

Utilisation des enzymes en chimie organique

Beau problème de chimie organique... On peut regretter que les autres aspects de la chimie enseignée en BCPST n'aient pratiquement pas été abordés. Il y a néanmoins un peu de cinétique et d'oxydoréduction en solution aqueuse.

Réutilisable par parties (C, D et E les plus exploitables directement). Quelques questions très difficiles...

Quelques (très) rares imprécisions dans l'énoncé, pratiquement rien à dire...

Partie A : énantiosélectivité des enzymes

q A.1.

Le produit **A** est achiral (plan de symétrie). Les produits **P** et **Q** sont énantiomères. La configuration absolue du centre asymétrique de **P** est (S) .

q A.2.

Le pouvoir rotatoire α du mélange est non nul, ce qui signifie que le mélange est plus riche en l'énantiomère dextrogyre.

Si on réalise l'hydrolyse partielle du diester (saponification par une solution aqueuse concentrée d'hydroxyde de sodium, chauffage à reflux) en l'absence de l'enzyme, inducteur chiral, on obtient un mélange équimolaire des deux énantiomères (le mélange racémique).

q A.3

La loi de Biot traduit l'additivité des pouvoirs rotatoires, ainsi que la proportionnalité, dans des conditions données, entre la concentration molaire de l'espèce et le pouvoir rotatoire. Elle s'écrit :

$$\alpha = [\alpha_X] \cdot c_X$$

où $[\alpha_X]$ représente le pouvoir rotatoire spécifique de l'énantiomère X.

Pour un mélange d'énantiomères, elle s'écrit, sachant que $[\alpha_{X'}] = -[\alpha_X]$:

$$\alpha = [\alpha_X] \cdot (c_X - c_{X'})$$

q A.4.

Pour un racémique, l'excès énantiomérique est de toute évidence nul. Pour un énantiomère pur, il est égal à 1.

On note $[\alpha]$ le pouvoir rotatoire spécifique du mélange considéré comme un seul des énantiomères. Il est défini par :

$$\alpha = [\alpha] \cdot (c_X + c_{X'})$$

On en déduit l'expression de l'excès énantiomérique :

$$ee = 100 \cdot \frac{[\alpha]}{[\alpha_X]}$$

NOTE : on peut consulter le problème d'agrégation de chimie 1975 (??) sur ce sujet, mettant en évidence les moyens de déterminer l'excès énantiomérique et l'excès optique, en faisant la différence entre les deux dans des situations complexes (travaux de Alain Horeau).

q A.5.

Il est clair que la détermination de l'excès énantiomérique (en fait ici, l'excès optique) ne peut se faire que moyennant la connaissance du pouvoir rotatoire de l'un des énantiomères rigoureusement pur (voir note précédente pour des déterminations ne nécessitant pas la connaissance du pouvoir rotatoire spécifique d'un énantiomère pur).

Une substance dont le pouvoir rotatoire est positif est baptisée *dextrogyre*.

Les données montrent qu'aux erreurs expérimentales près, l'énantiomère **P** est obtenu pur (excès énantiomérique — en fait optique — de 100 %).

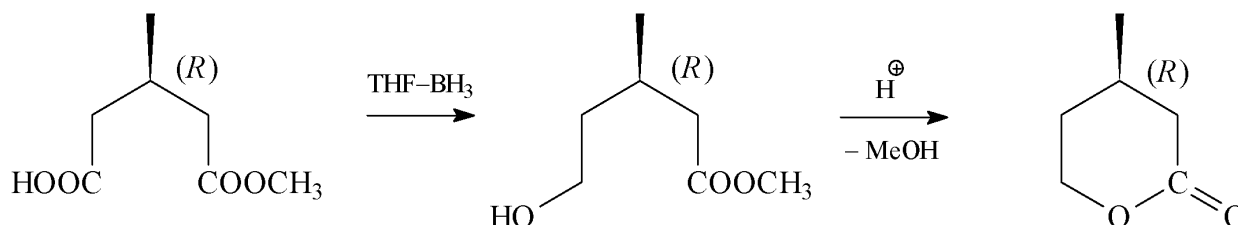
q A.6.

