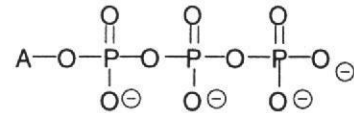
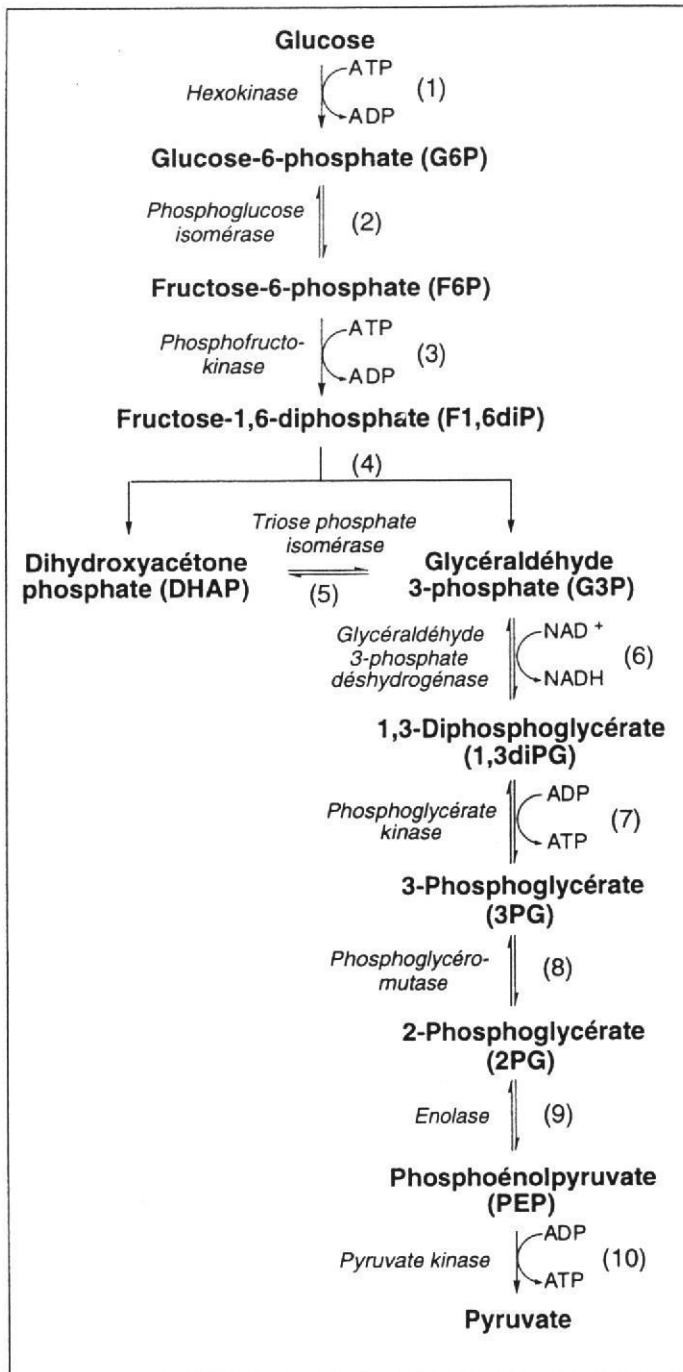
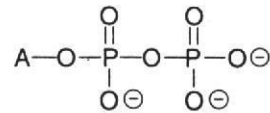


I - LA GLYCOLYSE

La glycolyse est la séquence de réactions qui transforment le glucose en pyruvate avec production simultanée d'ATP. Dans les organismes aérobies, la glycolyse précède le cycle de l'acide citrique et la chaîne de transport des électrons. Dans des conditions aérobies, le pyruvate pénètre dans la mitochondrie où il est complètement oxydé en CO_2 et H_2O . Si l'apport d'oxygène est insuffisant, comme dans un muscle en pleine contraction, le pyruvate est converti en lactate. Dans certains organismes anaérobies, comme par exemple la levure du boulanger, le pyruvate est transformé en éthanol. La formation d'éthanol et de lactate à partir du glucose sont des exemples de fermentation. On va étudier en détail les étapes de la glycolyse, qui sont représentées ci-dessous :

