

EXAMEN DE CULTURE SCIENTIFIQUE

CHIMIE

Le problème est divisé en trois parties. La **partie I** est entièrement obligatoire. Les **partie II** et **III** comprennent chacune des questions obligatoires au début et une rubrique optionnelle (II.4* et III.4*, les numéros des questions optionnelles sont repérés par une étoile et sont en italique). Vous devez traiter l'ensemble des questions obligatoires ainsi qu'une rubrique optionnelle au choix II.4* ou III.4*.

PROBLEME:

Dans ce problème, nous allons étudier certains aspects de la conception et de l'activité de petites molécules mimes de l'enzyme antioxydante superoxyde dismutase (SOD). L'enzyme et les mimes synthétiques catalysent la dismutation du radical superoxyde O_2^- en peroxyde d'hydrogène et dioxygène. Dans les cellules, les SOD régulent la concentration de superoxyde et les protègent ainsi de sa toxicité. Trois formes de l'enzyme existent chez l'homme. Nous nous intéresserons particulièrement à l'enzyme SOD2 dans les mitochondries, dont le centre réactif présente un atome de manganèse. Les SODs sont des enzymes extrêmement efficaces dont la vitesse de réaction est proche de la limite de diffusion.

• **PARTIE I:**

1. L'anion superoxyde.

I.1.1. Le numéro atomique de l'oxygène est $Z = 8$. Ecrire la configuration électronique de l'élément O dans son état fondamental.

I.1.2. Orbitales Moléculaires

I.1.2.1. Combien d'orbitales atomiques doivent être prises en compte pour la construction du diagramme d'orbitales moléculaires de la molécule de dioxygène O_2 ?

I.1.2.2. La différence d'énergie entre les niveaux d'énergie des orbitales atomiques 2s et 2p est grande. Parmi les interactions suivantes : 2s-2s; 2s-2pz; 2pz-2pz; 2pz-2px; 2px-2px, dessiner celles qui sont possibles et donner le type d'orbitale moléculaire obtenu (l'axe de la liaison sera définie selon l'axe z).

I.1.2.3. Pour O_2 , l'orbitale liante 2pz-2pz est plus basse en énergie que l'orbitale liante 2px-2px. Construire le diagramme d'orbitales moléculaires du dioxygène en indiquant les interactions, la nature des orbitales atomiques et moléculaires et le remplissage des électrons.

I.1.2.4. D'après ce diagramme, conclure sur les propriétés magnétiques du dioxygène. Justifier.

I.1.3. Ecrire la structure de Lewis de l'anion superoxyde. La distance interatomique est-elle plus courte ou plus longue dans le superoxyde que dans le dioxygène ?

I.1.4. Quel est le nombre d'oxydation de l'oxygène dans l'anion superoxyde ?

I.1.5. Les potentiels redox standards en conditions physiologiques (pH 7, T = 25 °C) des couples redox impliquant le superoxyde sont : $O_2/O_2^{\cdot -}$ $E^{\circ'} = -0.16$ V vs ENH (électrode normale à hydrogène) et $O_2^{\cdot -}/H_2O_2$ $E^{\circ'} = +0.89$ V vs ENH.¹

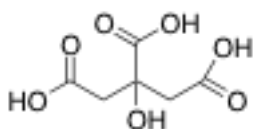
I.1.5.1. Ecrire l'équation de dismutation du superoxyde à pH 7 en précisant les demi-équations.

I.1.5.2. Pour chaque demi-équation de la question précédente, écrire les équations de Nernst pour les couples redox correspondants. Dans chaque cas, donner la relation entre E° et $E^{\circ'}$.

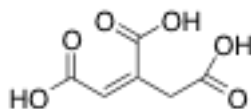
I.1.5.3. Ecrire la constante d'équilibre K pour la réaction de dismutation à pH 7. Cette réaction est-elle favorable d'un point de vue thermodynamique dans ces conditions ?

2. Toxicité du superoxyde.

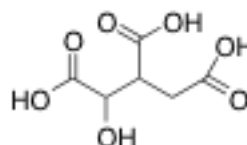
Le superoxyde inactive l'enzyme aconitase qui catalyse l'isomérisation stéréospécifique du citrate en isocitrate *via* l'aconitate.