Les résultats sont incohérents, le mélange d'excès énantiomérique égal à 90 % ne peut pas avoir un pouvoir rotatoire spécifique supérieur en valeur absolue à celui d'un énantiomère considéré comme pur.

q A.7.

Le passage de **5** à **4** est une cyclisation se traduisant par une *transestérification*. Il suffit de placer **5** en présence d'un acide fort et de chauffer le mélange réactionnel. Par exemple, on peut dissoudre **5** dans le toluène en présence d'APTS et distiller l'hétéroazéotrope dans un appareillage de Dean-Stark (comme pour l'eau).

Cette transformation n'affecte pas la configuration géométrique de l'atome de carbone asymétrique :



Elle n'affecte pas non plus les ordres de priorité autour de l'atome de carbone asymétrique donc la configuration absolue reste (R).

q A.8.

$$ee = 100 \cdot \frac{23,4}{24,8 / 0,9} = 85\%$$

Le mélange obtenu a un excès énantiomérique (en fait optique) égal à :

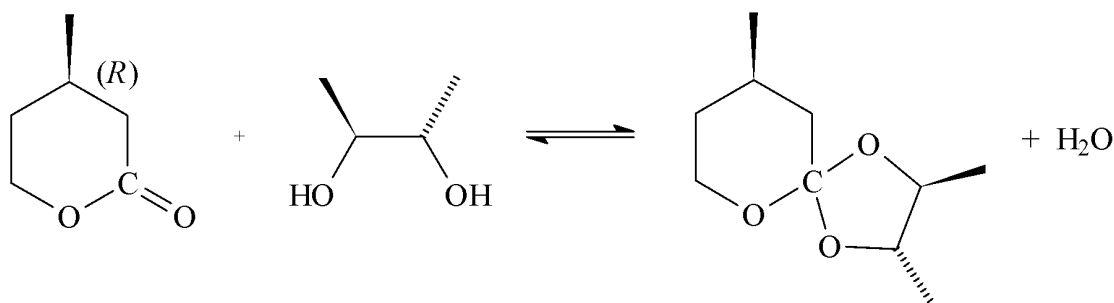
(on choisit bien entendu la plus forte valeur du pouvoir rotatoire spécifique estimé de l'énantiomère pur). On peut en conclure que c'est l'équipe 2 qui a obtenu la meilleure valeur pour le pouvoir rotatoire spécifique de l'énantiomère pur, donc qui a obtenu l'un des énantiomères avec la plus grande stéréosélectivité.

q A.9.

Cette réaction est apparentée à la préparation des (a)cétals à partir des diols et des composés carbonylés. Elle se déroule en présence d'un catalyseur acide (acide sulfurique ou, mieux, APTS ou

résine échangeuse d'ions sous forme H^+ , type Amberlyst par exemple), en solution dans le toluène, dans un appareillage de Dean-Stark pour distiller l'hétéroazéotrope eau-toluène et, ainsi, rendre la réaction quantitative.

L'équation bilan équilibrée est bien entendu :



Avec un énantiomère de la valérolactone il ne se forme qu'un seul orthoester cyclique, compte tenu du choix du diol.

q A.10.

L'intérêt de passer à l'orthoester est de transformer le mélange d'énantiomères (**4** + **4'**) en un mélange de deux diastéréoisomères en mêmes proportions (la réaction n'est pas racémisante). Ces deux composés sont alors séparables par chromatographie classique (les énantiomères devaient être difficiles à séparer sur colonne chirale...).

Les proportions relatives de 90/10 conduisent à un excès énantiomérique $ee = 80\%$ ce qui montre la meilleure qualité de la valeur donnée par l'équipe 2.

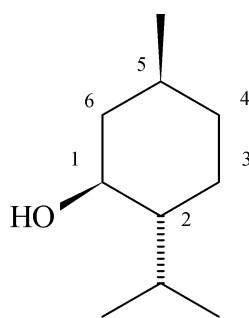
q A.11.

Il faudrait préciser si l'hydrolyse du diester **1** est conduite en présence de l'enzyme, ce qui est à peu près évident... La valeur maximale correspond à la formation de la quantité maximale de monoester et la décroissance lente correspond à la formation progressive du diacide achiral (plan de symétrie).