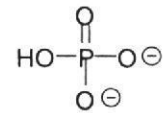


ATP (ATP⁴⁻)

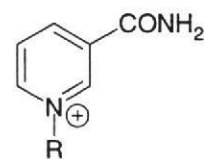


ADP (ADP³⁻)

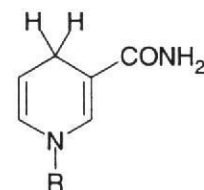
A = Adénosyl



Pi (Pi²⁻)

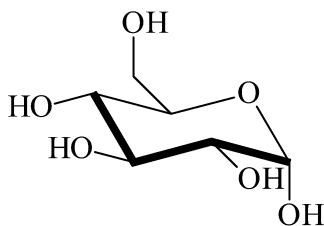


NAD⁺



NADH

R = Adénine dinucléotide

A- Le glucose α -D-glucose

1- Représenter les structures spatiales des stéréoisomères suivants de l' α -D-glucose :

1.1- son énantiomère

1.2- son anomère (son épimère au niveau du carbone hémiacétalique) : le β -D-glucose

1.3- un autre de ses épimères.

2- En solution aqueuse, on observe que le glucose se présente sous la forme de 64 % d'isomère β et 36 % d'isomère α .

2.1- Indiquer une méthode spectroscopique permettant de distinguer ces deux formes.

2.2- Pourquoi la forme β est-elle plus stable ?

2.3- Écrire un mécanisme pour la réaction permettant de passer de l'isomère α à l'isomère β en présence d'ions H_3O^+ .

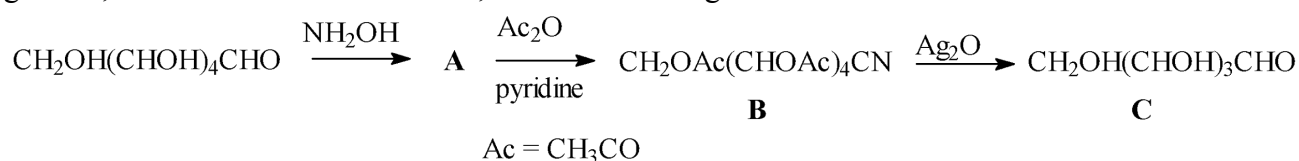
3- Lorsqu'on dissout de l' α -D-glucose dans l'eau, on mesure une déviation du plan de polarisation d'une lumière polarisée rectilignement de 112° . La mesure est prise dans une cuve d'une longueur de 10 cm avec une solution composée de 10 mg de glucose dans 1 mL d'eau. Cette valeur décroît avec le temps pour atteindre la valeur de $52,7^\circ$.

3.1- Comment interpréter ce phénomène ?

3.2- Rappeler ce qu'est le pouvoir rotatoire spécifique et calculer celui du β -D-glucose.

4- Le glucose de structure cyclique de type pyranose (cycle oxygéné à six chaînons représenté ci-dessus) est en équilibre avec une structure acyclique. Représenter cette structure acyclique en projection de Fischer. Quelles sont les configurations des centres asymétriques de ce composé ?

5- La dégradation de Whöl permet, en utilisant la suite de réactions ci-dessous, de passer du glucose, sucre à 6 atomes de carbone, au sucre homologue à 5 atomes de carbone.



5.1- Donner la structure du composé **A** et proposer un mécanisme pour sa formation en catalyse acide.

5.2- Donner le mécanisme de la réaction qui mène à **B**.

5.3- Sachant que l'oxyde d'argent a la même action sur **B** que l'ion hydroxyde, expliciter le mécanisme de la réaction qui conduit de **B** à **C**.

6- Inversement, on peut allonger d'un atome de carbone la chaîne d'un sucre en utilisant la synthèse de Kiliani-Fischer résumée ci-dessous.

