

Chimie et biologie

Le sujet traite de quelques aspects de la chimie impliquée dans des processus biologiques. Il est composé de trois parties : la première s'intéresse aux sucres, la deuxième aborde l'étude des enzymes et de la catalyse enzymatique; enfin, la dernière partie est consacrée aux métaux en biologie. Les trois parties sont indépendantes les unes des autres. De nombreuses questions au sein de ces trois parties sont elles-mêmes indépendantes.

Avertissements :

Si au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il le signale sur sa copie et poursuit sa composition en expliquant les raisons des initiatives qu'il est amené à prendre.

Les réponses sont systématiquement justifiées par des arguments précis et concis.

Données

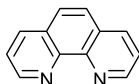
Certaines données spécifiques sont insérées dans le sujet.

Notations :

ESH = électrode standard à hydrogène

Ph représente le groupe phényle C_6H_5-

o-phen représente le ligand bidenté (ortho ou) 1,10-phénantroline :



Données générales :

Constante d'Avogadro : $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$

Constante des gaz parfaits : $R = 8,31 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

Accélération de la pesanteur : $g = 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$

Numéros atomiques : H : 1 ; C : 6 ; N : 7 ; O : 8 ; S : 16 ; Fe : 26

Masses molaires ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$) : H : 1,00 ; C : 12,0 ; O : 16,0

Températures : 0°C correspond à 273 K

Thermodynamique :

Pression standard : $P^\circ = 1 \text{ bar}$

Concentration molaire de référence : $C^\circ = 1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Oxydo-réduction :

On pourra poser : $RT/F \cdot \ln = 0,06 \cdot \log$ aux deux températures 25°C et 37°C .

Potentiels standard à pH = 0 et à 25°C :

$E^\circ (\text{S}_4\text{O}_6^{2-} / \text{S}_2\text{O}_3^{2-}) = 0,09 \text{ V}$

$E^\circ (\text{I}_{2\text{aq}} / \text{I}^-) = 0,62 \text{ V}$

$E^\circ (\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}) = 0,77 \text{ V}$

Potentiels standard apparents, dans les conditions biologiques à pH = 7 et à 37 °C :

$E'^{\circ} (\text{NAD}^+ / \text{NADH}) = - 0,32 \text{ V}$

$E'^{\circ} (\text{pyruvate} / \text{lactate}) = - 0,19 \text{ V}$

Logarithmes décimaux des constantes de formation globales de quelques complexes à 25 °C :

$\log \beta_3 (\text{Fe(o-phen)}_3^{2+}) = 21,3$

$\log \beta_3 (\text{Fe(o-phen)}_3^{3+}) = 14,3$

pK_a de quelques couples acide/base à 25 °C :

$\text{pK}_a (\text{HCN} / \text{CN}^-) = 9,2$

$\text{pK}_a (\text{acide pyruvique} / \text{ion pyruvate}) = 2,5$

$\text{pK}_a (\text{acide lactique} / \text{ion lactate}) = 3,9$

$\text{pK}_a (\text{H}_3\text{PO}_4 / \text{H}_2\text{PO}_4^-) = 2,1$

$\text{pK}_a (\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}) = 7,2$

$\text{pK}_a (\text{HPO}_4^{2-} / \text{PO}_4^{3-}) = 12,4$

Spectrométrie de masse pour les sucres :

Variété botanique	Canne à sucre	Erable	Betterave
Déplacement isotopique : $\delta^{13}\text{C} (‰)$	- 12,5	- 23,0	- 27,5

Polarimétrie des sucres :

Sucre (en solution aqueuse)	Saccharose	Fructose à l'équilibre (*)	Glucose à l'équilibre (*)	α -D-glucose	β -D-glucose
Pouvoir rotatoire spécifique (à 25 °C) $[\alpha_D] (^\circ \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{dm}^{-1})$	+ 65,0	- 92,0	+ 52,2	+ 112	+ 19,0

(*) : Le fructose et le glucose à l'équilibre sont des mélanges de formes ouverte et cyclique.

Partie A : Les sucres

Le sucre de table est constitué de molécules de saccharose de formule brute $C_{12}H_{22}O_{11}$. Le saccharose est un disaccharide, molécule bicyclique constituée d'un cycle de glucose à 6 atomes et d'un cycle de fructose à 5 atomes reliés par un pont oxygène. Il est extrait essentiellement du sucre de canne et de la betterave sucrière. Il est également présent au printemps dans la sève d'érable, solution aqueuse de sucres contenant environ 65 % de saccharose et de plus faibles quantités de fructose et de glucose. Le sirop d'érable est un concentré de sève recueillie en faisant des trous dans l'écorce de l'arbre au printemps.

I. Montée de la sève dans les arbres

Les érables ont donc à leur base, au début du printemps, une sève riche en saccharose. On s'intéresse ici à la montée de la sève dans les arbres.

I.1. Pression osmotique

On considère un récipient formé de deux compartiments, gauche et droite, de même volume V et à la même température T , séparés par une membrane semi-perméable, c'est-à-dire perméable au solvant A mais imperméable à un soluté B.

Le compartiment de gauche contient une solution supposée idéale du soluté B dans A, celui de droite le solvant A pur sous la pression P .

- Rappeler la définition du potentiel chimique du corps pur A à la pression P et la température T , noté $\mu_A^*(P, T)$, à partir de la fonction d'état enthalpie libre G .
- A partir de l'expression de la variation d'enthalpie libre dG , exprimer la variation $d\mu_A^*$ du potentiel chimique du corps pur A en fonction du volume molaire V_m^* de A et de la variation de pression dP qui en est la cause, à température T fixée.
On supposera dans la suite que V_m^* ne dépend pas de la pression.
- Donner l'expression du potentiel chimique du solvant A dans chacun des compartiments.
- Le système est à l'équilibre. Ecrire la condition d'équilibre que doit vérifier le solvant.
- Montrer qu'il existe une surpression π dans le compartiment de gauche. Cette surpression π est appelée pression osmotique.
- En supposant que la solution est très diluée et que la membrane est indéformable, montrer que la pression osmotique est de la forme $\pi = n_B RT/V$ où n_B est la quantité de matière du soluté B.