Partie B : Orientation des réactions

q B.1.

Avec les numérotations indiquées sur le schéma, les ordres de priorité sont :



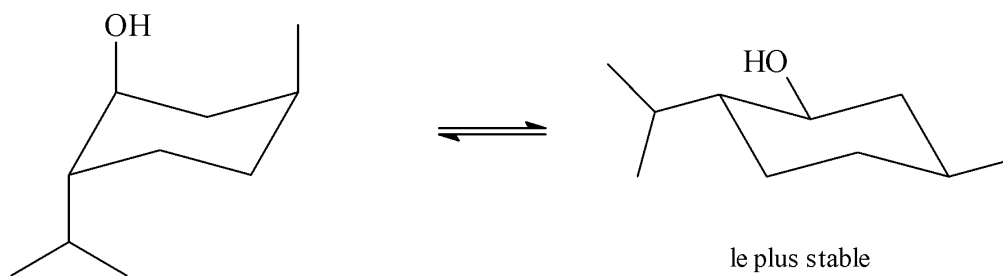
autour de C1 : $HO > C2 > C6 > H$: configuration absolue *S*

autour de C2 : $C1 > C7 > C3 > H$: configuration absolue *R*

autour de C5 : $C6 > C4 > CH_3 > H$: configuration absolue *S*

Les conformères chaise sont représentés ci-après. Le plus stable est celui où le maximum de groupes alkyle sont en position équatoriale (la préférence équatoriale d'un groupe hydroxy est de 0,66/0,33 contre 0,96/0,04 pour un groupe méthyle).

Ici il n'y a pas de difficultés, tous les groupes sont en position soit axiale, soit équatoriale.



q B.2.

Réaliser l'estérification (par un acide achiral) du mélange racémique des deux menthols en l'absence de l'enzyme conduirait à un mélange racémique des deux esters (les deux alcools sont énantiomères donc réagissent à la même vitesse face à un acide achiral). L'estérification en présence de l'enzyme permet donc de réaliser un « dédoublement cinétique » du menthol puisque l'énantiomère (-) disparaît pratiquement du milieu réactionnel.

NOTE : Il pourrait y avoir dédoublement cinétique spontané lors de l'estérification classique si les deux esters énantiomères formaient à l'état solide un conglomerat et non un racémate, ce dont on ne sait rien ici...

q B.3.

Il est possible de réaliser l'estérification en transformant au préalable l'acide en chlorure d'acyle correspondant. On pourrait aussi réaliser l'estérification directe en dissolvant l'acide et le menthol dans le toluène, en présence d'APTS, dans un appareillage de Dean-Stark pour distiller l'hétéroazéotrope eau-toluène et, ainsi, rendre la réaction quantitative.

q B.4.

On utilise l'acide en excès pour rendre le plus quantitatif possible la transformation de l'alcool en ester.

NOTE : La notion de concentration est bizarre dans cette question. L'ester mentholique ne doit pas être bien soluble dans l'eau, de même pour l'acide à 11 atomes de carbone et même le menthol...

En milieu organique, l'eau n'est pas soluble et « l'auto-extraction » de l'eau du milieu réactionnel peut entraîner un déplacement de l'équilibre vers la consommation des réactifs, donc une diminution de Q (...).

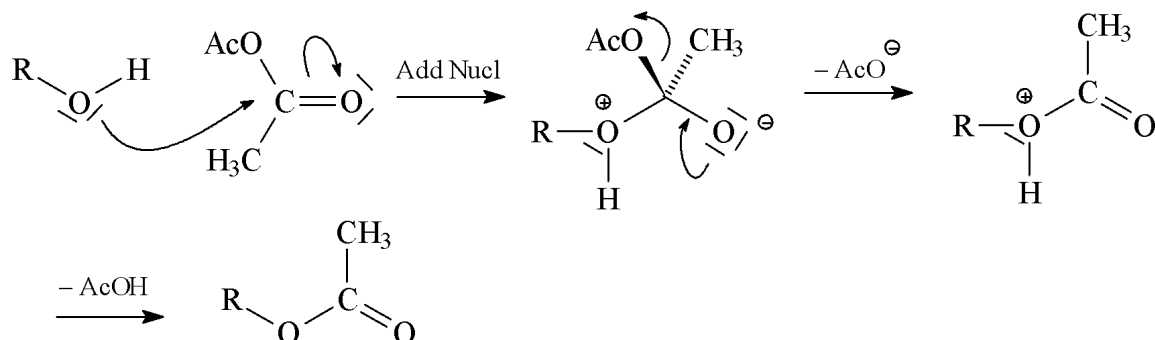
q B.5.