Acide citrique



Acide aconitique



Acide isocitrique

I.2.1. L'acide citrique est-il chiral? Justifier.

I.2.2. L'acide aconitique est-il achiral, chiral ou pro-chiral? Justifier.

I.2.3. Rappeler la définition d'une réaction stéréospécifique.

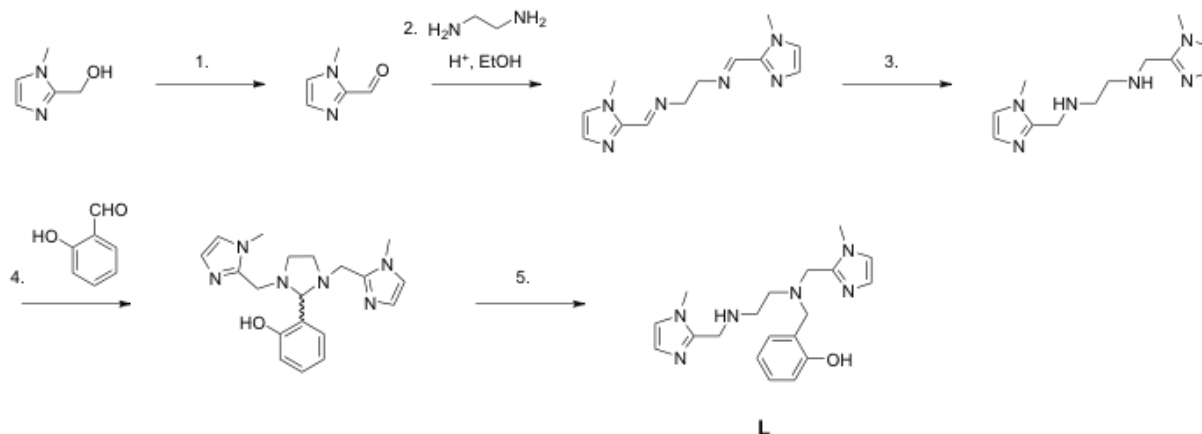
I.2.4. Le produit final est obtenu avec la stéréochimie (2R, 3S). Dessiner la structure du produit en représentation de Cram et en représentation de Fisher.

I.2.5 Les résidus de l'enzyme impliqués dans le mécanisme catalytique sont une His et une Ser dans des états de protonation respectifs His- H^+ et Ser- O^- . Dessiner un mécanisme qui peut rendre compte de la réaction d'isomérisation. Quelle est la nature des réactions chimiques impliquées ?

3. Petites complexes de Mn en tant que mimes de SOD: synthèse du ligand L

La conception d'enzymes artificielles ou de molécules synthétiques qui miment l'enzyme est un domaine de recherche actif. La plupart des mimes de SOD développés à ce jour sont de petits complexes synthétiques de Mn^{II} . Nous allons étudier la synthèse du ligand d'un de ces complexes, L, dont la synthèse est montrée ci-dessous.

¹ $E^{\circ'}$ est le potentiel redox standard E° dans les conditions physiologiques ie à pH = 7



I.3.1. A quel type de réaction correspond la première étape ? Proposer un réactif adéquat.

I.3.2. Proposer un mécanisme pour l'étape 2.

I.3.3. A quel type de réaction correspond la première étape ? Proposer un réactif adéquat.

I.3.4. Le produit obtenu à l'issue de l'étape 4 est-il chiral ? Justifier.

I.3.5. Proposer un réactif pour la dernière étape.

● **PARTIE II: Coordination au Mn^{II}**

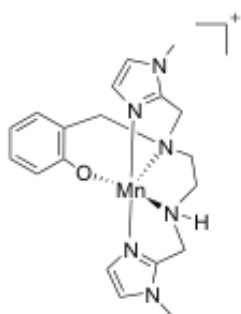
Ce ligand est métallé en présence d'un sel de Mn^{II} à pH = 8.

II.1. Le numéro atomique du Mn est Z = 25. Le seul isotope naturel du Mn est ⁵⁵Mn.

II.1.1. Quelle est la composition en protons, neutrons et électrons de ⁵⁵Mn et de ⁵⁵Mn²⁺?

II.1.2. Ecrire la configuration électronique de Mn et Mn²⁺ dans leur état fondamental.