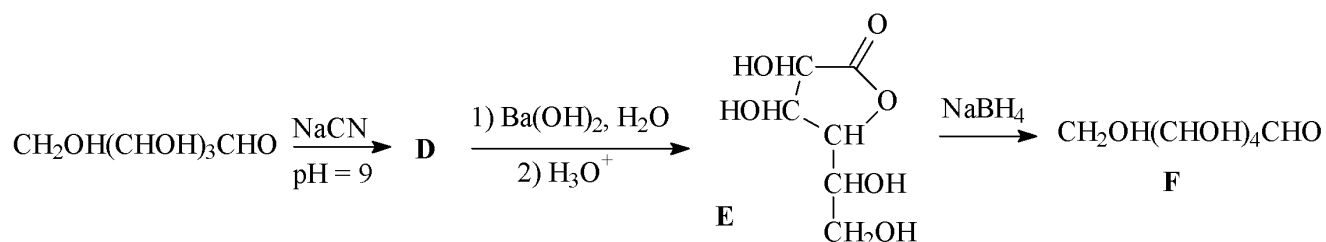
6.1- Donner la structure du composé **D** et proposer un mécanisme pour sa formation.

6.2- Donner le mécanisme des réactions qui mènent à **E**.

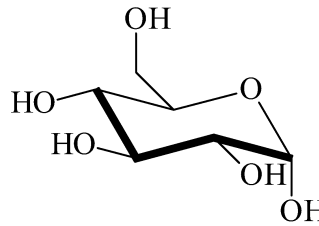
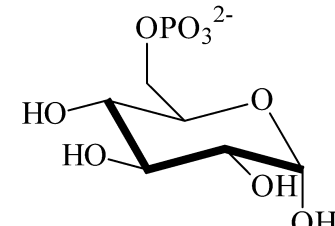
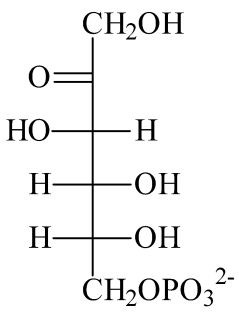
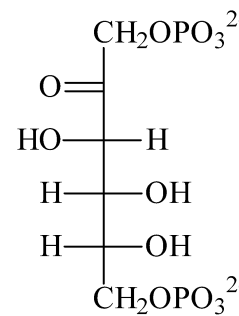
6.3- Expliciter le mécanisme de la réaction qui conduit de **E** à **F**. Que peut-on dire de la réactivité de la lactone **E** (on appelle lactone un ester cyclique) ?

6.4- Que peut-on dire de la stéréochimie du nouveau centre asymétrique du composé **F** synthétisé de la manière ci-dessous ?

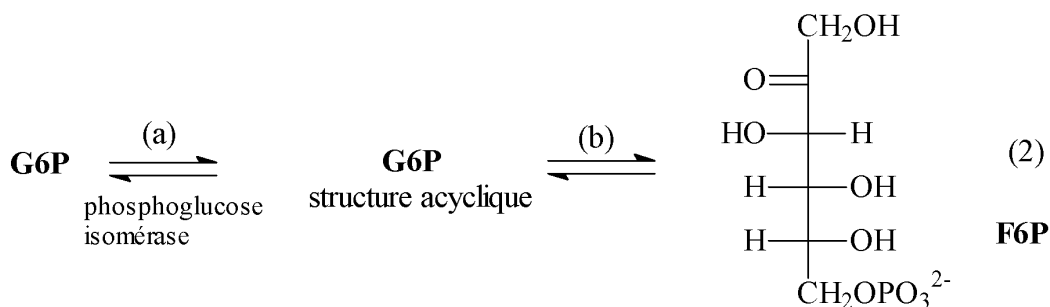
6.5- Sachant que la méthode de Kiliani-Fischer n'est pas utilisée en général pour la préparation de sucres, à quoi peut-elle servir ?