I.2. Application numérique : cas de la sève d'érable

On prendra : Température : $T = 290 \text{ K}$

Masse volumique : $\rho_{\text{sève}} = 10^3 \text{ kg.m}^{-3}$

- La concentration du sucre dans une sève normale, assimilée à une solution aqueuse, est environ de $C = 10 \text{ g.L}^{-1}$. Calculer la pression osmotique de la sève par rapport à l'eau du sol autour des racines.

- b) A quelle hauteur la sève peut-elle monter sous l'effet de cette surpression ? La pression osmotique peut-elle expliquer la montée de la sève dans les grands arbres (hauteur supérieure à 20 mètres) ?

II. Contrôle de qualité d'un sirop d'érable

Le sirop d'érable est un produit onéreux. Il fait l'objet de diverses fraudes et, en conséquence, de nombreux contrôles.

Indications : L'hydrolyse acide d'une mole de saccharose $C_{12}H_{22}O_{11}$ libère une mole de glucose $C_6H_{12}O_6$ et une mole de fructose $C_6H_{12}O_6$.

Le glucose, de formule $HOCH_2-(CHOH)_4-CHO$ sous sa forme ouverte, possède une fonction aldéhyde à caractère réducteur. On le notera sous forme générique R-CHO. Il a un goût sucré. Le fructose de formule $HOCH_2-CO-(CHOH)_3-CH_2OH$ possède une fonction cétone. Il a quant à lui un goût très sucré.

II.1. Dosage du saccharose dans une sève d'érable

On souhaite doser le saccharose dans une sève d'érable assimilée à une simple solution aqueuse de saccharose.

Protocole expérimental :

□ *Hydrolyse du saccharose en milieu acide*

Dans un ballon de 150 cm^3 , introduire $V_1 = 20,0\text{ cm}^3$ de la solution S_1 de concentration C_1 de saccharose (sève) et 5 cm^3 de solution d'acide chlorhydrique à 2 mol.L^{-1} .

Chauffer à doux reflux pendant 20 minutes.

Refroidir et ajuster le pH à 8 en versant doucement une solution de soude à 2 mol.L^{-1} .

Transvaser dans une fiole jaugée de volume $V_2 = 50,0\text{ cm}^3$ et ajuster. Bien agiter.

La solution obtenue est notée S_2 .

□ *Dosage du glucose libéré*

Dans un erlenmeyer rodé, introduire $V_3 = 20,0\text{ cm}^3$ de solution S_2 , $V_4 = 20,0\text{ cm}^3$ de solution de diiode de concentration $C_4 = 5,00 \cdot 10^{-2}\text{ mol.L}^{-1}$ et 5 cm^3 de solution de soude à 2 mol.L^{-1} .

Boucher, agiter et laisser reposer 30 minutes à l'obscurité.

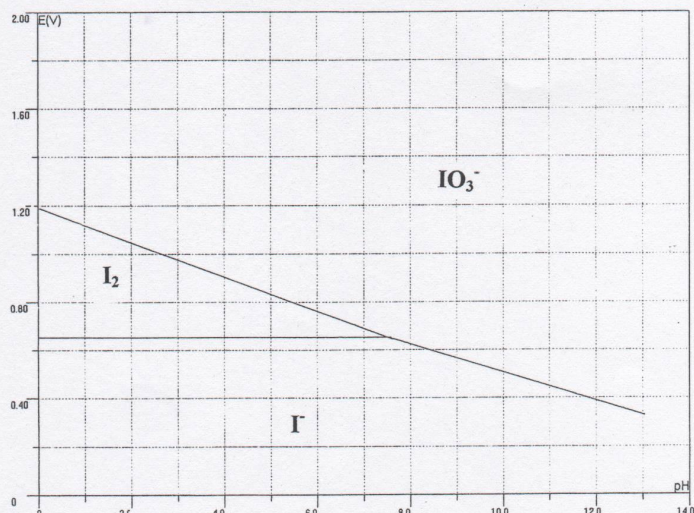
Ajouter alors 10 cm^3 de solution d'acide chlorhydrique à 2 mol.L^{-1} .

On dose ensuite le diiode par une solution de thiosulfate de sodium à $C_5 = 1,00 \cdot 10^{-1}\text{ mol.L}^{-1}$.

Le volume versé à l'équivalence est $V_5 = 15,2\text{ cm}^3$.

On donne le diagramme E-pH de l'iode tracé pour une concentration totale en élément iode dissous $C = 0,1\text{ mol.L}^{-1}$, avec équirépartition de l'élément à la frontière (Graphe1).

Graphe 1 :



- Ecrire l'équation de la réaction d'hydrolyse du saccharose.
- Que subit le diiode en milieu basique ? Ecrire l'équation de réaction.
- Ecrire l'équation de la réaction d'oxydation du glucose.
- Pourquoi ajoute-t-on de l'acide chlorhydrique lors du dosage ? Ecrire l'équation de réaction associée.
- Ecrire l'équation de la réaction de la dernière étape de dosage avec le thiosulfate de sodium et calculer sa constante d'équilibre.
- Donner la définition de l'équivalence. Comment peut-on la repérer ?
- Certaines données du protocole présentent trois chiffres significatifs, d'autres n'en présentent qu'un seul. Justifier ces différents choix.
- Calculer la concentration C_1 de la sève en saccharose. Comparer avec la valeur du I.2.a).

