monohydrate et de cellobiose, toutes deux liées en 1-4, permettent d'étudier la configuration de la liaison glycosidique. Les autres molécules nous amènent à envisager les différentes positions de la liaison glycosidique.

#### III.1 Les spectres.

Les principaux résultats spectroscopiques expérimentaux de la littérature sur ces molécules sont obtenues pour le maltose [8-12,15], le cellobiose [8-10,12-17] et le gentiobiose [8]. Tout en tenant compte de ces données, nous avons enregistré, pour chaque composé, les spectres Raman et Infrarouge dans l'état cristallin. Ils sont donnés en annexe II ( Spectres n°12 à 38 ). Les conditions d'enregistrement sont les mêmes que pour les méthyl-monosaccharides.

Les disaccharides tréhalose dihydrate (**1**) et maltose monohydrate (**4**) proviennent de chez Aldrich, les laminarabiose (**3**), cellobiose (**5**) et gentiobiose (**6**), de chez Sigma et enfin le sophorose (**2**) de chez Koch-Light ( Angleterre ). Aucun de ces produits n'est pur à 100% et le mélange des anomères étant présent ( par exemple, 93% de  $\beta$  maltose monohydrate, 5% de forme  $\alpha$  d'après Sigma ). Cependant, la présence de l'anomère minoritaire ne doit pas prédominer dans les spectres et seuls des épaulements ou de très faibles bandes peuvent apparaître.

### III.2 Données cristallographiques

Mis à part la structure du maltose monohydrate obtenu par diffraction des neutrons [21] tous les autres disaccharides ont été obtenus par diffraction des rayons-X ( Références tableau V.1 ). Il faut noter que dans le cas du "laminarabiose" [20] le cristal correspond à 39% de molécule ayant un branchement de la liaison glycosidique en configuration  $\alpha,1-3$  avec et 61% de la molécule de laminarabiose (  $\beta,1-3$  ). L'ensemble des données cristallographiques est résumé dans le tableau V.1.

**Tableau V.1** Informations cristallographiques du tréhalose dihydrate (1), sophorose monohydrate (2), du laminarabiose (3), du maltose monohydrate (4), du cellobiose (5) et du gentiobiose (6). De plus sont indiqués le nombre de cellules nécessaires pour le calcul dans le cristal, le nombre de coordonnées internes et de symétrie.

	(1) [18]	(2) [19]	(3) [20]	(4) [21]	(5) [22]	(6) [23]
Nbr. d'atomes N	51	48	45	48	45	45
3N-6	147	138	129	138	129	129
Groupe spatial	P212121	P212121	P2	P21	P21	P212121
Nbr. de molécules	4	4	2	2	2	4
a = ( Å )	12,230	22,046	14,778	4,866	10,972	8,8693
b = ( Å )	17,890	14,436	4,794	15,077	13,048	22,846
c = ( Å )	7,596	4,8657	10,516	10,702	5,091	7,2011
$\beta = (^\circ)$	90,	90,	98,10	97,07	90,83	90,
Liaisons H-H intra-	4	0	1	1	1	0
Liaisons H-H inter-	8	9	7	7	7	7
Nbr. de cellules	125	363	125	125	125	27
Nbr. Coord Internes	186	162	159	168	159	153
Nbr. Coord. Symétrie	159	138	135	144	135	129

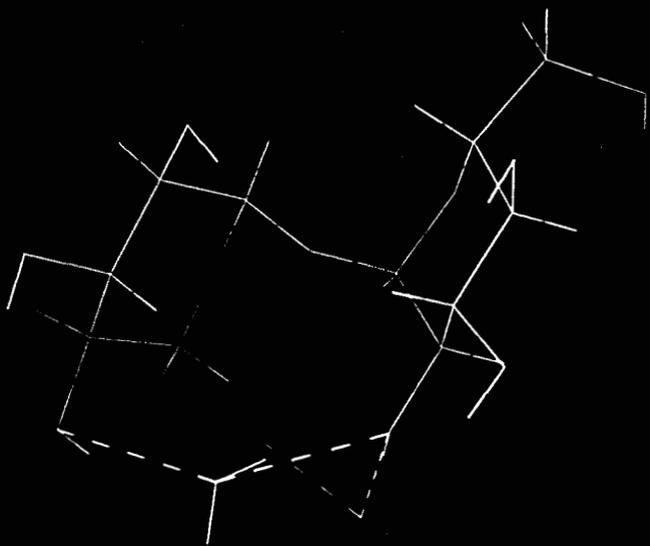
Aucune de ces molécules ne possédant de symétrie, leur groupe moléculaire et de site correspondent à  $C_1$ . Pour les molécules appartenant au groupe spatial P212121 le groupe facteur est  $D_2$  et pour les autres  $C_2$ .

Il est alors possible d'obtenir les représentation irréductible qui, pour le réseau, s'écrivent dans le premier cas

$$\Gamma_{\text{réseau}} = 6 A + 5 B_1 + 5 B_2 + 5 B_3 \quad (D_2)$$

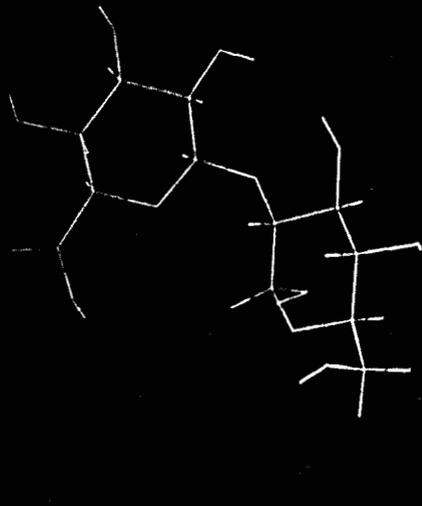
et dans le second cas

$$\Gamma_{\text{réseau}} = 5 A + 4 B \quad (C_2)$$



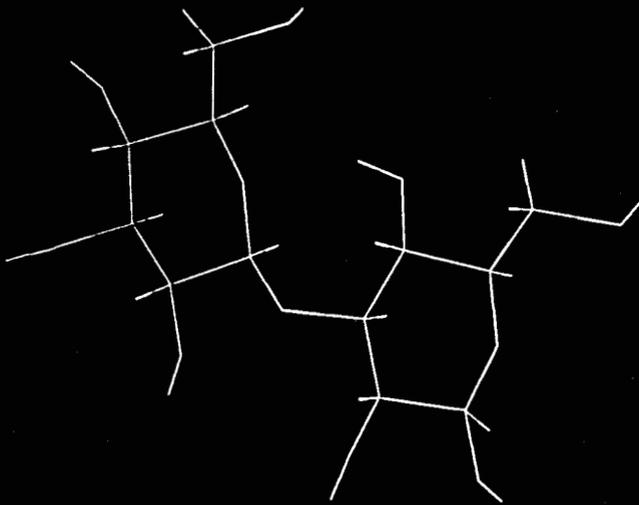
Trehalose dihydrate

alpha, 1-1, alpha



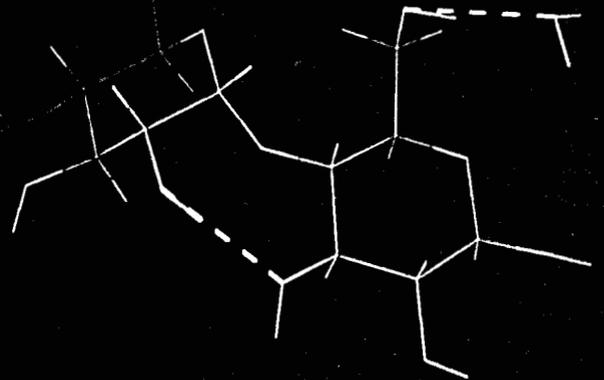
Sophorose monohydrate

beta, 1-2



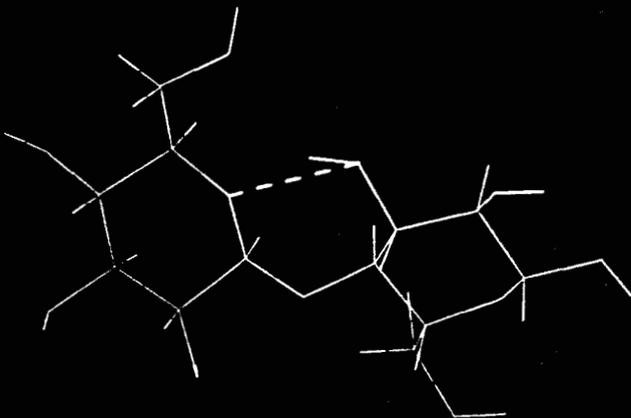
Laminarabiose

beta, 1-3



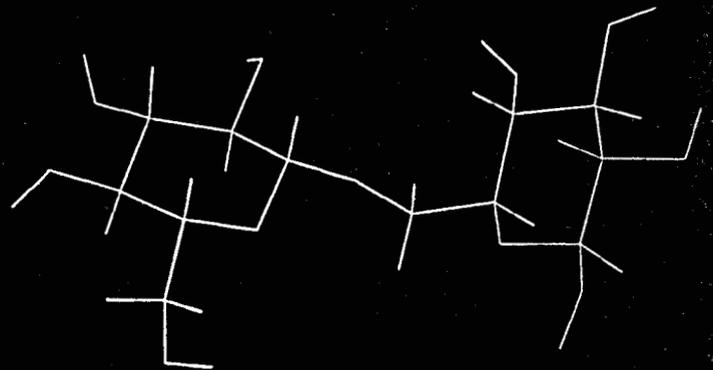
Maltose monohydrate

alpha, 1-4



Cellobiose

beta, 1-4



Gentiobiose

beta, 1-6

Le dénombrement des vibrations internes est obtenu par  $3N-6$  avec  $N$  le nombre d'atomes ( Tableau V.1 ).

Les vibrations du cristal sont obtenues par combinaison des vibrations internes et du réseau.

### III.3 La fonction potentielle et les conditions de calcul

L'expression analytique de la fonction énergie potentielle choisie est celle de Urey-Bradley Shimanouchi modifié (mUBSFF) [7] dont la forme est:

$$\begin{aligned}
 V(r) = & \frac{1}{2} \sum_{\text{liaisons}} K_b (r_{ij} - r_o)^2 + \frac{1}{2} \sum_{\text{angles}} H_\theta r_{ij} r_{jk} (\theta_{ijk} - \theta_o)^2 + \frac{1}{2} \sum_{\text{opb}} \gamma_{ijkl} (\Delta\pi_{ijkl})^2 \\
 & + \frac{1}{2} \sum_{\text{torsions}} Y_{il} (\Delta\tau_{il})^2 + \sum_{\substack{\text{paires non liées} \\ r < 6 \text{ \AA}}} A_{ij} \exp(-B_{ij} r_{ij}) - \frac{C_{ij}}{r^6} + \sum_{\substack{\text{paires non liées} \\ r < 6 \text{ \AA}}} \frac{q_i q_j}{r} \\
 & + \frac{1}{2} \sum_{\text{distances 1,3}} F_{ij} (q_{ij} - q_o)^2 + \sum_{\text{distances 1,3}} F'_{ij} q_{ij} (q_{ij} - q_o) + V_{\text{red}} \\
 & + V_{\text{lh}}
 \end{aligned}$$

avec  $V_{\text{red}}$ , la contribution à l'énergie potentielle de la tension interne  $\kappa$  qui, pour la géométrie d'un tétraèdre parfait, s'exprime par:

$$V_{\text{red}} = \frac{1}{2} \sum_{\substack{\text{angles} \\ \text{tétraédriques}}} \frac{3}{\kappa\sqrt{8}} (\theta_{ijk} - \theta_o)^2 + \sum_{\substack{\text{angles} \\ \text{tétraédriques}}} \frac{\kappa}{\sqrt{2}} (\theta_{ijk} - \theta_o)(\theta_{ijl} - \theta_o)$$

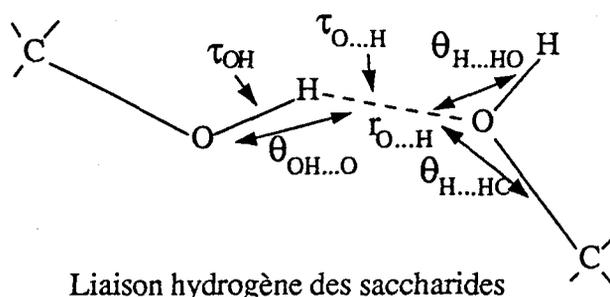
Dans ces expressions, les constantes  $K_b$ ,  $H_\theta$ ,  $Y_{il}$ ,  $\gamma_{ijkl}$  représentent respectivement les constantes de force associées aux mouvements d'élongation, de déformation angulaire, de torsion et de déformations hors du plan. La constante de force  $\kappa$  est la tension interne. Les constantes de force  $F_{ij}$  et  $F'_{ij}$  ( $F'_{ij} = -0,1 F_{ij}$ ) sont respectivement associées aux répulsions de type 1,3 et aux termes linéaires de l'énergie de répulsion.

La fonction potentielle intermoléculaire est définie par le potentiel d'interaction entre paires d'atomes non liés de type Buckingham, par le terme d'interaction électrostatique de type coulombique, enfin, le terme  $V_{\text{lh}}$  lié au potentiel des liaisons

hydrogènes qui, dans notre calcul, est une fonction spécifique de type Urey-Bradley et qui prend la forme suivante:

$$\begin{aligned}
 V_{lh} = & \frac{1}{2} K_{O...H} (\Delta r_{O...H})^2 + \frac{1}{2} H_{O-H...O} r_{OH} r_{O...H} (\Delta \theta_{O-H...O})^2 \\
 & + \frac{1}{2} H_{H...O-C} r_{H...O} r_{O-C} (\Delta \theta_{H...O-C})^2 + \frac{1}{2} H_{H...O-H} r_{H...O} r_{O-H} (\Delta \theta_{H...O-H})^2 \\
 & + \frac{1}{2} Y_{O-H} (\Delta \tau_{O-H})^2 + \frac{1}{2} Y_{H...O} (\Delta \tau_{H...O})^2
 \end{aligned}$$

dans laquelle  $K_{O...H}$ ,  $H_{OH...O}$ ,  $H_{H...OC}$ ,  $H_{H...OH}$ ,  $Y_{O-H}$  et  $Y_{O...H}$  sont respectivement les constantes de force associées aux élongations de la liaison hydrogène, aux 3 angles de valence intervenant dans le processus donneur-accepteur et aux deux torsions supplémentaires amenées par la présence d'une liaison hydrogène, comme indiqué sur le schéma suivant:



Les paramètres de départ de ces différents termes d'énergie sont ceux du glucose  $\alpha$  et du glucose  $\beta$  lorsque l'une ou l'autre de ces entités constituent le disaccharide ( par exemple, dans le sophorose le premier cycle est en configuration  $\beta$  alors que le cycle réduit est lui en configuration  $\alpha$  ).

Les coordonnées cartésiennes utilisées sont celles de la cristallographie avec toutefois quelques modifications pour certains hydrogènes qui ont dû être "replacés" à des positions standards. En effet, avec les constantes de force initiales, les différences importantes d'angles de valence ou de longueurs de liaison mettant en jeu certains hydrogènes amenaient des déplacements non négligeables ( de 10 à 40  $\text{cm}^{-1}$  ) des fréquences calculées. En amenant certains hydrogènes à des positions de géométrie classique pour ce type d'atome, l'ensemble des fréquences calculées les mettant en jeu est alors en meilleur accord.

Ainsi, pour le tréhalose dihydrate les hydrogènes des deux groupements hydroxyles primaires ont été remplacés, pour le cellobiose seuls ceux du cycle non réduit l'ont été. Pour le sophorose monohydrate, le laminarabiose et le gentiobiose tous les hydrogènes ont été remplacés, avec toutefois des torsions et des angles de valence peu modifiés pour les hydrogènes des groupements hydroxyles intervenant dans une liaison hydrogène. Le maltose monohydrate ayant été obtenu par diffraction aux neutrons, aucun atome d'hydrogène n'a été modifié.

En plus des coordonnées internes, sont définies comme telles les liaisons hydrogènes intra-moléculaires ( entre cycles { laminarabiose (3), maltose monohydrate (4), cellobiose (5) } ou entre cycles au moyen de molécules d'eau comme dans le tréhalose dihydrate (1) ) et les angles de valence et de torsion qui apparaissent alors en plus.

Les coordonnées de symétrie sont obtenues grâce à la matrice U et sont définies de la façon suivante:

Chaque cycle pyranose est traité séparément avec 6 liaisons, 31 angles de valence ( $6 \times 5 + 1$ ) et 6 torsions. Les 11 redondances associées à chaque cycle sont retirées ( 6 redondances de cycles et 5 redondances arbre liés aux 5 carbones ). On obtient pour un disaccharide 64 ( $32 \times 2$ ) coordonnées de symétrie, combinaison linéaire des coordonnées internes de chaque cycle mis en jeu.

Les groupements hydroxyles primaires sont traités dans la symétrie locale  $C_{2v}$  et la redondance associée est éliminée.

Les dernières coordonnées de symétrie correspondent aux coordonnées internes qui n'ont pas été prises en compte. En particulier, les coordonnées internes associées à une ou plusieurs liaisons hydrogènes intramoléculaires peuvent engendrer des coordonnées de symétrie redondantes qui dans ce cas ne sont pas éliminées.

Sur les résultats du glucose, les charges résiduelles ont été déterminées au moyen de l'hamiltonien  $AM_1$  ( Cf. Tableau V.2 ) et la constante diélectrique utilisée est  $\epsilon=3$ .

Les paramètres de Van der Waals utilisés et la distance maximale de coupure sont les suivants:

**Tableau V.2** Tableau des charges résiduelles déterminées au moyen de l'hamiltonien AM<sub>1</sub> pour les 6 disaccharides.

Atome	Trehalose 2H <sub>2</sub> O	Sophorose H <sub>2</sub> O	Laminarabiose	Maltose H <sub>2</sub> O	Cellobiose	Gentiobiose
C <sub>1</sub>	0.1267	0.1211	0.1176	0.1260	0.1271	0.1604
C <sub>2</sub>	-0.0114	-0.0250	-0.0231	-0.0260	-0.0198	0.0201
C <sub>3</sub>	-0.0018	-0.0029	-0.0027	-0.0381	-0.0464	-0.0023
C <sub>4</sub>	0.0123	0.0106	0.0109	0.0161	-0.0169	-0.0333
C <sub>5</sub>	-0.0065	-0.0025	-0.0042	-0.0085	-0.0027	-0.0302
C <sub>6</sub>	-0.0126	-0.0065	-0.0183	-0.0100	-0.0103	-0.0161
H <sub>1</sub>	0.1379	0.0987	0.1046	0.1541	0.0822	0.0878
H <sub>2</sub>	0.1127	0.1216	0.1181	0.1380	0.1505	0.1228
H <sub>3</sub>	0.1064	0.1052	0.1010	0.1041	0.1248	0.1033
H <sub>4</sub>	0.1146	0.1042	0.1067	0.0967	0.0963	0.1191
H <sub>5</sub>	0.1171	0.1075	0.0951	0.1188	0.0949	0.1003
O <sub>1</sub>	-0.3399	-0.2627	-0.2521	-0.3005	-0.2508	-0.2510
O <sub>2</sub>	-0.3587	-0.3275	-0.3335	-0.3247	-0.2892	-0.3180
O <sub>3</sub>	-0.3301	-0.3311	-0.3328	-0.3357	-0.3142	-0.3295
O <sub>4</sub>	-0.3216	-0.3214	-0.3278	-0.3243	-0.3215	-0.3294
O <sub>5</sub>	-0.3034	-0.3024	-0.2917	-0.2890	-0.2962	-0.3116
H <sub>6</sub>	0.1313	0.0781	0.1235	0.0742	0.1136	0.1075
H <sub>7</sub>	0.0775	0.1290	0.0985	0.1293	0.0917	0.0849
HO <sub>1</sub>	—	—	—	—	—	—
HO <sub>2</sub>	0.2462	0.2184	0.2332	0.2326	0.2019	0.2266
HO <sub>3</sub>	0.2220	0.2269	0.2287	0.2244	0.2142	0.2251
HO <sub>4</sub>	0.2239	0.2259	0.2273	0.2249	0.2247	0.2149
O <sub>6</sub>	-0.3239	-0.3284	-0.3214	-0.3255	-0.3153	-0.3268
HO <sub>6</sub>	0.2074	0.2184	0.2005	0.2084	0.2091	0.2202
C <sub>1</sub> '	0.1194	0.1340	0.1305	0.1228	0.1241	0.1704
C <sub>2</sub> '	0.0299	-0.0095	-0.0072	-0.0245	0.0159	0.0094
C <sub>3</sub> '	-0.0287	-0.0163	0.0084	0.0270	0.0323	-0.0038
C <sub>4</sub> '	-0.0192	0.0165	-0.0111	0.0190	-0.0268	-0.0378
C <sub>5</sub> '	-0.0419	-0.0046	-0.0003	-0.0174	-0.0091	0.0132
C <sub>6</sub> '	-0.0140	-0.0143	-0.0166	-0.0181	-0.0144	-0.0143
H <sub>1</sub> '	0.1459	0.1538	0.1051	0.0973	0.0939	0.0977
H <sub>2</sub> '	0.1469	0.1131	0.1120	0.1196	0.1174	0.1181

H <sub>3</sub> '	0.0972	0.1233	0.1100	0.1077	0.1142	0.1004
H <sub>4</sub> '	0.1325	0.1070	0.1115	0.1306	0.1117	0.1309
H <sub>5</sub> '	0.1125	0.1186	0.0962	0.1041	0.1159	0.0967
O <sub>1</sub> '	—	-0.3319	-0.3397	-0.3276	-0.3271	-0.3164
O <sub>2</sub> '	-0.2963	—	-0.3216	-0.3278	-0.3107	-0.3138
O <sub>3</sub> '	-0.3117	-0.3310	—	-0.3290	-0.3283	-0.3310
O <sub>4</sub> '	-0.3322	-0.3196	-0.3444	—	—	-0.3302
O <sub>5</sub> '	-0.3059	-0.3341	-0.2981	-0.3329	-0.3190	-0.3056
H <sub>6</sub> '	0.0853	0.1314	0.1231	0.1352	0.0722	0.1074
H <sub>7</sub> '	0.1223	0.0727	0.0914	0.0813	0.1172	0.0828
HO <sub>1</sub> '	—	0.2199	0.2417	0.2228	0.2271	0.2290
HO <sub>2</sub> '	0.2115	—	0.2214	0.2248	0.2163	0.2198
HO <sub>3</sub> '	0.2176	0.2119	—	0.2265	0.2361	0.2230
HO <sub>4</sub> '	0.2320	0.2229	0.2442	—	—	0.2095
O <sub>6</sub> '	-0.3461	-0.3231	-0.3125	-0.3379	-0.3173	—
HO <sub>6</sub> '	0.2208	0.2028	0.1976	0.2287	0.2106	—
O <sub>w1</sub>	-0.4298	-0.4108		-0.3987		
HO <sub>w</sub>	0.2095	0.2101		0.2089		
HO <sub>w</sub> '	0.2194	0.2021		0.1923		
O <sub>w2</sub>	-0.4363					
HO <sub>w</sub>	0.2262					
HO <sub>w</sub> '	0.2073					

Type	$V(r) = A e^{-Br} - C/r^6$			$r_{\max}(\text{Å})$
	A(kcal/mol)	B(Å <sup>-1</sup> )	C(kcal/mol)	
C.....C	83630.	3.600	568.0	6.
C.....O	63700.	3.881	441.0	6.
C.....H	8766.	3.670	125.0	6.
O.....O	96500.	4.333	346.0	6.
O.....H	57500.	4.727	122.0	6.
H.....H	2654.	3.740	27.3	6.

Les distances minimales de coupure sont les suivantes ( l'ensemble des contacts de type 1,3 et les distances O...O des liaisons hydrogènes ont tous été éliminés ):

Type	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
C.....C	2,6	2,6	2,54	2,57	2,55	2,55
C.....O	2,5	2,5	2,47	2,47	2,5	2,39
C.....H	2,2	2,32	2,39	2,18	2,2	2,17
O.....O	2,76	2,78	2,76	2,762	2,67	2,717
O.....H	2,2	2,3	2,38	2,1	2,345	2,09
H.....H	1,8	1,79	2,278	2,16	1,8	1,9

#### III.4 Résultats et discussion

L'ensemble des fréquences calculées pour chacun des disaccharides ( de (1) à (6) ) est donné dans les tableaux V.3 à V.8 respectivement de l'annexe 4.

En raison de la complexité des coordonnées de symétrie, une tentative de description des modes normaux de vibration est donnée à partir de la distribution d'énergie potentielle selon les constantes de force (PEF). Cette description est simplement qualitative. Elle permet de donner l'allure du mode en question, et n'est exprimée qu'en fonction des principaux groupements mis en jeu, par ordre décroissant, et sans donner le pourcentage selon lequel ils interviennent.

En effet, pour de nombreuses vibrations, la contribution des interactions non liantes est très importantes, de même celle des liaisons hydrogènes. Dans la description elles ne sont pas données pour des raisons de simplicité.

De plus, pour une déformation angulaire, la contribution des constantes de force H et F de ce groupement est cumulée mais il est bien évident que dans toutes régions ces deux constantes de force n'ont pas la même prépondérance.

Les constantes de force comme les tensions internes  $\kappa$  ou la constante l ne sont pas non plus décrites.

Enfin, pour la région des basses fréquences et par commodité, les descriptions sont faites avec les coordonnées externes.

L'ensemble des spectres Raman et infrarouges des disaccharides est très correctement reproduit pour toutes les zones spectrales ( Sur les graphes V.1 et V.2 on peut voir pour chaque disaccharide la densité spectrale, respectivement des spectres observés et des spectres calculés). La déviation standard pour chacun des disaccharides dans le domaine spectral inférieur à  $1600\text{ cm}^{-1}$  est donné ci-dessous ( entre parenthèses est indiqué le nombre de fréquences permettant d'établir cette déviation standard ):

trehalose dihydrate	$\sigma = 2,15 ( 80 )$
sophorose monohydrate	$\sigma = 3,00 ( 71 )$
laminarabiose	$\sigma = 2,75 ( 69 )$
maltose monohydrate	$\sigma = 3,20 ( 61 )$
cellobiose	$\sigma = 2,45 ( 53 )$
gentiobiose	$\sigma = 2,75 ( 72 )$

Ces résultats sont obtenus avec des modifications restreintes des constantes de force provenant des anomères du glucose. Sur environ 190 constantes de force, 17, 18, 15, 9, 16 et 11 constantes de force sont respectivement modifiées pour les molécules de tréhalose monohydrate (1), de sophorose monohydrate(2), laminarabiose (3), maltose monohydrate (4), de cellobiose (5) et de gentiobiose (6).( Tableau V.9 )

On remarquera que les différences proviennent soit, des atomes constituant la liaison disaccharidique, soit des groupements contenant un carbone anomérique ou soit des groupements mis en jeu des atomes participants aux liaisons hydrogènes comme les liaisons OH, les déformations angulaires COH ou les torsions exo-cycliques CO.

**Tableau V.9** Tableau des constantes de force présentant une différence dans le disaccharide considéré par rapport aux valeurs prises dans l'anomère correspondant du glucose.

	Glc $\alpha$ ou $\beta$	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
CH	3,985	4,10	4,0495	4,0495	4,0495	4,0162	4,095
OH	5,9985		6,3254	5,9793	5,9795	5,9795	5,9793
C1O1,C2'O1	2,99		3,1				
H C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> C <sub>x</sub> '	0,60	0,50	0,70	0,85		0,655	
F C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> C <sub>x</sub> '	0,42	0,35		0,65		0,45	
H HC1O1	0,20	0,194	0,1921		0,195	0,175	
F HC1O1	0,60	0,55	0,59			0,50	
H HC1O5	0,2635	0,20					
F HC1O5	0,808	0,60					
H H'C'5O'5	0,2635	0,224	0,2561				
F H'C'5O'5	0,808	0,676	0,75				
H H'C'xO1	0,189		0,2147	0,189	0,21		
F H'C'xO1	0,675		0,59	0,70	0,65	0,68	
H HC6O	0,185		0,225	0,189			
F HC6O	0,53		0,57				
H HCH	0,4285	0,4252	( <sup>'</sup> )0,434	0,4190 ( <sup>'</sup> )0,4106	0,415	0,4185 ( <sup>'</sup> )0,395	0,4103 ( <sup>'</sup> )0,40
F HCH	0,07						0,065
H C'C'xO1	0,265		0,35	0,35	0,35	0,34	
F C'C'xO1	0,55		0,60	0,65	0,65	0,65	
H CC6H	0,175		0,19	0,1785			0,17
F CC6H	0,42		0,425				0,415
H C'C'xH'	0,19		0,1955				
H CO5C	0,60	0,65					
F CO5C	0,42	0,47					
H COH	0,275	0,245					0,268
F COH	0,636	0,625*					0,64
H C <sub>6</sub> OH	0,2995	0,2575				0,2763 <sup>§</sup>	
F C <sub>6</sub> OH	0,645	0,636				0,60 <sup>§</sup>	
$\tau$ CO	0,0613	0,59		0,586 <sup>§</sup>	0,06	0,060 <sup>§</sup>	0,0625 <sup>§</sup>
$\tau$ C'O'				0,583 <sup>§</sup>		0,058 <sup>§</sup>	0,0592 <sup>§</sup>
$\tau$ C'O'	0,0834			0,090		0,075	

\* 0,645 mdyne/Å pour un cycle en configuration  $\alpha$ .

<sup>§</sup> H et F valent respectivement 0,295 et 0,574 mdyne/Å pour un cycle en configuration  $\beta$ .

<sup>§</sup>  $\tau$  CO vaut 0,0635 mdyne.Å pour un cycle en configuration  $\beta$ .

Dans le tableau suivant sont données les barrières de rotation pour chacune des torsions des disaccharides. Les valeurs du glucose  $\alpha$  ( glucose  $\beta$  ) sont indiquées pour comparaison et seules les modifications existant dans les disaccharides sont fournies ( pour les autres barrières, les valeurs sont égales à celles rencontrées dans la forme anomère du glucose correspondant ).

	Gluc. $\alpha$ ( $\beta$ )	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
$\tau$ CC <sub>cyc</sub>	3,2 (4,0)						
$\tau$ C <sub>5</sub> C <sub>6</sub>	4,8 (5,6)						
$\tau$ CO <sub>cyc</sub>	1,97 (1,97)						
$\tau$ C <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	2,67 (2,67)						
$\tau$ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>	3,29 (2,64)						
$\tau$ C' <sub>x</sub> O <sub>1</sub>	3,29 (2,64)						
$\tau$ CO	1,96 (2,03)	1,89		1,87	1,92	1,92	2,0
$\tau$ C'O'	1,96 (2,03)			1,86		1,85	1,89
$\tau$ C'O'	1,96 (2,03)			2,88		2,40	

Dans la plupart des liaisons glycosidiques les constantes de force des angles de valence sont modifiées sauf pour le maltose et le gentiobiose, ce qui pourrait correspondre à moins de contrainte entre cycle pour ces deux molécules. Pour les liaisons glycosidiques, la constante de force torsionnelle associée au carbone anomérique ( $\tau$  C<sub>1</sub>O<sub>1</sub>) semble aussi convenir à l'autre partie de la liaison glycosidique. ( $\tau$  C'<sub>x</sub>O<sub>1</sub>). Ceci est aussi vrai pour la constante de force associée à l'élongation C<sub>1</sub>O<sub>1</sub> qui est applicable à l'autre partie de la liaison glycosidique C'<sub>x</sub>O<sub>1</sub>.

Les constantes de force intermoléculaire sont toutes les mêmes et égales à:

K <sub>O...H</sub>	0.15 (mdyne/Å)	H <sub>H...OX</sub>	0.03 (mdyne/Å)
H <sub>H...OX</sub>	0.03 (mdyne/Å)	Y <sub>O...H</sub>	0.00 (mdyne.Å)

Ce sont aussi ces valeurs qui sont utilisées dans le cas de liaisons hydrogènes intramoléculaires.

Pour les molécules hydratées les constantes de force associées à la molécule d'eau sont les suivantes:

pour les molécules sophorose monohydrate (2) et de maltose monohydrate (4):

$$O_w-H = 7,36 \text{ mdyne/Å}$$

$$H H-O_w-H = 0,53 \text{ mdyne/Å ET F H-O}_w-H = 0,517 \text{ mdyne/Å}$$

et pour la molécule de tréhalose dihydrate (1)

$$O_w-H = 7,15 \text{ mdyne/Å}$$

$$H H-O_w-H = 0,4967 \text{ mdyne/Å ET F H-O}_w-H = 0,49 \text{ mdyne/Å}$$

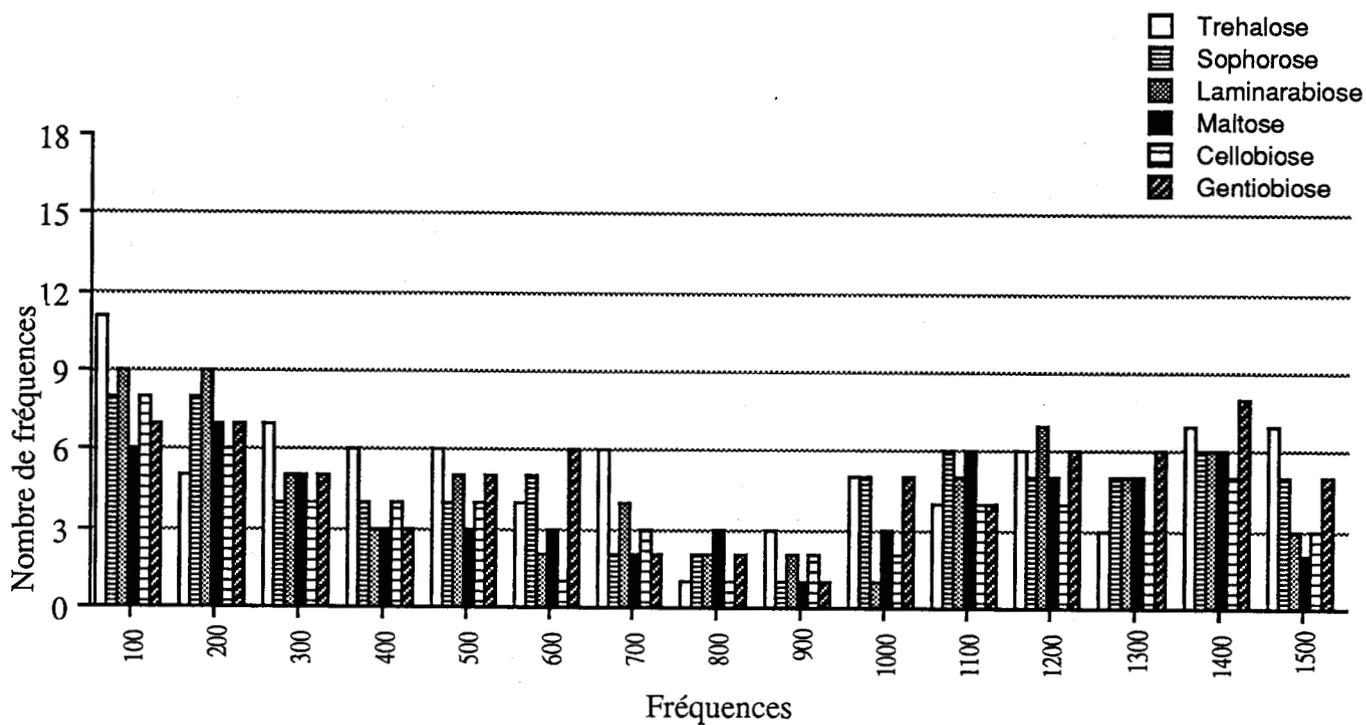
La reproduction des spectres observées dans la zone des hautes fréquences est, en général, la zone la moins bien reproduite, surtout en ce qui concerne le domaine spectral des élongations des liaisons O—H. Cependant devant, la forme de ces bandes, le plus souvent unique, large et mal définie, une différenciation des constantes de force ne s'impose pas. La région des élongations C—H est elle pour la plupart correctement reproduite.

Dans les régions spectrales  $1200-1600 \text{ cm}^{-1}$  et  $1000-1200 \text{ cm}^{-1}$  les couplages sont très importants augmentés encore par la présence des deux cycles. Elles correspondent respectivement aux couplages des déformations angulaires HCO, CCH, HCH, COH des deux cycles pour la première région et aux couplages des élongations des liaisons CC et CO endo et exo cycliques des deux cycles pour la seconde région.