L'étape (-1) est simplement une transestérification, dont le mécanisme est tout à fait analogue à celui de l'hydrolyse d'un ester par l'eau (l'eau et l'alcool jouent le même rôle nucléophile, les intermédiaires tétraédriques sont tout à fait comparables).

q B.6.

L'énoncé n'est pas bien clair. Que représente k_1 ? Est-ce la constante de vitesse de la réaction non catalysée ou celle analogue à la transestérification, réalisée par l'enzyme sur l'anhydride au lieu de l'ester ??

Si nous nous plaçons dans la seconde hypothèse, le mécanisme de formation de l'acylenzyme avec l'anhydride éthanoïque pourrait être le suivant (les transferts de protons mettant en jeu d'autres résidus de l'enzyme comme des sites imidazole ou cystéine ne sont pas représentés) :



La vitesse augmente avec l'anhydride car il est plus électrophile que l'ester (moins bon caractère donneur mésomère de l'oxygène simplement lié, par exemple...).

q B.7.

Pour une transestérification, l'ordre de grandeur de la valeur de la constante d'équilibre (si tout est soluble dans le milieu...) est de l'unité.

Pour favoriser la formation de H_3CCOOR il faut distiller l'alcool $R'OH$ ou, tout au moins, l'empêcher de réagir avec l'ester produit (éventuellement en lui faisant subir une transformation chimique appropriée).

q B.8.

Les mécanismes d'hydrolyse et d'estérification sont identiques (principe de micro-réversibilité). L'enzyme catalysant les deux réactions, l'ester dont la synthèse est la plus facile sera l'ester dont l'hydrolyse, par le même mécanisme décrit « à l'envers », sera la plus facile.

q B.9.

Si l'alcool (+) est estérifié plus rapidement que l'alcool (-), la réaction opposée sur l'ester correspondant est aussi plus rapide et il y a régénération de l'alcool (+). Ainsi les deux alcools se retrouvent dans le milieu en proportions comparables et globalement, on aura des proportions comparables des deux esters. (??).

Pour limiter les réactions inverses, il faut que l'alcool $R'OH$ ne soit pratiquement pas acylable, par exemple on peut choisir un alcool tertiaire, fortement encombré, donc assez peu nucléophile.

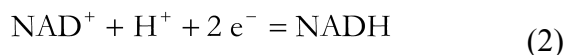
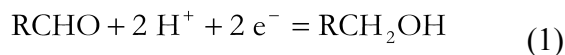
q B.10.

L'usage de l'acétate d'isopropényle est recommandé : en effet l'alcool formé par transestérification est un énol qui est immédiatement et quantitativement transformé en propanone et, ainsi, la réaction inverse est empêchée.

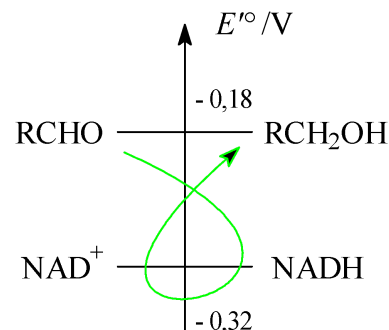
Partie C : Utilisation des enzymes en oxydoréduction

q C.1.

Les deux demi-équations sont les suivantes :



L'équation bilan est par conséquent :



q C.2.

La réaction favorable est, dans les conditions standard biologiques ($\text{pH} = 7$, toutes activités unitaires), la réduction de l'aldéhyde par NADH.