II.2. Détermination de l'adultération d'un sirop d'érable par SMRI

Une fraude très répandue consiste à diluer le sirop d'érable avec un sirop produit par hydrolyse partielle du sucre de canne. On peut lire dans la revue « Journal of AOAC International » (vol 87, 2004) : « si les sucres ajoutés sont au même taux d'inversion que le sirop original, alors seule une méthode isotopique permet de les détecter ». Les normes d'authenticité actuelles reposent sur la Spectrométrie de Masse de Rapport Isotopique (acronyme SMRI). Elle permet de déterminer le rapport, noté R , des quantités de matière $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dans le dioxyde de carbone CO_2 obtenu par combustion de l'éthanol, lui-même obtenu par fermentation puis distillation du jus sucré. Cette méthode permet de déterminer « le déplacement isotopique » du carbone, notée $\delta^{13}\text{C}$, selon la formule :

$$\delta^{13}\text{C} \text{ (en } \text{‰}) = 10^3 \cdot (R - R_{\text{ref}}) / R_{\text{ref}}$$

R est le quotient des quantités de matière de l'élément carbone en isotopes lourd sur léger $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (par mole de CO_2 par exemple) pour l'échantillon étudié et R_{ref} celui d'une référence internationale (carbonate fossile de Caroline du Sud).

Le déplacement isotopique varie avec l'origine botanique d'une plante : en effet, la composition en isotopes stables d'un bioélément n'est pas constante : dans le cas du carbone, bien que le dioxyde de carbone CO_2 , principale source de carbone pour les plantes, soit isotopiquement homogène dans l'atmosphère terrestre, les divers isotopes peuvent être

incorporés de manière différente dans les plantes; certaines enzymes provoquent un fractionnement isotopique et entraînent ainsi une variabilité naturelle de l'abondance isotopique dans les diverses plantes.

- Quel est le double intérêt des fraudeurs ?
- Pourquoi l'article parle-t-il d'inversion ? Calculer le degré d'avancement de l'hydrolyse, noté τ_{inv} , correspondant exactement à l'inversion.
- Ecrire l'équation de la réaction de fermentation anaérobie du glucose en éthanol.
- La distillation fractionnée du produit de fermentation permet-elle d'isoler l'éthanol pur ? Pourquoi ? Est-ce gênant pour mettre la fraude en évidence ?
- Donner la définition des isotopes. Citer un isotope stable et un isotope instable de ^{12}C . Citer une autre utilisation de l'existence de chacun de ces isotopes.
- Expliquer brièvement le principe de la spectrométrie de masse.
- Quel est l'ordre de grandeur du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dans la nature ? Comment interpréter le signe négatif des diverses valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ proposées dans les données ? Comment a-t-on choisi la référence étalon ?
- On s'intéresse à un sirop d'érable trafiqué par un ajout de sucre de canne ou de betterave. On mesure par SMRI : $\delta^{13}\text{C} = -20,6 \text{ ‰}$. Quel est le sucre ajouté par les fraudeurs ? Quel est le pourcentage massique minimal en sucre ajouté ? On justifiera l'emploi du qualificatif minimal.

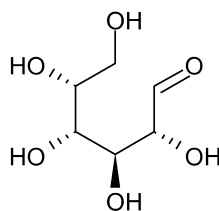
NB : Des corrections sont apportées sur les valeurs des $\delta^{13}\text{C}$ afin de pouvoir appliquer ensuite une proportionnalité massique aux divers constituants d'un mélange.

III. Les sucres ne sont pas uniquement des sources d'énergie

On sait depuis longtemps que, comme le saccharose, de nombreux sucres et féculents peuvent libérer du glucose, combustible le plus important des cellules biologiques. Mais, plus récemment, on a montré que le glucose n'est pas uniquement une source d'énergie : il intervient par exemple dans des processus de reconnaissance de protéine, ou plus simplement dans des rôles de stabilisation ou protection de fonction, point que nous allons étudier.

III.1. Préliminaire : les anomères du D-glucose

Le glucose naturel est du D-glucose. Il existe partiellement sous une forme ouverte aldéhydrique représentée ci-dessous :



- Quelle est la signification stéréochimique de la lettre D ?

- b) Nommer le glucose en nomenclature officielle (sans indiquer les configurations absolues des atomes de carbone).
- c) Le D-glucose existe en réalité très majoritairement sous forme cyclique. Donner le nom et l'équation de la réaction chimique intramoléculaire qui permet la cyclisation.
- d) Pourquoi la réaction intramoléculaire est-elle plus favorable que la réaction intermoléculaire ?
- e) Développer le mécanisme réactionnel en catalyse acide.
- f) Montrer que la cyclisation conduit à 2 stéréoisomères de configuration, appelés anomères. Quelle est leur relation de stéréoisomérisation ?
- g) Représenter en perspective les deux anomères dans leur conformation la plus stable.
- h) Lequel des deux anomères est le plus stable ? On le nommera anomère β et l'autre anomère α .
- i) Lorsqu'on dissout, à 25 °C, du α -D-glucose dans l'eau, le pouvoir rotatoire spécifique diminue progressivement et se stabilise à la valeur de 52,2 °.g⁻¹.mL.dm⁻¹. Inversement, si on dissout du β -D-glucose dans l'eau, le pouvoir rotatoire spécifique augmente et se stabilise à la même valeur. Interpréter ces résultats.
- j) En faisant une approximation que l'on précisera, calculer la composition du mélange à l'équilibre à 25 °C. Vérifier la cohérence avec la question h).

III.2. Etude d'un glycoside protecteur

- a) De nombreux fruits (pomme, abricot, pêche...) contiennent de l'acide cyanhydrique HCN dans leurs pépins ou dans les amandes de leurs noyaux. Donner la formule de Lewis et la géométrie de cette molécule d'après le modèle VSEPR.
- b) L'acide cyanhydrique HCN y est souvent combiné à un aldéhyde, comme le benzaldéhyde Ph-CHO, noté A, selon la réaction renversable de formation du mandélonitrile Ph-CHOH-CN, noté B, d'équation (1) :

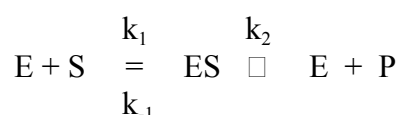
$$\text{Ph-CHO} + \text{HCN} = \text{Ph-CHOH-CN} \quad (1)$$
Proposer un mécanisme pour cette réaction, en milieu aqueux au pH biologique.
- c) Afin de stabiliser le mandélonitrile B, le glucose réagit par sa fonction alcool anomérique sur la fonction alcool de B pour former un β -O-glycoside, noté C, comportant une fonction acétal. Représenter C en perspective et écrire le mécanisme de sa formation en catalyse acide.
- d) Pourquoi ne faut-il tout de même pas manger les pépins ou les amandes des noyaux de fruits ?
- e) Citer deux méthodes employées par les chimistes pour protéger, ou bloquer une fonction alcool ou phénol en synthèse.