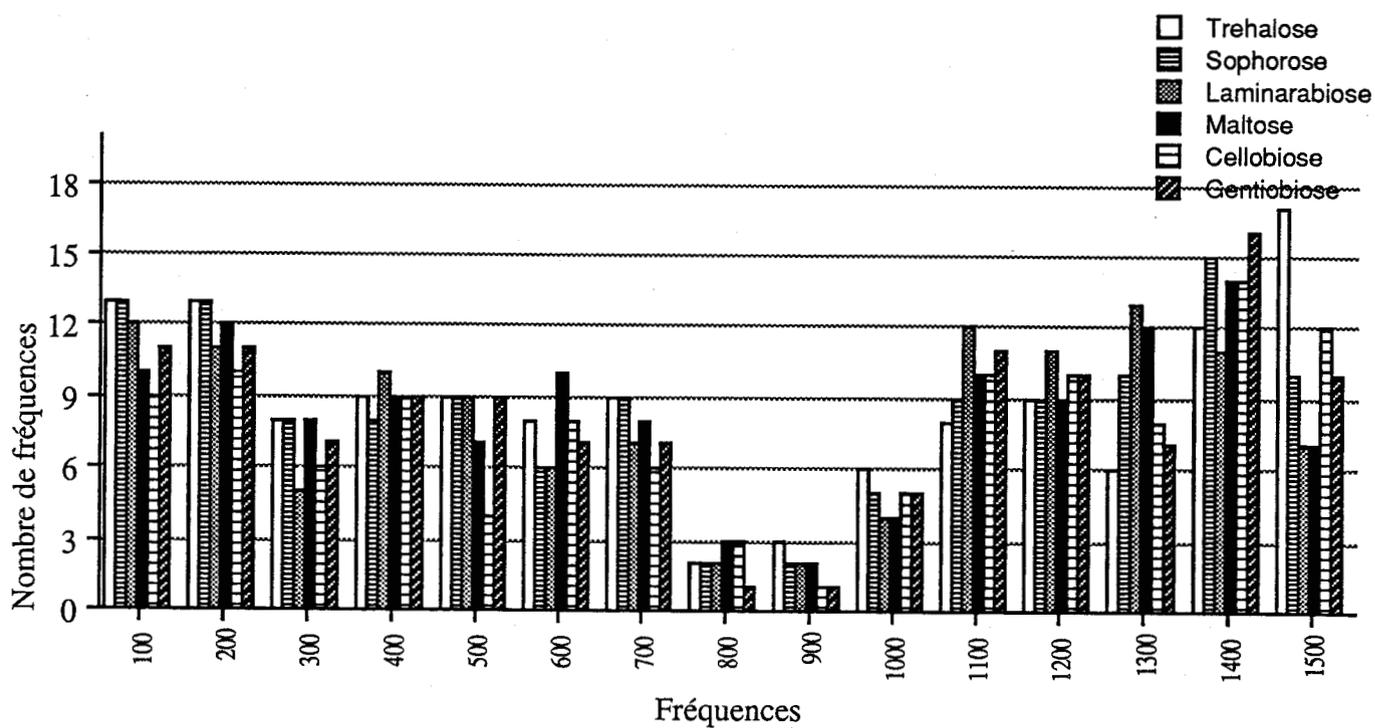
Pour ce qui est de la région anomérique, empreinte de la molécule étudiée, la comparaisons des différentes molécules est données dans le tableau suivant:

Molécule	Conf.	Fréq. Obs. $\text{cm}^{-1}$	Fréq. Calc. $\text{cm}^{-1}$
Glucose $\alpha$	$\alpha$	916, 842	912, 844
Glucose $\beta$	$\beta$	917, 902	918, 901
Trehalose dihydrate	$\alpha, \alpha$ (1,1)	912, 848, 840, 805	919, 847, 835, 807
Sophorose monohydrate	$\beta, \alpha$ (1,2)	939, 921, 901, 853	959, 918, 895, 861
Laminarabiose	$\beta, \alpha$ (1,3)	894, 845	892, 845
Maltose monohydrate	$\alpha, \beta$ (1,4)	923, 901, 850	932, 888, 841
Cellobiose	$\beta, \beta$ (1,4)	899, 891	905, 886
Gentiobiose	$\beta, \beta$ (1,6)	936, 915, 869	937, 915, 874

Cette zone témoin est donc parfaitement reproduite. Les fréquences calculées, avec les constantes de force utilisées, subissent un glissement dans le sens des fréquences observées.



**Graphe V.1** Densité spectrale pour les spectres des disaccharides observés.



**Graphe V.2** Densité spectrale pour les spectres des disaccharides calculés.

Toutefois, l'épaule observé à  $903\text{ cm}^{-1}$  n'est pas reproduit et peut correspondre à une impureté provenant de l'autre anomère ( même la résolution cristalline présente les deux configurations de liaison glycosidique [20] ). Le calcul étant effectué pour le laminarabiose ( $\beta$ 1-3) celui-ci a été essayé avec les coordonnées de la seconde molécule [20] ( $\alpha$ 1-3): ce calcul n'a pas permis de retrouver cette bande.

De même, pour le cellobiose deux bandes à  $840\text{ cm}^{-1}$  et  $779\text{ cm}^{-1}$  ne sont pas retrouvées. Or, ces mêmes bandes existent dans le maltose monohydrate à  $850\text{ cm}^{-1}$  ( très intense ) et à  $779\text{ cm}^{-1}$  . On peut donc penser que pour le cellobiose subsistait une partie de maltose dans la poudre étudiée. Une comparaison avec les spectres de la littérature [9-11] ne permet pas de lever ce doute car les spectres ont été obtenus en solution, présentant les deux anomères.

Enfin, pour le gentiobiose subsiste un problème d'épaule à  $908\text{ cm}^{-1}$  qui là non plus n'est pas calculé et qui laisse présager des impuretés dans le spectre enregistré.

On peut noter que dans cette zone interviennent pour la plupart les atomes mis en jeu dans une des anomérie et dans la liaison glycosidique. Les fréquences calculées entre  $700\text{-}800\text{ cm}^{-1}$  font toutes intervenir la déformation angulaire  $C_1O_1C_x'$  correspondante.

Dans la région  $300\text{-}700\text{ cm}^{-1}$  les modes de couplages sont là aussi très importants: ils mettent en jeu les déformation angulaires CCC, COC, OCO ,CCO endo- et exo-cycliques et les torsions CO endo- et exo-cycliques.

Le potentiel intramoléculaire, mais surtout l'ensemble du potentiel intermoléculaire, avec pour le terme électrostatique les charges de AM1 et  $\epsilon=3$ , permettent de reproduite parfaitement la zone des basses fréquences pour chacun des disaccharides. On peut noter que les vibrations internes participent activement aux modes de cette région et que par exemple les torsions CO de la liaison glycosidique sont assez souvent retrouvées dans la description des très basses fréquences.

### III.5 Conclusion

L'ensemble des constantes de force provenant des deux anomères du glucose est tout à fait transférable aux disaccharides et permettent une reproduction parfaite des spectres de vibration. Un affinement des constantes de force pour les liaison glycosidique a été obtenu et vient compléter la base de paramètres des saccharides.

- [1] SEKKAL M., Thèse de l'Université de LILLE USTLFA, (1990).
- [2] ALIX I., Laboratoire de Génie Biologique et Médical, INSERM U279, Faculté de Pharmacie de LILLE.
- [3] 'The crystal structure of methyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside.'  
BERMAN H., KIM S.  
Acta Cryst., **B24**, (1968), 897.
- [4] 'Crystal structure of methyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside.'  
GATEHOUSE B., POPPLETON B.  
Acta Cryst., **B26**, (1970), 1761.
- [5] 'A neutron diffraction study of the hydrogen bonding in the crystal structures of methyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside and methyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside.'  
JEFFREY G., McMULLAN R., TAKAGI S.  
Acta Cryst., **B33**, (1977), 728.
- [6] 'The crystal and molecular structure of methyl  $\beta$ -D-glucopyranoside hemihydrate.'  
JEFFREY G., TAKAGI S.  
Acta Cryst., **B33**, (1977), 738.
- [7] 'Force constants of small molecules.'  
SHIMANOUCI T.  
Pure Appl. Chem., **7**, (1963), 131.
- [8] 'Study of the infrared spectra of oligosaccharides in the region 1000 - 40  $\text{cm}^{-1}$ .'  
TUL'CHINSKY V., ZURABIAN S., ASANKOZHAEV K., KOGAN G.,  
KHORLIN A.  
Carbohydr. Res., **51**, (1976), 1.
- [9] 'Spectroscopic and vibrational studies of carbohydrates.'  
VASKO D.  
Case Western Reserve University, Ph.D., (1971), Cleveland, Ohio, USA.
- [10] 'Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates: Part I: identification of O-H and C-H related vibrational modes for D-glucose, maltose, cellobiose and dextran by deuterium-substitution methods.'  
VASKO P., BLACKWELL J., KOENIG J.  
Carbohydr. Res., **19**, (1971), 297.
- [11] CAEL J., KOENIG J., BLACKWELL J.  
Carbohydr. Res., **29**, (1973), 123.
- [12] 'Low frequency vibrations of molecules with biological interest.'  
VERGOTEN G., FLEURY G., MOSCHETTO Y.  
Advances in Infrared and Raman Spectroscopy, Vol 4/5, (1978), Heyden and sons.
- [13] 'Far-infrared spectra of glucose, sorbose, saccharose and cellobiose at liquid He temperature.'  
HINENO M., YOSHINAGA H.  
Spectrochimica Acta, **28A**, (1972), 2263.

[14] 'Far-infrared spectra of  $\beta$ -D-glucose, cellobiose, galactose, lactose,  $\alpha$ -D-glucose and saccharose in 50-30  $\text{cm}^{-1}$  at liquid He temperature.'

HINENO M., YOSHINAGA H.

Spectrochimica Acta, **29A**, (1973), 1575.

[15] 'Far-infrared spectra of mono-, di- and tri-saccharides in 50-16  $\text{cm}^{-1}$  at liquid He temperature.'

HINENO M., YOSHINAGA H.

Spectrochimica Acta, **30A**, (1974), 411.

[16] 'A theoretical study of the vibrational spectrum of cellobiose within the framework of the additive model of interatomic interactions.'

ANDRIANOV V., ZHBANKOV R., DASHEVSKII V.

Zhurnal Strukturnoi Khimii, **21/3**, (1980), 85.

[17] 'Band assignments in the Raman spectra of celluloses.'

WILLEY J., ATALLA R.

Carbohydr. Res., **160**, (1987), 113.

[18] 'The crystal and molecular structure of trehalose dihydrate.'

TAGA T., SENMA M., OSAKI K.

Acta Cryst., **B28**, (1972), 3258.

[19] 'Structure cristalline du sophorose [O- $\beta$ -D-glucosyl-(1- $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-glucose].'

OHANESSIAN J., LONGCHAMBON F., ARENE F.

Acta Cryst., **B34**, (1978), 3666.

[20] 'The crystal and molecular structure of a 3:2 mixture of laminarabiose and O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1- $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranose.'

TAKEDA H., YASUOKA N., KASAI N.

Carbohydr. Res., **53**, (1977), 137.

[21] 'A neutron diffraction refinement of the crystal structure of  $\beta$ -maltose monohydrate.'

GRESS M., JEFFREY G.

Acta Cryst., **B33**, (1977), 2490.

[22] 'The refinement of the crystal structure of  $\beta$ -D-glucose and cellobiose.'

CHU S., JEFFREY G.

Acta Cryst., **B24**, (1968), 830.

[23] 'The structure of gentiobiose.'

ROHRER D., SARKO A., BLUHM T., LEE Y.

Acta Cryst., **B36**, (1980), 650.

Annexe 1.

## Spectres des méthyl-monosaccharides.

Spectre n° 1: Spectres Raman du cristal de Me- $\alpha$ -D-glucose à 300°K

Spectre n° 2: Spectre infrarouge du cristal de Me- $\alpha$ -D-glucose à 300°K dans la région 500-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 3: Spectre infrarouge du cristal de Me- $\alpha$ -D-glucose à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 4: Spectres Raman du cristal de Me- $\beta$ -D-glucose 1/2H<sub>2</sub>O à 300°K

Spectre n° 5: Spectre infrarouge du cristal de Me- $\beta$ -D-glucose 1/2H<sub>2</sub>O à 300°K dans la région 500-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 6: Spectre infrarouge du cristal de Me- $\beta$ -D-glucose 1/2H<sub>2</sub>O à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 7: Spectres Raman du cristal de Me- $\alpha$ -D-mannose à 300°K

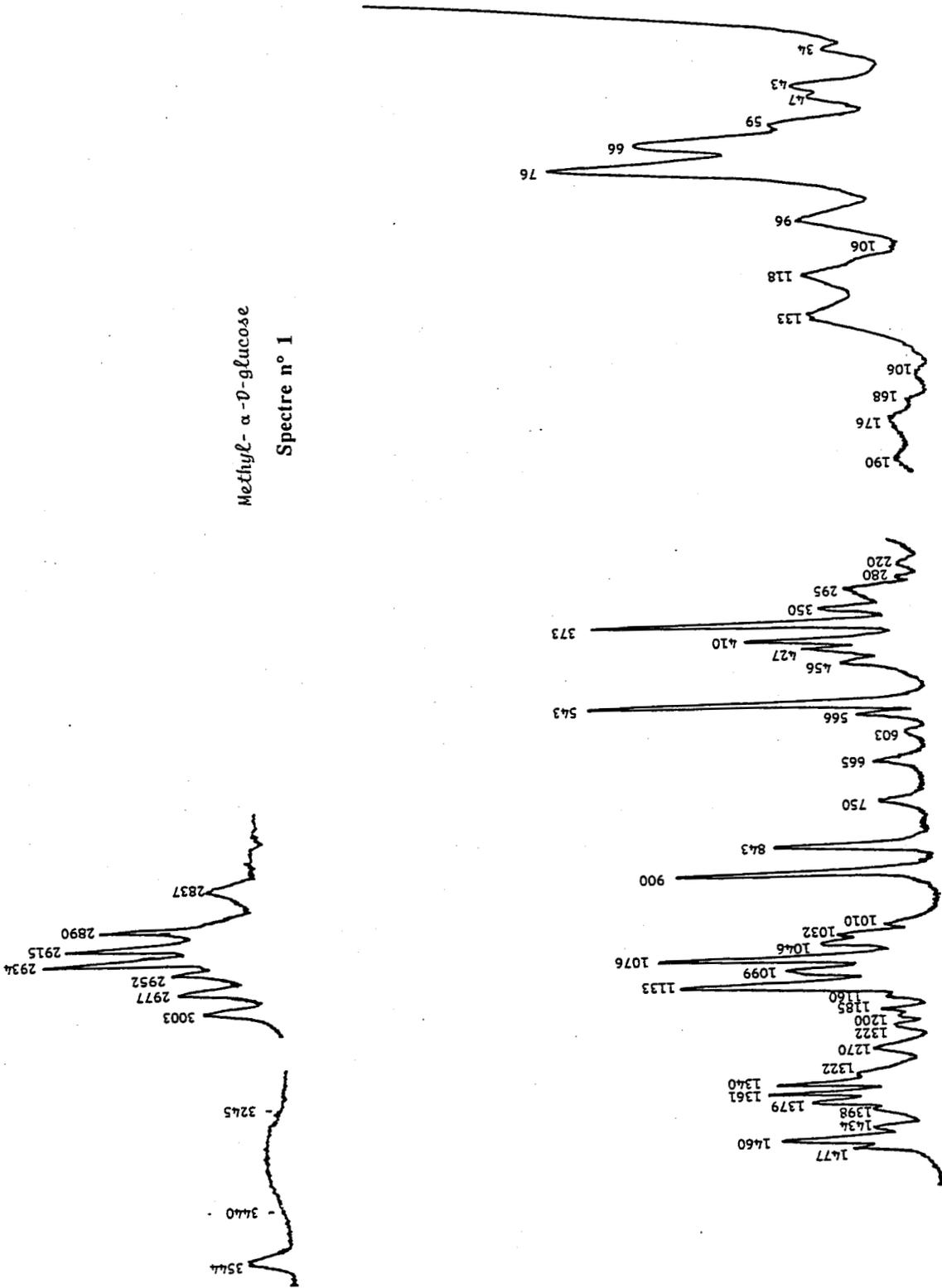
Spectre n° 8: Spectre infrarouge du cristal de Me- $\alpha$ -D-mannose à 300°K dans la région 500-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 9: Spectre infrarouge du cristal de Me- $\alpha$ -D-mannose à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

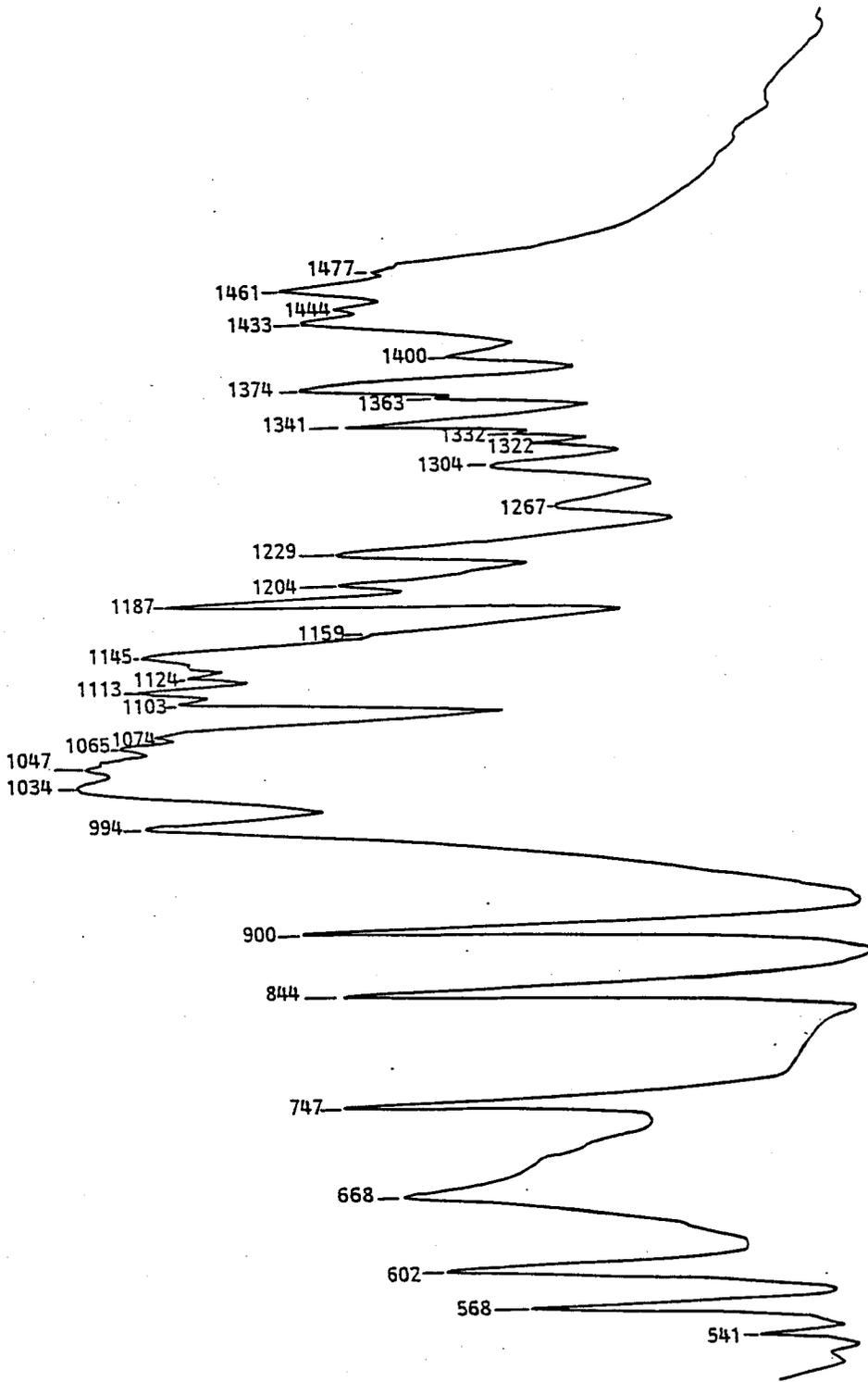
Spectre n° 10: Spectres infrarouges basses fréquences des cristaux de Me- $\alpha$ -D-glucose et de Me- $\beta$ -D-glucose 1/2H<sub>2</sub>O en dessous de 700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 11: Spectres infrarouges de hautes fréquences à 300°K des cristaux des 3 méthyl-monosaccharides

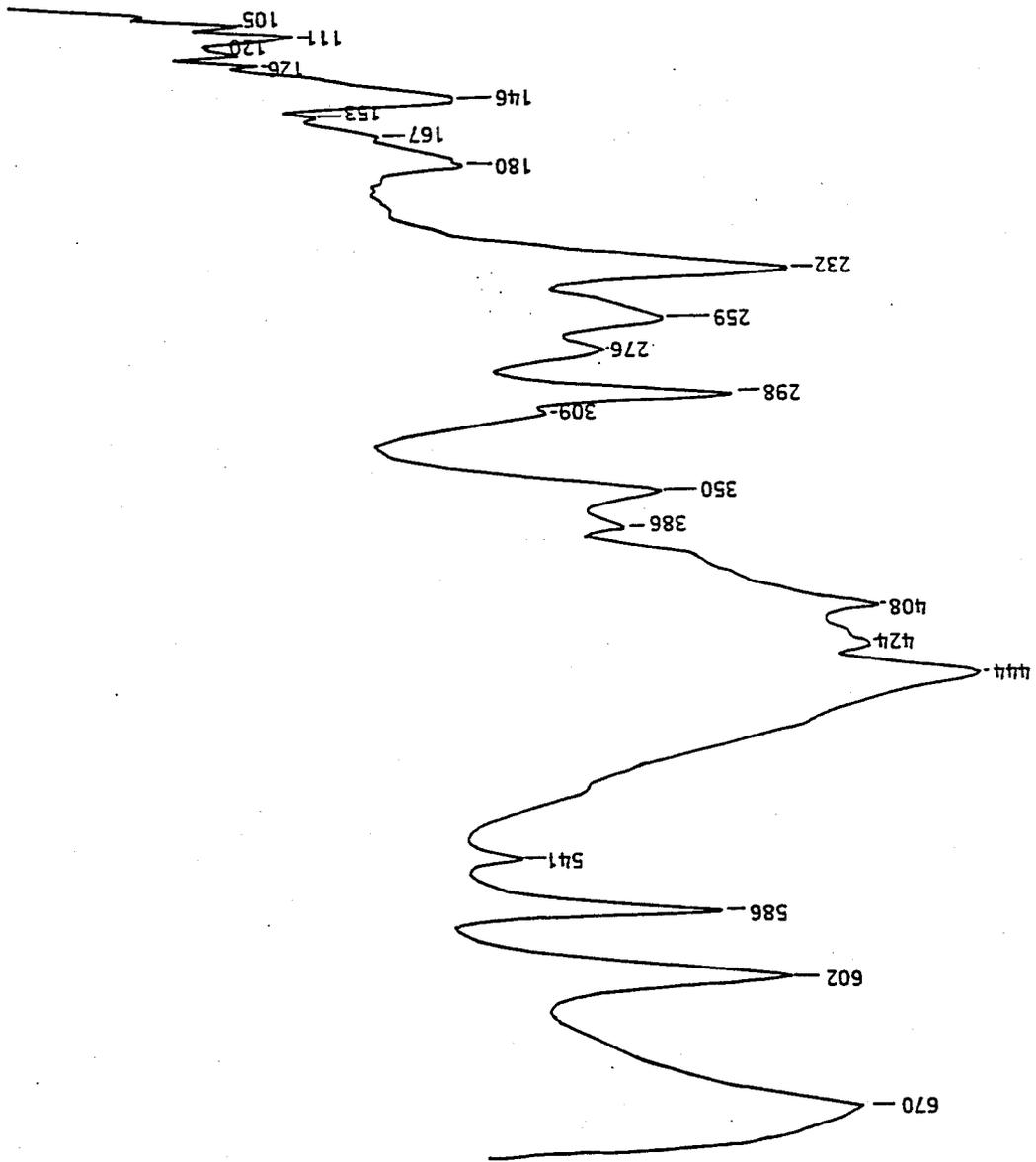
Methyl- $\alpha$ -D-glucose  
Spectre n° 1



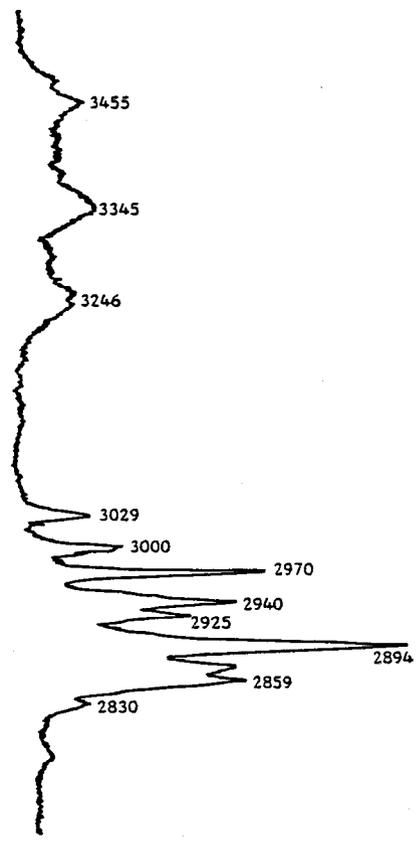
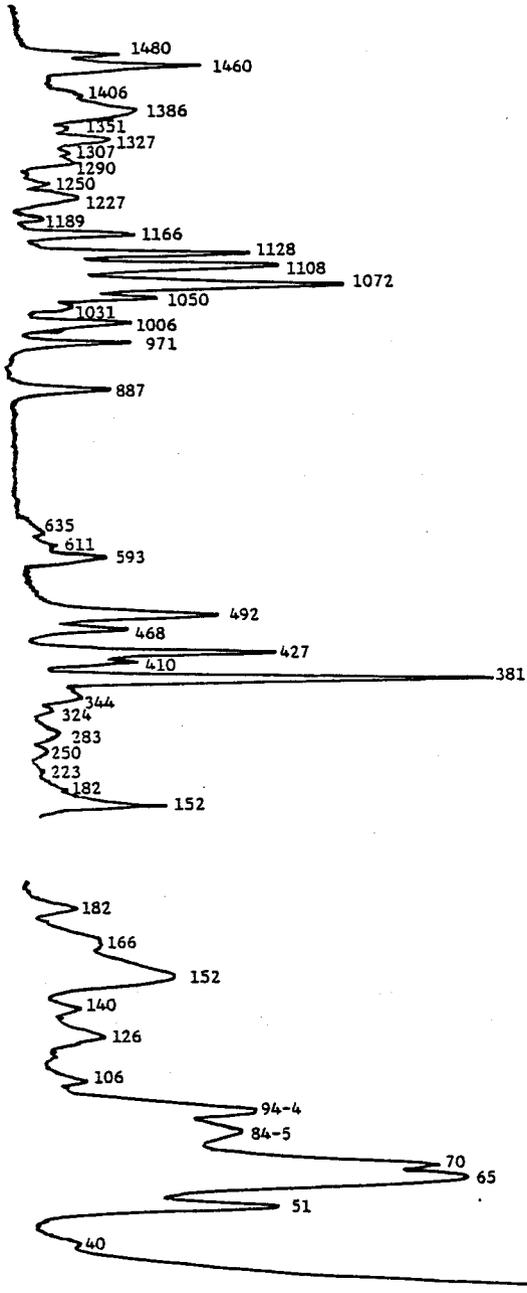
Methyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside



Spectre n° 2

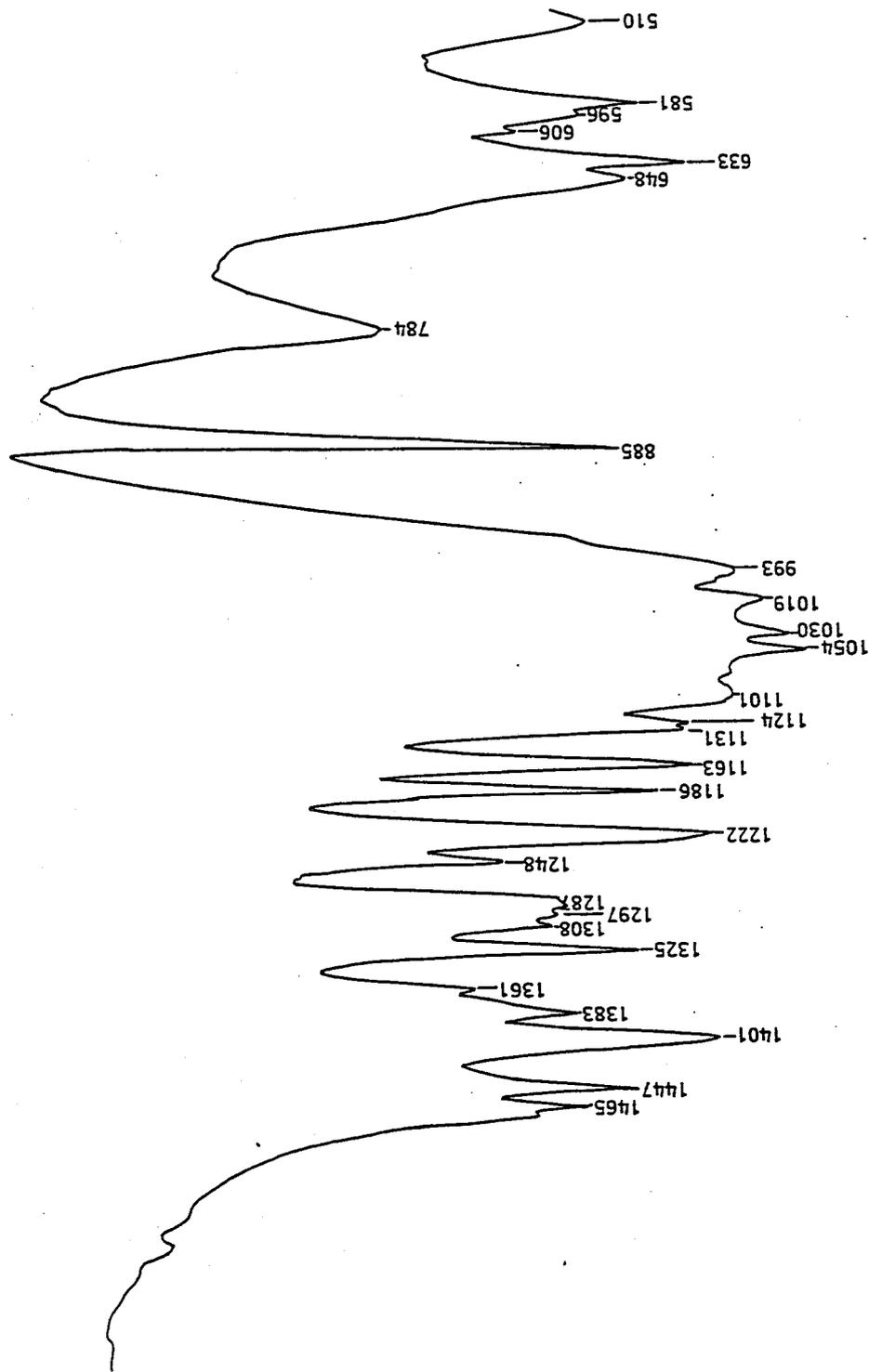


Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside



Methyl-β-D-glucoside hemihydrate

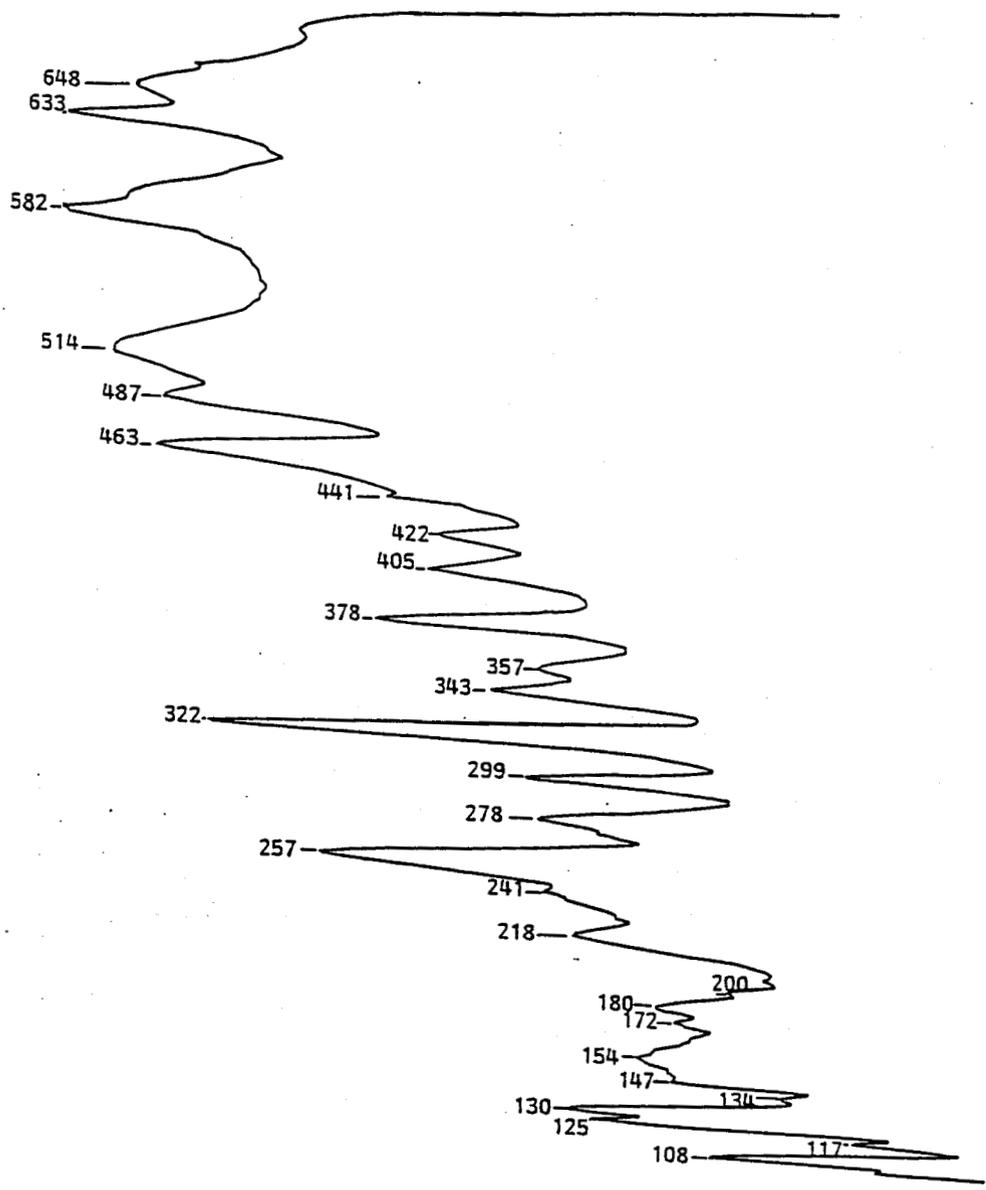
Speclre n° 4



Methyl-β-D-glucopyranoside hemihydrate

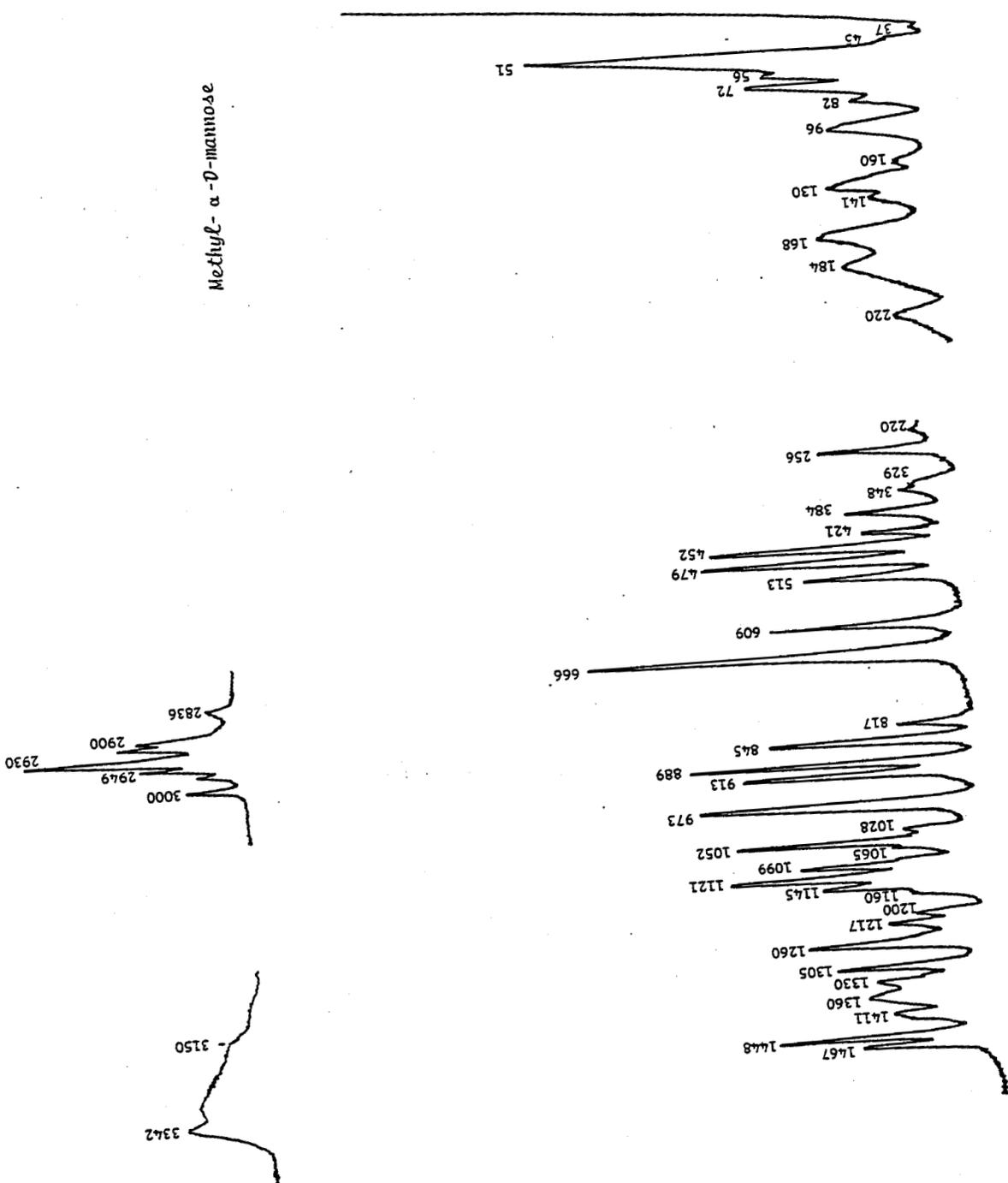
Spectre n° 5

Methyl-β-D-glucopyranosae hemihydrate

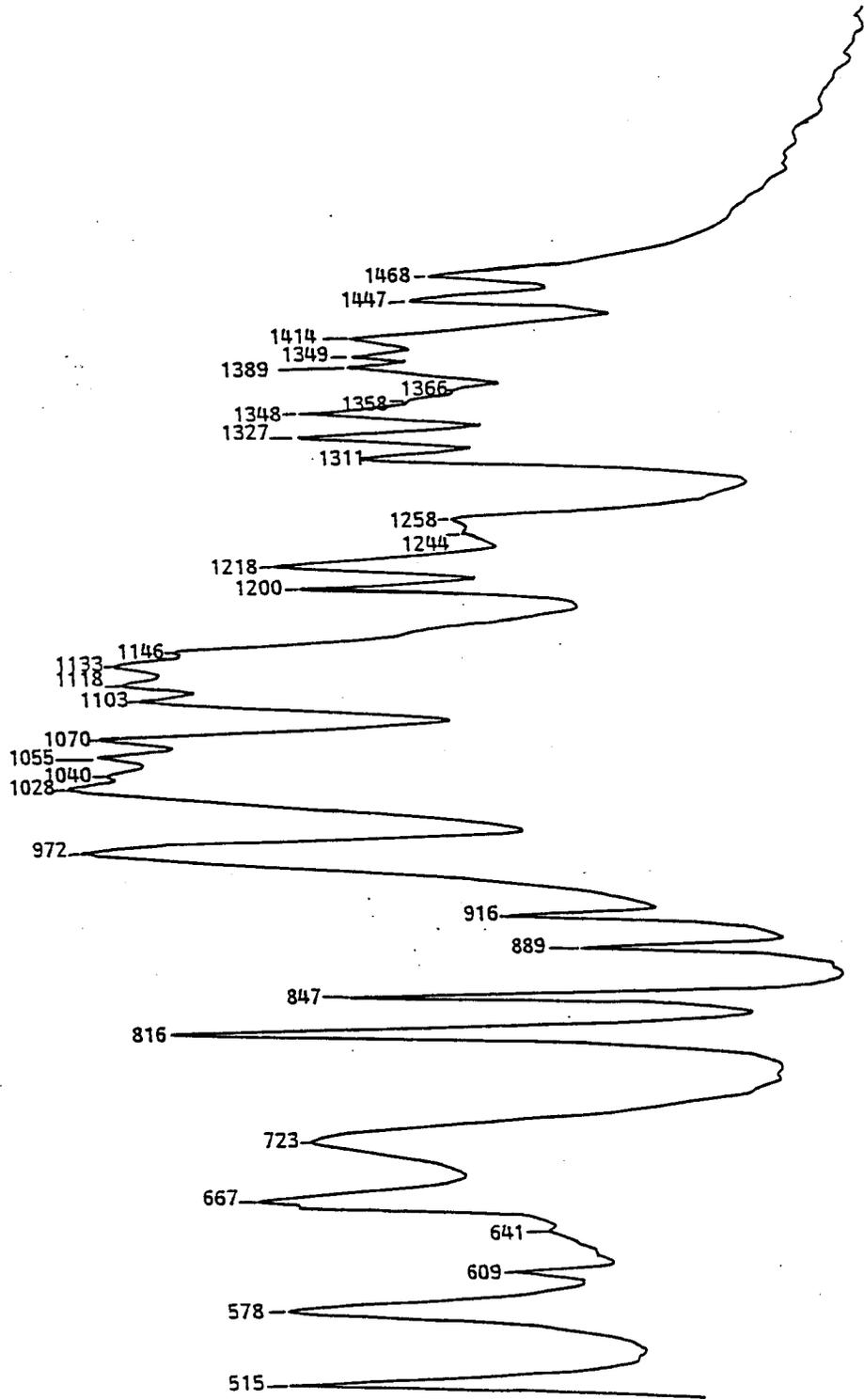


Spectre n° 6

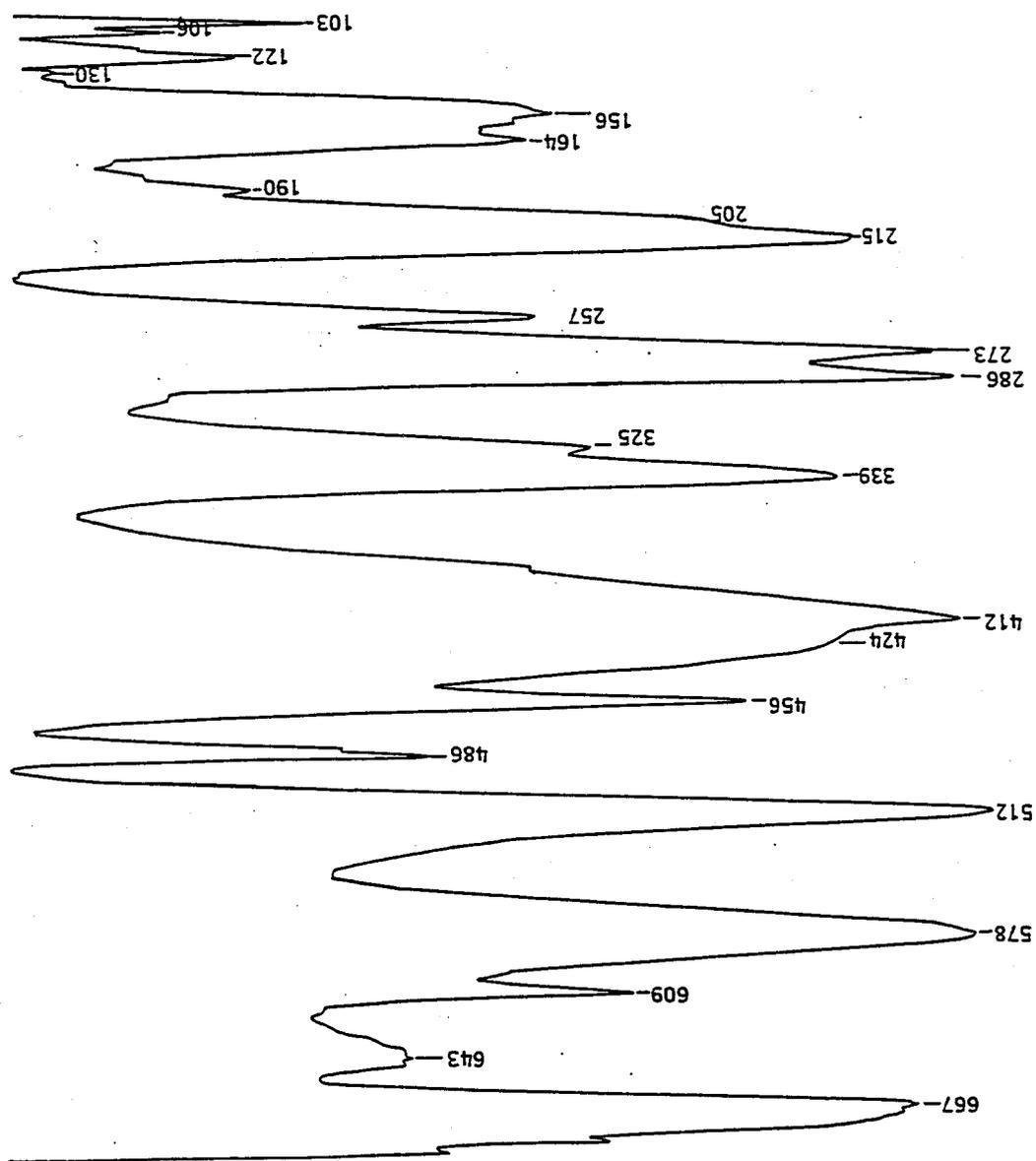
Methyl- $\alpha$ -D-mannose



Méthyle- $\alpha$ -D-mannose

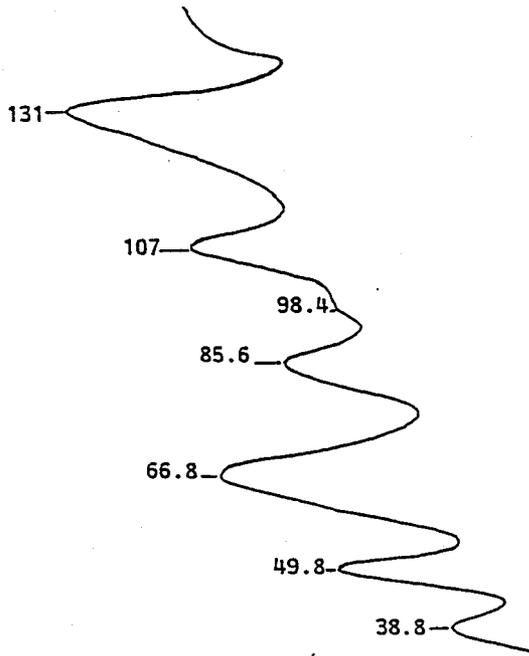


Speclre n° 8

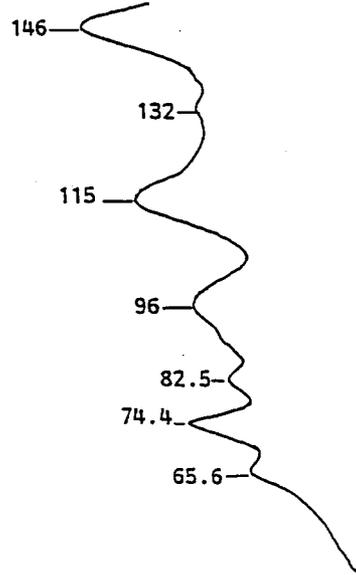


Methyl- $\alpha$ -D-mannose

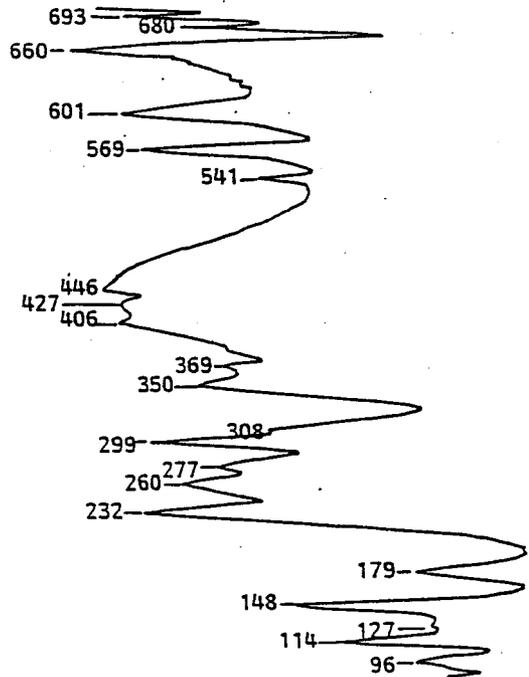
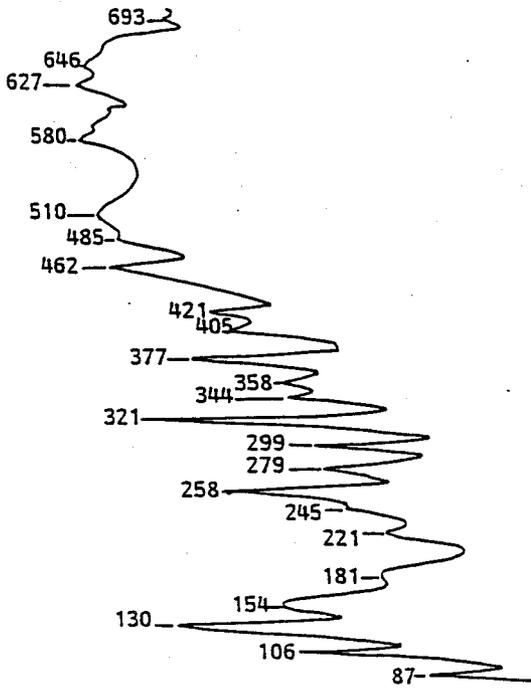
Méthyl-β-D-glucose hemihydrate

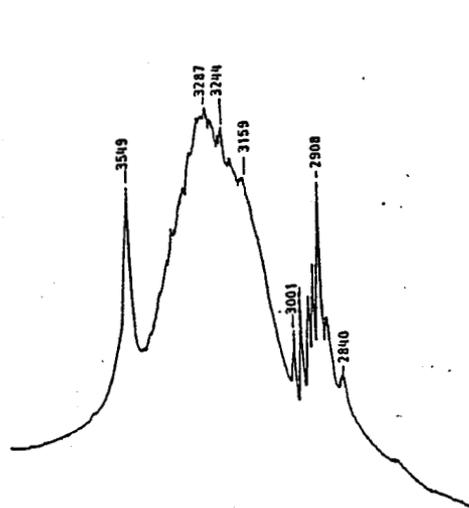


Méthyl-α-D-glucose

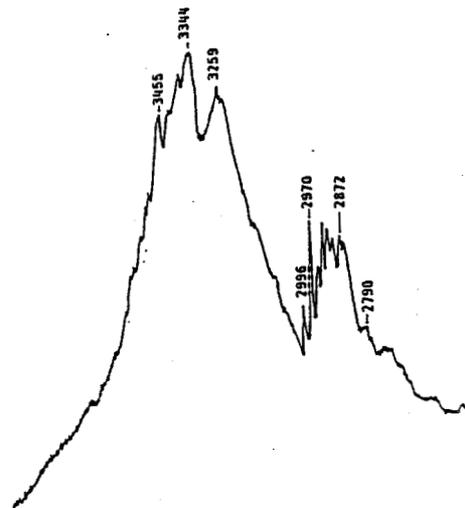


Spectre n° 10

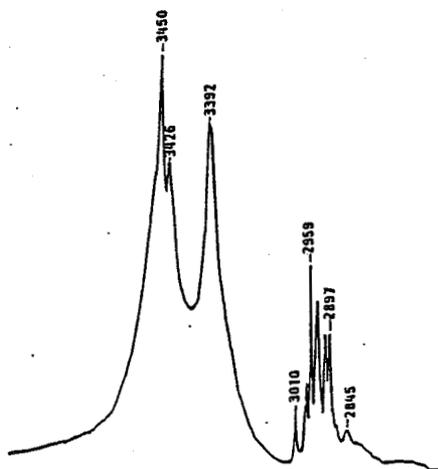




Methyl- $\alpha$ -D-glucose



Methyl- $\beta$ -D-glucose hemihydrate



Methyl- $\alpha$ -D-mannose

Annexe 2.

## Spectres des disaccharides.

Spectre n° 12: Spectre Raman du cristal de Trehalose dihydrate à 300°K dans la région 500-1700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 13: Spectre Raman du cristal de Trehalose dihydrate à 300°K en dessous de 600  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 14: Spectre infrarouge du cristal de Trehalose dihydrate à 300°K dans la région 500-1700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 15: Spectre infrarouge du cristal de Trehalose dihydrate à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 16: Spectre Raman du cristal de Sophorose monohydrate à 300°K dans la région 500-1700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 17: Spectre Raman du cristal de Sophorose monohydrate à 300°K en dessous de 600  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 18: Spectre infrarouge du cristal de Sophorose monohydrate à 300°K dans la région 500-1700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 19: Spectre infrarouge du cristal de Sophorose monohydrate à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 20: Spectre Raman du cristal de Laminarabiose à 300°K dans la région 450-1500 $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 21: Spectre Raman du cristal de Laminarabiose à 300°K en dessous de 600  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 22: Spectre infrarouge du cristal de Laminarabiose à 300°K dans la région 500-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 23: Spectre infrarouge du cristal de Laminarabiose à 300°K dans la région 150-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 24: Spectre Raman du cristal de Maltose monohydrate à 300°K dans la région 500-1700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 25: Spectre Raman du cristal de Maltose monohydrate à 300°K en dessous de 650  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 26: Spectre infrarouge du cristal de Maltose monohydrate à 300°K dans la région 500-1700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 27: Spectre infrarouge du cristal de Maltose monohydrate à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 28: Spectre Raman du cristal de Cellobiose à 300°K dans la région 450-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 29: Spectre Raman du cristal de Cellobiose à 300°K en dessous de 600  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 30: Spectre infrarouge du cristal de Cellobiose à 300°K dans la région 500-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 31: Spectre infrarouge du cristal de Cellobiose à 300°K dans la région 100-700  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 32: Spectre Raman du cristal de Gentiobiose à 300°K dans la région 450-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 33: Spectre Raman du cristal de Gentiobiose à 300°K en dessous de 650  $\text{cm}^{-1}$

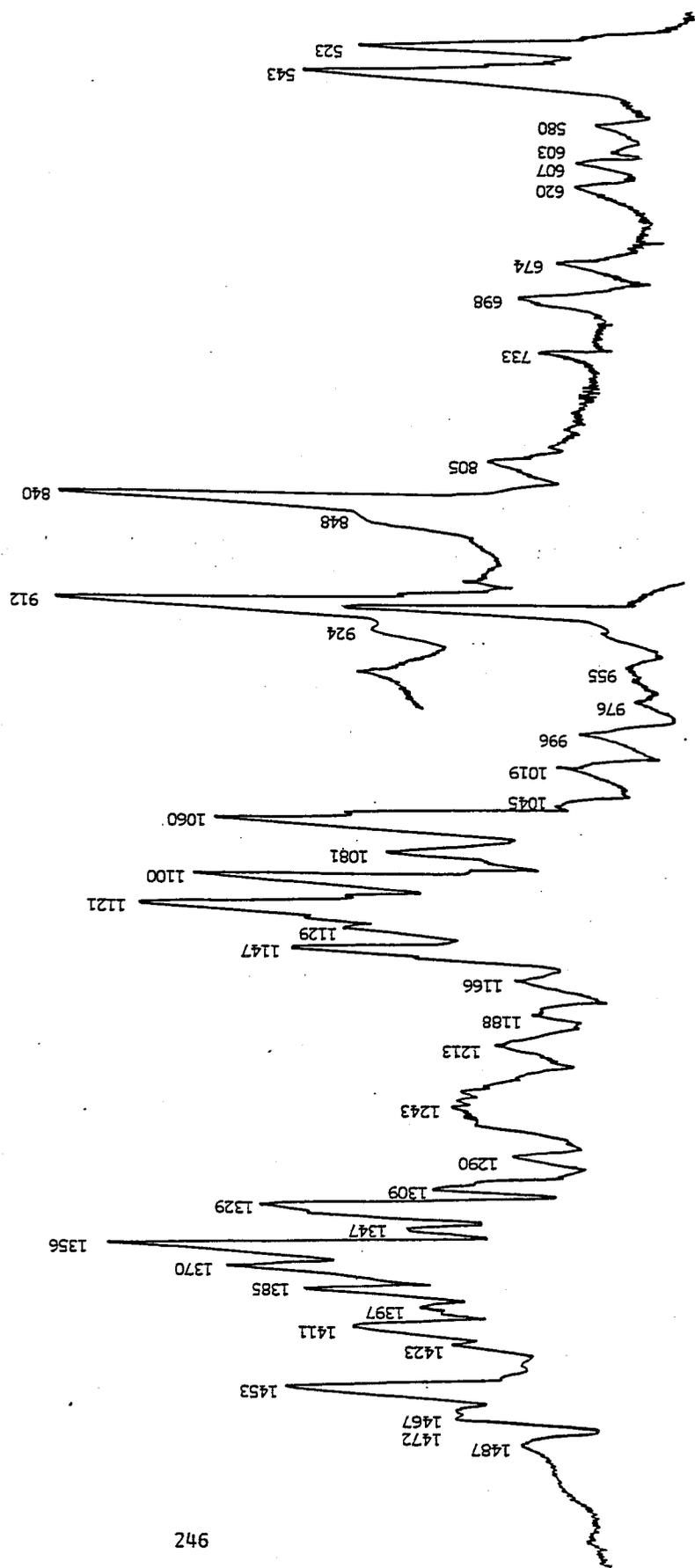
Spectre n° 34: Spectre infrarouge du cristal de Gentiobiose à 300°K dans la région 500-1500  $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 35: Spectre infrarouge du cristal de Gentiobiose à 300°K dans la région 100-700 $\text{cm}^{-1}$

Spectre n° 36: Spectres infrarouges basses fréquences des cristaux de Maltose monohydrate et de Cellobiose

Spectre n° 37: Spectres Raman de haute fréquence des 6 disaccharides à 300°K

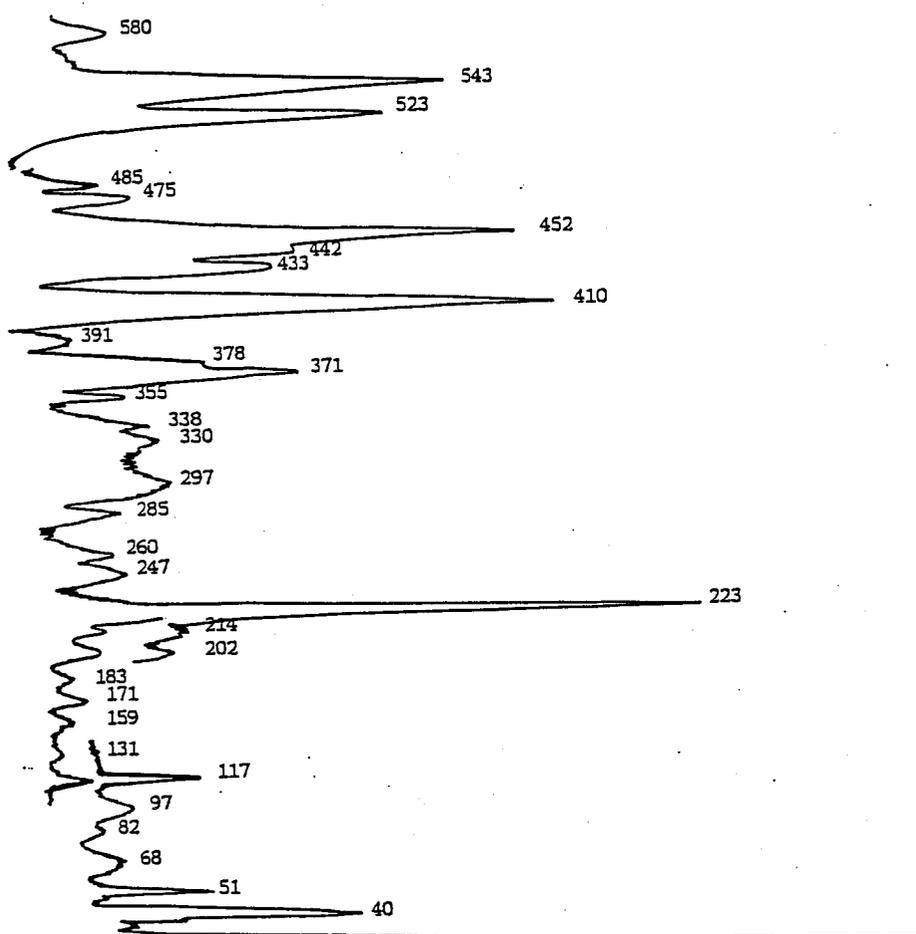
Spectre n° 38: Spectres infrarouges de haute fréquence des 6 disaccharides à 300°K