Calculons la valeur de la constante d'équilibre K'° de l'équation bilan (R) dans les conditions standard biologiques. Nous utilisons les relations suivantes :

$$\Delta_r G'^{\circ} = -RT \ln K'^{\circ} = \Delta_{\frac{1}{2}} G'^{\circ}_2 - \Delta_{\frac{1}{2}} G'^{\circ}_1 = -2F(E'^{\circ}_2 - E'^{\circ}_1)$$

Nous en déduisons : $\log K'^{\circ} = \frac{2}{\alpha}(E'^{\circ}_2 - E'^{\circ}_1)$ avec $\alpha = 2,3 \frac{RT}{F}$

Numériquement : $K'^{\circ} = 10^{-4,67}$

Partant de n_0 mol d'alcool et de $50 n_0$ mol de NAD^+ , on aura à l'équilibre $n_0(1 - \alpha)$ mol d'alcool, αn_0 mol d'aldéhyde et pratiquement $50 n_0$ mol de NAD^+ et αn_0 mol de NADH. En exprimant la constante d'équilibre dans les conditions standard biologiques, il vient :

$$K'^{\circ} = \frac{\alpha^2}{50(1 - \alpha)}$$

Cette équation a pour solution approchée, en supposant $\alpha \ll 1$: $\alpha \approx \sqrt{50 \times 10^{-4,67}} \approx 0,033$

Il n'y a donc que 3,3 % de la quantité initiale d'alcool qui sera oxydée dans ces conditions.

q C.3.

Les couples rédox sont positionnés comme le montre la figure 1 page suivante.

Du point de vue thermodynamique, la réaction entre B^+ et l'alcool est quantitative dans les conditions standard biologiques. Il suffit donc de placer un équivalent molaire de B^+ en présence de l'alcool et d'une trace de NAD^+ pour que la réaction soit possible. Au niveau cinétique, l'alcool est oxydé par NAD^+ et la petite quantité de NADH formée est réoxydée par B^+ en NAD^+ , sous l'action des deux enzymes spécifiques, respectivement HLADH puis la diaphorase.

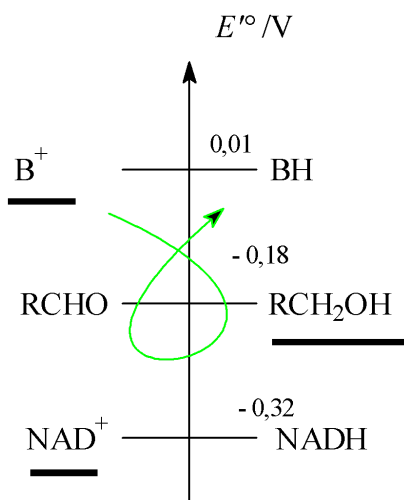


figure 1

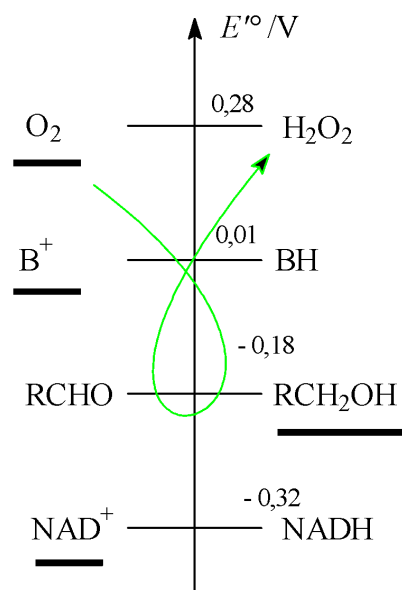


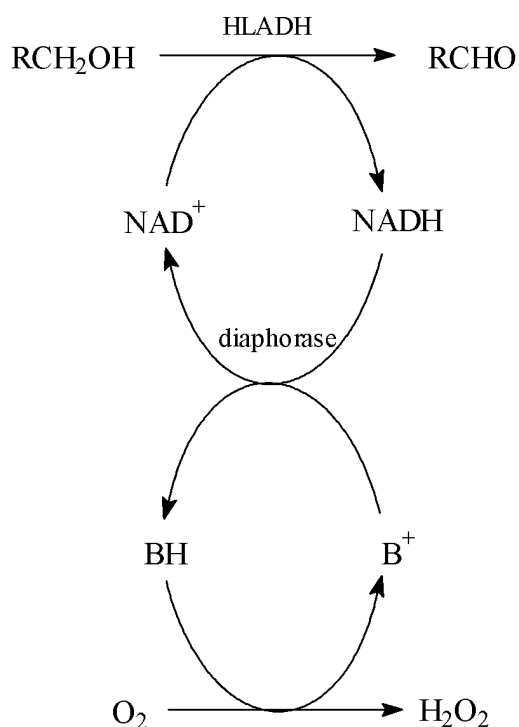
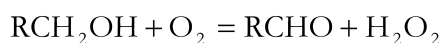
figure 2

q C.4.