Partie B : Les enzymes et la catalyse enzymatique

Les enzymes sont des protéines jouant un rôle de biocatalyseur spécifique. On se propose d'étudier un modèle de la catalyse enzymatique, ses limites et applications.

I. Cinétique de Michaelis-Menten

On étudie la cinétique de la transformation d'un substrat S en un produit P, catalysée par l'enzyme E. Le modèle de Michaelis-Menten étudié ici envisage une transformation non renversable à un seul intermédiaire. Le mécanisme est le suivant :



Les biologistes appellent l'intermédiaire réactionnel ES « le complexe enzyme-substrat ». La réaction se fait en général en excès de substrat : on a $[S]_0 \gg [E]_0$, en notant $[S]_0$ et $[E]_0$ les concentrations respectives du substrat et de l'enzyme à l'instant initial.

I.1. Représenter et légender soigneusement le profil réactionnel microscopique, en supposant la première étape déterminante.

I.2.a) Ecrire l'équation de la réaction.

b) Définir la vitesse volumique v de formation du produit P.

c) En appliquant l'approximation de l'état quasi-stationnaire (AEQS) à l'entité ES (après une courte période d'induction), et en utilisant la conservation de la concentration de l'enzyme, montrer que la vitesse v s'écrit : $v = V_m / (1 + K_m/[S])$

Expliciter V_m et K_m , appelée constante de Michaelis. Préciser les unités.

I.3. a) Donner l'allure de la représentation graphique de la fonction $v = f([S])$ et en déduire une interprétation physique de V_m . De même, en raisonnant avec $V_m/2$, donner une interprétation physique de K_m .

b) Une enzyme efficace est-elle caractérisée par une constante de Michaelis faible ou forte ?

I.4. a) Proposer une expression affine de la fonction $1/v$ et en déduire une méthode pour déterminer V_m et K_m .

b) Les résultats d'une expérience sont les suivants ($[E]_0 = 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$) :

$[S] (10^{-4} \text{ mol.L}^{-1})$	0	1,0	1,25	2,5	5,0	10
$v (10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1})$	0	2,5	2,8	3,55	4,15	4,55

Déterminer les valeurs numériques de V_m et K_m .

c) Peut-on en déduire les trois constantes cinétiques ?

I.5. On appelle « turnover number » d'une enzyme, le nombre de molécules de produit formées par unité de temps pour une seule molécule d'enzyme totalement saturée par le substrat.

a) Quelle grandeur définie dans le mécanisme représente le turnover ? Calculer sa valeur numérique.

b) On définit aussi « l'efficacité catalytique », notée e , comme le quotient du turnover à la constante K_m . Calculer sa valeur numérique.

I.6.a) Pour déterminer k_1 et k_{-1} , on peut s'intéresser à la période d'induction précédant le régime quasi-stationnaire. Reprendre le mécanisme, et en se plaçant maintenant en régime non stationnaire, montrer que la concentration du produit vérifie l'équation différentielle : $[P]'' + a[P]' = b$, dans laquelle on justifiera que a et b peuvent être considérées comme des constantes.

- b) Intégrer cette équation et montrer que $[P]$ est une fonction affine du temps t en admettant que le produit $a.t$ est très supérieur à 1.
- c) En déduire une méthode de détermination des constantes a et b puis des constantes cinétiques k_1 et k_{-1} .

II. Régulations de l'activité enzymatique

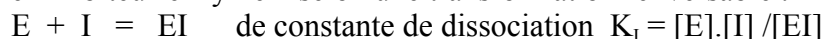
II.1. Cinétique contrôlée par la diffusion

Le site actif de l'enzyme ne se situe pas en surface, mais en profondeur, dans une « poche hydrophobe » excluant l'eau. Le substrat doit donc diffuser dans le milieu biologique jusqu'à la surface externe de l'enzyme, puis atteindre la poche hydrophobe, guidé par des interactions (liaisons hydrogène par exemple) avec des groupes de l'enzyme selon un phénomène d'adaptation induite. On suppose dans cette partie que la diffusion dans le milieu biologique limite et donc contrôle la cinétique. On note D le coefficient de diffusion du substrat dans le milieu biologique et $C(M,t)$ la concentration molaire du substrat au point M à l'instant t .

- a) Pourquoi l'eau nuirait-elle au processus enzymatique interne ?
- b) Si la diffusion contrôle la réaction, que vaut la concentration molaire C_0 de S à la surface de l'enzyme?
- c) Pour simplifier, on va supposer l'enzyme immobile et sphérique (rayon $R = 2 \text{ nm}$); de plus, le régime stationnaire de diffusion radiale vers l'enzyme est supposé atteint. Montrer que le flux molaire de particules de substrat est constant. On précisera son unité.
- d) Calculer l'expression du flux en fonction de D , R et C_∞ . La notation C_∞ représente la concentration molaire du substrat à une distance « infinie » de l'enzyme.
- e) Exprimer la vitesse volumique de disparition du substrat et en déduire l'ordre global de la réaction contrôlée par la diffusion ainsi que la constante de vitesse $k_{\text{diffusion}}$.
- f) Application numérique : Calculer $k_{\text{diffusion}}$ avec $D = 2,0 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