II.2. Une structure du complexe Mn(L)⁺ est proposée ci-dessous :

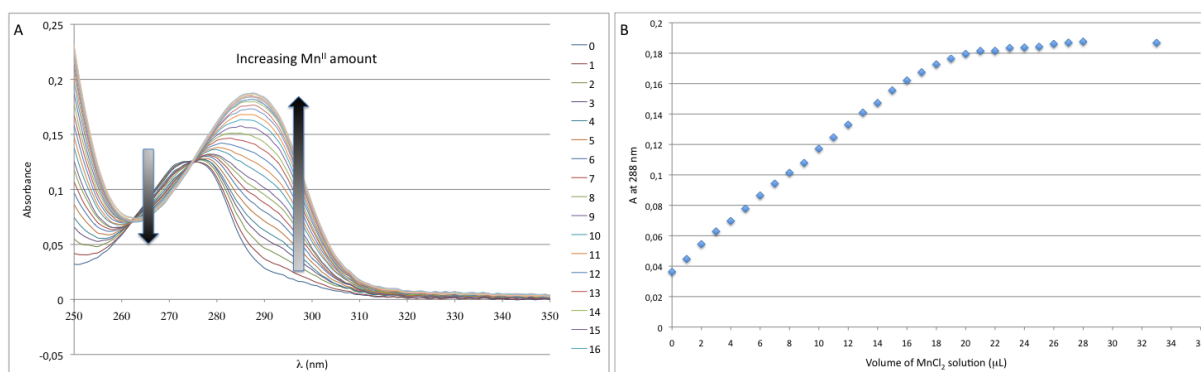


II.2.1. Quelle est la denticité du ligand L ?

II.2.2. Décompter les électrons dans la sphère de coordination de Mn du complexe Mn(L)^+ ?

II.2.3. En solution aqueuse, le complexe Mn(L)^+ peut-il lier une molécule de solvant ? Proposer une structure pour le complexe correspondant.

II.3. La formation du complexe Mn(L)^+ peut être suivie par spectrométrie UV-Vis. Dans la figure ci-dessous, est représentée une titration du ligand L (1 mL à 70.9 μM en tampon HEPES pH 7.4) par une solution de sel de Mn^{II} (additions successives de 1 μL d'une solution de MnCl_2 à 3.6 mM).



A. Titration UV-Vis de 1 mL de solution à 70.9 μM de ligand L en tampon HEPES pH 7.4 par un sel de Mn (additions successives de 1 μL d'une solution de MnCl_2 à 3.6 mM); **B.** Absorbance à 288 nm en fonction du volume de MnCl_2 ajouté.

II.3.1. Déterminer graphiquement et par le calcul le volume de solution de Mn nécessaire pour atteindre l'équivalence.

II.3.2. Calculer une approximation du coefficient d'extinction molaire ϵ du complexe à 288 nm et préciser son unité.

II.4*. Les questions suivantes constituent la première rubrique optionnelle

II.4.1*. Expliquer la levée de dégénérescence des orbitales d dans un complexe de métal de transition dans un environnement octaédrique, dans la théorie du champ cristallin : vous rappellerez les bases du modèle et vous vous aiderez d'un schéma montrant le devenir des orbitales d .

II.4.2*. Remplir le diagramme des orbitales d dans un champ octaédrique établi à la question précédente avec les électrons d dans le cas d'un complexe de Mn^{II} bas spin ET haut spin.

II.4.3*. Rappeler la définition d'une espèce diamagnétique.

II.4.4*. Conclure sur les propriétés magnétiques d'un complexe de Mn^{II} bas spin et haut spin.

II.4.5*. La bande d'absorption à 288 nm peut-elle provenir d'une transition électronique $d-d$?

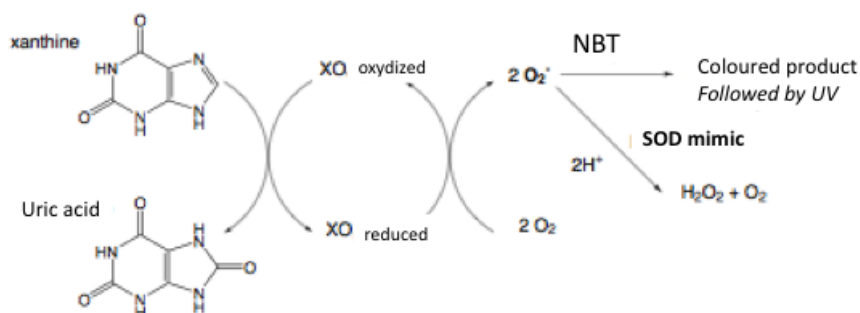
II.4.6*. Proposer une explication pour le déplacement de la bande d'absorption au cours de la complexation. Quelle peut être l'origine de la bande à 288 nm ?