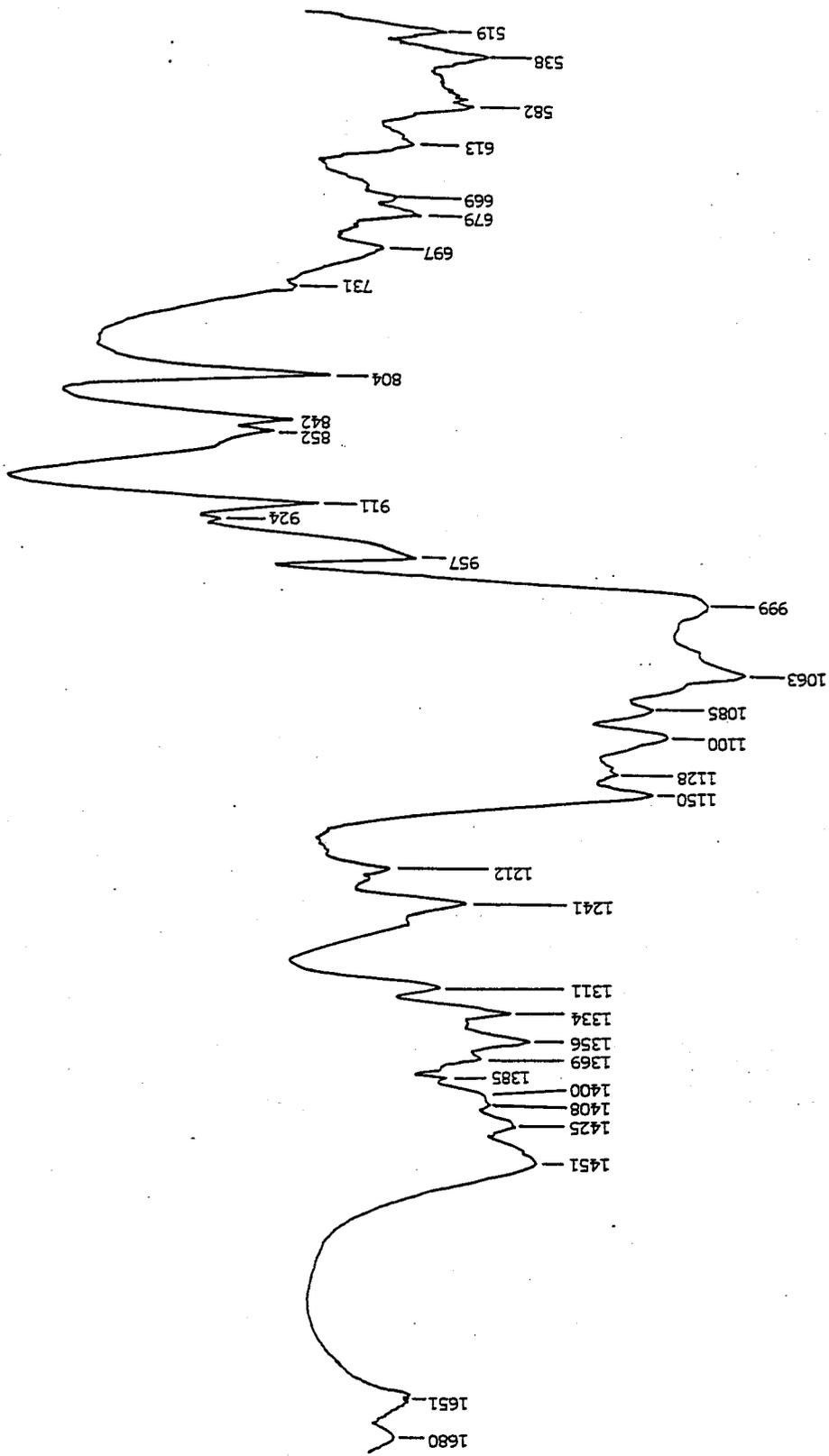
Spectre n° 12

Trehalose dihydrate

Trehalose dihydrate

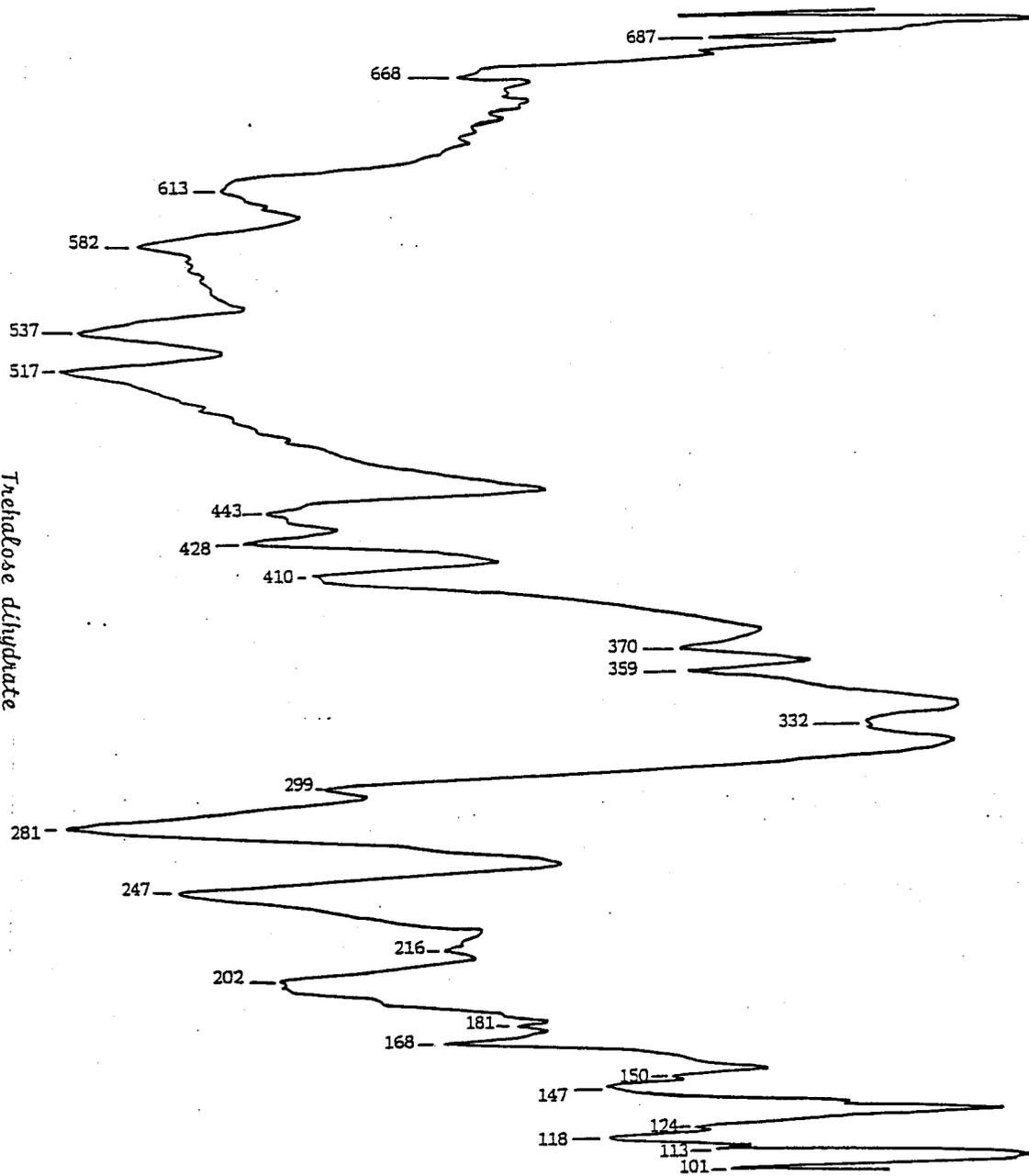


Spectre n° 13

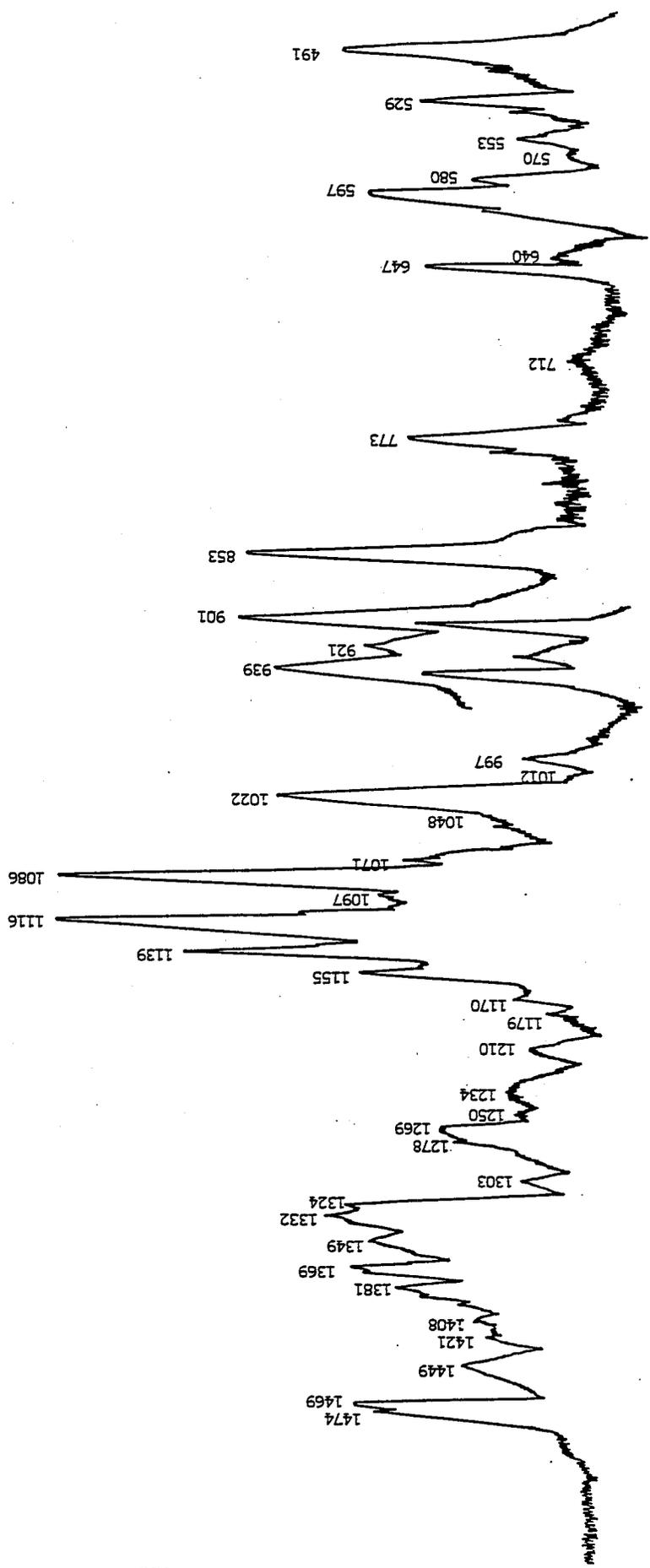


Trehalose dihydrate

*Trehalose dihydrate*



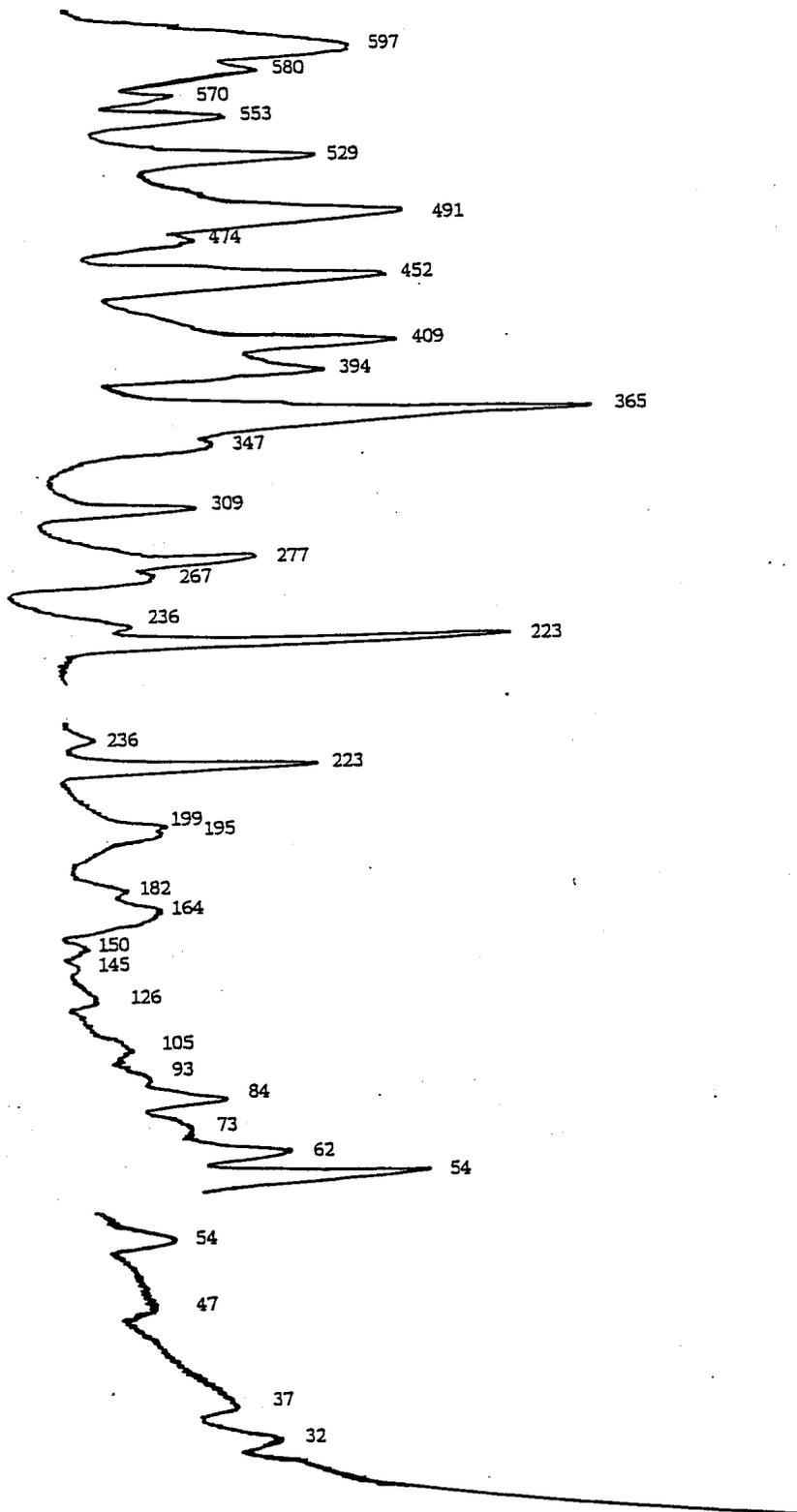
! Spectre n° 15



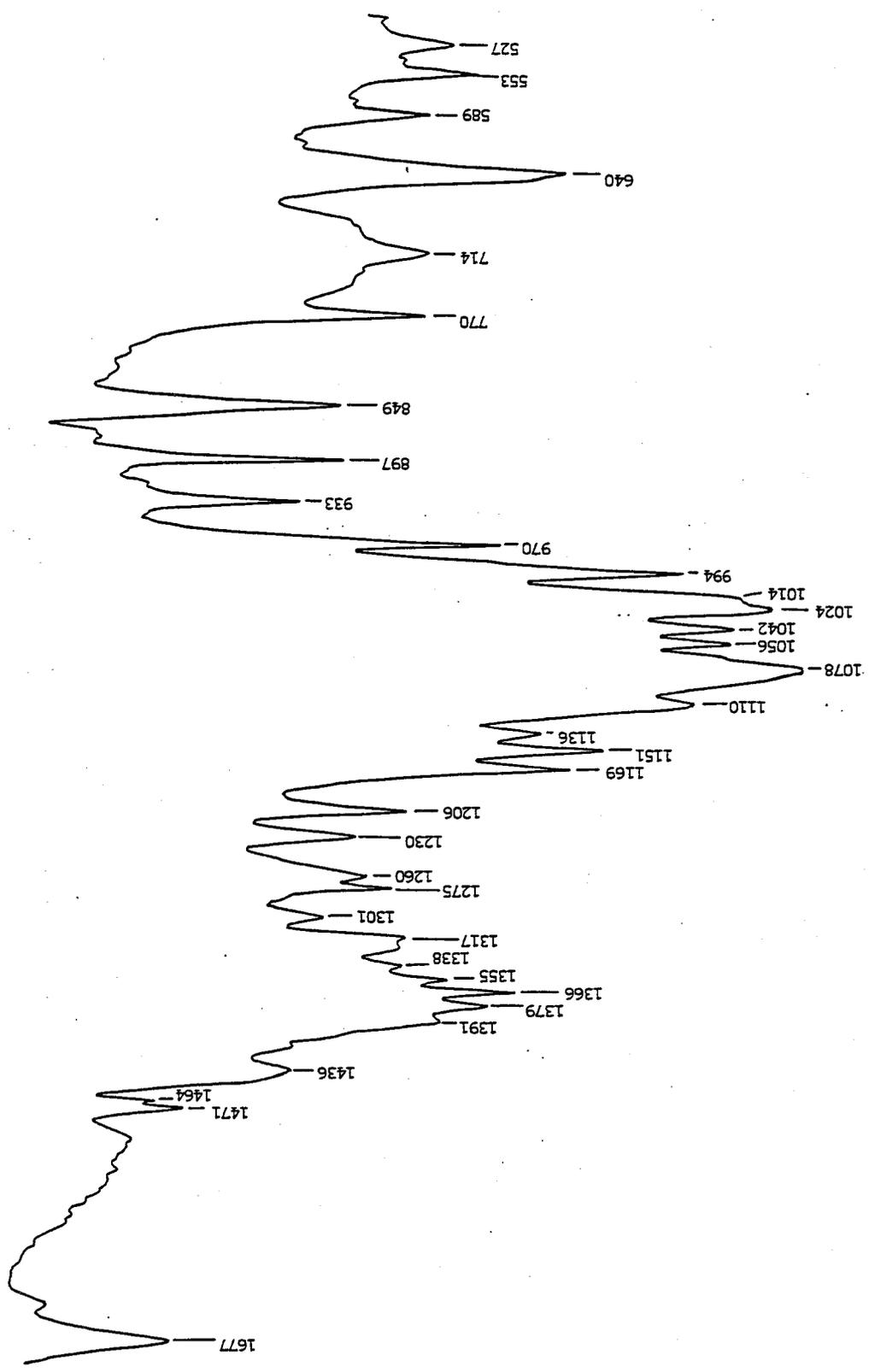
Sophorose monohydrate

Spectre n° 16

Sophorose monohydrate



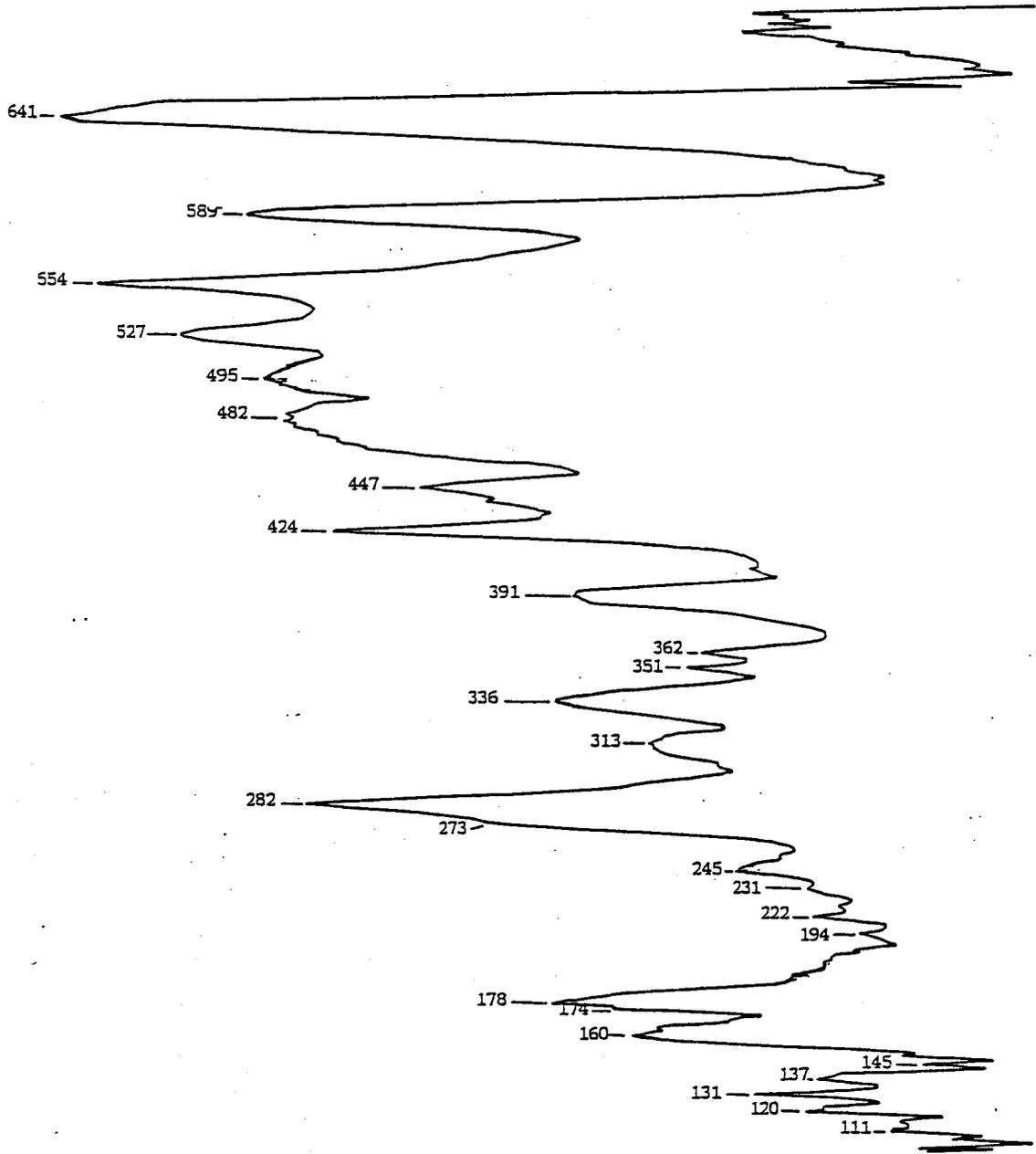
Speetre n° 17



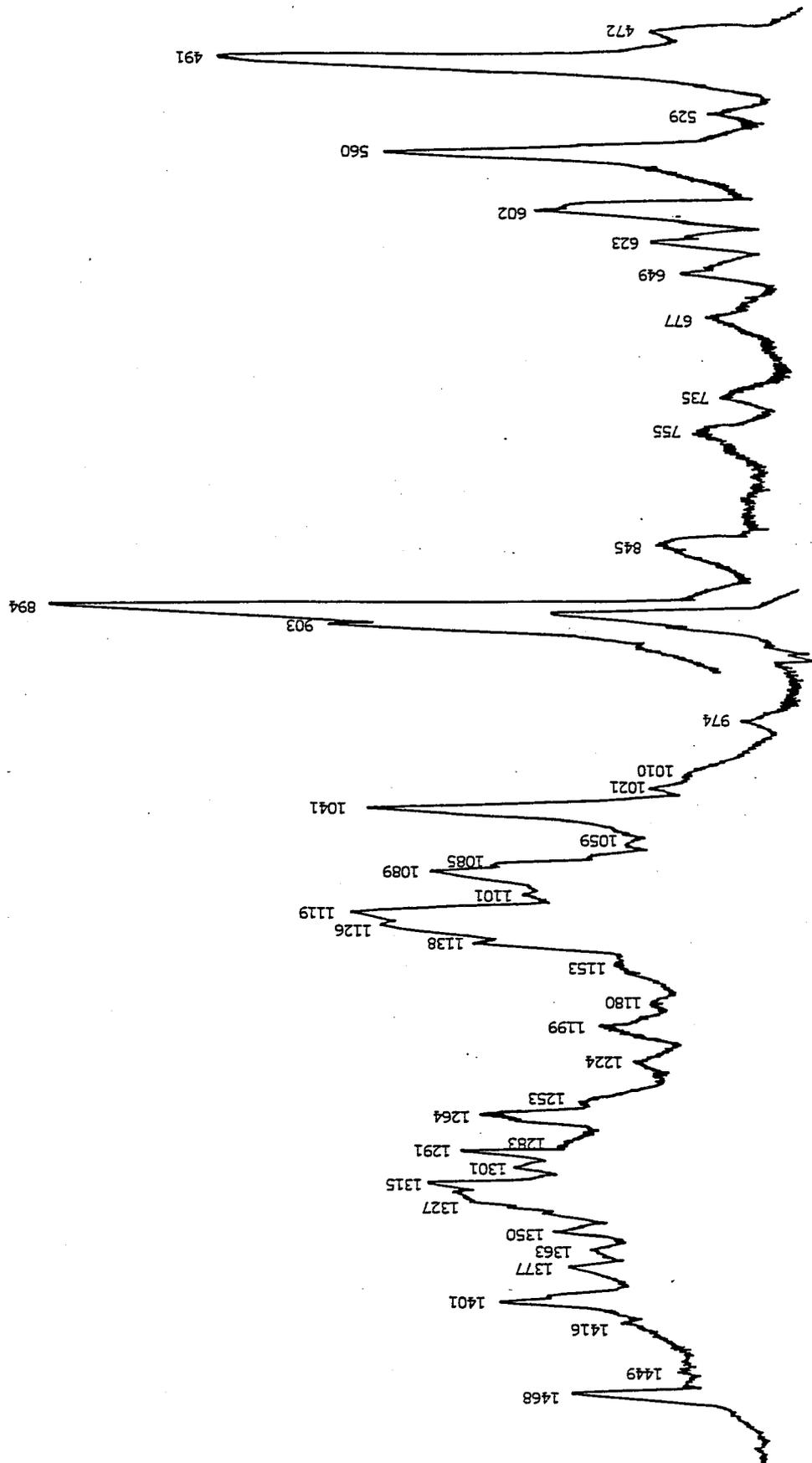
Sophorose monohydrate

' Spectre n° 18

Sophorose monohydrate

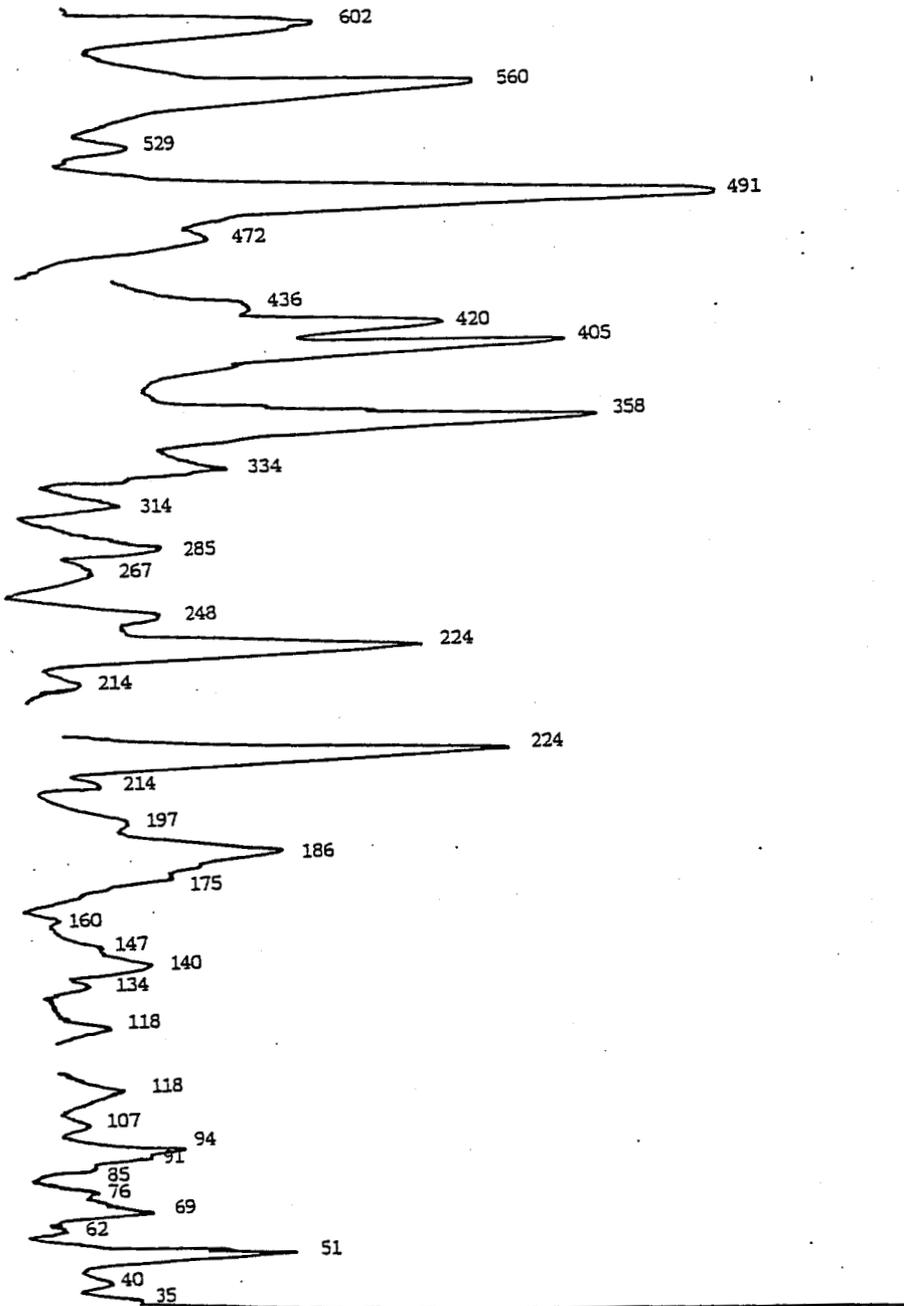


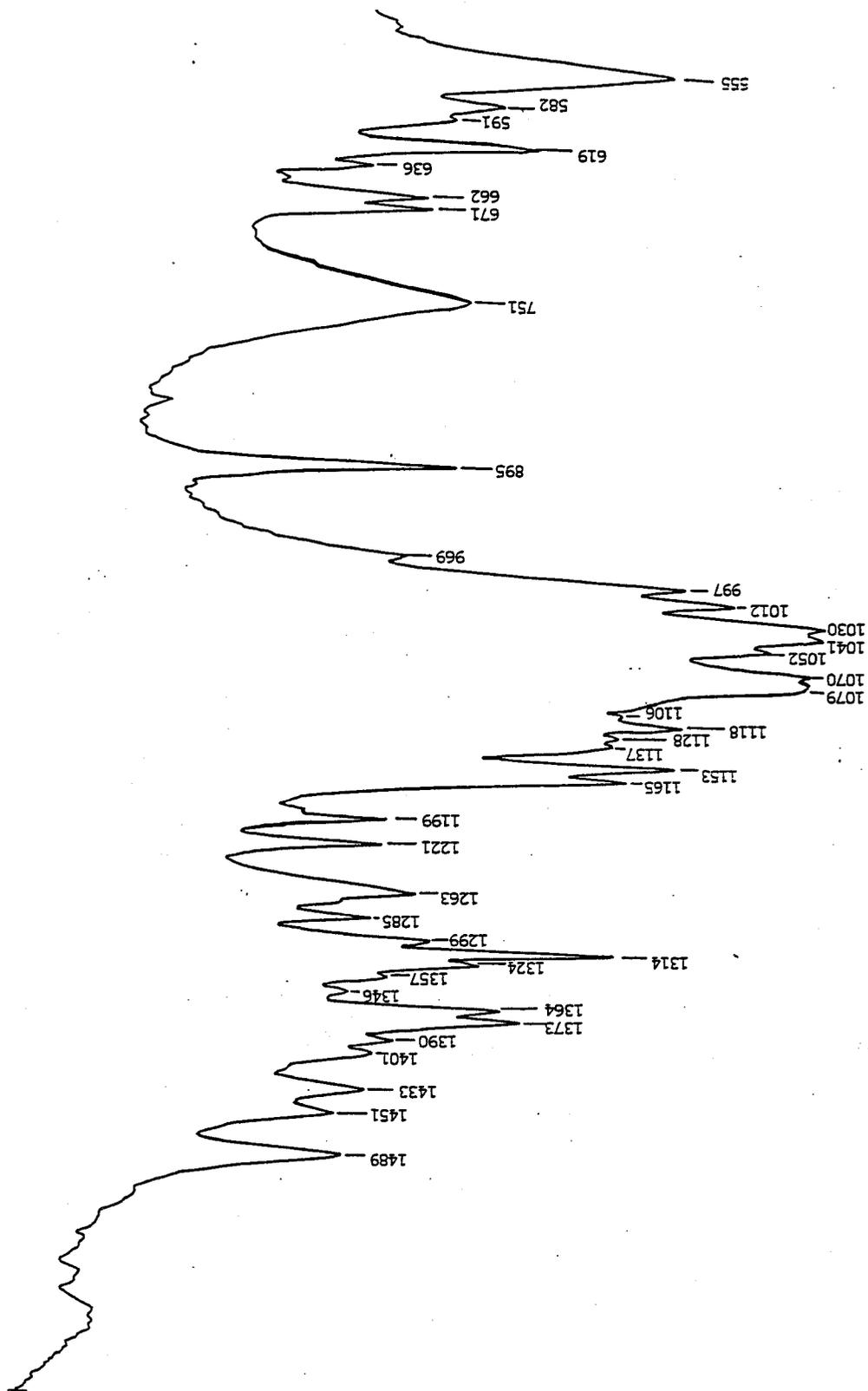
Spectre n° 19



Laminaribiose

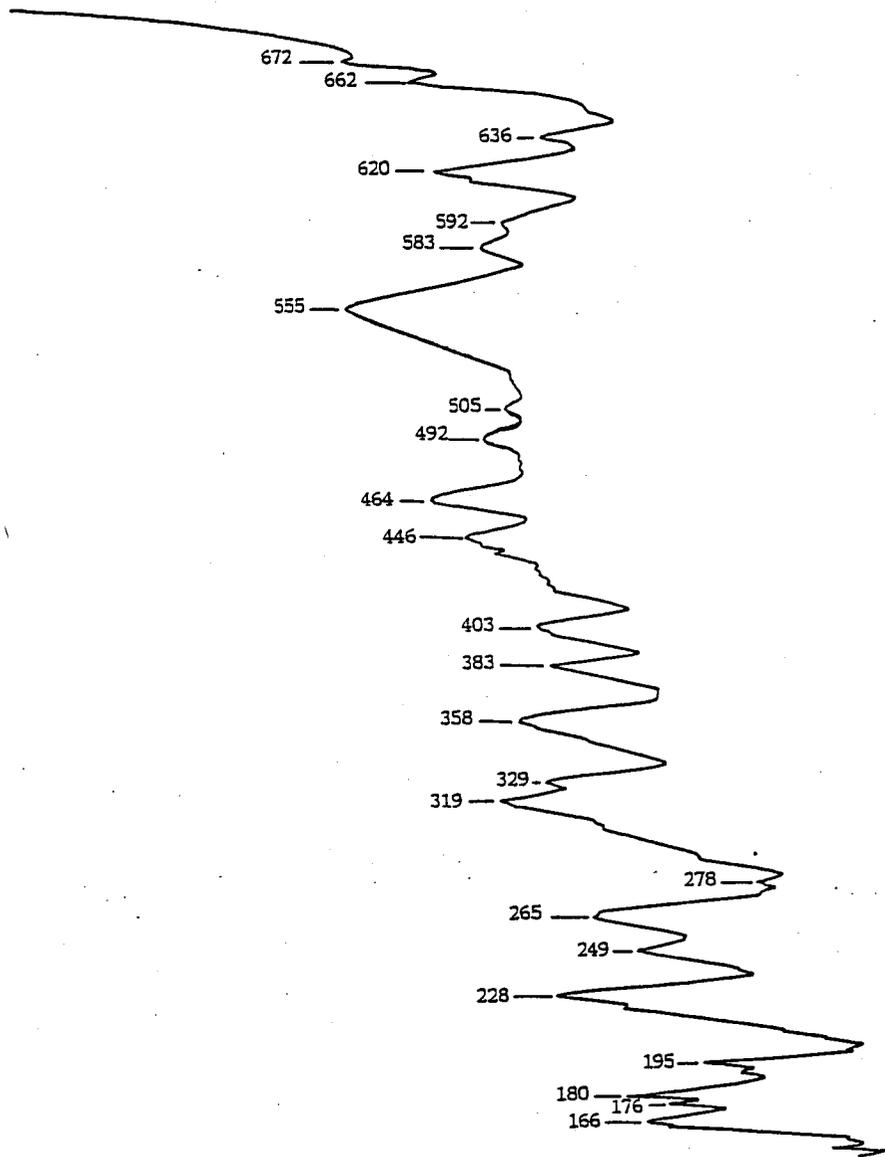
Laminarabiose

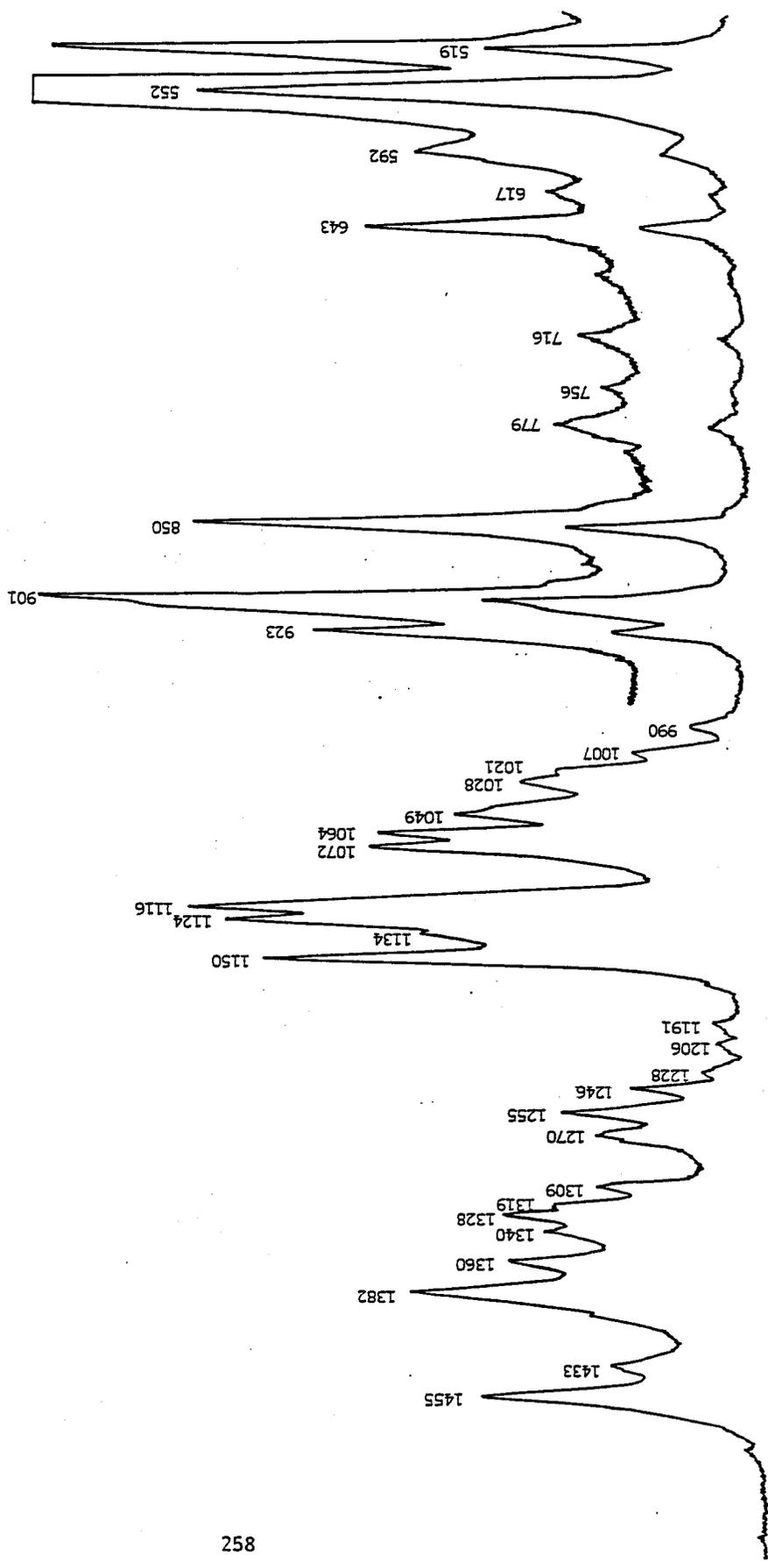




Laminaribiose

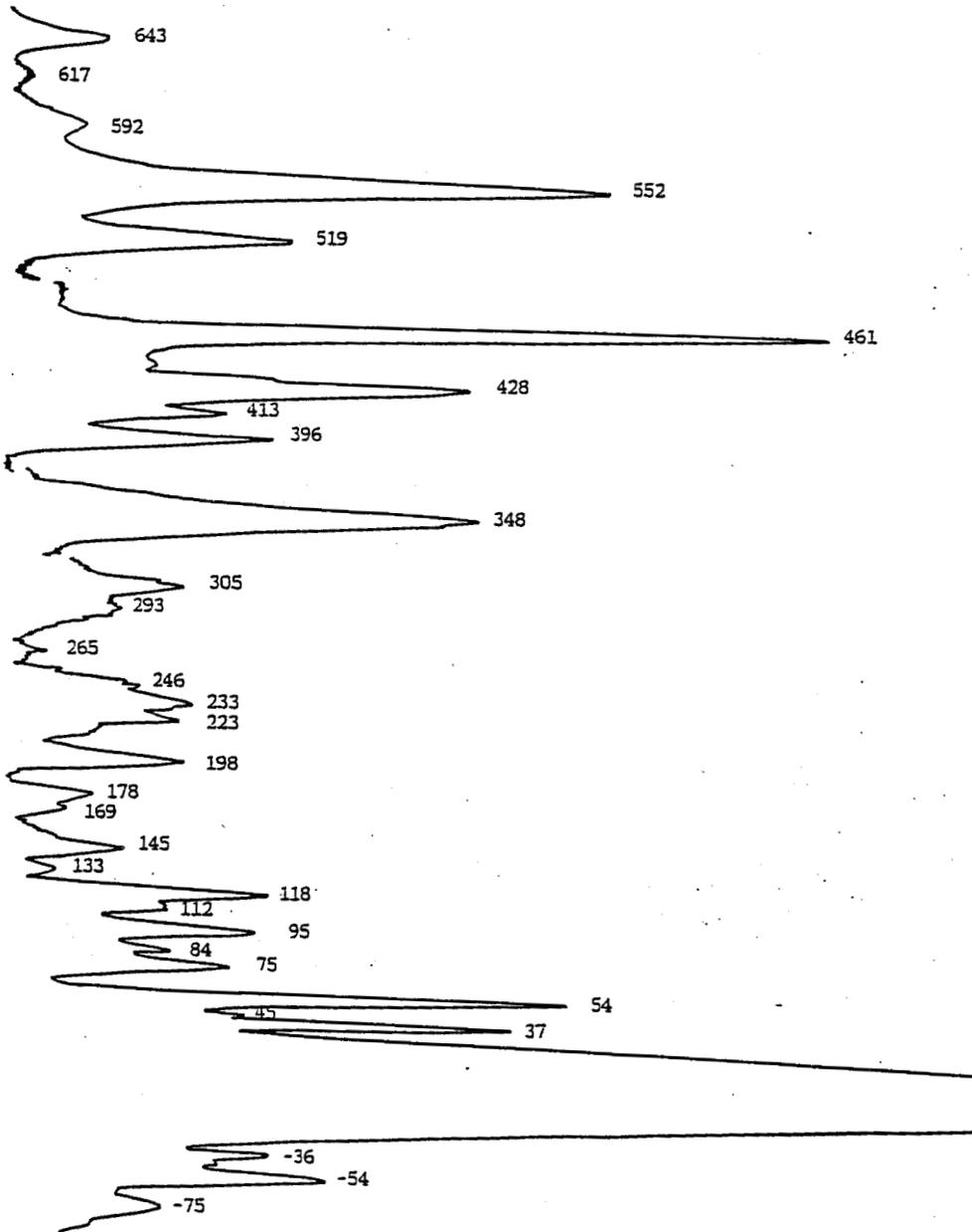
Laminarabiose



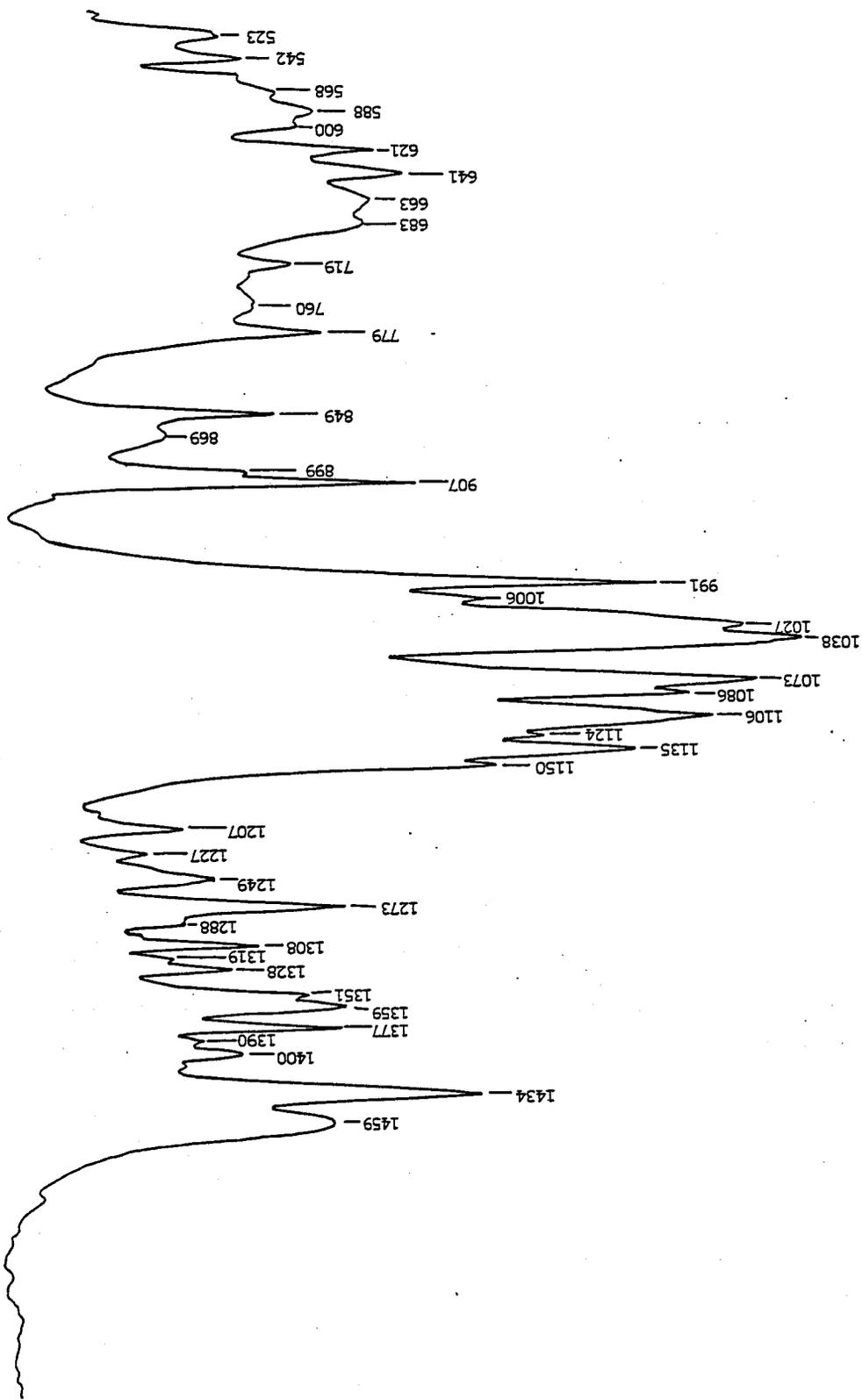


Maltose monohydrate

*Maltose monohydrate*

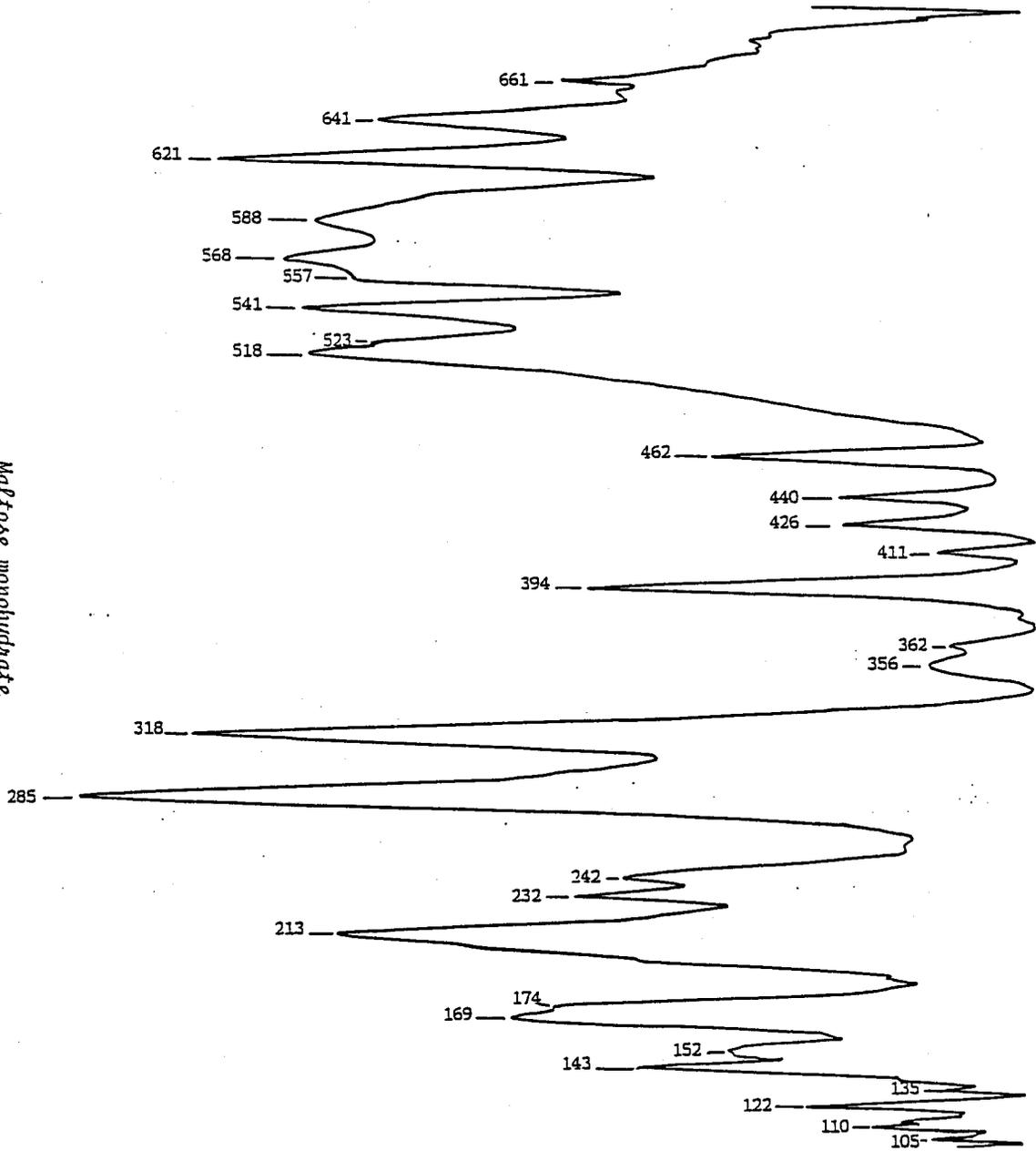


Speclre n° 25

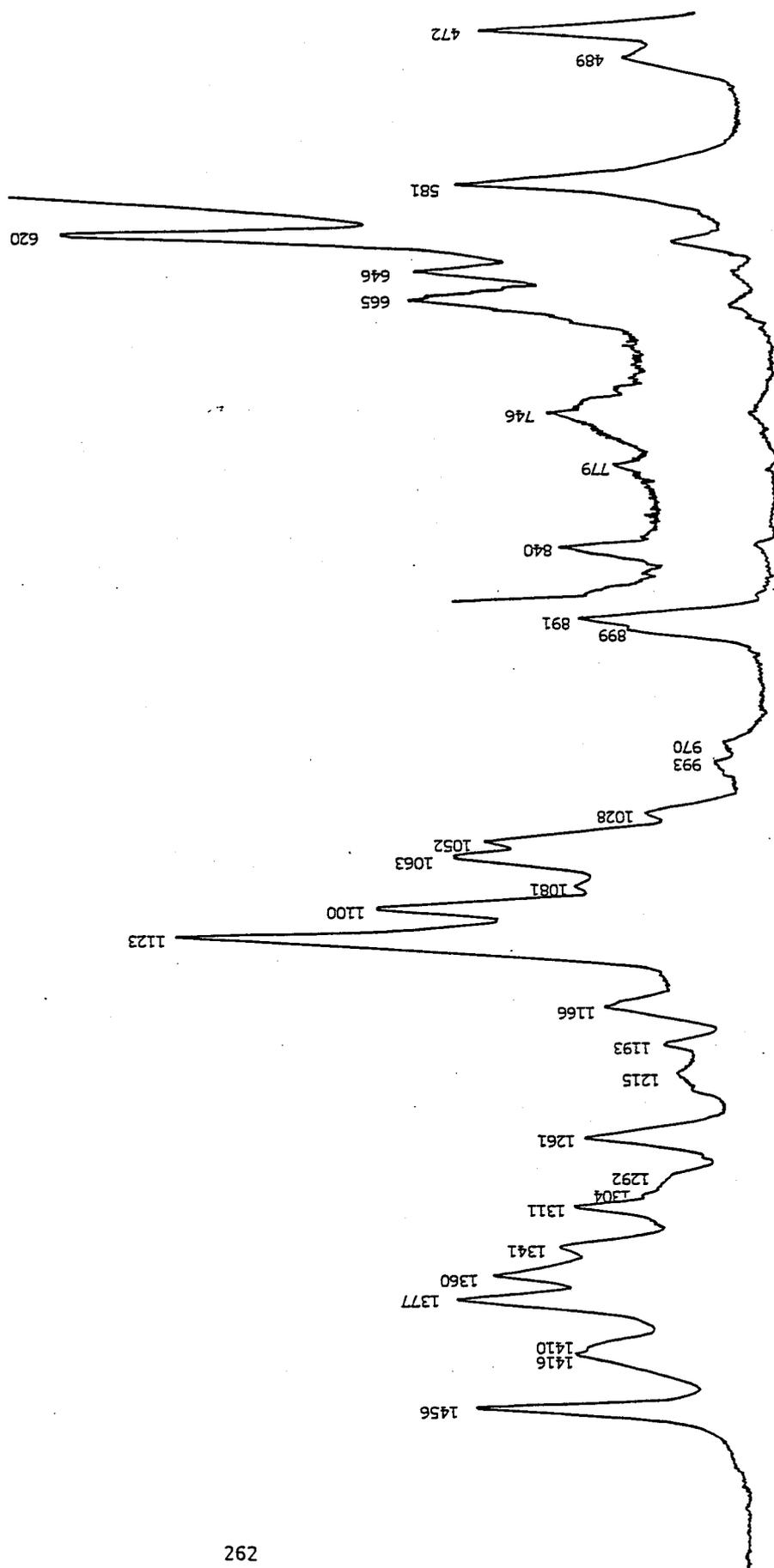


Maltose monohydrate

*Maltose monohydrate*

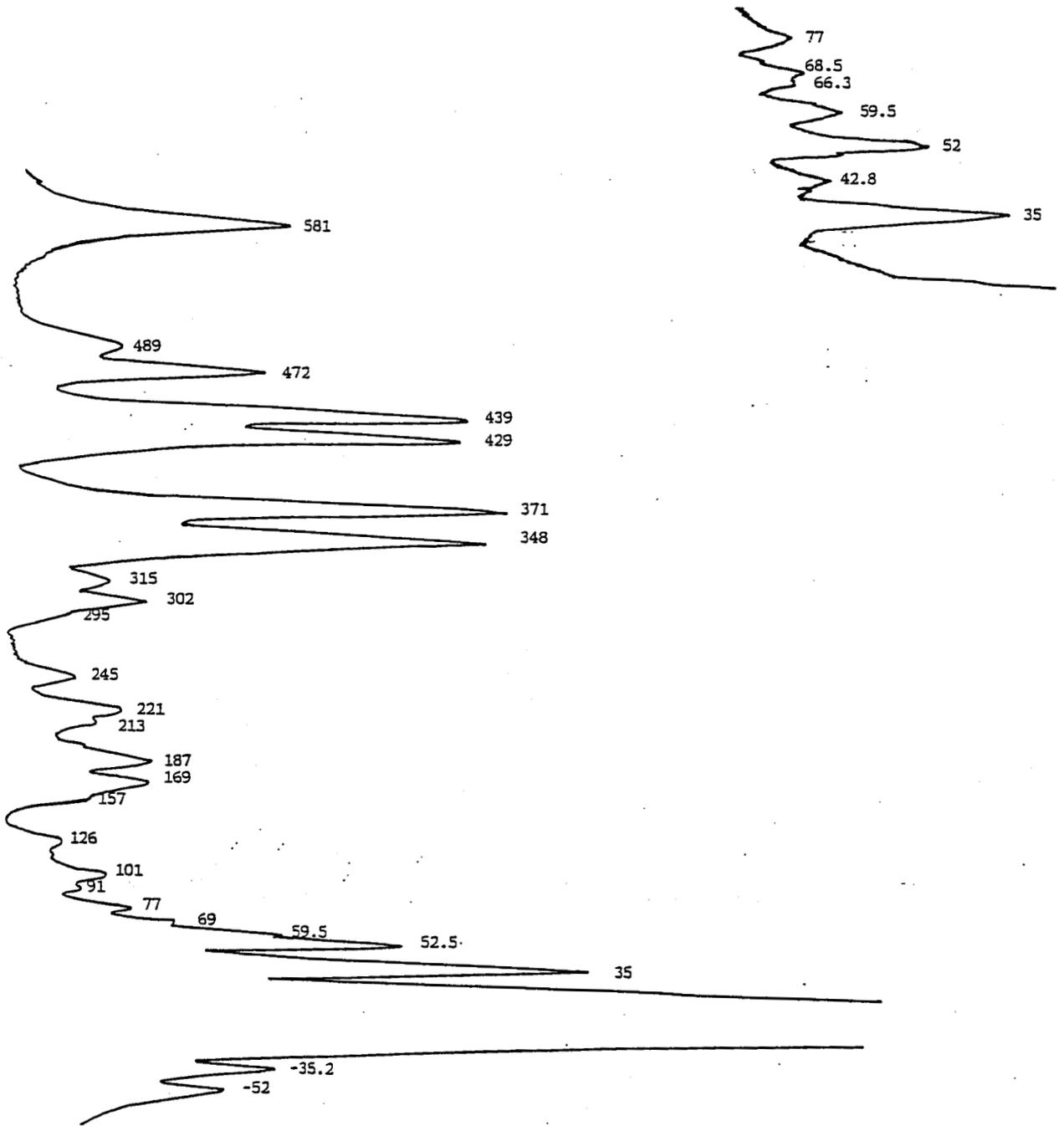


Speetre n° 27

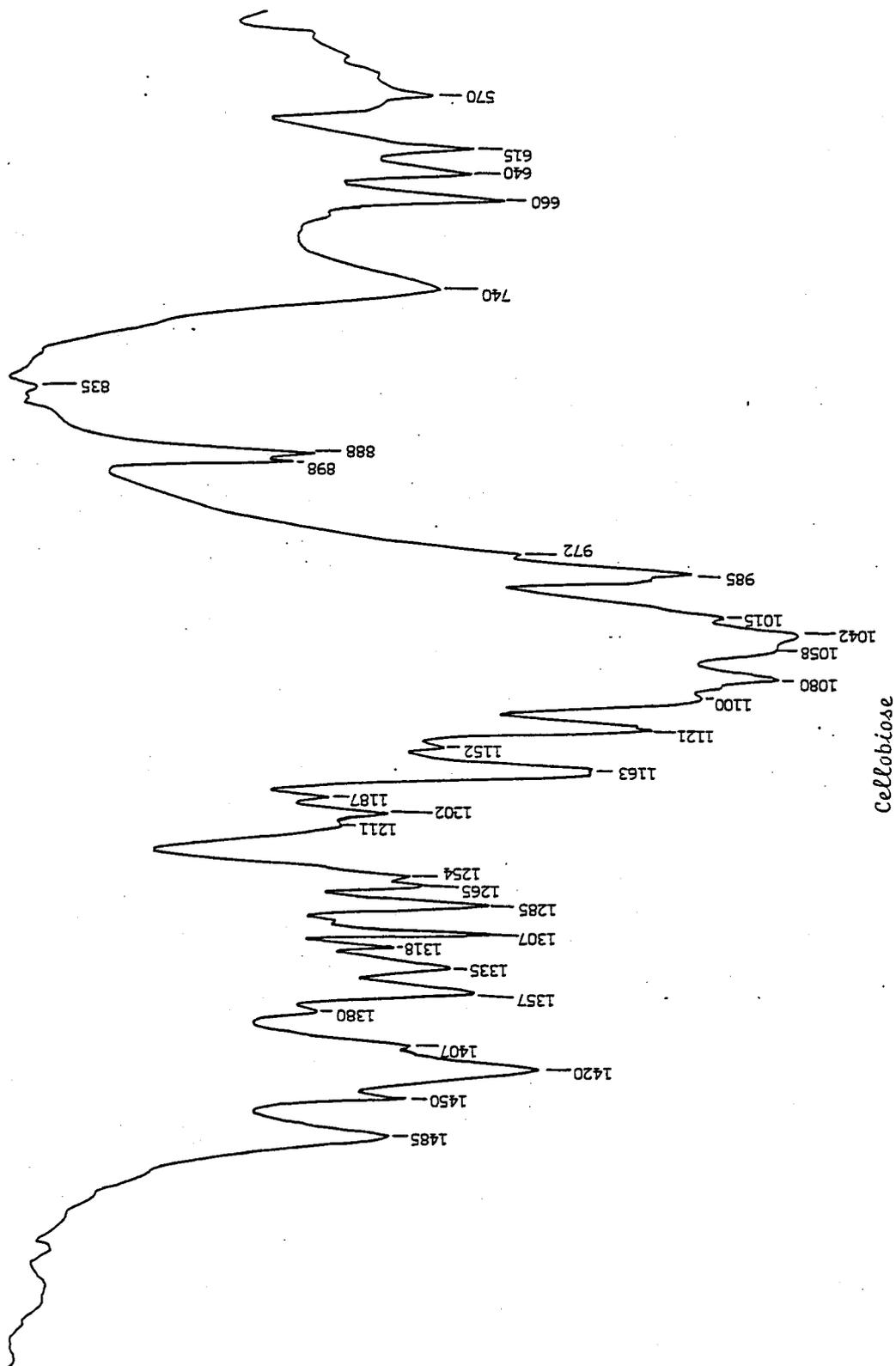


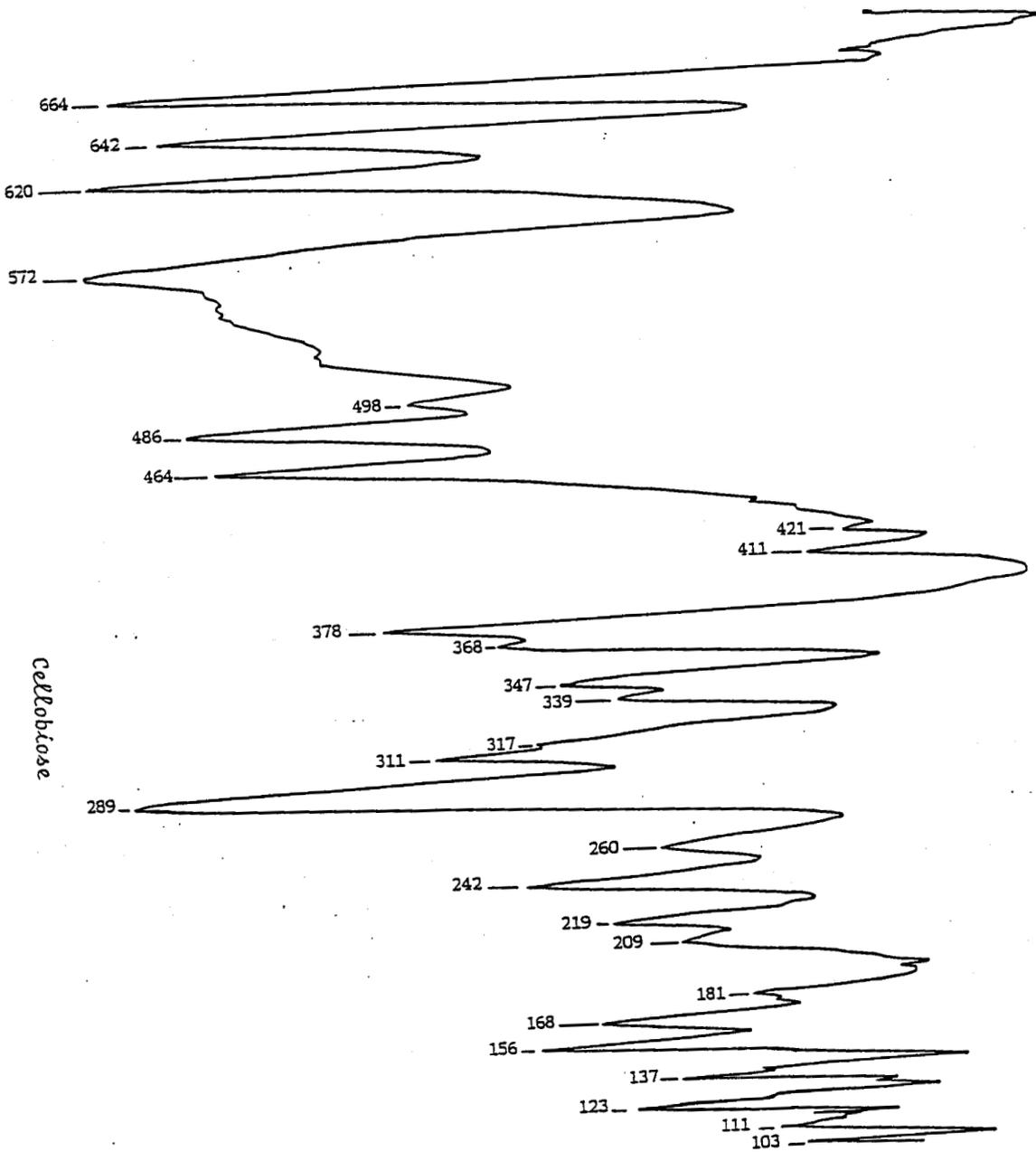
Cellulose

Cellulose

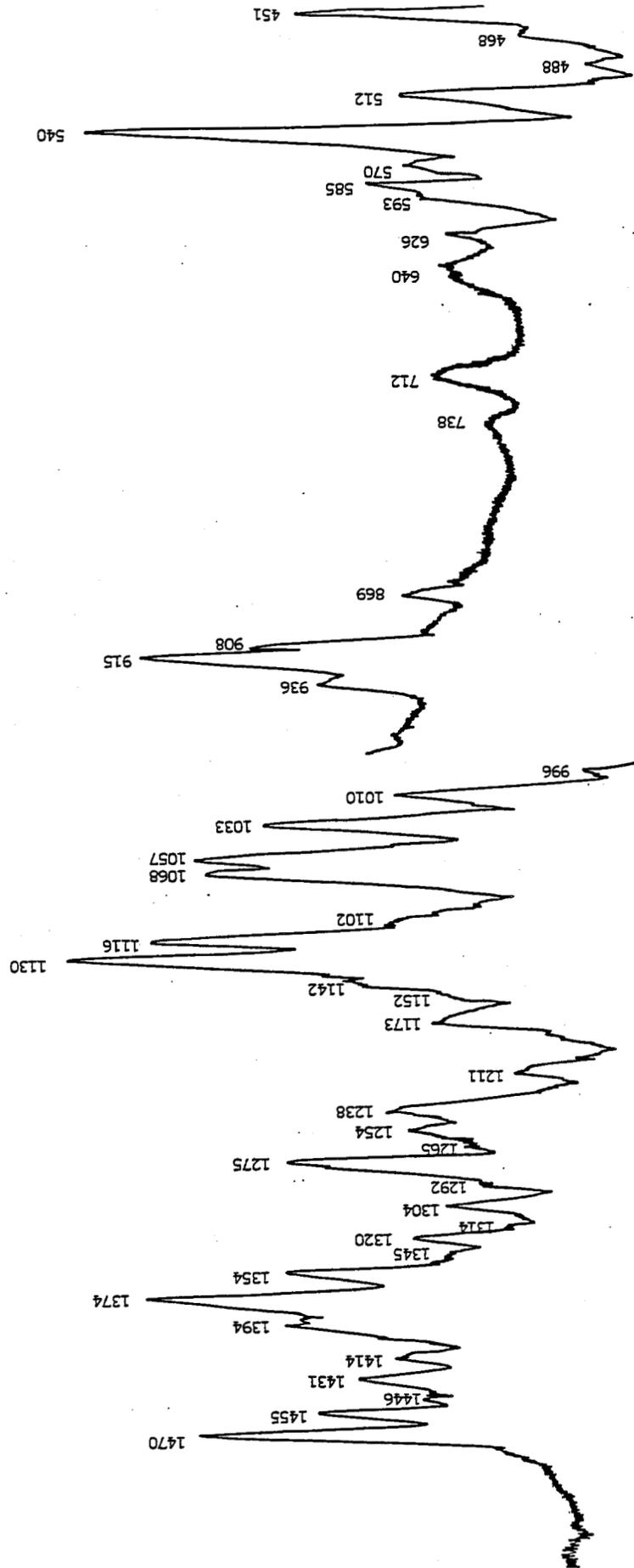