II-2. Inhibiteurs compétitifs

Certains composés, appelés inhibiteurs de réaction, notés I , peuvent réagir avec l'enzyme E et diminuer ainsi son activité catalytique. On s'intéresse dans cette partie aux inhibiteurs dits compétitifs. De structure souvent voisine de celle du substrat, ils réagissent avec l'enzyme en formant « un complexe inhibiteur-enzyme » selon une transformation renversible :

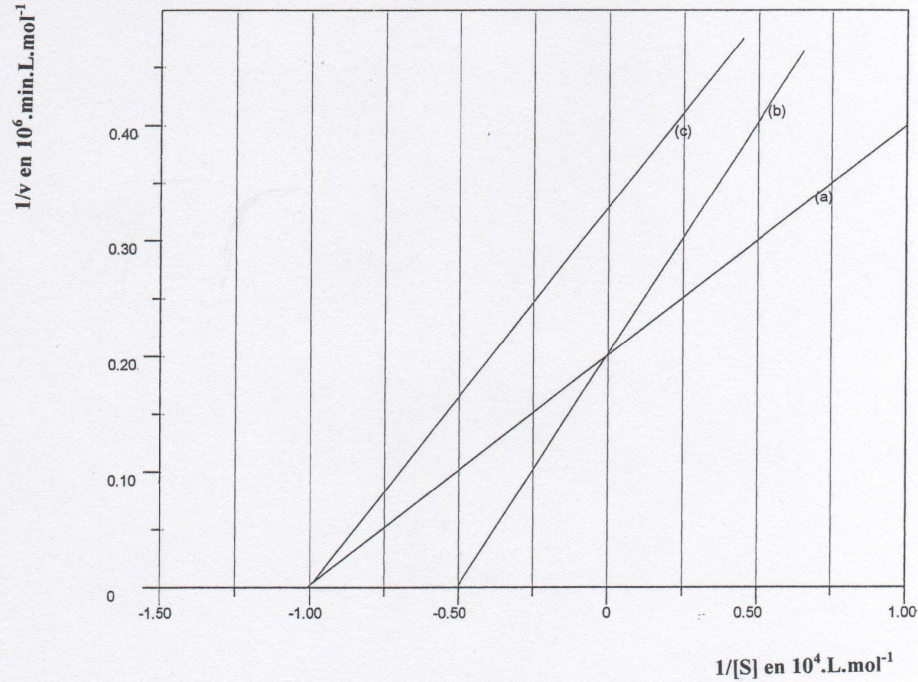


L'enzyme est ainsi partiellement bloquée.

Ce phénomène intervient dans la nature pour réguler de nombreux systèmes métaboliques. Par biomimétisme, les chimistes ont synthétisé des médicaments, comme l'AZT pour le traitement du SIDA, faisant intervenir des inhibitions de transformations non souhaitées.

- a) Reprendre la méthode de la question I.2.b) et exprimer la nouvelle fonction $v = f([S])$. Montrer que tout se passe comme si on avait une nouvelle constante de Michaelis K_m' supérieure à K_m . Exprimer K_m' en fonction de K_m , de $[I]$ et K_I .
- b) Les données cinétiques, pour la même enzyme qu'à la question I.5., mais en présence de deux sortes d'inhibiteur, un compétitif et un autre type d'inhibiteur dit non compétitif, sont fournies ci-dessous (Graphe 2 : représentation affine dite de Lineweaver et Burk) :

Graphe 2 :



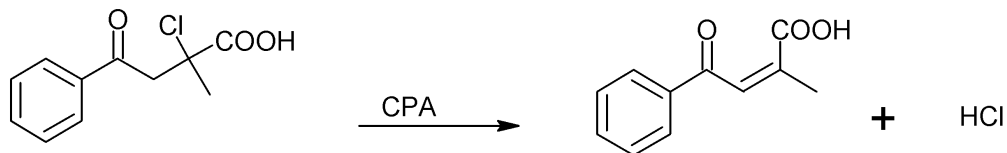
En justifiant vos réponses, identifier les 3 courbes (a), (b), (c) du graphe 2 :

- en absence d'inhibiteur
- en présence de l'inhibiteur compétitif
- en présence de l'inhibiteur non compétitif (ne pas interpréter la courbe).

Ce modèle permet également d'expliquer un cas de catalyse enzymatique stéréospécifique.

Supposons que le substrat soit chiral et présente deux énantiomères S^- et S^+ . Un seul produit P achiral est obtenu. On peut modéliser la situation en posant que chaque énantiomère constitue un inhibiteur compétitif pour son isomère optique.

- Exprimer la vitesse v^- de formation de P à partir de S^- en fonction de k_2^- , $[E]_0$, K_m^- , K_m^+ , $[S^-]$, $[S^+]$; S^+ est alors considéré comme l'inhibiteur. Par analogie, exprimer v^+ .
- Exprimer le rapport v^-/v^+ en fonction des efficacités catalytiques e^- et e^+ des deux énantiomères (définition en I.5.b) et des concentrations $[S^-]$ et $[S^+]$. Justifier pourquoi l'efficacité catalytique est également appelée « constante de spécificité ».
- Application : La carboxypeptidase CPA est une enzyme qui catalyse la réaction d'élimination ci-dessous :



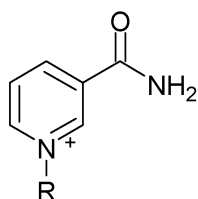
Avec un substrat racémique, on observe une cinétique rapide avec un taux d'avancement de 50 % et ensuite un fort ralentissement de la réaction.

Proposer une explication à cette observation expérimentale. Quelle peut-être l'application de ce phénomène ?

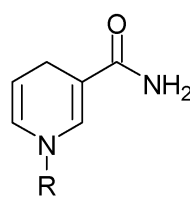
On donne : $e^- = 1,1 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et $e^+ = 1,1 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

III. Application biomimétique avec un coenzyme

Beaucoup d'enzymes sont inactives en l'absence de certaines substances non protéiques. Ces substances qui apportent leur réactivité propre peuvent être de nature métallique ou organique et sont respectivement appelées cofacteurs et coenzymes. On va s'intéresser à un coenzyme d'oxydoréduction permettant les transferts protoniques et électroniques qui sont à la base des processus du métabolisme énergétique cellulaire. On peut le représenter sous la forme du couple NAD^+/NADH dont les structures simplifiées sont :



NAD^+



NADH

R est un groupe de formule complexe que l'on ne précisera pas.