B- Formation du fructose-1,6-diphosphate (F1,6diP) à partir du glucose : étapes (1), (2) et (3)

 α-D-glucose	 Glucose-6-phosphate (G6P)
 Fructose-6-phosphate (F6P)	 Fructose-1,6-diphosphate (F1,6diP)

1- Après phosphorylation (1), le glucose-6-phosphate (G6P) est isomérisé en fructose-6-phosphate (F6P) en plusieurs étapes par la phosphoglucose isomérase (2) :



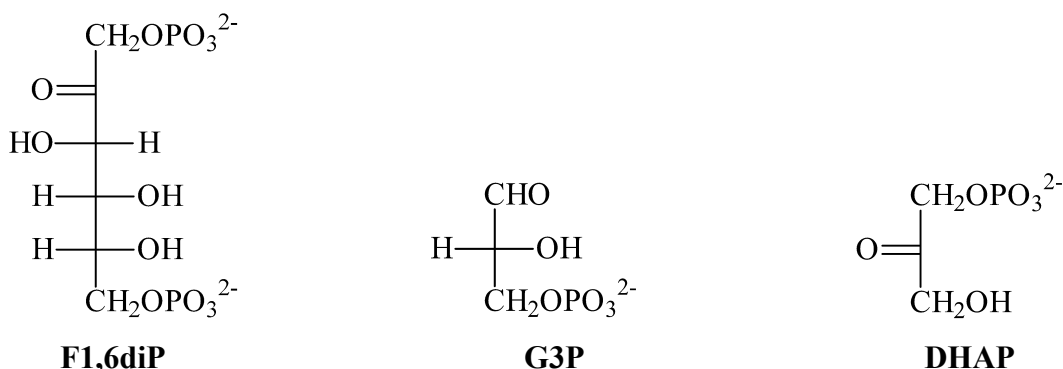
1.1- Un des intermédiaires de cette isomérisation est le G6P sous sa forme acyclique. Représenter cette structure acyclique en projection de Fischer.

1.2- Proposer un mécanisme pour l'étape (b) faisant intervenir une catalyse par le couple acidobasique BH^+/B , sachant qu'un des intermédiaires réactionnels a une structure de type éne-diol.

1.3- En fait, le F6P existe en solution aqueuse sous la forme d'une structure cyclique de type furanose (cycle oxygéné à cinq chaînons). Représenter en projection de Haworth (cycle plat, substituants verticaux vers le haut ou vers le bas) les deux isomères possibles de cette structure.

2- Le F6P est ensuite transformé en fructose-1,6-diphosphate (F1,6diP) par l'ATP (3). Écrire l'équation-bilan de cette réaction (3).

C- Formation du glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) à partir du fructose-1,6-diphosphate (F1,6diP) : étapes (4) et (5)



1- L'aldolisation

1.1- Écrire le mécanisme d'une réaction d'aldolisation entre l'acétone et le benzaldéhyde en présence de soude.

1.2- Qu'est-ce qui caractérise toutes les étapes élémentaires de cette condensation ?

1.3- Si le benzaldéhyde est en léger excès par rapport à l'acétone, un produit secondaire est formé. Donner sa structure. On observe aussi la formation de ce produit si le benzaldéhyde et l'acétone sont présents dans un rapport 1 pour 1. Imaginer un moyen expérimental pour limiter la formation de ce produit.

1.4- Pourquoi n'obtient-on pas de produit de condensation de l'acétone sur elle-même ? Imaginer un procédé expérimental à utiliser pour obtenir ce produit avec un bon rendement.

1.5- Le benzaldéhyde peut aussi conduire à un produit secondaire en présence de soude. Donner sa structure et le mécanisme de sa formation.

1.6- Donner la structure des produits résultant de la réaction de l'acétone avec le propanal en présence de soude. Que peut-on en conclure ?

1.7- En considérant l'acidité comparée de l'éthanol et des protons en α de la fonction cétone, l'éthylate de sodium (EtONa) peut-il arracher un proton en α de la fonction cétone ? Les réactions d'aldolisation catalysées par la soude ou l'éthylate de sodium sont-elles sous contrôle cinétique ou thermodynamique ? Expliquer.