Spectre n° 29



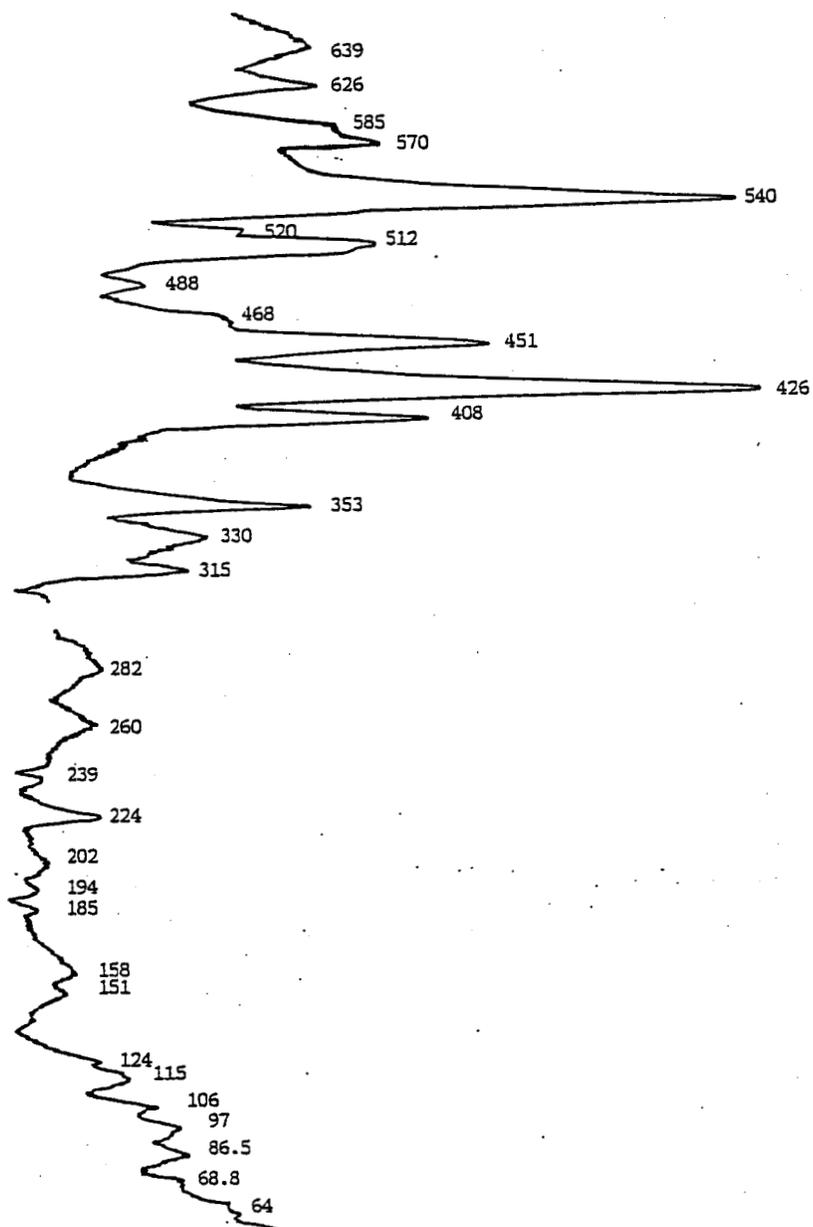


Spectre n° 31

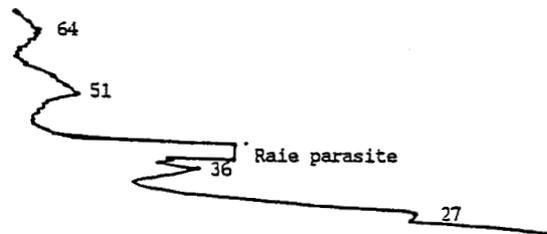


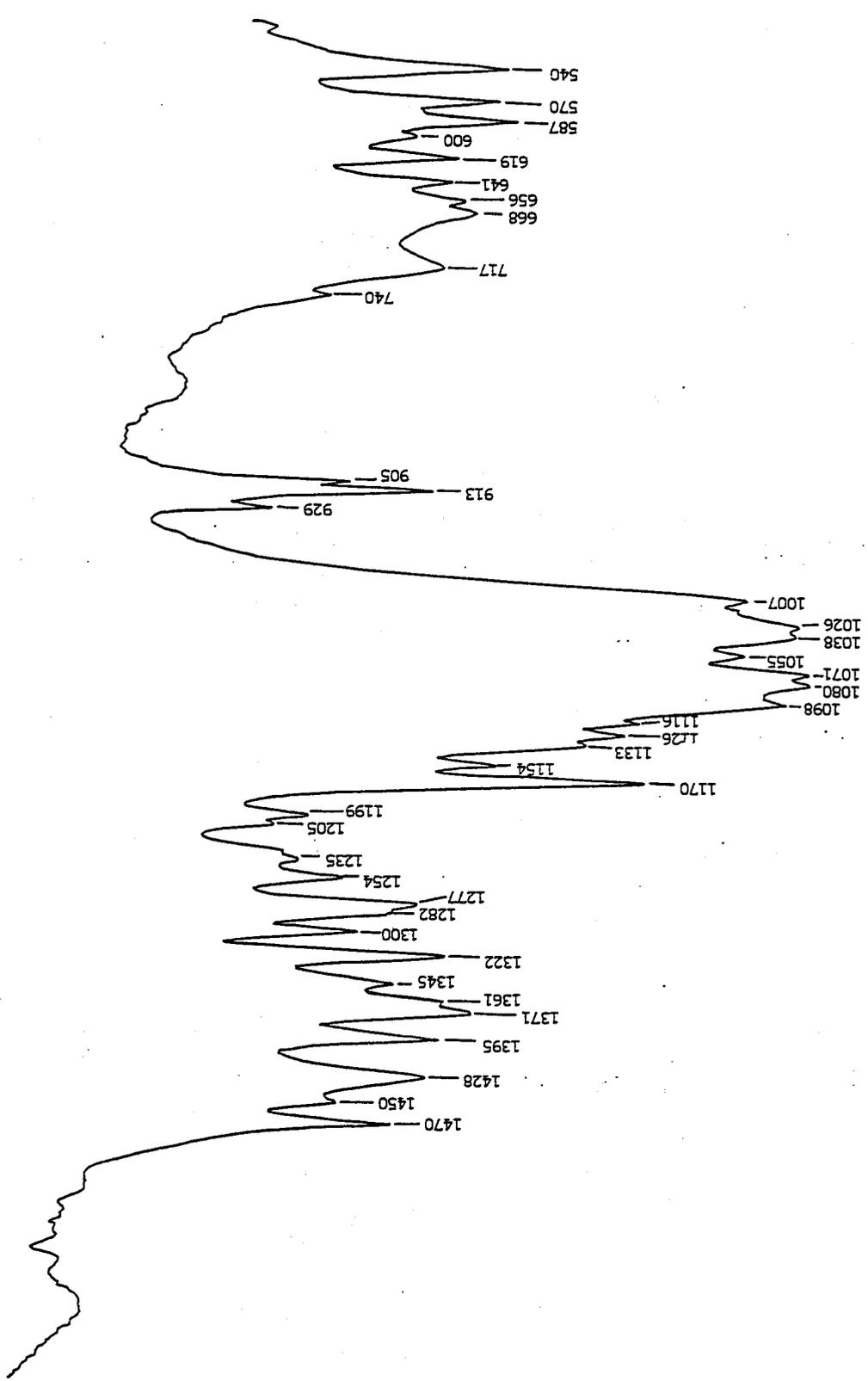
Gentobiose

Gentiobiose



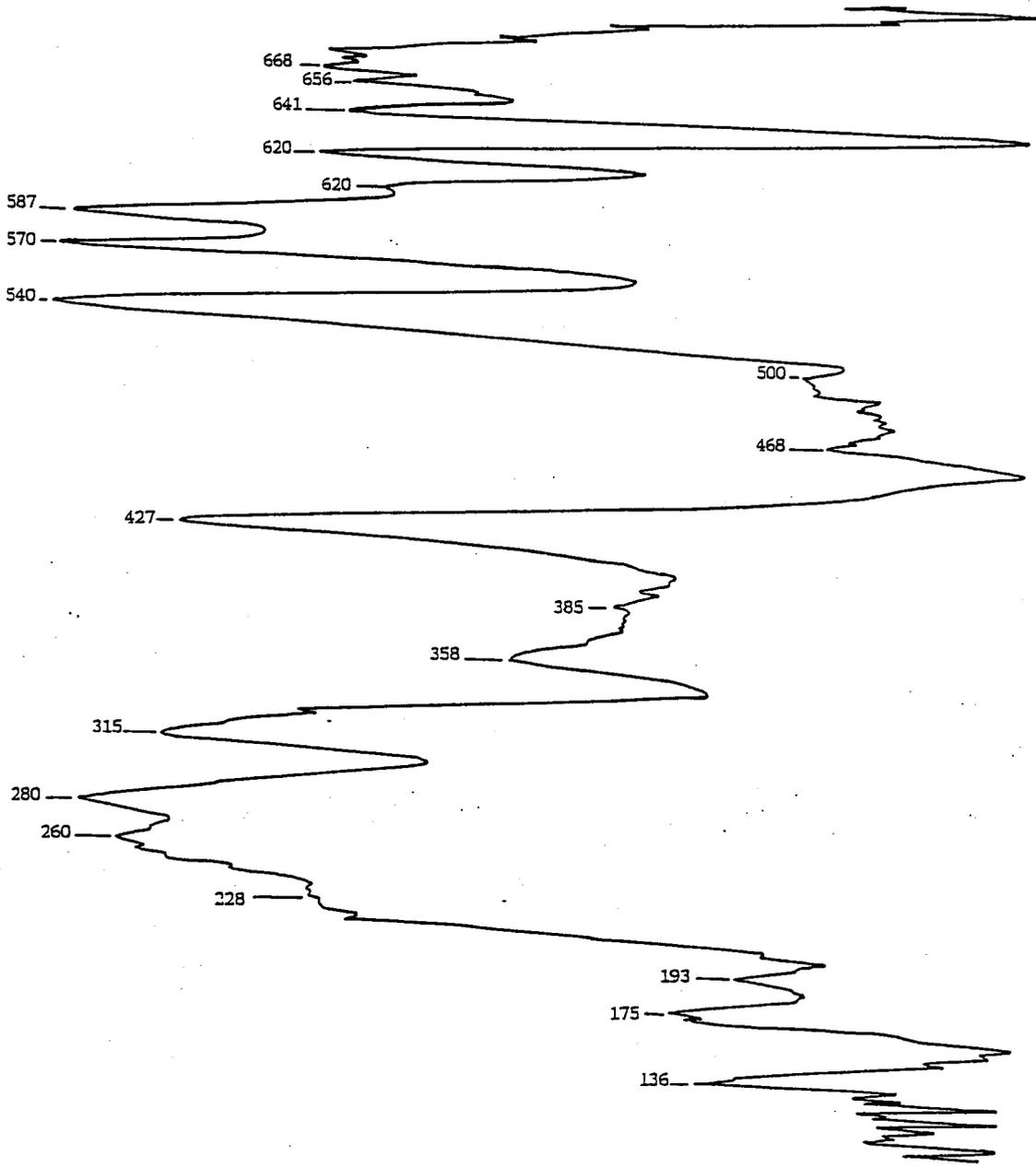
Spectre n° 33



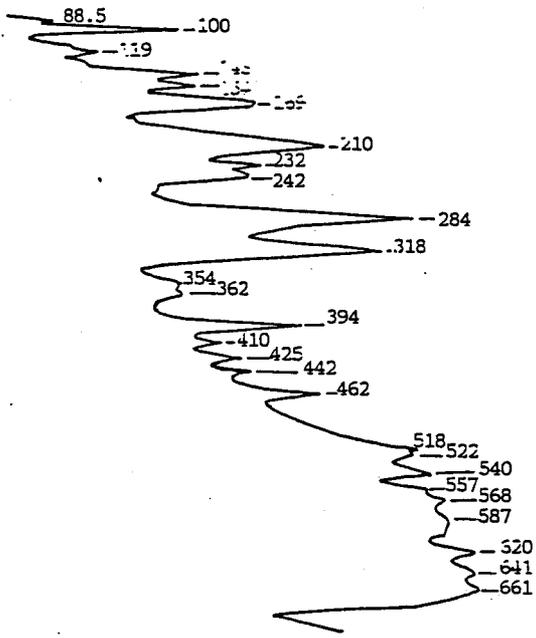


Gentobiose

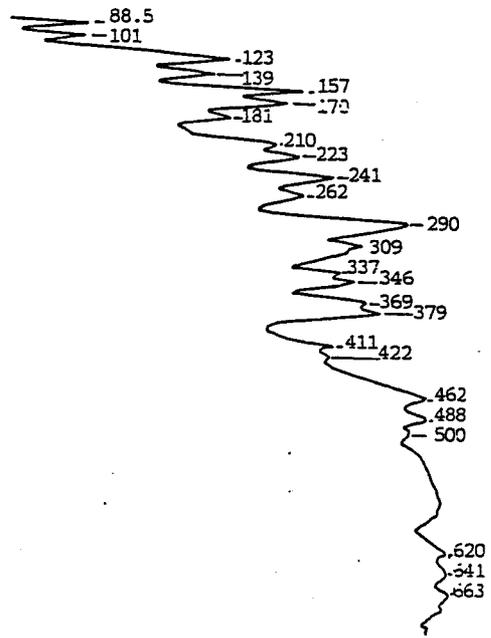
Gentiobiose



Speclre n° 35

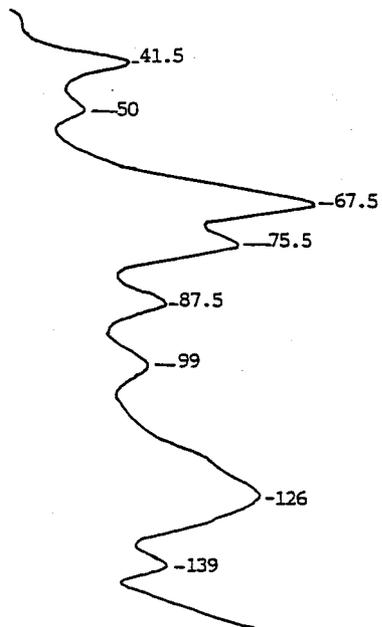
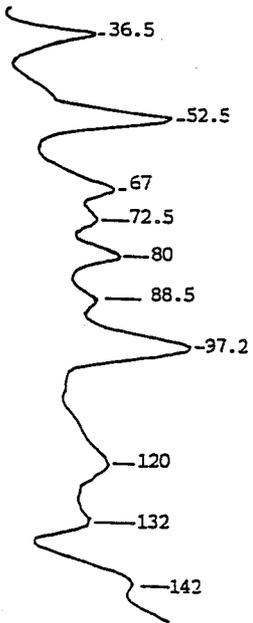


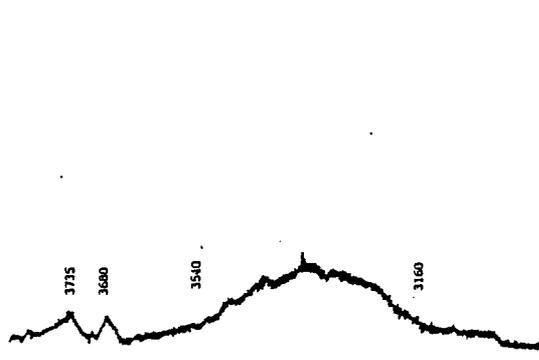
Maltose monohydrate



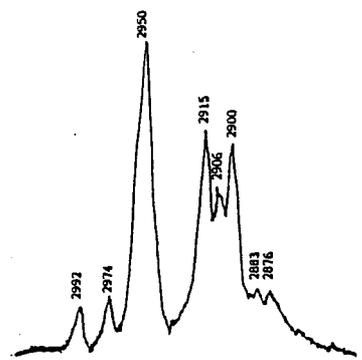
Spectre n° 36

Cellulose

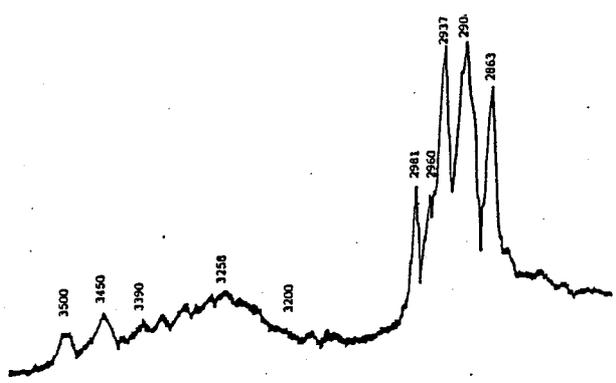
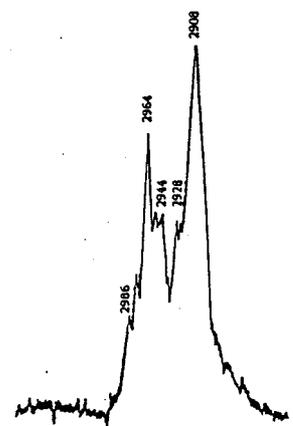




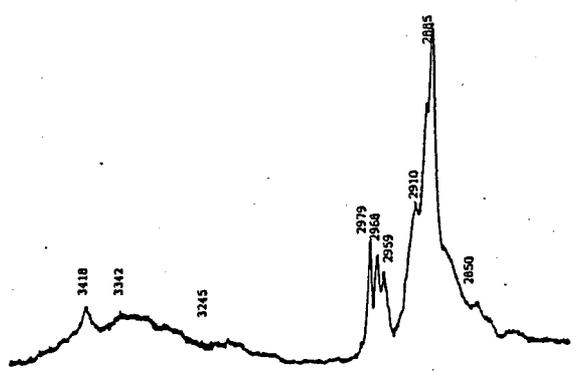
Trehalose dihydrate



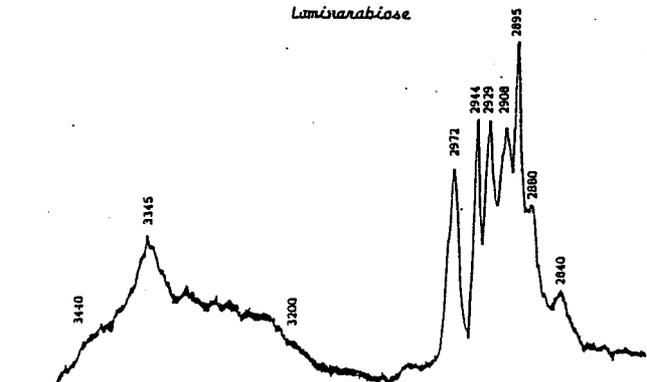
Sophorose monohydrate



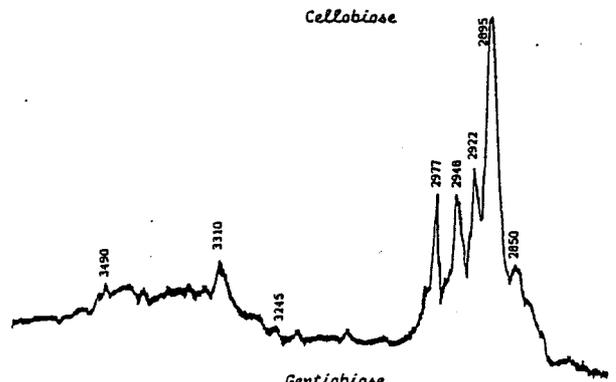
Laminaribiose



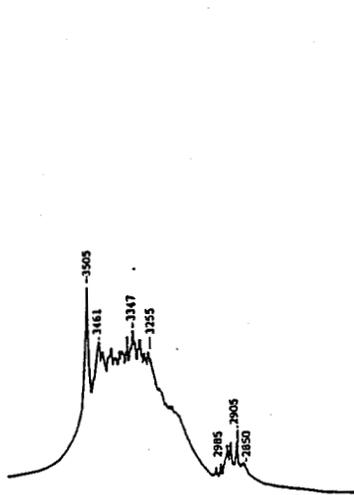
Cellobiose



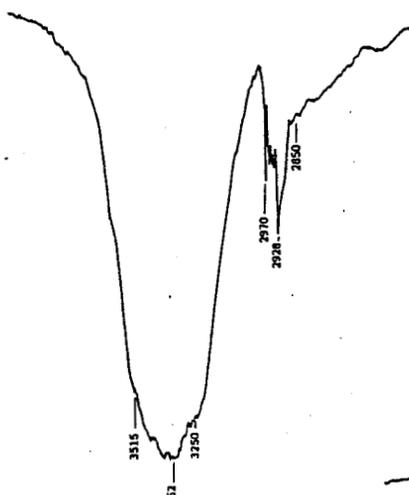
Maltose monohydrate



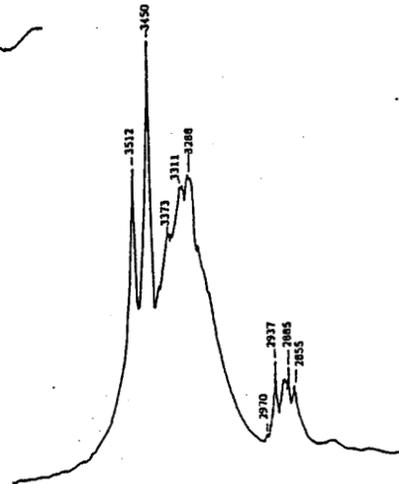
Gentiobiose



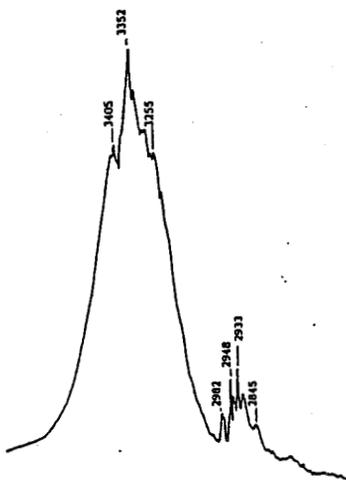
Trehalose dihydrate



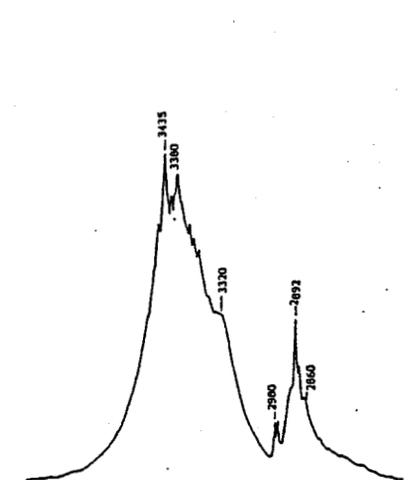
Sophorose monohydrate



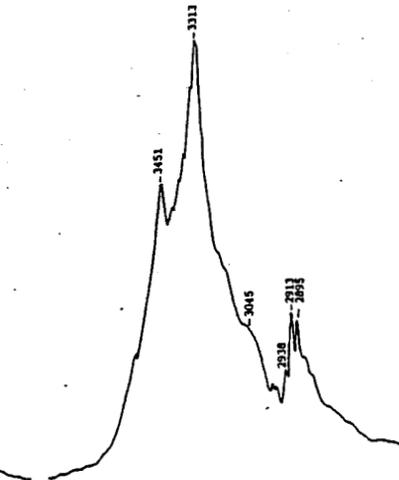
Laminaribiose



Maltose monohydrate



Cellobiose



Gentiobiose

Annexe 3.