● **PARTIE III: *In vitro* activity of complex $\text{Mn}(\text{L})^+$**

III.1. Le potentiel redox du couple $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{L})^{2+}/\text{Mn}^{\text{II}}(\text{L})^+$ a été évalué 0.44 V vs ENH (enzyme SOD native : $E^{\circ'} = 0.31$ V vs ENH).

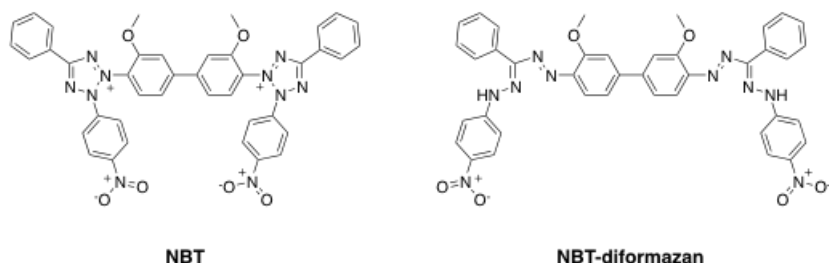
Ecrire les équations des réactions chimiques de $\text{Mn}^{\text{II}}(\text{L})^+$ avec le superoxyde (catalyse de la dismutation). Utiliser la notation simplifiée $\text{MnL}^{(\text{n})+}$ pour le complexe de Mn.

III.2. L'activité *in vitro* du complexe $\text{Mn}^{\text{II}}\text{L}^+$ peut être évaluée par le test indirect de McCord – Fridovitch. Dans ce dernier, les anions superoxyde sont générés par la xanthine oxydase (XO), qui convertit la xanthine en acide urique et en H_2O_2 (voir Figure ci-dessous). Le superoxyde généré convertit un marqueur, le nitro blue tetrazolium (NBT) en NBT-formazan, qui montre une absorption à 560 nm. Ce test permet la quantification de l'activité SOD d'un mime synthétique par compétition cinétique entre la réaction du NBT avec le superoxyde, qui se produit à une vitesse connue, et sa dismutation par le mime de SOD.



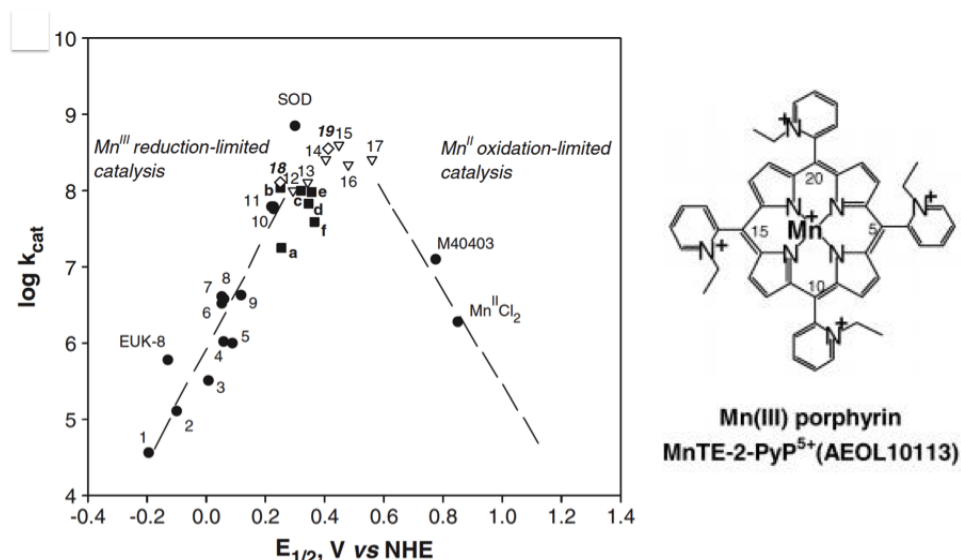
III.2.1. Ecrire l'équation chimique de la production de superoxyde à partir de xanthine et de dioxygène en présence d'eau.