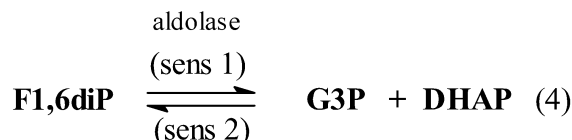
1.8- La condensation de l'acétone sur le propanal peut être réalisée à l'aide d'une base très forte, le diisopropylamide de lithium (LDA), avec 85% de rendement. Le protocole expérimental est le suivant : l'acétone, en solution dans le THF (tétrahydrofurane) à -78°C , est traitée par un équivalent de LDA, puis on rajoute le propanal, et on ajoute ensuite de l'eau au mélange réactionnel. Quel est le produit obtenu ? Cette réaction se fait-elle sous contrôle cinétique ou thermodynamique ? Expliquer.

1.9- L'aldolisation entre la 2-butanone et l'éthanal fournit un seul produit, dont le spectre RMN du proton (60 MHz, CDCl_3) est décrit ci-dessous, avec 75% de rendement. Rappeler brièvement le principe de la RMN, en expliquant pourquoi les déplacements chimiques sont en ppm et les constantes de couplage en hertz. Interpréter ce spectre et écrire la structure de ce composé. Que peut-on en conclure ?

Les pics sont décrits de la manière suivante : déplacement en ppm (multiplicité, intégration, constante de couplage) avec s = singulet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet et m = multiplet.

1,05 (t, 3H, $J = 7\text{ Hz}$)	2,60 (q, 2H, $J = 7\text{ Hz}$)
1,20 (d, 3H, $J = 6\text{ Hz}$)	4,00-4,60 (m, 1H)
2,20-2,60 (m, 2H)	4,10 (s, disparaît quand on ajoute D_2O)

2- La réaction (4) de fragmentation du F1,6diP en glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) et en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) est catalysée par une aldolase :



Le site actif de l'aldolase qui catalyse la réaction (4) peut être schématisé par

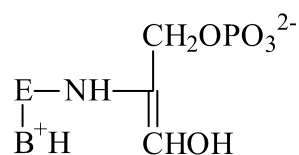


2.1- Dans le sens 1, la réaction (4) peut être catalysée au laboratoire par de la soude. Proposer un mécanisme pour cette réaction.

On va s'intéresser à la réaction (4) dans le sens 2, qui est l'inverse de la réaction qui a effectivement lieu lors de la glycolyse.

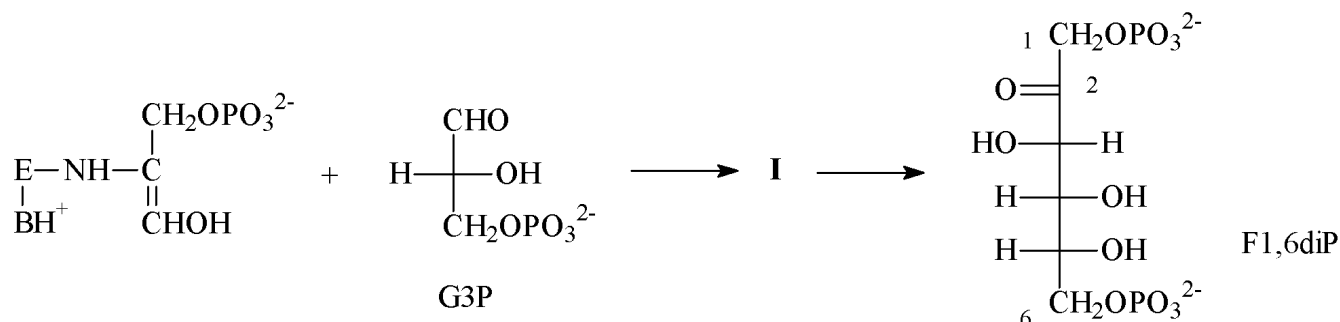
2.2- Dans le sens 2, DHAP se fixe au site actif de l'enzyme pour former intermédiairement une imine protonée. Écrire le mécanisme de la réaction qui conduit à cet intermédiaire.