Définition des mailles utilisées dans le calcul en coordonnées à partir de l'origine.

Cellule N° 1	(0, 0, 0)	Cellule N° 2	(0,-1, 0)
Cellule N° 3	(1,-1, 0)	Cellule N° 4	(1, 0, 0)
Cellule N° 5	(1, 1, 0)	Cellule N° 6	(0, 1, 0)
Cellule N° 7	(-1, 1, 0)	Cellule N° 8	(-1, 0, 0)
Cellule N° 9	(-1,-1, 0)	Cellule N° 10	(0, 0, 1)
Cellule N° 11	(0,-1, 1)	Cellule N° 12	(1,-1, 1)
Cellule N° 13	(1, 0, 1)	Cellule N° 14	(1, 1, 1)
Cellule N° 15	(0, 1, 1)	Cellule N° 16	(-1, 1, 1)
Cellule N° 17	(-1, 0, 1)	Cellule N° 18	(-1,-1, 1)
Cellule N° 19	(0, 0,-1)	Cellule N° 20	(0,-1,-1)
Cellule N° 21	(1,-1,-1)	Cellule N° 22	(1, 0,-1)
Cellule N° 23	(1, 1,-1)	Cellule N° 24	(0, 1,-1)
Cellule N° 25	(-1, 1,-1)	Cellule N° 26	(-1, 0,-1)
Cellule N° 27	(-1,-1,-1)	Cellule N° 28	(2, 2, 2)
Cellule N° 29	(2, 2, 1)	Cellule N° 30	(2, 2, 0)
Cellule N° 31	(2, 2,-1)	Cellule N° 32	(2, 2,-2)
Cellule N° 33	(2, 1, 2)	Cellule N° 34	(2, 1, 1)
Cellule N° 35	(2, 1, 0)	Cellule N° 36	(2, 1,-1)
Cellule N° 37	(2, 1,-2)	Cellule N° 38	(2, 0, 2)
Cellule N° 39	(2, 0, 1)	Cellule N° 40	(2, 0, 0)
Cellule N° 41	(2, 0,-1)	Cellule N° 42	(2, 0,-2)
Cellule N° 43	(2,-1, 2)	Cellule N° 44	(2,-1, 1)
Cellule N° 45	(2,-1, 0)	Cellule N° 46	(2,-1,-1)
Cellule N° 47	(2,-1,-2)	Cellule N° 48	(2,-2, 2)
Cellule N° 49	(2,-2, 1)	Cellule N° 50	(2,-2, 0)
Cellule N° 51	(2,-2,-1)	Cellule N° 52	(2,-2,-2)
Cellule N° 53	(1, 2, 2)	Cellule N° 54	(1, 2, 1)
Cellule N° 55	(1, 2, 0)	Cellule N° 56	(1, 2,-1)
Cellule N° 57	(1, 2,-2)	Cellule N° 58	(1, 1, 2)
Cellule N° 59	(1, 1,-2)	Cellule N° 60	(1, 0, 2)
Cellule N° 61	(1, 0,-2)	Cellule N° 62	(1,-1, 2)
Cellule N° 63	(1,-1,-2)	Cellule N° 64	(1,-2, 2)
Cellule N° 65	(1,-2,-2)	Cellule N° 66	(0, 2, 2)
Cellule N° 67	(1,-2, 1)	Cellule N° 68	(1,-2, 0)
Cellule N° 69	(0, 2, 1)	Cellule N° 70	(0, 2, 0)
Cellule N° 71	(0, 2,-1)	Cellule N° 72	(0, 2,-2)
Cellule N° 73	(0, 1, 2)	Cellule N° 74	(0, 1,-2)
Cellule N° 75	(0, 0, 2)	Cellule N° 76	(0, 0,-2)
Cellule N° 77	(0,-1, 2)	Cellule N° 78	(0,-1,-2)
Cellule N° 79	(0,-2, 2)	Cellule N° 80	(0,-2,-2)
Cellule N° 81	(0,-2,-1)	Cellule N° 82	(0,-2, 0)
Cellule N° 83	(0,-2, 1)	Cellule N° 84	(1,-2,-1)
Cellule N° 85	(-1, 2, 2)	Cellule N° 86	(-1, 2, 1)
Cellule N° 87	(-1, 2, 0)	Cellule N° 88	(-1, 2,-1)
Cellule N° 89	(-1, 2,-2)	Cellule N° 90	(-1, 1, 2)
Cellule N° 91	(-1, 1,-2)	Cellule N° 92	(-1, 0, 2)
Cellule N° 93	(-1, 0,-2)	Cellule N° 94	(-1,-1, 2)
Cellule N° 95	(-1,-1,-2)	Cellule N° 96	(-1,-2, 2)
Cellule N° 97	(-1,-2, 1)	Cellule N° 98	(-1,-2, 0)
Cellule N° 99	(-1,-2,-1)	Cellule N° 100	(-1,-2,-2)
Cellule N° 101	(-2, 2, 2)	Cellule N° 102	(-2, 2, 1)
Cellule N° 103	(-2, 2, 0)	Cellule N° 104	(-2, 2,-1)
Cellule N° 105	(-2, 2,-2)	Cellule N° 106	(-2, 1, 2)
Cellule N° 107	(-2, 1, 1)	Cellule N° 108	(-2, 1, 0)
Cellule N° 109	(-2, 1,-1)	Cellule N° 110	(-2, 1,-2)
Cellule N° 111	(-2, 0, 2)	Cellule N° 112	(-2, 0, 1)

Cellule N° 113 (-2, 0, 0)  
 Cellule N° 115 (-2, 0,-2)  
 Cellule N° 117 (-2,-1,1)  
 Cellule N° 119 (-2,-1,-1)  
 Cellule N° 121 (-2,-2,2)  
 Cellule N° 123 (-2,-2,0)  
 Cellule N° 125 (-2,-2,-2)  
 Cellule N° 127 (3, 3, 2)  
 Cellule N° 129 (3, 3, 0)  
 Cellule N° 131 (3, 3,-2)  
 Cellule N° 133 (3, 2, 3)  
 Cellule N° 135 (3, 2, 1)  
 Cellule N° 137 (3, 2,-1)  
 Cellule N° 139 (3, 2,-3)  
 Cellule N° 141 (3, 1, 2)  
 Cellule N° 143 (3, 1, 0)  
 Cellule N° 145 (3, 1,-2)  
 Cellule N° 147 (3, 0, 3)  
 Cellule N° 149 (3, 0, 1)  
 Cellule N° 151 (3, 0,-1)  
 Cellule N° 153 (3, 0,-3)  
 Cellule N° 155 (3,-1, 2)  
 Cellule N° 157 (3,-1, 0)  
 Cellule N° 159 (3,-1,-2)  
 Cellule N° 161 (3,-2, 3)  
 Cellule N° 163 (3,-2, 1)  
 Cellule N° 165 (3,-2,-1)  
 Cellule N° 167 (3,-2,-3)  
 Cellule N° 169 (3,-3, 2)  
 Cellule N° 171 (3,-3, 0)  
 Cellule N° 173 (3,-3,-2)  
 Cellule N° 175 (2, 3, 3)  
 Cellule N° 177 (2, 3, 1)  
 Cellule N° 179 (2, 3,-1)  
 Cellule N° 181 (2, 3,-3)  
 Cellule N° 183 (2, 2,-3)  
 Cellule N° 185 (2, 1,-3)  
 Cellule N° 187 (2, 0,-3)  
 Cellule N° 189 (2,-1,-3)  
 Cellule N° 191 (2,-2,-3)  
 Cellule N° 193 (2,-3, 2)  
 Cellule N° 195 (2,-3, 0)  
 Cellule N° 197 (2,-3,-2)  
 Cellule N° 199 (1, 3, 3)  
 Cellule N° 201 (1, 3, 1)  
 Cellule N° 203 (1, 3,-1)  
 Cellule N° 205 (1, 3,-3)  
 Cellule N° 207 (1, 2,-3)  
 Cellule N° 209 (1, 1,-3)  
 Cellule N° 211 (1, 0,-3)  
 Cellule N° 213 (1,-1,-3)  
 Cellule N° 215 (1,-2,-3)  
 Cellule N° 217 (1,-3, 2)  
 Cellule N° 219 (1,-3, 0)  
 Cellule N° 221 (1,-3,-2)  
 Cellule N° 223 (0, 3, 3)  
 Cellule N° 225 (0, 3, 1)  
 Cellule N° 227 (0, 3,-1)

Cellule N° 114 (-2, 0,-1)  
 Cellule N° 116 (-2,-1, 2)  
 Cellule N° 118 (-2,-1, 0)  
 Cellule N° 120 (-2,-1,-2)  
 Cellule N° 122 (-2,-2, 1)  
 Cellule N° 124 (-2,-2,-1)  
 Cellule N° 126 (3, 3, 3)  
 Cellule N° 128 (3, 3, 1)  
 Cellule N° 130 (3, 3,-1)  
 Cellule N° 132 (3, 3,-3)  
 Cellule N° 134 (3, 2, 2)  
 Cellule N° 136 (3, 2, 0)  
 Cellule N° 138 (3, 2,-2)  
 Cellule N° 140 (3, 1, 3)  
 Cellule N° 142 (3, 1, 1)  
 Cellule N° 144 (3, 1,-1)  
 Cellule N° 146 (3, 1,-3)  
 Cellule N° 148 (3, 0, 2)  
 Cellule N° 150 (3, 0, 0)  
 Cellule N° 152 (3, 0,-2)  
 Cellule N° 154 (3,-1, 3)  
 Cellule N° 156 (3,-1, 1)  
 Cellule N° 158 (3,-1,-1)  
 Cellule N° 160 (3,-1,-3)  
 Cellule N° 162 (3,-2, 2)  
 Cellule N° 164 (3,-2, 0)  
 Cellule N° 166 (3,-2,-2)  
 Cellule N° 168 (3,-3, 3)  
 Cellule N° 170 (3,-3, 1)  
 Cellule N° 172 (3,-3,-1)  
 Cellule N° 174 (3,-3,-3)  
 Cellule N° 176 (2, 3, 2)  
 Cellule N° 178 (2, 3, 0)  
 Cellule N° 180 (2, 3,-2)  
 Cellule N° 182 (2, 2, 3)  
 Cellule N° 184 (2, 1, 3)  
 Cellule N° 186 (2, 0, 3)  
 Cellule N° 188 (2,-1, 3)  
 Cellule N° 190 (2,-2, 3)  
 Cellule N° 192 (2,-3, 3)  
 Cellule N° 194 (2,-3, 1)  
 Cellule N° 196 (2,-3,-1)  
 Cellule N° 198 (2,-3,-3)  
 Cellule N° 200 (1, 3, 2)  
 Cellule N° 202 (1, 3, 0)  
 Cellule N° 204 (1, 3,-2)  
 Cellule N° 206 (1, 2, 3)  
 Cellule N° 208 (1, 1, 3)  
 Cellule N° 210 (1, 0, 3)  
 Cellule N° 212 (1,-1, 3)  
 Cellule N° 214 (1,-2, 3)  
 Cellule N° 216 (1,-3, 3)  
 Cellule N° 218 (1,-3, 1)  
 Cellule N° 220 (1,-3,-1)  
 Cellule N° 222 (1,-3,-3)  
 Cellule N° 224 (0, 3, 2)  
 Cellule N° 226 (0, 3, 0)  
 Cellule N° 228 (0, 3,-2)

Cellule N° 229	(0, 3,-3)	Cellule N° 230	(0, 2, 3)
Cellule N° 231	(0, 2,-3)	Cellule N° 232	(0, 1, 3)
Cellule N° 233	(0, 1,-3)	Cellule N° 234	(0, 0, 3)
Cellule N° 235	(0, 0,-3)	Cellule N° 236	(0,-1, 3)
Cellule N° 237	(0,-1,-3)	Cellule N° 238	(0,-2, 3)
Cellule N° 239	(0,-2,-3)	Cellule N° 240	(0,-3, 3)
Cellule N° 241	(0,-3, 2)	Cellule N° 242	(0,-3, 1)
Cellule N° 243	(0,-3, 0)	Cellule N° 244	(0,-3,-1)
Cellule N° 245	(0,-3,-2)	Cellule N° 246	(0,-3,-3)
Cellule N° 247	(-1, 3, 3)	Cellule N° 248	(-1, 3, 2)
Cellule N° 249	(-1, 3, 1)	Cellule N° 250	(-1, 3, 0)
Cellule N° 251	(-1, 3,-1)	Cellule N° 252	(-1, 3,-2)
Cellule N° 253	(-1, 3,-3)	Cellule N° 254	(-1, 2, 3)
Cellule N° 255	(-1, 2,-3)	Cellule N° 256	(-1, 1, 3)
Cellule N° 257	(-1, 1,-3)	Cellule N° 258	(-1, 0, 3)
Cellule N° 259	(-1, 0,-3)	Cellule N° 260	(-1,-1, 3)
Cellule N° 261	(-1,-1,-3)	Cellule N° 262	(-1,-2, 3)
Cellule N° 263	(-1,-2,-3)	Cellule N° 264	(-1,-3, 3)
Cellule N° 265	(-1,-3, 2)	Cellule N° 266	(-1,-3, 1)
Cellule N° 267	(-1,-3, 0)	Cellule N° 268	(-1,-3,-1)
Cellule N° 269	(-1,-3,-2)	Cellule N° 270	(-1,-3,-3)
Cellule N° 271	(-2, 3, 3)	Cellule N° 272	(-2, 3, 2)
Cellule N° 273	(-2, 3, 1)	Cellule N° 274	(-2, 3, 0)
Cellule N° 275	(-2, 3,-1)	Cellule N° 276	(-2, 3,-2)
Cellule N° 277	(-2, 3,-3)	Cellule N° 278	(-2, 2, 3)
Cellule N° 279	(-2, 2,-3)	Cellule N° 280	(-2, 1, 3)
Cellule N° 281	(-2, 1,-3)	Cellule N° 282	(-2, 0, 3)
Cellule N° 283	(-2, 0,-3)	Cellule N° 284	(-2,-1, 3)
Cellule N° 285	(-2,-1,-3)	Cellule N° 286	(-2,-2, 3)
Cellule N° 287	(-2,-2,-3)	Cellule N° 288	(-2,-3, 3)
Cellule N° 289	(-2,-3, 2)	Cellule N° 290	(-2,-3, 1)
Cellule N° 291	(-2,-3, 0)	Cellule N° 292	(-2,-3,-1)
Cellule N° 293	(-2,-3,-2)	Cellule N° 294	(-2,-3,-3)
Cellule N° 295	(-3, 3, 3)	Cellule N° 296	(-3, 3, 2)
Cellule N° 297	(-3, 3, 1)	Cellule N° 298	(-3, 3, 0)
Cellule N° 299	(-3, 3,-1)	Cellule N° 300	(-3, 3,-2)
Cellule N° 301	(-3, 3,-3)	Cellule N° 302	(-3, 2, 3)
Cellule N° 303	(-3, 2, 2)	Cellule N° 304	(-3, 2, 1)
Cellule N° 305	(-3, 2, 0)	Cellule N° 306	(-3, 2,-1)
Cellule N° 307	(-3, 2,-2)	Cellule N° 308	(-3, 2,-3)
Cellule N° 309	(-3, 1, 3)	Cellule N° 310	(-3, 1, 2)
Cellule N° 311	(-3, 1, 1)	Cellule N° 312	(-3, 1, 0)
Cellule N° 313	(-3, 1,-1)	Cellule N° 314	(-3, 1,-2)
Cellule N° 315	(-3, 1,-3)	Cellule N° 316	(-3, 0, 3)
Cellule N° 317	(-3, 0, 2)	Cellule N° 318	(-3, 0, 1)
Cellule N° 319	(-3, 0, 0)	Cellule N° 320	(-3, 0,-1)
Cellule N° 321	(-3, 0,-2)	Cellule N° 322	(-3, 0,-3)
Cellule N° 323	(-3,-1, 3)	Cellule N° 324	(-3,-1, 2)
Cellule N° 325	(-3,-1, 1)	Cellule N° 326	(-3,-1, 0)
Cellule N° 327	(-3,-1,-1)	Cellule N° 328	(-3,-1,-2)
Cellule N° 329	(-3,-1,-3)	Cellule N° 330	(-3,-2, 3)
Cellule N° 331	(-3,-2, 2)	Cellule N° 332	(-3,-2, 1)
Cellule N° 333	(-3,-2, 0)	Cellule N° 334	(-3,-2,-1)
Cellule N° 335	(-3,-2,-2)	Cellule N° 336	(-3,-2,-3)
Cellule N° 337	(-3,-3, 3)	Cellule N° 338	(-3,-3, 2)
Cellule N° 339	(-3,-3, 1)	Cellule N° 340	(-3,-3, 0)
Cellule N° 341	(-3,-3,-1)	Cellule N° 342	(-3,-3,-2)
Cellule N° 343	(-3,-3,-3)		

Annexe 4.

**Tableau V.3:** Tableau de comparaison des fréquences observées et calculées, et description des modes normaux de vibration du TREHALOSE

Freq. observées		Fréquences calculées				Description des modes normaux de vibration
Raman	I.R.	A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	
3375.	3600.	3742.	3742.	3742.	3742.	Ow-H
		3733.	3733.	3733.	3733.	Ow-H
	bande	3654.	3654.	3654.	3654.	Ow-H
3680.	3505.	3634.	3634.	3634.	3634.	Ow-H
3540.	3461.	3414.	3414.	3414.	3414.	O-H
		3403.	3403.	3403.	3403.	O-H
bande		3402.	3402.	3402.	3402.	O-H
	3347.	3396.	3396.	3396.	3396.	O-H
		3393.	3393.	3393.	3393.	O-H
large	large	3387.	3387.	3387.	3387.	O-H
		3383.	3383.	3383.	3383.	O-H
3260.	3255.	3374.	3374.	3374.	3374.	O-H
2992.	2985.	2973.	2973.	2973.	2973.	C-H
2974.	2978.	2967.	2967.	2967.	2967.	C-H
		2966.	2966.	2966.	2966.	C-H
		2962.	2962.	2962.	2962.	C-H
		2959.	2959.	2959.	2959.	C-H
		2955.	2956.	2956.	2956.	C-H
2951.	2952.	2952.	2952.	2952.	2952.	C-H
		2941.	2941.	2941.	2941.	C-H
	2935.	2940.	2940.	2940.	2940.	C-H
		2924.	2924.	2924.	2924.	AS C <sub>6</sub>

2915.		2923.	2923.	2924.	2923.	C-H
2908.		2921.	2921.	2923.	2921.	AS C6'
	2905.	2892.	2892.	2891.	2891.	SS C6'
2899.	2850.	2891.	2891.	2889.	2888.	SS C6
	1680.	1668.	1668.	1670.	1670.	HOwH
1649.	1651.	1646.	1646.	1647.	1647.	HOwH
1487.		1485.	1485.	1485.	1485.	H'C'O' + C'C'H' + H'C1'O5'
		1482.	1482.	1482.	1482.	HC1O1 + HC1O5 + CCH + H'C'O' + C'C'H'
1472.		1472.	1472.	1472.	1472.	HC5O5 + CCH + HCO + C4OH
1467.	1466.	1467.	1467.	1466.	1467.	H'C6'H' + H'C6'O' + C'C6'H'
		1466.	1466.	1458.	1458.	C4OH + HC6O + CCH + CC5O5
		1458.	1458.	1457.	1457.	CC1H + HC1O5 + CCH + + H'C'O' + C'C'H' + C'O'H'
1453.	1451.	1457.	1457.	1457.	1456.	HC6H + HC6O + HC5O5 + CCH
		1452.	1453.	1454.	1454.	H'C'O' + C'C'H' + CCH + C'O'H' + HC1O5
		1448.	1448.	1447.	1447.	C'C1'H' + C'C'H' + C'O'H' + C4'O'H' + H'C1'O1'
	1444.	1445.	1445.	1445.	1445.	C'C'H' + H'C'O' + H'C'O5' + H'C5'O' + C4'O'H'
		1438.	1438.	1438.	1438.	HCO + CCH + C4OH
		1435.	1435.	1435.	1435.	C'C'H' + H'C1'O1' + C'O'H' + H'C5'O' + H'C1'O5'
		1430.	1430.	1430.	1430.	C4'O'H' + HCO + H'C5'O' + CCH + C'C'H'
1423.	1425.	1423.	1423.	1423.	1423.	HCO + CCH + C4'O'H' + C4OH + H'C'O' + C'C'H'
		1417.	1417.	1416.	1417.	C'O'H' + H'C'O' + C'C'H' + HCO
1411.	1408.	1414.	1413.	1414.	1414.	C'O'H' + C'C'H'
		1409.	1410.	1410.	1410.	C2OH + C'O'H' + CCH + HCO + HC1O5
1397.	1400.	1398.	1398.	1397.	1398.	H'C'O' + C'C'H' + C'O'H'
		1389.	1389.	1389.	1390.	COH + C'O'H' + CCH + HCO + C'C'H'
		1388.	1388.	1388.	1388.	C6'O'H' + C6OH + C'C'H'
1385.	1385.	1386.	1386.	1387.	1386.	C'C'H' + C6OH
		1384.	1384.	1384.	1384.	C6'O'H' + C6OH
1370.	1369.	1368.	1368.	1368.	1368.	C'C'H' + H'C'O' + C'O'H'

1356.	1367.	1367.	1367.	CCH + HCO + C4OH + C6OH
1347.	1361.	1361.	1361.	CCH + COH + HCO + CC6H
1329.	1357.	1357.	1357.	COH + CCH
1309.	1349.	1349.	1350.	C'C'H' + C'O'H' + C4'O'H' + H'C'O'
	1333.	1333.	1333.	C'C'H' + H'C'O'
	1305.	1306.	1306.	C'C6'H' + H'C6'O'
	1299.	1299.	1299.	CC6H + HC6O
1290.	1295.	1296.	1295.	CCH + COH + HCO
1242.	1287.	1287.	1288.	CCH + COH
	1238.	1237.	1237.	H'C6'O' + C'C6'H'
1213.	1223.	1223.	1224.	HC6O + CC6H + CCH + C5C6
	1216.	1216.	1216.	C'C'H' + H'C'O' + C'O'H' + C'C'eyc + C1'O5' + C5'O5'
1188.	1192.	1192.	1192.	C'C'H' + CCH + C'C'eyc
	1189.	1189.	1189.	CCH + CCeyc + CO + HCO + C'C'H'
1166.	1171.	1171.	1171.	CCH + HC6O + CC6H + CCeyc + C6O6
	1169.	1169.	1169.	C'C'eyc + C1'O5' + C5'O5' + C'O' + C'C'H'
1147.	1156.	1156.	1157.	C'C'eyc + C5'C6' + C'C'H' + C'O'
1129.	1151.	1151.	1151.	CCeyc + CO + CCH + C1O5 + C5O5
1121.	1132.	1130.	1130.	C1'O1 + CCeyc + C'C'eyc + C'O' + CCH + C1O1
	1125.	1129.	1126.	C1O1 + CO + CCeyc + C1O5
1100.	1113.	1114.	1114.	C1O1 + C1'O1 + CCeyc + C'O' + C1O5 + C'C'eyc + CCH
1081.	1099.	1092.	1091.	C6'O6' + CO + CCeyc + C6O6 + C1'O1
	1085.	1087.	1087.	C6'O6' + CO + CCeyc + C1'O1 + C1O1 + C'C'eyc
1060.	1063.	1077.	1076.	CO + C6O6 + CCH + CCeyc + C'O' + C5O5
1045.	1061.	1066.	1066.	C6'O6' + C'O' + C'C'eyc + C5'O5' + H'C6'O' + C'C'H'
1019.	1044.	1063.	1063.	CCeyc + C6O6 + C'O' + C1O5 + C5O5
	1032.	1060.	1060.	C6'O6' + C'O' + C1'O1 + C1O1 + C5'O5' + C5O5
	1015.	1044.	1044.	C'O' + C'C'eyc + C1'O5' + C5'O5' + C'C'H'
		1017.	1017.	CO + C6O6 + C1O5 + CCeyc + C5O5

996.	999.	999.	999.	1000.	1000.	CO + C'O' + CCO + CC <sub>cy</sub> c
	999.	997.	997.	997.	997.	C'O' + CO + C'C'O' + C'C'cy <sub>c</sub> + C6'O6'
976.		990.	990.	991.	991.	C'O' + C1'O5' + C'C'O' + C5'C6' + C'CH'
955.	957.	971.	971.	971.	971.	CO + C1O1 + CCO + CC <sub>cy</sub> c
924. ép	924. ép	948.	949.	949.	949.	C1'O1 + C'O' + C'C'cy <sub>c</sub> + C'C'O' + C2'C1'O1'
912.	911.	920.	919.	919.	919.	C1O1 + C1O5 + C1O1C1' + CCO + C6O6
848.	852.	847.	847.	847.	847.	C'C6'H' + H'C6'O' + C5'O5'
840.	842.	835.	835.	835.	835.	CC6H + HC6O + τ C6O6 + τ C5C6
805.	804.	807.	808.	807.	807.	τ C4'O4' + OHOW + HOWH + τ CO
733.	731.	784.	783.	784.	784.	C5'O5' + CO5C + C'O5'C' + C2'C1'O1 + OC1O + O'C1'O
698.	697.	728.	728.	729.	729.	CO5C + C'O5'C' + OC1O + CCO + CC1O5 + C2'C1'O5'
674.	679.	689.	690.	687.	687.	CCO + C1O1C1' + CC1O1 + τ C'O' + τ C2O2
	669.	681.	682.	685.	685.	CCO + C5C6O + τ C6O6 + τ C'O' + C1O1C1'
641.	644.	670.	671.	677.	677.	HOWH + OOWH + C1O1C1' + CCO + C'C'O'
		664.	666.	667.	667.	OOWH + HOWH + OOWH
620.		638.	636.	643.	643.	τ C6O6 + C'C'O' + CCO + C2'C1'O1
607.	613.	632.	630.	629.	629.	τ C6O6 + τ C'O' + C'C'O'
603.		627.	626.	620.	620.	C'C'O' + τ CO
596.		611.	618.	612.	612.	τ C6O6 + CCO + τ C'O'
581.	582.	602.	601.	603.	603.	τ C'O' + C'C'O' + CCO + OC1O + O'C1'O'
	573.	597.	595.	593.	593.	OOWH + τ CO + HOWH + O'C1'O' + τ C4'O4'
543.	538.	588.	589.	591.	591.	OOWH + HOWH + τ CO + τ C'O' + τ C4'O4'
		571.	571.	573.	573.	τ C'O' + HOWH + CCO + τ CO + OC1O
		567.	566.	565.	565.	τ C'O' + CCO + C5C6O + C'C'O'
		543.	543.	545.	545.	τ C'O' + τ CO
523.	519.	537.	537.	535.	535.	C'C'O' + C5'C6'O' + τ C'O' + CCO + C5C6O
		521.	517.	519.	519.	C'C'O' + CCO + C4'C5'O5' + τ CO
		516.	516.	516.	516.	CCO + C5C6O + OC1O + τ CO

		499.	502.	497.	500.	$CCO + OOwH + \tau CO + \tau C'O'$
485.		483.	482.	484.	484.	$\tau CO + CCO$
475.		471.	472.	471.	471.	$C'C'O' + C'C'C' + \tau C_6'O_6'$
		459.	458.	461.	460.	$C'C'C' + C'C'O' + C_5'C_6'O' + C_2'C_1'O_5' + CCC$
452.		453.	454.	451.	451.	$CCO + C'C'C' + C'C'O' + \tau C_6'O_6'$
442.	443.	443.	443.	446.	446.	$OHO + \tau C_6'O_6' + CCO + C'C'O'$
433.	428.	436.	436.	437.	436.	$CCC + CCO + \tau CO$
		420.	419.	421.	418.	$HOwH + OOwH + COHw + \tau C'O'$
410.	410.	415.	413.	413.	413.	$C'C'O' + C'C'C' + C_6'C_5'O' + C_5'C_6'O'$
391.		393.	394.	395.	395.	$HOwH + COHw + \tau C_2O_2$
378.		380.	380.	384.	384.	$C'C'O' + CCO + C_2'C_1'O_1'$
371.	370.	367.	365.	366.	365.	$CCO + C'C'O' + C_2C_1O_1 + C_5C_6O$
355.	359.	350.	350.	352.	352.	$C'C'O' + C_5'C_6'O' + CCO$
		342.	341.	338.	339.	$CCO + C'C'O'$
338.	332.	339.	340.	336.	334.	$C'C'O' + CCO + C_5'C_6'O'$
330.		324.	326.	324.	325.	$CCO + C'C'O' + CC_1O_1 + Hbintra$
		316.	317.	319.	321.	$C'C'O' + CCO + C_4'C_5'C_6' + Hbintra$
		308.	309.	311.	313.	$CCO + C_6C_5O + C'C'O' + C_1O_1C_1'$
297.	299.	298.	297.	298.	301.	$C_6C_5O_5 + CCO + CC_1O_1 + CC_1O_5 + C_1O_1C' + CCC$
285.	281.	282.	278.	287.	285.	$C_5'C_6'O' + Hbintra + \tau C_6'O_6'$
260.		273.	274.	278.	275.	$Hbintra + C_1O_1C_1' + O'C_1'O_1 + C'O_5'C'$
247.	247.	244.	247.	248.	243.	$Hbintra + C_1O_1C_1' + CCO + C'C'O' + O'C_1'O_1 + C'O_5'C'$
223.		224.	221.	218.		$Hbintra + CCO + CCC + C'C'O'$
214.	216.			213.	214.	$Hbintra + C'C'O' + CCO + C'C'C' + C_2'C_1'O_1$
		208.	207.		208.	$CCO + CCC + \tau CC + \tau C_5C_6$
202.	202.	202.	197.	197.	198.	$C'C'O' + CCO + CCC + CO_5C + C'O_5'C' + \tau C_5'C_6'$
		189.	193.	189.	185.	$Hbintra + C'C'C' + C'C'O' + \tau C'C'$
183.	181.	180.	180.	183.	181.	$Hbintra + CCO + \tau C'O'$
171.		173.	177.	170.	172.	$Hbintra + CCO + C'C'O' + C'C_6'O' + C_6'C_5'O' + C_4'C_5'C_6'$

	168.	166.	165.	167.	167.	$\tau C_5'C_6' + \tau C_5C_6 + CCO + \tau C_6O_6 + \tau C_6'O_6'$
159.	150.	155.	158.	153.	159.	$C'C'O' + C'C'C' + C'O_5'C' + Hb_{intra} + \tau C'C'$
	147.	148.	148.	147.	155.	$\tau C_5'C_6' + Hb_{intra} + \tau C_5C_6 + \tau C_6O_6 + CCO + C'C'O'$
		141.	137.	139.	143.	$CCO + \tau C_5C_6 + \tau CC + \tau CO + Hb_{intra}$
131.	135.	132.	127.	136.	137.	$C'C'O' + Hb_{intra} + C_1O_1C_1' + \tau C_1'O_1 + \tau C_1O_1$
	124.	120.	122.	125.	127.	$C'C'O' + Hb_{intra} + CCO + CO_5C + OC_1O + C_2'C_1'O_1$
117.	118.		119.	120.	120.	$C'C'O' + CCO + C'C'C' + \tau CC + \tau C_5C_6 +$
	113.	115.		111.	113.	$C'C'O' + C'C'C' + C_2'C_1'O_1 + \tau C'C' + \tau C_5'C_6'$
	103.	102.	105.	102.		$C'C'C' + \tau C_5C_6 + \tau C'C' + \tau C'O' + C_2'C_1'O_1$
97.3		100.			99.5	$C'C'O' + CCC + C'O_5'C' + \tau CC + \tau C_1O_1$
			95.8	92.9	93.0	$TY + TX + C'C'C' + RC + CCO + C'C'C'$
82.6		85.1	90.7		81.4	$RC + C'C'C' + C'C'O' + \tau C_1'O_1 + \tau C_1O_1$
75.2		72.7	75.2	72.8		$RB + \tau C_5C_6' + CCO + \tau CO$
67.8		67.8	64.4	69.6	66.9	$TX + RC + RA + \tau C_1O_1 + CCO + C'C'O'$
62.9			63.1	62.0	59.2	$TY + RC + CCO + \tau C_1'O_1 + \tau C_1O_1 + \tau CO$
		56.4	60.2			$TY + TX + RC + C'C'O' + RA + \tau C_1O_1$
51.		52.3		53.2	54.9	$TY + RB + \tau CO + HO_wH + \tau C_1O_1$
48.		46.3	47.0			$RB + RC + TY + TX + CCO + TZ + \tau CO$
40				38.2		$RB + TX + RC + RA + CCO + C'C'O' + \tau CO + TZ$
35.		37.5		35.0	35.5	$RA + \tau CO + TX + \tau C_1'O_1 + \tau C_1O_1 + \tau C_6O_6$
28.			29.0		26.3	$TX + RC + RA + TY$
19.		18.7				$TZ + RC + RB + \tau CC + HO_wHTY + CCO$

\* ép = épaulement.