On s'intéresse également au couple (ion pyruvate (noté pyr) / ion lactate (noté lac)) très important en biologie : $(\text{CH}_3\text{-CO-COO}^- / \text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-)$.

III-1. Une transformation d'oxydoréduction stéréosélective

On sait que le glucose est une source d'énergie biologique. On s'intéresse ici à la dernière étape aérobie de la glycolyse, qui se produit par exemple dans un muscle en plein effort.

- Donner les formules topologiques des acides pyruvique et lactique. Les nommer en nomenclature officielle.
- Pourquoi raisonne-t-on avec les ions pyruvate et lactate dans les conditions biologiques ?
- Ecrire les demi-équations d'oxydo-réduction des deux couples cités.
- Ecrire l'équation de la réaction d'oxydo-réduction dans le sens où elle peut se produire spontanément dans les conditions standard biologiques, en présence de l'enzyme « L-lactate déshydrogénase » notée L-LDH. Le nom de l'enzyme paraît-il incohérent devant la transformation réalisée ?
- Calculer la constante d'équilibre apparente K_{app} à $\text{pH} = 7$.
- Calculer la constante d'équilibre K .
- Le rôle du NADH est, en association avec l'enzyme, un rôle catalytique. Que doit faire la nature pour le maintenir présent dans le milieu ?
- Cette transformation est stéréosélective : l'hydroxyacide présente un carbone asymétrique de descripteur stéréochimique S. Représenter le produit obtenu dans l'espace.

III-2. Synthèse stéréosélective biomimétique

On réalise la transformation ci-dessus au laboratoire.

Dans un ballon de 250 mL, on dissout dans une solution de tampon phosphate de concentration $C = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ et de $\text{pH} = 7,4$:

- $n_{\text{pyr}} = 0,10 \text{ mol}$ d'acide pyruvique
- $n_{\text{NADH}} = 0,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ de NADH

- $n_f = 0,12$ mol de méthanoate (formiate) de sodium
- $V = 100$ mL d'une suspension aqueuse de L-LDH et de formiate déshydrogénase immobilisée sur un gel de polyacrylamide (PAAM).

Après réaction, extraction et distillation, on récupère $m = 8,1$ g d'acide lactique.

- Donner la définition précise d'une solution tampon.
- Proposer une méthode pour fabriquer la solution tampon utilisée.
- Quel est le rôle de l'enzyme formiate déshydrogénase ? Ecrire l'équation de la réaction dans laquelle elle intervient. Justifier que cette réaction ne pose pas de problèmes de sous-produits.
- Quel réducteur chimique spécifique du groupe carbonyle aurait-on pu utiliser à la place de NADH ? Le produit serait-il le même ? Comment pourrait-on le vérifier ?
- Faire le schéma légendé de l'appareillage de distillation fractionnée.
- Calculer le rendement de la synthèse de l'acide lactique.

III-3. Etude du polymère polyacrylamide PAAM

- Donner la définition d'un polymère.
- Quel est le rôle du polymère PAAM dans la synthèse précédente ?
- Le monomère est l'acrylamide $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$. Donner son nom en nomenclature officielle.
- L'acrylamide peut être obtenu à partir de l'acrylonitrile $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CN}$ selon une transformation biocatalysée. Ecrire l'équation de la réaction et la nommer. Pourquoi choisit-on un processus de biocatalyse ?
- La polymérisation est effectuée par voie radicalaire, en solution aqueuse, en présence d'ions peroxodisulfate $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$. Dans l'eau, ces ions libèrent les radicaux anions $\text{SO}_4^{\cdot-}$.

Donner la formule de Lewis du radical anion $\text{SO}_4^{\cdot-}$.

- Quel est le rôle du radical anion ? Citer une autre entité chimique souvent utilisée dans le même rôle.
- Par analogie avec la formation du polyéthylène, proposer un mécanisme pour cette polymérisation radicalaire et donner la formule du polymère.
- Ce polymère est soluble dans l'eau. Justifier.
- Ce polymère ne peut pas être utilisé en milieu acide ou basique : pourquoi ?
- En réalité, ce polymère est visqueux et pour avoir un véritable gel avec des pores de taille nanométrique contrôlée, on ajoute du diacrylamide de formule :



Quelle modification subit la structure du polymère ?

Partie C : Les métaux en biologie, le cas du fer

Le fer est le métal de transition le plus abondant dans le milieu vivant.

I. Le fer, exemple de métal de transition

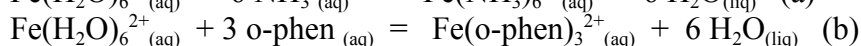
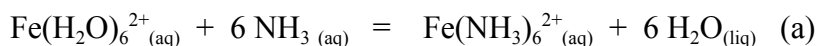
I-1. Atomistique : champ cristallin

- Qu'appelle-t-on un élément de transition ?
- Donner la configuration électronique de l'atome de fer dans sa configuration la plus stable.
- Donner les configurations électroniques fondamentales des ions Fe^{2+} et Fe^{3+} .

- d) Pourquoi les ions des métaux de transition forment-ils facilement des complexes ?
- e) Le complexe $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ est un complexe octaédrique, à champ faible, paramagnétique. Faire des schémas légendés pour expliquer les termes : octaédrique, champ faible, paramagnétique.

I-2. Contrôle entropique de l'effet chélate

On s'intéresse aux deux réactions d'échange de ligand, d'équations ajustées (a) et (b):



- a) En ne considérant que les enthalpies dues aux ruptures et créations de liaisons, comparer qualitativement les enthalpies standard $\Delta_r H^\circ_a$ et $\Delta_r H^\circ_b$ des deux réactions.
- b) Comparer qualitativement les entropies standard $\Delta_r S^\circ_a$ et $\Delta_r S^\circ_b$.
- c) En déduire quel est le complexe le plus stable. Expliquer le titre du paragraphe I-2.
- d) Citer un ligand hexadente qui forme des complexes métalliques très stables et proposer un exemple d'application de ces complexes.