2.3- L'imine protonée précédente s'isomérise en énamine de structure :



Proposer un mécanisme pour cette réaction.

La condensation de l'énamine précédente sur le G3P conduit à un intermédiaire **I** contenant une fonction imine protonée dont l'hydrolyse conduit au F1,6diP :

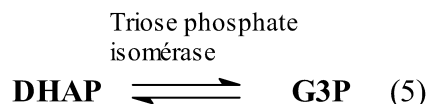


2.4- Proposer un mécanisme pour la réaction de formation de cet intermédiaire **I** et donner sa structure en projection de Fischer.

2.5- Dessiner en projection de Fischer tous les isomères de **I** pouvant provenir de la condensation de l'énamine sur le G3P.

2.6- La réaction de formation de **I** est-elle stéréosélective ? Expliquer.

3- Seul G3P est sur le chemin direct de la glycolyse. DHAP ne l'est pas et est transformé en G3P par la triose phosphate isomérase :



A l'équilibre à 25° C et à pH = 7, il y a 96% de DHAP et 4% de G3P.

3.1- Calculer le $\Delta_r G^\circ$ de la réaction(5) à 25° C et à pH = 7.

3.2- Sachant que dans les conditions de la glycolyse à 25°C, $\Delta_r G^\circ = + 2,50 \text{ kJ.mol}^{-1}$, calculer les pourcentages de DHAP et de G3P dans ces conditions. Pourquoi se forme-t-il des quantités importantes de G3P lors de la glycolyse ?

D- Formation du 2-phosphoglycérate (2PG) à partir du glucose-3-phosphate (G3P) :
étapes (6), (7) et (8)

$ \begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OPO}_3^{2-} \\ \text{G3P} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{COOPO}_3^{2-} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OPO}_3^{2-} \\ \text{1,3diPG} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OPO}_3^{2-} \\ \text{3PG} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OPO}_3^{2-} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{2PG} \end{array} $
--	---	--	--

Le G3P est tout d'abord transformé en 1,3diGP à l'aide de NAD^+ . Cette réaction, qui s'accompagne de consommation de phosphate, est catalysée par la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase.

1- Donner une suite de réactions chimiques qui permettraient d'effectuer cette transformation au laboratoire.

2- Écrire les demi-équations d'oxydoréduction des couples NAD^+/NADH et 1,3diGP/G3P et l'équation-bilan de la réaction(6).

3- Sachant que $\Delta rG^\circ = + 6,28 \text{ kJ.mol}^{-1}$, à 25° C et à $\text{pH} = 7$ pour la réaction (6), calculer la valeur du potentiel redox du couple 1,3diGP/G3P dans les mêmes conditions.

On donne : $E^\circ(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = - 0,32 \text{ V}$ à 25° C et à $\text{pH} = 7$, et $F = 96500 \text{ C}$ (constante de Faraday).

4- Quelle doit être la valeur du rapport $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ pour que $\Delta rG = - 1,67 \text{ kJ.mol}^{-1}$, à 25° C et à $\text{pH} = 7$ et que la réaction soit totale ($[1,3\text{diGP}]/[\text{G3P}] = 10^3$) ?

On prendra $[\text{P}_i^{2-}] = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. On donne $R = 8,32 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

5- L'enzyme qui catalyse la réaction (6) comporte une fonction thiol. On la symbolisera par E-SH. Cette fonction thiol attaque la fonction aldéhyde du G3P, et il y a ensuite un transfert d'hydrure vers NAD^+ , puis attaque du phosphate sur le thioester précédemment formé. Écrire le mécanisme de la réaction (6) catalysée par E-SH.

Le 1,3diGP est ensuite converti en 2PG en deux étapes : hydrolyse de l'anhydride mixte et transfert du groupe phosphate de la position 3 à la position 2 du glycérate.