**Tableau V.4:** Tableau de comparaison des fréquences observées et calculées, et description des modes normaux de vibration du SOPHOROSE

Freq. observées		Fréquences calculées				Description des modes normaux de vibration
Raman	I.R.	A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	
3765.		3775.	3775.	3775.	3775.	O <sub>w</sub> —H
3686.		3697.	3697.	3697.	3697.	O <sub>w</sub> —H
	3515.	3493.	3493.	3493.	3493.	O—H
		3489.	3489.	3489.	3489.	O—H
		3481.	3481.	3481.	3481.	O—H
		3479.	3479.	3479.	3479.	O—H
	3352.	3299.	3299.	3299.	3299.	O—H
		3296.	3296.	3296.	3296.	O—H
		3280.	3281.	3280.	3280.	O—H
3250.	3250.	3269.	3269.	3269.	3268.	O—H
2986.		2998.	2998.	2998.	2998.	C—H
2976.	2970.	2977.	2977.	2977.	2977.	C—H
		2975.	2975.	2975.	2975.	C—H
		2974.	2974.	2974.	2974.	C—H
		2973.	2973.	2973.	2973.	C—H
2964.		2965.	2965.	2965.	2965.	C—H
		2965.	2965.	2965.	2965.	C—H
		2956.	2956.	2956.	2956.	C—H
2955.	2952.	2955.	2955.	2955.	2955.	C—H
2944.	2945.	2952.	2952.	2952.	2952.	C—H
2928.	2928.	2916.	2916.	2916.	2916.	AS C6'
2908.		2908.	2908.	2908.	2908.	AS C6

		2883.	2883.	2883.	2883.	SS C6'
2850.	2850.	2877.	2877.	2877.	2877.	SS C6
1669.	1677.	1670.	1670.	1670.	1670.	HOwH
1474.	1471.	1474.	1474.	1474.	1474.	H'C'H' + H'C6'O'
1469.	1464.	1469.	1470.	1470.	1469.	HCH + HC6O
1449.		1451.	1451.	1451.	1451.	H'C2'O1 + HC1O1 + CC1H + C'C2'H'
	1436.	1434.	1434.	1435.	1435.	H'C5'O' + C'C'H'
		1433.	1433.	1433.	1433.	HC5O5 + CCH + HC1O5 + H'C2'O1
1421.		1423.	1424.	1423.	1425.	C'C1'H' + C'C2'H' + H'C1'O1'
	1414.	1416.	1416.	1416.	1416.	COH + HCO + CCH + HC1O1
1408.		1407.	1406.	1406.	1406.	C6'O'H' + COH
		1405.	1405.	1405.	1405.	H'C'O' + C'O'H' + HCO + C'C'H' + HC1O5
		1403.	1403.	1403.	1403.	HCO + C6'O'H' + C'O'H' + CCH + H'C'O' + C'C'H'
	1391.	1396.	1396.	1396.	1396.	H'C'O' + C'C'H'
1381.	1379.	1381.	1381.	1381.	1381.	HCO + COH + CCH
		1377.	1378.	1377.	1378.	H'C5'O' + C'C1'O1' + H'C'O' + CC1H + C'C2'H'
1369.	1366.	1367.	1364.	1367.	1364.	C6OH + COH + HCO + HC1O5 + CCH
		1362.	1362.	1362.	1363.	HCO + HC1O5 + CCH + COH
		1359.	1356.	1359.	1356.	C6OH + H'C5'O' + H'C1'O1' + H'C2'O1 + HCO
		1355.	1355.	1354.	1355.	C'C'H' + C'C6'H' + H'C6'O' + C'O'H'
1349.	1355.	1350.	1352.	1349.	1352.	CCH + COH + C6OH
		1344.	1344.	1344.	1344.	H'C'O' + C'O'H' + C'C'H'
1332.	1338.	1337.	1341.	1337.	1340.	C6OH + COH + CCH + HC1O1 + H'C2'O1
1324.		1322.	1321.	1322.	1321.	COH + CCH + HCO + HC6O + CC6H
		1319.	1319.	1319.	1319.	C1'O'H' + H'C'O' + C'C'H' + C'C6'H'
	1317.	1315.	1316.	1315.	1316.	CCH + COH + HCO
		1307.	1308.	1307.	1308.	CC6H + HC6O + C6OH + COH + CCH
1303.	1301.	1303.	1304.	1303.	1303.	CCH + COH + HCO
		1297.	1297.	1296.	1296.	C'C'H' + C'O'H' + C'C6'H' + H'C6'O

		1284.	1284.	1285.	1284.	C'O'H' + C1'O'H' + C'C'H' + C'C2'H' + H'C'O'
1278.	1275.	1272.	1271.	1271.	1272.	CCH + C'O'H' + C'C'H' + C1'O'H' + C'C2'H'
1269.		1270.	1270.	1270.	1270.	CCH + COHC + HC6O + C'O'H' + CC6H
	1260.	1262.	1262.	1261.	1261.	C'C'H' + C'C'H' + H'C6'O' + C'O'H'
		1257.	1257.	1257.	1257.	HC6O + CC6H + COH + CCH
1250.		1247.	1247.	1247.	1247.	CCH + COH
		1241.	1241.	1241.	1241.	C'C'H' + C'O'H' + CCH
1234.	1230.	1227.	1228.	1230.	1230.	H'C6'O' + C'C6'H'
1210.	1206.	1206.	1206.	1206.	1206.	C'C2'H' + CC1H + CCH + C1O1C2' + CC1O1
1179.		1176.	1176.	1176.	1176.	CCcyc + C'C'cyc + C2'C1 + CCH + C'C2'H'
1170.	1169.	1166.	1165.	1165.	1165.	C'C'H' + C5'C6' + C6'O6' + CCcyc + C5'O5'
		1163.	1164.	1164.	1163.	CCH + CCcyc + CO + C'C'H'
1155.	1151.	1161.	1161.	1161.	1161.	C'C'cyc + C1O1 + CC'cyc + C5C6 + CO + C'C'H'
1139.	1136.	1137.	1138.	1137.	1137.	C2'O1 + C1O1 + CCcyc + C'C'cyc + C'C'H'
		1124.	1124.	1124.	1124.	CCH + CCcyc + C'C'cyc + CO
1116.	1110.	1123.	1122.	1121.	1122.	C'C'H' + C1'O1' + C'C'cyc + C2'O1 + C'O'
		1103.	1103.	1103.	1102.	CCcyc + C1'O1' + C'C'cyc + C'C'H' + CCH
1097.		1101.	1101.	1101.	1101.	C5O5 + CCcyc + C1O1 + HC6O + C5C6
1086.		1089.	1088.	1088.	1089.	CCcyc + CCH + C1'O5' + C'C'cyc + C1'O1' + C1O1
	1078.	1078.	1078.	1079.	1079.	C6'O6' + C2'O1 + C4'O5' + C5'O5' + C'C'cyc
1071.		1073.	1075.	1075.	1073.	C'C'cyc + C'O' + C1'O5' + C'C'H'
	1056.	1061.	1061.	1060.	1061.	CO + C'O' + C'C'cyc + C1O1 + C2'O1
		1051.	1051.	1050.	1051.	C'O' + CO + C5'O5' + C2'O1 + C1O1
1048.	1042.	1046.	1047.	1046.	1047.	C6O6 + C1O5 + CCcyc + C5O5
		1039.	1039.	1039.	1039.	C6O6 + C1'O5' + CCcyc + C5'O5' + C1'O1'
1022.	1024.	1027.	1027.	1027.	1027.	CCcyc + CO + C1O5 + C1'O5' + C6O6 + C2'O1
1012.	1014.	1013.	1013.	1014.	1014.	C'O' + CO + C1O1 + C1O5 + C5O5
997.	994.	999.	999.	999.	1000.	C'O' + CO + C5C6 + CCcyc + C1O1 + CC6H + CCH
		998.	998.	998.	998.	CO + C'O' + CCcyc + CCO

988.	970.	986.	985.	986.	986.	CO + CC <sub>cyc</sub> + C5C6 + CCH + CCO
939.	933.	959.	959.	959.	959.	C'O' + C6'O6' + C5'C6' + C'C' <sub>cyc</sub> + C'O5'C'
921.		917.	918.	917.	917.	C'C' <sub>cyc</sub> + C6'O6' + C5'C6' + C1'O5' + C'C'H' + C'C6'H'
901.	897.	894.	894.	895.	894.	CC6H + HC6O + C5O5 + τ C6O6
853.	849.	861.	861.	861.	861.	C'C6'H' + H'C6'O' + C5'O5' + τ C6'O6'
773.	770.	772.	772.	772.	772.	C'C1'O5' + C'O5'C' + C'C1'O1' + C1O1C2'
712.	714.	715.	716.	718.	719.	C3'C2'O1 + C2'O1C1 + C'C'O' + C'C6'O' + C'O5'C'
		694.	691.	693.	692.	τ C6O6 + CCO + CC1O1
		690.	691.	689.	691.	CCO + CC1O1 + τ C6O6 + C'C1'O1' + C1'C2'O1
		682.	680.	684.	681.	τ CO + τ C'O'
		652.	653.	655.	654.	τ C'O' + τ CO + C1'C2'O1 + O'C1'O'
647.		645.	647.	648.	648.	C'C6'O' + C4C5O + CCO + CC1O5 + CO5C
640.	640.	640.	641.	640.	640.	CCO + τ C1'O1' + C1'C2'O1 + C3'C2'O1
		626.	625.	620.	626.	C'C6'O' + τ C1'O1' + τ C'O' + CCO + CC6O
		612.	613.	612.	614.	τ C1'O1' + CCO + C'C'O'
597.		602.	602.	604.	604.	OOwH + HOWH + LH + CCO
580.	589.	589.	589.	588.	589.	CCO + τ C1'O1' + O'C1'O'
570.		566.	564.	564.	565.	CCO + C4'C5'O' + C4C5O + C'C'O' + C'C1'O5'
553.	553.	550.	550.	552.	551.	τ C6'O6' + C'C'O'
		535.	539.	536.	539.	CCO + C'C'O' + OC1O + O'C1'O' + τ C6'O6'
529.	527.	529.	529.	528.	529.	C'C'O' + O'C1'O' + C'C6'O' + C6'C5'O' τ C6'O6'
		511.	516.	511.	509.	C'C'O' + CC6O + CC1O5 + OC1O
491.	495.	498.	493.	493.	497.	τ C'O' + CCO + C4C5O + C'C'C'
	482.	485.	484.	485.	482.	τ CO + τ C'O' + CCO
474.		476.	477.	478.	475.	τ C'O' + τ CO + CCC + C4'C5'O' + CC6O
		468.	471.	468.	470.	τ CO + C'C'O' + C4C5O + τ C'O'
452.	447.	444.	445.	444.	444.	CCC + CO5C + CCO + τ C'O'
		431.	434.	433.	433.	τ CO
	424.	425.	425.	425.	426.	C'C'C' + CCO + C'C1'O5' + O'C1'O'



	111.	112.	112.	113.	111.	CCO + $\tau$ CO + $\tau$ C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> ' + $\tau$ CO
105.	105.	109.		105.		CCO + C'C'C' + $\tau$ C'C' + LH
			98.9		97.2	R <sub>B</sub> + $\tau$ CC + R <sub>C</sub> + $\tau$ C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> + $\tau$ C'C' + $\tau$ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
93.		96.4	97.1		90.9	R <sub>A</sub> + $\tau$ C <sub>2</sub> 'O <sub>1</sub> + $\tau$ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + C <sub>2</sub> 'O <sub>1</sub> C <sub>1</sub> + C'C'C'
84.		88.0		86.9		R <sub>B</sub> + $\tau$ CC + $\tau$ CO + CCO + CC <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
			78.1			R <sub>C</sub> + R <sub>A</sub> + $\tau$ C'C' + $\tau$ CC + C <sub>3</sub> 'C <sub>2</sub> 'O <sub>1</sub>
73.		75.0	71.0	76.5		R <sub>A</sub> + $\tau$ C'C' + $\tau$ C <sub>2</sub> 'O <sub>1</sub> + $\tau$ C <sub>6</sub> 'O <sub>6</sub> '
		67.6	69.6		66.7	T <sub>Z</sub> + R <sub>A</sub> + $\tau$ CC + R <sub>B</sub> + $\tau$ C <sub>5</sub> C <sub>6</sub>
62.				62.5		R <sub>B</sub> + T <sub>Z</sub> + $\tau$ CC + $\tau$ C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> + $\tau$ CO
		57.0	61.0	61.9	61.8	R <sub>B</sub> + T <sub>Y</sub> + $\tau$ C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> + T <sub>Z</sub> + $\tau$ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
54.				55.8	51.4	T <sub>Z</sub> + T <sub>X</sub> + $\tau$ C'C' + $\tau$ C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> + $\tau$ C <sub>2</sub> 'O <sub>1</sub> + $\tau$ C <sub>1</sub> 'O <sub>1</sub> '
47.		45.7	49.8	50.3		R <sub>B</sub> + R <sub>A</sub> + T <sub>Z</sub> + $\tau$ C <sub>1</sub> 'O <sub>1</sub> '
		40.5	42.7	43.9		T <sub>X</sub> + T <sub>Y</sub> + $\tau$ C <sub>6</sub> 'O <sub>6</sub> ' + $\tau$ C <sub>6</sub> O <sub>6</sub> + $\tau$ CO
37.		36.8			38.7	T <sub>Z</sub> + R <sub>A</sub> + R <sub>C</sub> + $\tau$ CC + $\tau$ C'C' + R <sub>B</sub> + $\tau$ C <sub>2</sub> 'O <sub>1</sub> + $\tau$ C <sub>1</sub> 'O <sub>1</sub> '
32.		30.1			29.9	R <sub>C</sub> + T <sub>Y</sub> + R <sub>B</sub> + $\tau$ C'O' + $\tau$ CO

**Tableau V.5:** Tableau de comparaison des fréquences observées et calculées, et description des modes normaux de vibration du LAMINARABIOSE

Fréq. observées		Fréq. calculées		Description des modes normaux de vibration	
Raman	I.R.	A	B		
3500.	3512.	3388.	3388.	O—H	
3450.	3450.	3387.	3387.	O—H	
3390.	3373.	3383.	3384.	O—H	
		3382.	3382.	O—H	
		3379.	3379.	O—H	
		3379.	3379.	O—H	
		3311.	3370.	3366.	O—H
		3258.	3288.	3349.	3349.
2981.	2970.	2978.	2978.	C—H	
		2974.	2974.	C—H	
		2970.	2972.	2972.	C—H
		2967.	2967.	C—H	
		2964.	2964.	C—H	
		2960.	2959.	2959.	C—H
2937.	2937.	2951.	2951.	C—H	
		2947.	2947.	C—H	
		2946.	2946.	C—H	
		2941.	2941.	C—H	
2905.	2885.	2902.	2902.	AS C6	
		2898.	2898.	AS C6'	
		2870.	2870.	SS C6	
2863.	2855.	2866.	2866.	SS C6'	
1466.	1489.	1466.	1466.	HCH + HC6O + CC6H	
1449.	1451.	1453.	1451.	H'C'H' + H'C6'O'	
	1433.	1431.	1431.	H'C5'O' + C'C'H' + C'C6'H'	
		1422.	1421.	1421.	HC5O5 + CCH + HCO
1416.	1401.	1419.	1419.	HC5O5 + HC1O1 + CCH + CC1H + C'O'H' + H'C1'O1'	
		1409.	1410.	1410.	HC1O1 + HCO + H'C'O' + CCH + C'O'H'
1401.	1401.	1400.	1398.	HCO + CCH + CC1H + HC1O5 + H'C'O'	
	1390.	1392.	1393.	H'C'O' + C'C'H' + C'O'H' + H'C3'O1 + H'C5'O'	
		1386.	1385.	1385.	HCO + COH + CCH + CC1H + HC1O1 + H'C6'O'
1377.	1373.	1379.	1378.	H'C6'O' + C'C6'H' + H'C'O' + C'O'H' + C6'O'H'	

		1366.	1365.	HCO + COH + CCH
1363.	1364.	1363.	1363.	H'C1'O1' + H'C'O' + C'C'H' + C'C1'H' + C'O'H' + C1'O'H'
		1355.	1355.	H'C3'O1 + H'C5'O' + C'O'H' + C'C3'H' + C'C'H'
1350.	1346.	1346.	1347.	HC1O5 + CCH + HC6O + CC1H + CC6H + HC1O1
		1344.	1344.	C'C1'H' + H'C5'O' + H'C3'O1 + C'C3'H' + CCH
	1337.	1336.	1336.	HC1O5 + HC1O1 + CCH + CC6H + HCO + COH
1327.	1324.	1330.	1330.	C'C'H' + H'C3'O1 + H'C'O' + C'C3'H' + C'O'H'
1315.	1314.	1308.	1308.	C'C'H' + C'C3'H' + C'C1'H' + H'C'O' + H'C1'O1'
1301.	1299.	1297.	1297.	C6OH + CCH + C'C'H' + C6'O'H'
1291.		1290.	1289.	CCH + C'C'H' + C'C3'H' + HCO + C'O'H'
		1286.	1286.	C6'O'H' + CCH + CC6H + C'C'H' + HC6O
1283.	1285.	1282.	1282.	CCH + C'C'H' + C'C3'H' + HCO + C'O'H'
		1275.	1275.	C6OH + C'C'H' + CCH + HC6O + C6'O'H'
		1266.	1266.	CCH + C'C'H' + C6'O'H' + C'O'H'
1264.	1263.	1265.	1265.	CCH + C'C'H' + CC6H + HC6O + C6OH + C6'O'H'
1253.		1259.	1257.	COH + CCH + HCO
		1245.	1243.	CCH + C'O'H' + C'C'H' + H'C'O' + HC6O
		1241.	1240.	CCH + C'C'H' + C'O'H' + COH + HC6O
		1227.	1225.	COH + CCH + HCO + C'C'H'
1224.	1221.	1223.	1221.	C'C'H' + COH + H'C'O'
		1205.	1205.	COH + CCH + HCO
1199.	1199.	1190.	1191.	C1'O'H' + C'C'H' + C'C1'H' + C'C3'H'
1180.		1178.	1178.	C'C6'H' + H'C6'O' + CC6H' + C5'O5' + HC6O + C'C'H'
		1174.	1173.	CC6H + C'C6'H' + C5C6 + C5O5 + HC6O + H'C6'O'
		1171.	1172.	CCcyc + C3'O1 + C1'O5' + C'C3'H' + H'C1'O' + C1'O'H'
	1165.	1160.	1161.	CCcyc + C'O' + C'C'cyc + C3'O1 + CCH + C'C'H' + H'C3'O1
1153.	1153.	1147.	1146.	C'C'cyc + CO + C1O1 + CCcyc + CCH + C'C3'H' + C'C'H'
1138.	1137.	1141.	1141.	C'C'cyc + CCcyc + C'O' + C1O1 + CO + C'C'H' + CCH
1126.	1128.	1133.	1133.	CCcyc + C5O5 + CO + CCH + COH
1119.	1118.	1121.	1120.	C'C'cyc + C'C'H' + CCcyc + CCH
		1110.	1109.	C'C'cyc + CCcyc + C3'O1 + C1O1
1101.	1106.	1107.	1107.	C'C'cyc + C1'O5' + C5'O5' + CCcyc + CCH + C'C'H'
		1097.	1098.	C'C'cyc + CCcyc + CCH + C'C'H' + C5'O5' + C3O1
1089.		1091.	1090.	CCcyc + C5O5 + CCH + HC6O + C5C6
	1079.	1085.	1085.	C'C'cyc + C5'O5' + C1'O5' + CCcyc + C1O5 + C'C'H'
	1070.	1076.	1075.	C1O5 + CCcyc + C1O1 + C6O6 + C5C6 + CCH
1059.		1066.	1066.	CO + C5'O5' + C1O5 + CCcyc + C'C'cyc + C3'O1
	1052.	1051.	1051.	C'O' + C3'O1 + C1O1 + C5'C6' + C'C'cyc + CO + C5'O5'
		1049.	1049.	C'O' + CO + C3'O1 + C1O1 + C1O5 + C1'O5'
1041.	1041.	1036.	1036.	C6O6 + C1O5 + C6'O6' + C3'O1

	1030.	1030.	1030.	$C6'O6' + C6O6 + CO + CC_{cyc} + C'C'_{cyc}$
1021.		1023.	1023.	$C6'O6' + CO + C6O6 + C3'O1 + C1O1 + C1O5$
1010.	1012.	1016.	1013.	$CCH + CC_{cyc} + C'C'_{cyc} + C5C6 + CC6H + H'C6'O'$
		1004.	1005.	$C'O' + CCH + C1'O5' + C5C6 + C1O1 + C5O5 + C'CH'$
	997.	995.	995.	$CO + CC_{cyc} + C6O6$
		992.	992.	$C'O' + C5'O5' + C1'O5' + C'C'_{cyc} + CO + C5'C6'$
974.		979.	978.	$CO + CC_{cyc} + C3'O1 + CCH$
	969.	964.	964.	$C1'O1' + C1'O5' + C'O' + C5'C6' + H'C'O1'$
894.	895.	892.	892.	$CC6H + C5O5 + HC6O + \tau C6O6$
845.		846.	845.	$H'C6'O' + C'C6'H' + C5'O5' + \tau C6'O6'$
755.	751.	750.	749.	$C1O1C3' + C'C'O' + CCO + C4'C3'O1$
735.		734.	731.	$\tau C1'O1' + CCO$
677.	671.	682.	682.	$CCO + CC1O1 + CO5C + C2'C3'O1 + C4'C3'O1 + \tau C'O'$
	662.	658.	658.	$CCO + C'C'O' + C2'C3'O1 + C2'C1'O1' + CC1O1 + CC1O5$
649.		646.	646.	$\tau C6O6 + C5C6O6 + \tau C'O' + \tau CO + CCO$
	636.	632.	630.	$\tau C6O6 + \tau C6'O6' + \tau CO + C'C1'O5' + C'C'O'$
		631.	627.	$\tau C1'O1' + O5H'O4' + \tau CO + CCO + \tau C6O6 + C'C1'O1'$
623.	619.	613.	619.	$\tau C6O6 + \tau C'O' + CCO + C'C'O' + C4'C3'O1$
602.		601.	603.	$CCO + O'C1'O' + \tau CO + \tau C6'O6' + \tau C6O6 + C4'C5'O5'$
		596.	595.	$\tau CO + \tau C6'O6' + OC1O$
	591.	591.	589.	$\tau CO + OC1O + CCO + \tau C6O6 + C4'C3'O1$
	582.	586.	586.	$C4'C3'O1 + \tau CO + C'C'O' + C4'C5'O5'$
		579.	575.	$CCO + \tau CO + C'C'O'$
560.	555.	552.	556.	$\tau C6'O6' + O'C1'O' + C'C'O'$
529.		532.	532.	$CCO + CC6O + CC1O5 + CCC + OC1O$
	505.	499.	498.	$C5C6O + C'C1'O5' + C'C1'O' + CCC + C'C'C'$
491.	492.	494.	491.	$C'C'O' + CC1O5 + C4C5O + C'C6'O'$
472.	464.	471.	471.	$C'C'C' + CCO + CCC + CC1O5 + C5'C6'O'$
	446.	446.		$\tau CO + \tau C'O' + CCO$
436.		435.	436.	$C'C'O' + C'C'C' + CCC + CCO + C4'C3'O1 + C'O5'C'$
		428.	431.	$\tau C'O' + C'C'O' + C'C'O' + CCO$
		426.		$CCC + CCO + CO5C$
420.		419.	419.	$\tau C'O' + \tau CO + CCO + C'C'O' + C2'C1'O1'$
405.	403.		408.	$\tau C'O' + C'C'O' + CCO$
		397.	401.	$CCO + C2'C1'O5' + C'C'O' + OC1O$
			394.	$C'C'O' + C'C1'O' + CCO + \tau C'O' + C6'C5'O'$
	383.	381.	378.	$C'C'O' + CCO + \tau C'C' + \tau C5'C6' + C2'C1'O5'$
358.	358.	359.	354.	$CCO + C'C'O' + \tau CO + C5C6O$
		348.	348.	$C'C'O' + CCO + O'C'O'$
		345.	342.	$C'C'O' + CCO + C2'C1'O1' + O'C1'O'$

334.	329.	338.	329.	$C'C'O' + CCO + CC6O + C4C5C6 + CCC$
	319.	321.	317.	$C'C'O' + C'C6'O' + C4'C5'C6' + Hbintra + C'C'C'$
314.		317.	315.	$CCO + CC6O + \tau CC$
		304.	305.	$CCO + C'C'O' + C2'C1'O1' + \tau C5C6$
285.	278.	267.	270.	$C6C5O + CCO + \tau C5C6 + \tau CC + \tau C5'C6' + \tau CO$
267.	265.	260.	266.	$\tau C'C' + \tau C5'C6' + C6'C5'O' + O'C1'O'$
248.	249.	239.	245.	$C4C5C6 + CCO + CC1O1 + C6C5O + \tau C5C6 + C1O1C3'$
224.	228.	226.	226.	$CC1O1 + C6'C5'O' + C4'C3'O1$
214.		208.	208.	$C2'C3'O1 + C5'C6'O' + CCC + \tau C'C'$
197.	195.	195.		$\tau C5C6 + \tau CC + \tau C'C' + C'C'C'$
186.		188.	184.	$\tau C5'C6' + Hbintra + \tau C5C6 + C2'C3'O1 + C4'C3'O1$
	180.	182.	182.	$\tau C5C6 + \tau CC + Hbintra + C4'C3'O1 + C4'C3'O1 + OC1O$
175.	176.	172.	177.	$\tau C'C' + Hbintra + C'O'C' + CC1O1 + C'C'C' + C4'C5'C6'$
160.	166.	159.	159.	$\tau CC + C4C5C6 + CCO + CO5C + C1O1C3'$
148.		154.		$\tau C5'C6' + \tau C'C' + \tau CC + OC1O + C4'C3'O1$
141.		144.		$\tau CC + CCC + \tau C'5C'6 + \tau C'C' + CC1O1$
134.		137.		$\tau CC + \tau C'C' + \tau C5'C6' + CCC + CCO$
		124.	128.	$\tau CC + \tau C5C6 + \tau CO + C2'C3'O1$
118.		117.	117.	$\tau CC + \tau C5'C6' + \tau C'C' + CCC + RA + \tau C'C' + C4'C3'O1$
107.		108.	108.	$\tau C'C' + \tau CO + RC + RA + CCC + \tau C5'C6' + \tau C'C'$
94.		98.7		$\tau CC + \tau C5C6 + \tau C'5C'6 + \tau C'C'$
91.		89.9		$Hbintra + \tau CO + \tau C6O6 + \tau C1O1 + CC1O1$
85.		86.5		$\tau CO + \tau C1O1 + \tau C'C' + LH$
76.		76.3		$RB + \tau C5C6 + \tau C'5C'6 + \tau C'C' + \tau C1O1$
		74.9	74.7	$TX + \tau C5C6 + RB + \tau CO$
69.		69.2		$RA + \tau CO + RC + \tau C'C' + \tau C5C6 + C2'C3'O1$
62.		62.7		$RB + RC + \tau CO + \tau C3'O1 + \tau C1O1 + \tau C'C'$
		55.6		$RC + RA + \tau CO + TX + \tau C3'O1 + \tau C'C'$
51.		51.9		$RB + RA + \tau C3'O1 + \tau CC + C1O1C3'$
		49.5		$TY + \tau C5C6 + \tau C'5C'6 + \tau C'C' + \tau CC$
40.		38.0	40.0	$TZ + RA + RC + \tau CO + TX$
35.		34.3		$RA + TZ + RC + \tau CO$

**Tableau V.6:** Tableau de comparaison des fréquences observées et calculées, et description des modes normaux du MALTOSE

Fréq. observées		Fréq. calculées		Description des modes normaux de vibration
Raman	I.R.	A	B	
		3799.	3799.	Ow-H
		3695.	3695.	Ow-H
3440.	3405.	3409.	3409.	O-H
		3408.	3408.	O-H
		3406.	3406.	O-H
3345.		3399.	3399.	O-H
3324.	3352.	3392.	3392.	O-H
		3390.	3390.	O-H
		3290.	3389.	O-H
3200.	3255.	3362.	3362.	O-H
		2992.	2992.	C-H
		2984.	2984.	C-H
	2982.	2981.	2981.	C-H
2972.		2972.	2972.	C-H
		2968.	2968.	C-H
		2967.	2967.	C-H
		2961.	2961.	C-H
		2957.	2957.	C-H
2944.	2948.	2957.	2957.	C-H
2929.	2933.	2948.	2948.	C-H
2908.	2918.	2904.	2904.	AS C <sub>6</sub>
2895.	2895.	2903.	2903.	AS C <sub>6</sub> '
2880.		2876.	2876.	SS C <sub>6</sub> '
2840.	2845.	2875.	2875.	SS C <sub>6</sub>
1655.		1661.	1661.	HO <sub>w</sub> H
	1459.	1461.	1461.	H'C <sub>6</sub> 'H' + C'C <sub>6</sub> 'H
		1458.	1459.	HC <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + H'C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + HC <sub>1</sub> O <sub>5</sub>
1455.		1456.	1456.	HC <sub>6</sub> H + HC <sub>6</sub> O
		1442.	1443.	H'C <sub>5</sub> 'O' + C'CH' + H'C <sub>6</sub> 'O' + H'C <sub>6</sub> 'H'
1433.	1434.	1440.	1439.	HC <sub>5</sub> O + CCH
		1424.	1424.	HCO + CCH + HC <sub>5</sub> O + COH
		1412.	1410.	H'C'O' + C'O'H' + H'C <sub>1</sub> 'O <sub>1</sub> ' + C'CH'
	1400.	1402.	1404.	HCO + CCH + H'C <sub>1</sub> 'O <sub>1</sub> ' + CC <sub>1</sub> H
		1398.	1398.	C'CH' + C'C <sub>cyc</sub> + HCO + H'C'O' + H'C <sub>5</sub> 'O'

	1390.	1388.	1388.	$C'C'H' + H'C5'O' + H'C'O' + HCO + H'C6'O'$
1382.	1377.	1379.	1379.	$HCO + COH + CCH + CC1H + H'C'O'$
		1372.	1370.	$H'C4'O1 + HC1O1 + HCO + CC1H + C'C4'H'$
		1367.	1367.	$H'C'O' + C'C1'H' + C'C'H' + H'C1'O1' + C'C'cyc$
1360.	1359.	1357.	1359.	$HCO + CCH + HC1O5 + CCcyc$
	1351.	1350.	1349.	$HC1O5 + H'C'1O5' + CC1H + CCH + HCO$
		1347.	1347.	$H'C1'O5' + H'C'O' + C'C1'H' + CC1H + HC1O5$
1340.		1336.	1336.	$COH + CCH + HCO$
		1331.	1333.	$COH + CCH$
1328.	1328.	1325.	1325.	$COH + C'O'H' + H'C'O' + C'C'H'$
1319.	1319.	1322.	1322.	$C6OH + C1'O'H'$
1309.	1308.	1308.	1306.	$C'C'H' + H'C'O' + C'C'cyc + CCH + COH$
		1304.	1305.	$C'O'H' + C'C'H' + H'C'O' + C6'O'H' + C'C'cyc$
		1295.	1296.	$C'C4'H' + C'C'cyc + C5'C6' + C'O'H' + C6'O'H'$
		1293.	1291.	$CC6H + HC6O + CCH + COH$
	1288.	1288.	1288.	$C6'O'H' + C'O'H'$
		1278.	1280.	$CCH + CCcyc$
	1273.	1273.	1274.	$C1'O'H' + C6OH + C'C1'H'$
1270.		1269.	1267.	$CCH + HCO + CCcyc + COH$
1255.		1256.	1256.	$CCH + C'C'H'$
		1251.	1251.	$C'C'H' + C'O'H' + C5'C6'$
1246.	1249.	1246.	1246.	$CCH + C'C'H' + C'O'H' + COH$
1228.	1227.	1237.	1237.	$C'C'H' + C'C4'H' + H'C6'O' + C'C6'H'$
		1216.	1216.	$HC6O + CC6H + CCH$
1206.	1207.	1206.	1206.	$C'C6'H' + H'C6'O' + C'C'cyc + C'5O5'$
1190.		1177.	1178.	$CCH + CCcyc$
		1176.	1176.	$C5'C6' + C4'O1 + C'O' + C'C'H' + C1'O1'$
		1166.	1166.	$CCcyc + CO + CCH + C5C6$
		1154.	1154.	$C'C'cyc + C'C'H' + C'C4'H' + C'O' + C4'O1$
1150.	1150.	1153.	1151.	$CO + C5C6 + CCH + C'C'cyc + CCcyc + CCC$
1134.	1135.	1144.	1143.	$C'C'cyc + C'C'H' + C1'O1' + CCcyc$
1124.	1124.	1119.	1122.	$CCcyc + CCH + C1O1$
1116.		1116.	1114.	$CCcyc + C1O5 + C5O5$
	1106.	1107.	1106.	$C'C'cyc + C5'O5' + C5'C6' + C6'O6' + C1'O1'$
		1100.	1100.	$C'C'cyc + C1'O5' + C5'O5' + C'C'H' + C'C1'H'$
	1086.	1091.	1092.	$C'C'cyc + C5'O5' + C'O' + C'C'H'$
		1079.	1078.	$CCcyc + C1O1 + C6O6 + CCH + CO + C1O5$
1072.	1073.	1072.	1074.	$C4'O1 + C'C'cyc + C5'C6' + C5'O5' + CO + C'O'$
1064.		1063.	1063.	$CO + C4'O1 + C1O1 + C1'O1' + C5O5 + CCcyc + C1O5$
1049.		1048.	1046.	$C6O6 + CO + C5C6$
		1043.	1044.	$C6'O6' + CO + C5O5 + C'C'cyc + H'C6'O'$
1028.	1038.	1036.	1036.	$C6O6 + CO + CCcvc + C5C6 + C1O5$

1021.	1027.	1021.	1021.	$C_1'O_5' + C'O' + C_4'O_1 + C_6'O_6'$
1007.	1006.	1011.	1011.	$C'O' + C_6'O_6' + C'C'H'$
		1001.	1001.	$C'O' + C_1'O_1' + CO$
990.	991.	996.	996.	$CO + C'O' + CC_{cyc} + CCO$
		985.	985.	$CO + C_1O_5 + C_5O_5 + CCO + CO_5C$
		952.	951.	$CO + CC_{cyc} + C_1O_1 + C_1O_1C_4' + CCO + CC_1O_1$
923.	907.	932.	932.	$C_6'O_6' + C_5'C_6' + C_1'O_1' + C'C'_{cyc} + C_1O_1$
901.	899.	888.	888.	$C'C_6'H' + H'C_6'O' + \tau C_6'O_6'$
850.	849.	841.	841.	$CC_6H + HC_6O + C_1O_5 + \tau C_6O_6 + C_1O_1$
779.	779.	777.	776.	$CO_5C + C_1O_1 + CC_1O_1 + CC_1O_5$
756.	760.	769.	769.	$\tau C_6'O_6' + OHOW$
716.	719.	714.	710.	$\tau C_6O_6 + C'C'O'$
	683.	699.	706.	$C'C'O' + C'C_4'O_1 + C_5'C_6'O_6' + \tau C_6O_6$
	663.	668.	671.	$CC_1O + OC_1O + CO_5C + CCO + C_5'C_6'O_6'$
		651.	650.	$C_5'C_6'O_6' + C'C_1'O_1' + C'C'C' + C'O_5'C' + CCO$
643.	641.	647.	642.	$\tau CO + CCO + \tau C'O' + C'C'O' + O_5H'O_3'$
		627.	624.	$C_4'C_5'O_5' + C_2'C_1'O_5' + C'C'O' + \tau C'O' + OC_1O$
617.	621.		619.	$CCO + C_4'C_5'O' + C_2'C_1'O_5' + C'C'O' + OC_1O$
		603.		$CCO + O_5H'O_3' + \tau C_6'O_6'$
	600.	602.	601.	$\tau CO + C_1O_5HO' + C'C'O' + C_5'C_4'O_1 + CCO$
592.	588.	593.		$\tau C'O' + \tau CO + CCO + O'C_1'O'$
			579.	$\tau CCO + CCO + C_1O_5HO' + C_2'C_1'O_1'$
		571.	577.	$\tau CO + C_1O_5HO' + \tau C'O'$
	568.	569.	570.	$\tau C'O' + OOwH + O_5'C_1'O_1'$
		561.	562.	$OOwH + CCO + C'C'O'$
552.		553.	550.	$\tau C'O' + \tau CO + OOwH + OC_1O$
	542.	549.	549.	$C_4C_5O_5 + CCO + \tau CO + C_1O_1C_4'$
	523.	529.	531.	$CCC + CCO + C'C'O' + C_5C_6O_6 + C_1O_1C_4'$
519.	517.	519.	521.	$\tau CO + \tau C'O'$
		504.	507.	$C'C'C' + C'C'O' + O'C_1'O'$
		491.	490.	$\tau C_1'O_1' + C'C'O'$
		475.	474.	$\tau C_1'O_1' + CCC + CCO + \tau CO$
461.	462.	465.	467.	$CCO + C_4C_5O_5 + C_2C_1O_5 + \tau CO$
		456.	454.	$\tau CO + CCO$
	440.	433.	435.	$CCO + C_3'C_4'O_1 + CO_5C + C'O_5'C'$
428.	426.	430.	429.	$C'C'C' + C_4'C_5'O_5' + C'C'O' + C_2'C_1'O_5'$
413.	411.	417.	421.	$CCC + CCO + CO_5C$
396.	394.	385.	390.	$C'C'O' + CCO + C'C'C'$
		371.	370.	$CCO + C'C'O'$
	362.	366.	360.	$CCO + C'C'O' + O'C_1'O'$
348.	355.	347.	348.	$C_5C_6O_6 + CCO + C_4C_5C_6 + CCC$
		346.	340.	$C'C'O' + C_2'C_1'O' + CCO$

		330.	332.	$CCO + C'C'O' + O'C1'O' + C'O5'C'$
	318.	320.	318.	$CCO + C'C'O' + C4'C5'C6'$
		308.	309.	$CCO + C5C6O + \tau C5C6$
305.		304.		$\tau C5'C6' + O'C1'O' + CCO + C'C'O'$
293.			296.	$C2'C1'O1' + C6'C5'O5' + C'C'C' + O'C1'O' + \tau C'5C'6$
	285.	284.	279.	$C'C'O5' + C4'C5'C6' + C'C4'O1 + C'O5'C' + \tau C'C'$
265.		265.	261.	$\tau CO + \tau C'C' + OOWH + CCO$
		262.	259.	$\tau CO + \tau C6O6 + \tau C5C6 + C4C5C6$
246.	242.	246.	243.	$C3'C4'O1 + C1O1C4' + OC1O$
233.	232.	227.	234.	$C6C5O5 + C4C5C6 + \tau C5C6 + \tau CC + \tau CO + \tau C6O6$
223.	224.	219.	219.	$\tau CC + Hb_{intra} + C6C5O + CCO$
	213.	205.	208.	$\tau C5'C6' + Hb_{intra} + CC1O1 + C1O1C4' + C5'C4'O1$
198.		190.		$O5H03' + \tau C'C' + \tau C5C6 + C1O5H03'$
178.			185.	$Hb_{intra} + C4'C5'C6' + \tau C5C6 + \tau C'C' + C'C'C' + C'C'C'$
169.	169.	169.	168.	$\tau CC + \tau C'C' + \tau C1'O5' + \tau CO + Hb_{intra}$
	154.	152.	163.	$\tau C5C6 + \tau CC + \tau C'C' + \tau C5C6 + CCO + Hb_{intra}$
145.	143.	141.	145.	$\tau C'C' + \tau C5'C6' + \tau C5C6 + \tau CC + Hb_{intra}$
133.	132.	139.		$\tau CC + \tau C5C6 + O5H03'$
			131.	$HOW + Hb_{intra} + \tau CC + \tau C5'C6' + C6'C5'O'$
118.	120.		121.	$\tau C5C6 + \tau CC + C5C6O$
		114.	114.	$HOW + \tau C'C' + Hb_{intra} + \tau C5'C6'$
112.	111.	112.	113.	$TZ + \tau C'C' + \tau C5C6 + \tau CC + Hb_{intra}$
	105.	106.	101.	$\tau C5'C6' + \tau CO + \tau CC + \tau C5C6$
		100.		$HOW + \tau CC + \tau C5C6 + \tau CO$
	97.2	97.9	.	$R_A + HOW + \tau C5'C6'$
95.	89.	91.2	94.2	$R_A + R_C + \tau CC + \tau C5C6$
84.	80.		78.8	$R_C + T_Y + \tau C'C' + R_B + \tau C6'O6'$
75.	72.5		74.3	$T_Y + R_A + \tau C'C' + C'C'C' + C4'C5'O5'$
	67.	66.5	67.0	$Hb_{intra} + T_Y + \tau C1O1 + R_C + \tau CC + \tau CO + \tau C'O'$
			63.9	$R_C + Hb_{intra} + T_Y + \tau C'O' + C3'C4'O1$
54.	52.5	54.3	50.0	$RA + TZ + HOWH + \tau C'C' + C3'C4'O1 + \tau C5C6$
45.		43.5		$TX + TZ + RB + Hb_{intra} + \tau C5C6 + \tau CO + \tau C4'O1$
		42.3		$RC + RB + R_A + TX + \tau C6'O6' + \tau C5'C6'$
37.	36.5	39.1		$RB + TX + R_A + \tau CO + \tau C4'O1 + TZ + O5H'O3'$

**Tableau V.7:** Tableau de comparaison des fréquences observées et calculées, et description des modes normaux d'attribution du CELLOBIOSE.