I-3. Influence du ligand sur les propriétés réductrices de l'ion Fe^{2+}

On cherche à connaître le potentiel standard du couple $\text{Fe}(\text{o-phen})_3^{3+} / \text{Fe}(\text{o-phen})_3^{2+}$ afin de discuter l'influence du ligand o-phen sur les propriétés réductrices de l'ion Fe^{2+} .

- a) Ecrire la demi-équation associée à ce couple rédox.
- b) Ecrire la formule de Nernst associée à ce couple rédox.
- c) Calculer le potentiel standard de ce couple rédox avec les données du sujet.

On peut également mesurer ce potentiel standard par « spectroélectrochimie » : A l'aide d'un potentiostat, on peut fixer le potentiel E d'une électrode plongeant dans une solution située dans une cellule transparente et mesurer l'absorbance A de la solution par spectrophotométrie UV/visible, à une longueur d'onde fixée. En milieu très oxydant, l'ion complexe est entièrement sous sa forme oxydée $\text{Fe}(\text{o-phen})_3^{3+}$. En milieu très réducteur, l'ion complexe est entièrement sous sa forme réduite $\text{Fe}(\text{o-phen})_3^{2+}$. Pour une valeur intermédiaire du potentiel, la solution contient le mélange des deux ions complexes. Le changement de potentiel ne modifie pas la concentration globale (notée C) en complexes.

On donne les potentiels E correspondant aux trois cas cités ci-dessus ($t = 25^\circ\text{C}$ et longueur d'onde fixe):

E(V) /ESH	0,95	1,16	1,52
A	$A_{\text{red}} = 0,45$	$A = 0,80$	$A_{\text{ox}} = 1,8$

- d) Rappeler la loi de Beer-Lambert, en précisant les unités.
- e) Exprimer le rapport des concentrations des deux complexes, dans le cas intermédiaire, en fonction des trois absorbances A_{red} , A et A_{ox} .
- f) En déduire le potentiel standard du couple $\text{Fe}(\text{o-phen})_3^{3+} / \text{Fe}(\text{o-phen})_3^{2+}$. Comparer avec le résultat de la question c).
- g) Quelle est l'influence de la complexation sur le caractère réducteur de l'ion Fe^{2+} ?

II. Complexation du fer dans l'hémoglobine et la myoglobine

On s'intéresse ici à des complexes biologiques dans lesquels l'ion Fe^{2+} est lié à une porphyrine, ligand chélatant tétradente par quatre atomes d'azote au centre d'un macrocycle. De tels complexes sont présents dans des protéines comme la myoglobine et l'hémoglobine. Le fer est au sein d'un complexe octaédrique : les quatre positions équatoriales sont occupées par la porphyrine; une position axiale est occupée par un atome d'azote d'un autre fragment de la protéine ; la deuxième position axiale est vacante ou occupée par une molécule de dioxygène. En effet, ces protéines assurent le transport du dioxygène chez les mammifères : l'hémoglobine dans le sang au départ des poumons et la myoglobine prend le relais dans les muscles. Enfin, la myoglobine, notée Mb sans dioxygène, c'est-à-dire à l'état *désoxy*, ne contient qu'une seule porphyrine et ne peut fixer qu'une seule molécule de dioxygène O_2 . On la note MbO_2 avec le dioxygène, c'est-à-dire à l'état *oxy*. En revanche, l'hémoglobine, notée Hb sans O_2 , à l'état *désoxy*, contient 4 porphyrines et peut donc fixer jusqu'à 4 molécules O_2 . On la note alors $\text{Hb}(\text{O}_2)_4$.

II-1. Les molécules de dioxygène et de monoxyde de carbone

- Ecrire la formule de Lewis de la molécule de dioxygène O_2 .
- Etablir le diagramme d'énergie des orbitales moléculaires de la molécule O_2 et distribuer les électrons de valence.
- Quelle est la nature des orbitales du niveau le plus haut occupé (HO) ?
- A partir du diagramme des orbitales moléculaires, calculer l'indice de liaison de la molécule O_2 . Le résultat est-il cohérent avec le modèle de Lewis ?
- De même, prévoir ses propriétés magnétiques. Le résultat est-il cohérent avec le modèle de Lewis ?
- Le diagramme d'orbitales moléculaires de la molécule de monoxyde de carbone CO est quant à lui « corrélé », du même type que la molécule de diazote. Construire ce diagramme et distribuer les électrons de valence.
- Proposer un schéma de Lewis pour la molécule CO en accord avec l'indice de liaison et en faisant apparaître les éventuelles charges formelles.
- La molécule de monoxyde de carbone présente, comme la molécule de dioxygène, des propriétés de ligand grâce à l'un de ses doublets non liants. Se fixe-t-elle préférentiellement par le carbone ou l'oxygène ?

II-2. Coordination du dioxygène avec l'hémoglobine

- L'élément fer reste au nombre d'oxydation (+ II) dans les complexes biologiques étudiés : le dioxygène n'oxyde pas le fer. Proposer une explication en liaison avec la question I.3.g).
- Chaque désoxyHb peut être considérée comme un fragment de type complexe ML_5 . Les orbitales d sont éclatées en trois groupes : par énergie croissante, on trouve le groupe d'orbitales dxy, dyz, dxz, puis, très proche, l'orbitale dz^2 et enfin, très éloignée, l'orbitale $\text{d}(\text{x}^2-\text{y}^2)$. La fixation de O_2 transforme le complexe en complexe octaédrique ML_6 ; l'orbitale dz^2 remonte au niveau de l'orbitale $\text{d}(\text{x}^2-\text{y}^2)$. On dit que le fer (II) « haut spin » devient « bas spin ». Justifier par un schéma simple.
- Ce changement de structure s'accompagne d'un changement de couleur : le sang des veines, pauvre en O_2 , est « bleu » alors que celui des artères, riche en O_2 , est « rouge » : Justifier simplement.
- Ce changement de structure rend également l'ion fer (II) plus petit, ce qui lui permet de rentrer rigoureusement dans le plan de la porphyrine. Ce mouvement entraîne un changement de conformation de la protéine qui favorise la fixation de O_2 sur les autres sites de l'hémoglobine. Que permet ce phénomène dit de « coopération » dans la nature ?

e) En revanche, le monoxyde de carbone est très toxique : proposer une explication.