Les structures des NBT et NBT-diformazan sont représentées ci-dessous :



III.2.2. Proposer une explication pour la différence observée dans les propriétés spectroscopiques du NBT et du NBT-diformazan. Ecrire une forme mésomère.

III.3. La figure suivante montre une étude de relations structure-activité entre $\log k_{\text{cat}}(\text{O}_2^{\cdot-})$ (k_{cat} est la constante catalytique, un paramètre cinétique qui reflète l'efficacité catalytique- $k_{\text{cat}} = V_{\text{max}}/[E]_T$, V_{max} taux catalytique maximal et $[E]_T$ concentration totale de l'enzyme) et $E_{1/2}$ ($\text{Mn}^{\text{III}}\text{P}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{P}$) (potentiel redox²) de complexes de Mn de porphyrines (P) de différentes charges, stéricités, et propriétés électrostatiques (un exemple est représenté en partie droite de la figure) pour la dismutation de $\text{O}_2^{\cdot-}$.



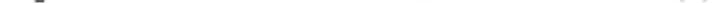
Commenter brièvement la relation observée entre $\log k_{\text{cat}}(\text{O}_2^{\cdot-})$ et $E_{1/2}(\text{Mn}^{\text{III}}\text{P}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{P})$.

III.4*. Les questions suivantes constituent la deuxième rubrique optionnelle :

Nous allons étudier un mécanisme simplifié pour la réaction de $\text{Mn}^{\text{II}}(\text{L})^+$ avec le superoxyde, décrit ci-dessous :



III.4.1*. Ecrire la vitesse de production de O_2 par la réaction (2).



III.4.2*. Ecrire la vitesse de production de l'intermédiaire MnL^{2+} . Dans l'approximation que la concentration de cet intermédiaire est constante, quelle est la relation obtenue entre les concentrations de MnL^+ et de MnL^{2+} ?

III.4.3*. Dédurre des précédentes questions la concentration de MnL^{2+} en fonction de la concentration totale en mime de SOD, $[E]_T$.

III.4.4*. Récrire alors la vitesse de production of O_2 sous la forme

$$d[\text{O}_2]/dt = k_{\text{cat}} [E]_T [\text{O}_2^{\cdot-}]$$

et définir k_{cat} en fonction de k_1 et k_2 .

Selon la théorie de Marcus des transferts d'électrons, les constantes de vitesse k_1 et k_2 sont reliées aux différents potentiels redox impliqués selon

² $E_{1/2}$ est une valeur expérimentale de potentiel redox, pas nécessairement égale à E° . Cependant, dans cette analyse, nous approximerons les deux grandeurs à une seule et même valeur.

$$k_1 = v \exp[(E^{\circ'}(O_2^{\cdot-}/H_2O_2) - E_{1/2}(Mn^{III}L/Mn^{II}L) - \lambda)^2 / (4k_B T \lambda)]$$

et

$$k_2 = v \exp[(E_{1/2}(Mn^{III}L/Mn^{II}L) - E^{\circ'}(O_2/O_2^{\cdot-}) - \lambda)^2 / (4k_B T \lambda)]$$

où λ est appelé l'énergie de réorganisation, k_B est la constante de Boltzmann, T la température, $k_B T = 0.0257 \text{ eV}$ à température ambiante et v une fréquence. λ et v ont été déterminées expérimentalement avec $\lambda = 0.36 \text{ eV}$ et $v = 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

III.4.5*. Expliquer d'après ces équations pour le potentiel redox optimal pour le couple $Mn^{III}L/Mn^{II}L$ est proche de 0.44 V vs ENH.

III.4.6*. La zone $E_{1/2}(Mn^{III}L/Mn^{II}L) > 0.44 \text{ V}$ est décrite comme "catalyse limitée par l'oxydation de Mn^{II} " et la zone $E_{1/2}(Mn^{III}L/Mn^{II}L) < 0.44 \text{ V}$ comme "catalyse limitée par la réduction de Mn^{III} ". Expliquer ces dénominations.

..... **FIN**