E- Formation du pyruvate à partir du 2-phosphoglycérate (2PG) : étapes (9) et (10)

$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OPO}_3^{2-} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{2PG} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{C}-\text{OPO}_3^{2-} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \text{PEP} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \text{Pyruvate} \end{array}$
--	---	--

Le 2PG est d'abord transformé en PEP (9).

1- Quels réactifs chimiques pourrait-on utiliser pour effectuer cette transformation ?

Le PEP est ensuite hydrolysé en pyruvate (10).

2- Expliquer pourquoi $\Delta rG^\circ = - 61,9 \text{ kJ.mol}^{-1}$, à 25° C et à $\text{pH} = 7$, pour la réaction (10), alors que pour l'hydrolyse du phosphate d'un alcool aliphatique secondaire dans les mêmes conditions, $\Delta rG^\circ = - 12,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

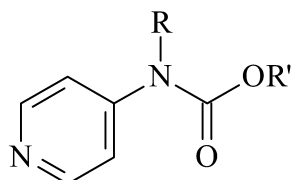
3- En tenant compte du schéma général de la glycolyse :

3.1- Faire le bilan des molécules d'ATP consommées ou libérées par mole de glucose dégradé.

3.2- Conclure brièvement sur le bilan énergétique de la glycolyse, en considérant le fait que la formation d'une molécule d'ATP à partir d'une molécule d'ADP est une opération qui consomme de l'énergie.

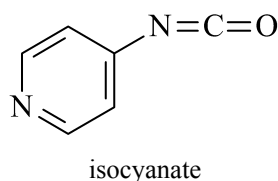
II- HYDROLYSE BASIQUE DES CARBAMATES

Les carbamates pyridiniques sont utilisés comme pesticides. Lors de l'utilisation d'un pesticide, deux domaines sont concernés : la cible sur laquelle le pesticide exerce son action et le milieu environnant dans lequel il est considéré comme un contaminant. Dans ce milieu, sa dégradation est importante : l'une des voies de dégradation est biologique ; l'autre, chimique, est constituée d'une réaction d'hydrolyse de la fonction ester de la molécule. On va étudier le mécanisme de cette réaction d'hydrolyse dans différentes conditions, dans le cas des carbamates pyridiniques de formule générale :



Plusieurs mécanismes peuvent intervenir :

- dans le cas général, un mécanisme bimoléculaire de type $B_{AC}2$, consistant en une attaque nucléophile par HO^- qui conduit réversiblement à un intermédiaire tétraédrique (constantes de vitesse k_2 et k_{-2}) puis à la base conjuguée d'un acide carbamique (constante de vitesse k_3 très grande devant k_2 et k_{-2}) ;
- dans le cas où R est un hydrogène, un mécanisme monomoléculaire de type $E1_{CB}$ qui débute par une étape rapide et réversible de déprotonation de l'azote par HO^- (constante d'acidité associée au couple $HS/S^- : K_a$), suivie de l'élimination de RO^- pour donner l'isocyanate représenté ci-dessous (étape limitante de constante k_1). Cet isocyanate, par action de HO^- , donne la base conjuguée de l'acide carbamique.



Dans les deux cas, la base conjuguée de l'acide carbamique se décompose pour donner une 4-aminopyridine.

1- Écrire les mécanismes réactionnels décrits ci-dessus.

2- Déterminer, pour chacun des mécanismes, l'expression de la loi de vitesse d'hydrolyse d'un carbamate.

3- On se propose de vérifier ces lois de vitesse. Pour le composé où $R = H$ et $R' = CH_3$, par exemple, on introduit dans le milieu le substrat et de la soude en large excès. On observe alors une loi de vitesse du pseudo premier ordre :

$$v = k.[HS]_t$$

où $[HS]_t$ représente la concentration totale en substrat, protoné et déprotoné.