On donne :

Complexes	Ligand de la 2 ^{ème} position axiale	$\Delta_r G^\circ$ de fixation du 2 ^{ème} ligand axial (kJ.mol ⁻¹)
Oxyhémoglobine (Fer II)	O ₂	- 26,7
Carboxyhémoglobine (Fer II)	CO	- 40,1

II-3. Dosage de l'hémoglobine dans le sang par spectrophotométrie

Bien que, comme on l'a vu, le fer (II) complexé de l'hémoglobine ou de la myoglobine soit a priori « protégé » de l'oxydation in vivo, on peut facilement l'oxyder en fer (III) in vitro par l'ion hexacyanoferrate (III) (ou ferricyanure). On obtient la méthémoglobine qui ne peut plus fixer le dioxygène mais qui fixe très facilement les ions cyanure CN⁻. On obtient alors la cyanométhémoglobine de couleur rouge. Ce complexe de couleur rouge très particulière peut être étudié en spectroscopie UV/visible. On utilise cette propriété pour doser l'hémoglobine dans le sang. Dans un tube à essai, on additionne 20 µL de sang et 5,0 mL de solution de ferricyanure de potassium (excès). On laisse incuber à température ambiante. Après avoir sélectionné la longueur d'onde $\lambda = 540$ nm, on relève l'absorbance notée A : A = 0,38.

On donne les résultats d'un étalonnage réalisé à partir d'échantillons sanguins de concentration en hémoglobine connue (conditions identiques ; « blanc effectué » avec 20 µL d'eau et 5,0 mL de solution de ferricyanure de potassium) :

C _{hémoglobine dans le sang} (g.dL ⁻¹)	5	10	15	20
Absorbance ($\lambda = 540$ nm)	0,15	0,30	0,45	0,60

- Donner la formule de l'ion complexe hexacyanoferrate (III).
- Que signifie « effectuer le blanc » ?
- Comment choisit-on la longueur d'onde de travail ?
- Déterminer la concentration en hémoglobine dans le sang ; on suppose l'oxydation totale.
- Les valeurs normales appartiennent à l'intervalle [12 ; 20] en g.dL⁻¹. Conclure.

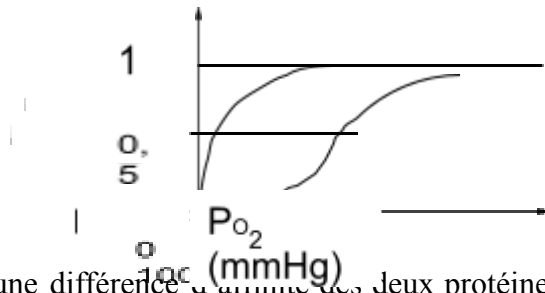
II-4. La myoglobine prend le relais du transport de dioxygène dans les muscles

On se propose de justifier pourquoi la myoglobine prend le relais du transport du dioxygène dans les muscles.

Le graphe 3 représente les courbes de saturation de la myoglobine (courbe supérieure, indice 1 ensuite) et de l'hémoglobine (courbe inférieure, indice 4 ensuite) par le dioxygène. Ces courbes sont représentatives de la fonction $Y = f(P_{O_2})$ avec Y égale à la fraction molaire de Mb (ou Hb) ayant fixé O₂ et P_{O₂} la pression partielle en dioxygène gazeux en équilibre avec le dioxygène dissous de concentration [O₂] selon : $O_{2(g)} = O_{2(aq)}$ de constante d'équilibre K°.

Graphe 3 : Myoglobine : courbe supérieure (indice 1)
Hémoglobine : courbe inférieure (indice 4)

Y



On observe une différence à l'anneau des deux protéines pour le dioxygène en fonction de la pression. On rappelle que Hb peut fixer 4 molécules O_2 alors que Mb n'en fixe qu'une seule.

a) Ecrire l'équation de la réaction de formation du complexe MbO_2 à partir de Mb et O_2 dissous ainsi que la constante de formation β_1 de ce complexe.

b) Définir Y_1 puis l'exprimer en fonction de $[O_2]$, C° et β_1 , puis de P_{O_2} , P° , K° et β_1 .

c) On note $P_{50(1)}$, la valeur de P_{O_2} qui correspond à la demi-saturation (50 % de saturation). Exprimer Y_1 en fonction de P_{O_2} et $P_{50(1)}$. Montrer la conformité avec l'hyperbole équilatère du graphe 3.

d) Reprendre la même méthode pour l'hémoglobine (l'indice 4 remplace l'indice 1) et montrer que :

$$Y_4 = P_{O_2}^h / (P_{O_2}^h + P_{50(4)}^h)$$

L'exposant h est appelé coefficient de Hill. Quelle est la valeur attendue de h ?

e) En fait la courbe 4 est bien une sigmoïde mais le coefficient de Hill expérimental est de l'ordre de 3. Qu'est-ce que cela suppose ?

f) On évalue $P_{O_2} = 100$ mm Hg dans les capillaires, et $P_{O_2} = 30$ mm Hg dans les muscles. A partir des courbes 1 et 4, justifier pourquoi le transport du dioxygène se fait par la myoglobine dans les muscles et écrire l'équation de la réaction de transfert du dioxygène de l'hémoglobine vers la myoglobine.

Fin de l'épreuve