Fréq. observées		Fréq. calculées		Description des modes normaux de vibration		
Raman	I.R.	A	B			
3418.   bande     large 	3455.	3413.	3413.	O-H		
	3435.	3411.	3411.	O-H		
	3407.	3406.	3406.	O-H		
	3380.	3401.	3401.	O-H		
		3398.	3398.	O-H		
		3391.	3391.	O-H		
	3325.	3385.	3385.	O-H		
	3342.	3303.	3374.	3374.	O-H	
	2980.	2980.	2980.	2980.	C-H	
	2968.		2976.	2976.	C-H	
2959.	2965.	2961.	2961.	C-H		
		2947.	2947.	C-H		
		2942.	2942.	C-H		
		2938.	2938.	C-H		
		2935.	2935.	C-H		
		2932.	2932.	C-H		
		2927.	2927.	C-H		
		2918.	2918.	C-H		
		2909.	2910.	2918.	2918.	C-H
		2895.	2892.	2894.	2894.	AS C6'
2875.	2892.		2892.	AS C6		
	2861.		2861.	SS C6'		
2885.	2860.	2860.	2860.	SS C6		
	1485.	1468.	1469.	H'C6'H' + H'C6'O'		
1456.		1467.	1467.	CC1H + HCO + HC1O1 + H'C4'O1		
		1459.	1460.	HC6H + HC6O + HC5O5		
		1458.	1458.	H'C5'O' + C'C'H'		
	1450.	1453.	1452.	HCO + CCH + H'C4'O1		
		1446.	1446.	HC5O5 + CCH + HC6H		
		1443.	1443.	COH + CCH		
	1420.	1425.	1426.	H'C'O1' + C'O'H' + CC1H + H'C4'O1		
	1416.		1413.	1413.	HCO + CCH + H'C'O1' + H'C4'O1	

1410.	1407.	1408.	1408.	HCO + CCH
		1407.	1406.	HC <sub>1</sub> O <sub>5</sub> + HCO + H'C'O <sub>1</sub> ' + C'C <sub>1</sub> 'H' + H'C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + CC <sub>1</sub> H
		1402.	1403.	C'O'H' + H'C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + H'C'O' + C'C'H' + C'C' <sub>cyc</sub>
		1389.	1389.	H'C'O' + HCO + C'C'H' + C'C' <sub>cyc</sub> + CCH + HC <sub>1</sub> O <sub>5</sub>
		1384.	1384.	HCO + HC <sub>1</sub> O <sub>5</sub> + C <sub>6</sub> OH + H'C'O' + CCH + CC <sub>cyc</sub> + C <sub>6</sub> OH
1377.	1380.	1376.	1375.	C <sub>6</sub> OH
1360.	1357.	1361.	1361.	CCH + COH
		1356.	1356.	H'C'O' + C'C'H' + CCH + C'O'H'
		1354.	1352.	C'C'H' + H'C'O' + H'C <sub>6</sub> 'O' + C'C <sub>6</sub> 'H' + C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> '
		1348.	1348.	H'C'O <sub>5</sub> ' + C'C <sub>1</sub> 'H' + H'C'O'
		1342.	1345.	C'O'H' + C'C'H' + C'C <sub>6</sub> 'H'
1341.	1335.	1340.	1340.	CCH + CC <sub>cyc</sub>
		1334.	1332.	C'C <sub>4</sub> 'H' + C'C'H' + C'C' <sub>cyc</sub>
	1318.	1315.	1315.	CCH + COH + CC <sub>cyc</sub>
1311.		1314.	1313.	CC <sub>6</sub> H + HC <sub>6</sub> O
		1307.	1306.	C <sub>1</sub> 'O'H' + C'C'H'
1304.	1307.	1302.	1302.	CCH
1292.	1285.	1295.	1297.	C'C'H' + C'C <sub>4</sub> 'H' + C <sub>1</sub> 'O'H'
		1278.	1276.	C'C'H' + C'O'H'
		1266.	1266.	CCH + COH + CC <sub>cyc</sub>
1261.	1265.	1264.	1264.	C <sub>6</sub> 'O'H'
		1254.	1254.	COH + CC <sub>cyc</sub> + CCH
		1240.	1240.	C'C'H' + C'O'H'
1215.		1210.	1210.	HC <sub>6</sub> O + CC <sub>6</sub> H + CCH
	1202.	1201.	1202.	C'C <sub>6</sub> 'H + CC <sub>cyc</sub> + C <sub>5</sub> 'O <sub>5</sub> ' + CO + C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub>
1193.		1197.	1197.	C'C <sub>6</sub> 'H + H'C <sub>6</sub> 'O' + CC <sub>cyc</sub> + C'C' <sub>cyc</sub> + CO
	1187.	1181.	1181.	C'C' <sub>cyc</sub> + C'C'H' + C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + C'O' + CC <sub>cyc</sub>
		1169.	1168.	CC <sub>cyc</sub> + CO + C'O' + C'C' <sub>cyc</sub> + C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> + C <sub>5</sub> O <sub>5</sub>
1166.	1163.	1166.	1167.	CC <sub>cyc</sub> + C'C' <sub>cyc</sub> + CCH
		1153.	1153.	C'C' <sub>cyc</sub> + CC <sub>cyc</sub> + C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> ' + C'C'H'
		1151.	1151.	CC <sub>cyc</sub> + CCH + C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + C <sub>5</sub> C <sub>6</sub>
		1141.	1140.	CC <sub>cyc</sub> + C'C' <sub>cyc</sub> + CCH + C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
1123.	1121.	1120.	1118.	C'C' <sub>cyc</sub> + C'C'H' + C <sub>1</sub> 'O <sub>1</sub> '
		1113.	1113.	C <sub>5</sub> O <sub>5</sub> + CO + CC <sub>cyc</sub>
1100.	1100.	1100.	1101.	C'C' <sub>cyc</sub> + C <sub>1</sub> 'O <sub>5</sub> ' + C'O' + C'C'H'
		1089.	1090.	C <sub>5</sub> 'O <sub>5</sub> ' + C'C' <sub>cyc</sub> + CC <sub>cyc</sub> + C <sub>1</sub> O <sub>5</sub> + C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
1081.	1080.	1084.	1085.	C <sub>1</sub> O <sub>5</sub> + CC <sub>cyc</sub> + C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + C <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
		1074.	1074.	C <sub>4</sub> 'O <sub>1</sub> + C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> ' + C <sub>5</sub> 'O <sub>5</sub> '
1063.	1058.	1062.	1062.	CO + C <sub>5</sub> O <sub>5</sub> + C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> + C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
1052.	1042.	1043.	1043.	C <sub>6</sub> O <sub>6</sub> + CO + CC <sub>cyc</sub>

		1040.	1040.	$C_6'O_6' + C_1'O_5'$
		1036.	1036.	$C_1O_5 + C_6O_6 + CO_5C + OC_1O$
1028.		1031.	1030.	$C'C'cyc + CCcyc + HC_6O$
	1015.	1023.	1022.	$C'O' + C_1'O_5' + C_4'O_1$
		1002.	1003.	$C'O' + C_1'O_1' + C_1'O_5' + C'C'cyc$
993.		998.	998.	$C_5'C_6' + C'O' + C_1O_1$
		992.	992.	$C'O' + CO + C_1O_5 + C_5O_5$
	985.	987.	987.	$CO + C'O'$
970.	972.	969.	970.	$CO + CCcyc + CCO$
899.	898.	905.	906.	$C'C_6'H' + H'C_6'O' + C_5'O_5'$
891.	888.	886.	886.	$CC_6H + HC_6O + C_5O_5 + \tau C_6O_6$
746.	740.	741.	745.	$C_1O_1C_4' + CCO + CC_1O_1 + C_4'C'O_5'$
		731.	723.	$\tau C_1'O_1'$
		714.	711.	$\tau CO + \tau C_6O_6$
		686.	688.	$C_3'C_4'O_1 + C'C'O' + C'C_1'O_1' + C_1O_1C_4' + \tau CO$
		671.	673.	$C_5'C_4'O_1 + C'C'O' + OC_1O + CCO$
665.	660.	664.	662.	$\tau C_6'O_6' + CCO$
646.	640.	639.	641.	$CCO + CC_6O + C_6CO_5$
620.	615.	636.	637.	$CC_1O_5 + CCO + \tau C_6'O_6'$
		604.	605.	$CCO + C'C'O' + C_6'CO_5' + CCC$
		594.	584.	$\tau CO$
581.		580.	583.	$C'C'O' + \tau C'O' + C_4'C_5'C_6'$
	570.	569.	576.	$\tau C_6O_6 + \tau CO + C_4CO_5 + C'C'O' + CCO$
		562.	563.	$\tau C'O' + C'C'O'$
		548.	555.	$\tau C_6O_6 + \tau CO + CCO + O'C_1'O'$
		534.	533.	$CC_1'O_5' + C_4CO_5 + CCO + OC_1O$
		515.	518.	$\tau CO + \tau C_6O_6$
	498.	505.	507.	$O'C_1'O' + CC_1O_5 + CCO$
489.	486.	494.	487.	$CCO + C'C'O' + C_3'C_4'O_1 + C'O'C'$
472.	464.	473.	473.	$C'C_1'O_5' + C'C'C' + CCC + C'C_6'O' + C_4CO_5$
		452.	453.	$C'C'C' + C'C'O'$
439.		437.	436.	$\tau C'O' + CCC + CCO$
		432.	432.	$\tau C'O' + CCC + CCO$
429.	421.	425.	428.	$CCO + C'C'O'$
	411.	410.	410.	$C'C'O' + CCO$
371.	378.	375.	375.	$CCO + C_5C_6O$
	368.	362.	364.	$CCO + C'C'O' + O_5-HO_3'$
		359.	350.	$CC_1'O_1' + C'C'O' + CCO$
348.	347.	354.	347.	$C'C'O' + CCO + C_5C_6O$
	339.	340.	341.	$CCO + C'C'O' + \tau C'C'$



		334.	334.	$C'C'O' + O_5-HO_3' + C'C_6'O' + CCO$
		327.		$CCO + \tau C_5'C_6' + C'C_6'O' + CC_6O + \tau CC$
315.	317.	318.	322.	$CCO + C'C'O'$
302.	311.	310.	310.	$CCO + C_6'C'O_5' + \tau C_5'C_6'$
295.	289.		299.	$\tau C_5'C_6' + C_4'C_5'C_6' + C_5'C_4'O_1 + CCO$
	260.	286.	278.	$C_5'C_4'O_1 + CCO + C_4'C_5'O' + C_1O_1C_4' + OC_1O + O'C_1'O'$
245.	242.	243.	245.	$\tau C_5C_6 + CCO + C_6'C_4'O_1 + \tau C_6O_6$
		236.	237.	$C_4C_5C_6 + C_6C_5O + OC_1O + \tau C_5C_6$
221.	219.	219.		$C_4'C_5'C_6' + \tau C_5C_6' + C_1O_1C_4' + \tau C_5C_6 + C_5'C_6'O'$
213.	209.		216.	$H_{bintra} + CC_1O_1 + C_1O_1C_4' + C_3'C_4'O_1$
		198.	199.	$\tau CC + \tau C_5C_6 + CCC + C_6C_5O$
		197.	196.	$\tau C'C' + \tau C_5C_6' + C_4'C_5'C_6' + \tau CC + CC_1O_1$
187.	181.	180.	187.	$CC_1O_1 + C_3'C_4'O_1 + H_{bintra} + CCC + C'C'C'$
169.	168.	176.	167.	$C_6C_5O + CO_5C + OC_1O + \tau CO + C_3'C_4'O_1$
157.	156.	158.	162.	$C_4C_5C_6 + CCO + C_5'C_4'O_1$
		144.	145.	$CC_1O_1 + C_1O_1C_4' + OC_1O$
	137.		138.	$\tau C_5C_6 + H_{bintra} + C_4'C_5'C_6'$
126.	123.	122.	128.	$H_{bintra} + T_X + \tau C_4'O_1 + \tau C_1O_1 + \tau CO$
107.	111.	108.	110.	$C'C'C' + \tau C'C' + \tau C_5'O_5' + C'C'O'$
101.	103.	100.8	104.	$T_X + \tau C'C' + T_Z + CCO$
		93.2	94.	$R_A + R_B + \tau C_1'O_1' + T_X + \tau C'C' + \tau CC$
91.4			91.1	$R_C + T_Y + \tau C_1'O_1' + \tau C'C' + \tau C_5'C_6'$
77.		79.9		$T_Z + \tau C_1'O_1' + \tau C'C' + \tau CC$
68.		67.		$T_X + T_Z + H_{bintra} + R_A + \tau C_5C_6$
66.3			65.5	$R_B + R_A + R_C + \tau CC + \tau C_6'O_6' + CCO$
59.5		60.1		$T_Z + R_B + \tau C_4'O_1 + \tau C_1O_1 + \tau CO$
52.		48.7		$\tau C_5'C_6' + R_C + \tau C_1'O_1' + \tau C'O'$
43.			47.5	$R_A + T_Y + \tau C'C' + \tau C_4'O_1 + \tau C_1O_1 + \tau C'O'$
35.		35.9		$R_A + R_B + \tau C_5'C_6' + T_Z + \tau C'C'$

**Tableau V.8:** Tableau de comparaison des fréquences observées et calculées, et description des modes normaux de vibration du GENTIOBIOSE

Freq. observées		Fréquences calculées				Description des modes normaux de vibration
Raman	I.R.	A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	
3490.	3451.	3410.	3410.	3410.	3410.	O—H
bande	bande	3401.	3401.	3401.	3401.	O—H
		3396.	3396.	3396.	3396.	O—H
		3393.	3394.	3393.	3393.	O—H
		3390.	3390.	3391.	3391.	O—H
large	large	3390.	3389.	3389.	3389.	O—H
		3385.	3386.	3385.	3386.	O—H
3310.	3313	3368.	3368.	3368.	3368.	O—H
		2984.	2984.	2984.	2984.	C—H
2977.		2978.	2978.	2978.	2978.	C—H
		2977.	2976.	2977.	2977.	C—H
		2975.	2975.	2975.	2975.	C—H
		2969.	2969.	2969.	2969.	C—H
		2964.	2964.	2964.	2964.	C—H
		2955.	2955.	2955.	2955.	C—H
		2952.	2952.	2952.	2952.	C—H
2948.		2950.	2950.	2950.	2950.	C—H
	2938.	2945.	2945.	2945.	2945.	C—H
2922.	2913.	2914.	2914.	2914.	2914.	AS C <sub>6</sub> '
2895.	2895.	2905.	2905.	2906.	2905.	AS C <sub>6</sub>
		2879.	2879.	2879.	2879.	SS C <sub>6</sub> '
2850.		2870.	2870.	2870.	2870.	SS C <sub>6</sub>

1470.	1470.	1470.	1470.	1470.	1470.	HCH + HC5O5 + CCH + HC6O
		1467.	1466.	1467.	1466.	HCH + HC5O5 + CCH + CC6H
1455.	1450.	1455.	1455.	1455.	1455.	H'C'H' + H'C6'O' + C'C6'H'
1446.		1447.	1446.	1447.	1446.	COH + HCO + CCH
1431.	1428.	1427.	1426.	1426.	1426.	H'C5'O' + C'C'H' + H'C'O'
		1422.	1423.	1423.	1422.	H'C'O' + C'C'H' + H'C5'O' + C'O'H'
1414.		1415.	1415.	1415.	1415.	HCO + CCH + COH + H'C'O'
		1406.	1405.	1406.	1405.	HCO + HC1O1 + CCH + CC1H + COH
		1403.	1403.	1403.	1403.	C'C'H' + H'C1'O6' + H'C'O'
		1400.	1400.	1400.	1400.	H'C'O' + C'C'H' + COH + HCO + C'C1'H' + C'O'H'
1394.	1395.	1391.	1394.	1393.	1391.	HCO + C'O'H' + CCH + H'C'O' + COH
		1388.	1390.	1390.	1389.	H'C'O' + C'O'H' + C'C'H'
1382.		1386.	1387.	1386.	1387.	H'C'O' + HCO + COH + C'C'H'
1374.	1371.	1374.	1375.	1374.	1377.	HC6O + HCO + C'C'H' + C1OH
		1372.	1373.	1373.	1374.	C'C6'H' + H'C6'O' + C'C'H' + CC1H
		1367.	1368.	1368.	1366.	CC6H + HC6O + CCH + CC1H + HC1O5
	1361.	1359.	1358.	1359.	1357.	COH + C'O'H' + HC1O5 + HCO + CCH
		1356.	1355.	1354.	1356.	C6'O'H' + H'C'O5' + HC1O5
1354.		1353.	1353.	1353.	1354.	C6'O'H' + H'C'O5' + H'C1'O6
		1350.	1352.	1351.	1350.	HCO + COH + H'C'O5' + H'C'O' + HC1O5
1345.	1345.	1343.	1345.	1345.	1344.	COH + HCO + H'C'O'
		1333.	1326.	1327.	1333.	C'O'H' + C'C'H' + H'C'O'
		1323.	1322.	1322.	1323.	CCH + COH + HC6O
1320.	1322.	1321.	1320.	1320.	1321.	C'C'H' + C'O'H' + H'C6'O'
1314.		1310.	1310.	1310.	1310.	C'O'H' + C'C'H' + C'C1'H'
1304.	1300.	1302.	1301.	1302.	1301.	CCH + COH + C1OH
1292.		1293.	1294.	1294.	1293.	C'C'H' + C'O'H' + H'C1'O6
	1282.	1280.	1280.	1280.	1280.	CCH + C1OH + HC6O
1275.	1277.	1274.	1274.	1274.	1274.	C'C'H' + C'C6'H' + H'C6'O' + C'O'H'

1265.		1265.	1268.	1265.	1268.	CCH + CC1H + C1OH + HC1O5
1254.	1254.	1261.	1262.	1262.	1262.	C'C'H' + C'O'H' + H'C1'O6
1238.	1235.	1236.	1234.	1236.	1234.	CCH + C1OH + CC1H
1211.	1205.	1210.	1210.	1210.	1210.	CC6H + HC6O + C1O5 + C5O5
	1199.	1198.	1198.	1198.	1198.	C'C6'H' + H'C6'O' + C'C'H' + C5'O5' + C5'C6'
1173.	1170.	1172.	1171.	1172.	1171.	CCH + CO + C1O5 + C5C6 + HC1O
		1159.	1159.	1159.	1159.	C1'O6 + CCcyc + C'C'cyc + C'C'H' + CCH
1152.	1154.	1155.	1156.	1155.	1156.	CCcyc + CCH + C'C'cyc + C'C'H'
		1149.	1149.	1149.	1149.	C'C'H' + C'C'cyc + C1'O5' + C5'O5'
1142.		1141.	1139.	1139.	1141.	C'C'H' + C'C'cyc + C'O' + H'C6'O'
1130.	1133.	1137.	1137.	1137.	1138.	CCH + CCcyc + C'O' + C6O6 + HC6O
	1126.	1122.	1122.	1122.	1122.	C'C'cyc + C'C'H' + C'C1'H' + C'O' + C6O6
1116.	1116.	1107.	1107.	1107.	1107.	C5'O5' + C5O5 + C1'O6 + CCcyc + C'C'cyc
1102.	1098.	1100.	1102.	1101.	1102.	CCcyc + C'C'cyc + C5O5 + C5'O5' + CO + C'O'
		1099.	1100.	1099.	1100.	CCcyc + C1O1 + CCH + C1O5 + C5O5
		1083.	1084.	1085.	1081.	CCcyc + CO + CCH + C1O5 + C5O5
	1080.	1081.	1080.	1082.	1080.	C'C'cyc + C1'O5' + C'C'H' + C'O'
1068.	1071.	1064.	1063.	1064.	1064.	C'O' + CO + C1O1 + C1'O6
1057.	1055.	1053.	1053.	1053.	1053.	C6O6 + C'O' + C5'O5' + C1'O6 + H'C6'O'
		1051.	1051.	1051.	1051.	CO + C6O6 + CCcyc + C1O5 + C1O1 + CCH
1033.	1038.	1039.	1038.	1039.	1038.	C6'O6' + C'C'cyc + C5'O5' + C'C'H'
	1026.	1024.	1024.	1025.	1024.	C1'O5' + C'O' + C'C'cyc + C1O5 + CCcyc + CCH
		1018.	1017.	1017.	1018.	C1O5 + C1'O5' + C6'O6' + C5'C6'
1010.	1007.	1006.	1006.	1006.	1006.	C'O' + C6'O6' + H'C'O' + C'C'cyc
		1002.	1002.	1002.	1002.	C'O' + CO + C1O5 + C1O1
996.		995.	995.	995.	994.	CO + C'O' + CCcyc
		994.	993.	994.	993.	CO + CCcyc + C1O1 + CCH
970.		966.	967.	967.	966.	C'O' + C6O6 + C5O5 + C5C6 + CCcyc + C1O5
936.	929.	937.	938.	938.	938.	C6'O6' + C5'C6' + C5'O5' + C'C'H' + H'C6'O' + C'C6'H'

915.	913.	915.	916.	915.	916.	CC <sub>6</sub> H + HC <sub>6</sub> O + C <sub>1</sub> O <sub>6</sub>
908. ép	905. ép					
869.		874.	874.	874.	874.	C'C <sub>6</sub> 'H' + H'C <sub>6</sub> 'O' + C'C'H' + C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> '
738.	740.	740.	741.	740.	742.	CC <sub>6</sub> O + C <sub>6</sub> O <sub>6</sub> C <sub>1</sub> ' + O'C <sub>1</sub> 'O <sub>6</sub> + C <sub>6</sub> C <sub>5</sub> O
712.	717.	685.	684.	685.	684.	τ C <sub>6</sub> 'O <sub>6</sub> ' + C'C'O' + C'C <sub>6</sub> 'O' + C <sub>4</sub> 'C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> '
	668.	670.	669.	670.	669.	CCO + CC <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + C'C'O' + C'C <sub>6</sub> 'O'
	656.	660.	660.	660.	660.	CCO + C <sub>1</sub> 'O <sub>6</sub> C <sub>6</sub> + C'C <sub>6</sub> 'O' + C'C'O' + C'C <sub>1</sub> 'O <sub>6</sub>
640.	641.	647.	650.	647.	651.	τ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + C'C <sub>6</sub> 'O' + C <sub>6</sub> 'C <sub>5</sub> 'O' + CC <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + CCO
		631.	626.	631.	626.	τ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + CCO + C'C'O'
626.	620.	620.	622.	621.	622.	C'C <sub>1</sub> 'O <sub>5</sub> ' + CO <sub>5</sub> C + C'O <sub>5</sub> 'C' + CCO + CC <sub>1</sub> O <sub>5</sub>
	600.	604.	605.	605.	605.	OC <sub>1</sub> O + C <sub>4</sub> 'C <sub>5</sub> 'O' + C'C'O' + CCO + C <sub>4</sub> C <sub>5</sub> O
593.		592.	592.	593.	592.	CCO + OC <sub>1</sub> O + C <sub>6</sub> C <sub>5</sub> O + τ CO
585.	587.	583.	590.	587.	586.	C'C'O' + CCO + O <sub>5</sub> 'C <sub>1</sub> 'O <sub>6</sub> + τ CO + τ C <sub>1</sub> O <sub>1</sub>
570.	570.	572.	568.	570.	570.	τ CO + OC <sub>1</sub> O + τ C <sub>6</sub> 'O <sub>6</sub> '
540.	540.	551.	550.	549.	552.	C'C'O' + CCO + C <sub>1</sub> 'O <sub>6</sub> C <sub>6</sub> + C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> 'O' + C'C'C'
520.		518.	518.	518.	518.	τ C'O' + τ CO
512.		506.	506.	505.	506.	τ C'O' + C'C'O' + C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> 'O' + CCO
	500.	504.	503.	503.	503.	τ C'O' + C'C'O' + CCO
488.		486.	495.	491.	496.	CCO + τ CO + τ C'O' + C'C'O'
		485.	487.	485.	482.	τ CO + τ C'O'
		482.	470.	475.	476.	τ C'O' + τ CO + C'C'O' + C <sub>4</sub> 'C <sub>5</sub> 'C <sub>6</sub> '
468.	468.	460.	467.	468.	461.	CCC + C'C'C' + CCO + τ CO + C <sub>4</sub> 'C <sub>5</sub> 'O'
451.		448.	452.	451.	448.	C'C'C' + C'C'O' + τ C'O'
		443.	450.	449.	443.	CCC + C'C'C' + CO <sub>5</sub> C
		443.	440.	442.	441.	C'C'O' + CCC + C <sub>4</sub> C <sub>5</sub> O + τ CO + τ C'O' <sub>1</sub>
426.	427.	435.	427.	427.	435.	τ CO + τ C'O' + C'C'C' + C'C'O'
408.		408.	408.	406.	410.	CCO + CCC + CC <sub>1</sub> O <sub>1</sub> + CC <sub>1</sub> O <sub>5</sub> + C <sub>4</sub> C <sub>5</sub> O + C <sub>4</sub> 'C <sub>5</sub> 'O'
		366.	370.	369.	371.	CCO + C'C'O'
		361.	368.	366.	361.	C'C'O' + C <sub>1</sub> 'O <sub>6</sub> C <sub>6</sub> + C <sub>4</sub> C <sub>5</sub> C <sub>6</sub>

353.	358.	357.	353.	353.	359.	CCO + C'C'O'
		351.	347.	346.	351.	C'C'O' + O5'C1'O6 + τ C1'O6
		348.	344.	345.	346.	CCO + C'C'O' + OC1O + CC1O1
330.		332.	338.	334.	337.	CC1O1 + OC1O + CCO + C'C'O' + C'C1'O5'
		323.	320.	322.	321.	C'C'O' + OC1O + C6C5O + C4C5C6 + τ C5C6
315.	315.	318.	319.	319.	320.	C'C'O' + C4'C5'C6' + τ C5'C6' + CCO
		305.	305.	304.	307.	CCO + C'C'O'
		296.	299.	298.	294.	C'C'O' + CCO + C4'C5'C6' + τ C5'C6'
282.	280.	292.	288.	290.	289.	C'C'O' + C6'C5'O' + C4'C5'C6' + τ C5'C6'
260.	260.	248.		247.		CO5C + τ C1O5 + τ CC + C'C1'O6 + C'C'O' + CC1O5
239.			244.		245.	CO5C + τ CC + C1'O6C6 + CC1O5 + CCC + τ C5'C6'
	228.	224.	228.	231.	221.	τ CC + τ C5'C6' + C4'C5'C6'
224.		219.	216.	222.	213.	τ C'C' + τ C5'C6' + τ C6O6 + τ C1'O6
202.			209.	213.		CO5C + C2'C1'O6 + τ CO + τ C'C' + CCO + C'C'O'
194.	193.	189.			189.	τ C5'C6' + τ CC + τ C1'O6
185.		180.	180.	182.	180.	τ C4C4 + C4C1'O6 + τ C'O' + τ CO
	175.		173.	170.		τ CC + τ C5'C6' + C6C5O + CC6O + CCO
158.		159.			164.	τ CC + CCC
151.		149.	147.	153.	151.	τ C'C' + τ C1'O5' + τ C5'O5' + C'C'C' + C'C1'O6
		141.	146.		146.	τ CC + τ C'C'
	136.		136.	135.		τ C6'O6' + τ C'C' + RA + RC + C1'O6C6 + C'O5'C'
		128.		127	131.	τ CC + τ C5C6
124.		125.	121.		126.	τ CC + τ C'C'
115.		117.		117.	112.	RA + τ C'O' + τ C5C6
106.			110.		105.	RB + RC + τ CC + τ C'C' + τ C5C6 + τ CO
97.		99.2	100.	99.2		τ CO + RA + τ C'O'
		94.7		90.6	95.8	RB + RA + RC + τ CO
86.5		84.1	84.3	89.6		RC + TY + τ C'C' + τ CC
		76.6		78.9	80.3	τ CO + RB + C1'O6C6 + TY + C'C1'O6

68.8		75.4	67.3	67.2	$\tau C1'O6 + RA + \tau C6O6 + \tau C'O'$
64.		62.6			$RC + RB + \tau C'C' + CC_6O + C6C_5O + TX$
	58.5			59.5	$TY + \tau C1'O6 + RB + \tau C6O6 + RC$
51.			51.6	55.3	$TY + RB + \tau C'C' + RC + \tau CO + C'C'C'$
			48.1		$RB + TZ + \tau C1'O6 + TY + \tau CC + \tau C1O1$
36.	37.2	35.3			$TZ + RC + \tau C'O'$
27.	29.7	33.5			$TX + RB + RA$

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La chimie des saccharides en général est un domaine de la biochimie et de la biologie très complexe, très varié et très riche. Longtemps considéré comme molécules denuées de tout intérêt, les "sucres" n'avaient pas été considérés avec attention. Or, on commence à appréhender maintenant leur rôle primordial dans de nombreux phénomènes biochimiques et médicaux. Le nombre de structures primaires connues s'est alors largement accru par suite de l'intérêt qui leur était porté.

Cependant, la compréhension du ( ou des ) mécanisme (s) d'action d'une molécule ne peut s'exprimer seulement en terme de structure primaire mais doit obligatoirement passer par une connaissance détaillée de la structure tridimensionnelle.

Or, les informations expérimentales sont pour l'instant trop rares, et les calculs théoriques de modélisation moléculaire s'avèrent indispensables. Toutefois, l'étude réalisée dans ce travail sur le glycanne biantenné monofucosylé disialylé, montre plusieurs points très importants:

La conformation générale tridimensionnelle du glycanne ne peut s'interpréter uniquement comme la superposition des conformations les plus favorables énergétiquement de chaque liaison glycosidique. Ceci est principalement dû à la ramification de la molécule et aux liaisons glycosidiques autres que 1—4 ou 1—6 qui amènent de fortes contraintes et des gênes stériques énormes.

La flexibilité très importante du glycanne est observée avec les différentes structures spatiales obtenues. Mais, de par la stratégie utilisée, est ce que toutes les structures possibles ont été envisagées?

Toutes les structures obtenues ont en commun la minimisation d'énergie potentielle ( ici utilisation d'un champ de force Tripos 5.3 non spécifique des saccharides ). La structure minimisée déterminée dépend donc de la forme de la fonction énergie potentielle utilisée et des paramètres de cette fonction qui y sont associés.

Toutes ces constatations nous ont amenées à effectuer un calcul de dynamique moléculaire en utilisant là encore le champ de force Tripos 5.3. Si celui-ci s'est avéré apte à reproduire correctement une géométrie, il semble inapproprié pour pour ce type d'étude des saccharides.

Ce fait est comparable aux résultats antérieurs obtenus pour les protéines et pour les acides nucléiques. Une base de paramètres spécifiques de la fonction potentielle fiables et transférables s'est donc avéré indispensable.

Une telle base a été déterminée pour les anomères du glucose à l'aide d'une fonction potentielle capable de reproduire parfaitement les spectres de vibration. Dans ce cas, la fonction énergie potentielle et ses paramètres ont été déterminés de sorte que le minimum d'énergie soit vérifié pour la structure cristalline utilisée. L'ensemble des paramètres intramoléculaires et intermoléculaires obtenus pour la forme  $\alpha$  du glucose ont été transférés à la forme  $\beta$  avec seulement les modifications liées à l'anomérisation. On peut constater que les charges partielles sont importantes dans la reproduction de zone de vibration de basses fréquences.

Il était ensuite essentiel de transférer les paramètres à des structures plus complexes et de vérifier leur validité. Cela a été réalisé avec succès sur différents disaccharides, composés de glucose, présentant des configurations et positions différentes de la liaison glycosidique.

La reproduction des spectres de vibration est là encore très correcte et l'affinement des paramètres a porté principalement sur les groupements atomiques mis en jeu dans la liaison glycosidique et dans le réseau de liaison hydrogène. Cependant, concernant ce dernier point, les valeurs ne diffèrent pas outre mesure et ne pose pas problème quant à l'utilisation des paramètres à des molécules plus complexes.

Il est important de noter que dans ces calculs de disaccharides, les interactions angulaires trans, gauches, nécessaires dans les formes du glucose, ne sont pas indispensables dans l'étude des disaccharides.

Cette base de paramètres, complétées par des travaux sur les forme du galactose, la glucosamine, les acide sialique et neuraminique, va dans un avenir proche être utilisée dans le logiciel de modélisation moléculaire AMBER. Celui-ci est actuellement modifié au laboratoire pour prendre en compte les termes d'énergie de la fonction potentielle Urey-Bradley-Shimaouchi modifiée adaptée à la reproduction des spectres de vibration.

Ce logiciel implanté sur un gros ordinateur devrait permettre de reprendre l'étude du glycanne biantenné avec cette fois-ci des paramètres plus fiables et spécifiques des saccharides, des temps de simulation beaucoup plus importants ( de l'ordre de la nanoseconde ) et en tenant compte de molécules de solvant. Les résultats devraient être alors plus proches de la réalité. Cependant, il ne faut pas oublier que les glycannes sont attachés à une macromolécule et que donc les trajectoires obtenues en molécule isolée ou

solvatée ne correspondent certainement pas à celles qui seraient obtenues sous la contrainte de la chaîne peptidique.

Pour terminer les perspectives d'avenir, il serait intéressant de compléter la base de paramètres par des études de modes normaux de vibration sur d'autres monosaccharides ( fucose, fructose par exemple ) et par celles de disaccharides présentant des compositions diverses ( lactose, lactosamine, diacétylchitobiose, mannobiose....).

L'ensemble de ces paramètres associés à ceux obtenus pour les protéines et les acides nucléiques, permettront alors toute modélisation moléculaire de systèmes biochimiques complexes.