La mesure de k à différents pH donne les résultats suivants :

pH	12,42	12,82	13,12	13,42	13,82	14,10	14,30	14,42
$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	0,005	0,011	0,020	0,038	0,076	0,090	0,091	0,091

3.1- Tracer la courbe de variation $\log k = f(\text{pH})$.

3.2- En tenant compte des équilibres acido-basiques réalisés quasi-instantanément, montrer que le graphe est en accord avec les lois de vitesse correspondant aux deux mécanismes en considérant deux zones de pH : dans la première on négligera $[S^-]$ devant $[HS]$,

et dans la seconde [HS] devant [S⁻]. Ce graphe permet-il de trancher entre les deux mécanismes ?

Déterminer graphiquement le pK_a du composé étudié.

3.3- Expliquer pourquoi le pK_a du couple HS/S⁻ du carbamate étudié ci-dessus a une valeur beaucoup plus basse que celui du couple R₁R₂NH/R₁R₂N⁻ des amines secondaires (où R₁ et R₂ sont des groupes alkyles).

4- Pour identifier le mécanisme d'hydrolyse, on établit la relation de Brønsted relative à l'influence du groupe partant sur le mécanisme :

$$\log(k_{\text{OH}}) = \beta \cdot \text{pK}_a + \text{constante}$$

Cette relation est obtenues à partir des lois de vitesse de l'hydrolyse des carbamates :

$$k_{\text{OH}} = k / [\text{HO}^-]$$

et du pK_a du groupe partant (phénol ou alcool).

Appliquée à une série de carbamates, elle permet de distinguer deux familles de composés :

• quand R = H :

- pour R' = C₆H₅, pNO₂C₆H₄, mClC₆H₄, Cl₃CCH₂
l'expression est $\log(k_{\text{OH}}) = -1,38 \cdot \text{pK}_a + 15,05$
- pour R' = CH₃, CH₃OCH₂CH₂, CH₃CH₂
l'expression est $\log(k_{\text{OH}}) = -0,10 \cdot \text{pK}_a + 1,98$

• quand R = CH₃ :

- l'expression est $\log(k_{\text{OH}}) = -0,10 \cdot \text{pK}_a + 1,98$
aussi bien pour R' = CH₃ que pour R' = C₆H₅.

4.1- Rappeler pourquoi les phénols sont plus acides que les alcools.

4.2- Dans l'hypothèse d'un mécanisme unique pour chaque famille de composés, attribuer à chacune d'entre elles le mécanisme qui convient.

5- Les étapes déterminant la vitesse de réaction selon les mécanismes E1_{CB} et B_{AC}2 n'étant pas de même nature, leurs entropies d'activation sont différentes. On détermine ainsi ces valeurs pour les deux composés suivants :

$$\text{R} = \text{H} \quad \text{R}' = \text{CH}_3 \quad \Delta S^\ddagger = -108 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

$$\text{R} = \text{H} \quad \text{R}' = \text{C}_6\text{H}_5 \quad \Delta S^\ddagger = +4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

Expliquer pourquoi ces valeurs sont conformes aux attributions précédentes de mécanismes.

6- On effectue une hydrolyse du carbamate où R = H et R' = CH₃ dans un récipient hermétique : à 1 litre de soude 10⁻² mol.L⁻¹, on ajoute 10⁻² moles de ce carbamate. On observe une diminution du pH par rapport à la solution de soude initiale.

6.1- Écrire l'équation-bilan de l'hydrolyse de ce carbamate en milieu HO⁻.

6.2- Calculer la valeur du pH après hydrolyse.

On donne : pK_a(CO_{2aq}/HCO₃⁻) = 6,3 et pK_a(HCO₃⁻/CO₃²⁻) = 10,3

7- On ajoute à la solution précédente, après hydrolyse du carbamate, de l'hydroxyde de calcium monohydrate. Quelle masse de ce composé doit-on ajouter pour observer un précipité ? On donne : M(Ca) = 40 g.mol⁻¹

Solubilité du carbonate de calcium dans l'eau : $S = 1,4 \cdot 10^{-3} \text{ g/100 mL}$ à 25°C