Les couples rédox incluent maintenant le couple O_2/H_2O_2 [figure 2].

Du point de vue thermodynamique, la réaction entre O_2 et l'alcool est favorable dans les conditions standard biologiques. Il suffit donc de se placer en excès de dioxygène (à l'air libre) en présence de l'alcool, d'une trace de NAD^+ et d'une trace de bleu de méthylène B^+ pour que la réaction soit possible. Au niveau cinétique, l'alcool est oxydé par NAD^+ , la petite quantité de NADH formée est réoxydée par B^+ en NAD^+ , sous l'action des deux enzymes spécifiques, respectivement HLADH puis la diaphorase. Finalement la forme réduite BH est réoxydée spontanément par le dioxygène en B^+ et il se forme *a priori* du peroxyde d'hydrogène.

L'équation bilan globale est donc l'oxydation de l'alcool par le dioxygène de l'air, réaction la plus favorable :



Les deux cycles catalytiques sont représentés ci-dessus. La réaction globale est quantitative compte tenu de l'écart entre les valeurs des potentiels (forte constante d'équilibre et, corrélativement, comme

le montrent les courbes intensité-potentiel, grande constante cinétique) et surtout du fait que le dioxygène est en quantité illimitée.

q C.5.

Il faut calculer la valeur du potentiel standard du couple $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$. Pour cela, écrivons les demi-équations d'oxydoréduction :

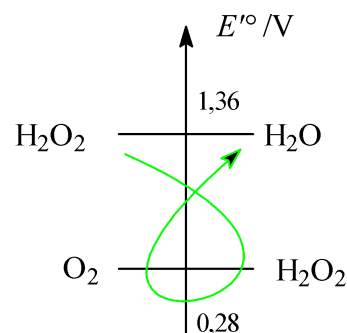
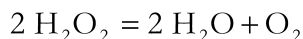


De toute évidence, $(\text{D3}) = 2(\text{D1}) - (\text{D2})$ donc $\Delta_{\frac{1}{2}}G'^{\circ}_3 = 2\Delta_{\frac{1}{2}}G'^{\circ}_1 - \Delta_{\frac{1}{2}}G'^{\circ}_2$ soit :

$$E'^{\circ}_3 = 2E'^{\circ}_1 - E'^{\circ}_2$$

Numériquement : $E'^{\circ}_3 = 1,36 \text{ V}$

Représentons ci-contre les couples rédox incluant le peroxyde d'hydrogène : il est clair que la dismutation du peroxyde d'hydrogène est thermodynamiquement favorable dans les conditions standard biologiques. L'équation bilan de dismutation s'écrit :



À l'air libre, la pression partielle en dioxygène est imposée : $p_{\text{O}_2} = 0,2 p^{\circ}$. L'activité de l'eau est prise égale à 1 et celle du peroxyde d'hydrogène est prise égale à $c_{\text{H}_2\text{O}_2}/c^{\circ}$.

La constante d'équilibre a pour expression : $\log K'^{\circ} = \frac{2}{\alpha}(E'^{\circ}_3 - E'^{\circ}_2)$ avec $\alpha = 2,3 \frac{RT}{F}$

Numériquement : $K'^{\circ} = 10^{36}$, la réaction est quantitative.

À l'équilibre, la concentration en peroxyde d'hydrogène est donnée par la relation :

$$K'^{\circ} = \frac{p_{\text{O}_2}/p^{\circ}}{(c_{\text{H}_2\text{O}_2}/c^{\circ})^2}$$

La concentration en peroxyde d'hydrogène à l'équilibre est donc : $c_{\text{H}_2\text{O}_2} = 2 \times 10^{-19} \text{ mol/L}$, valeur extrêmement faible.

q C.6.

En pratique, la dismutation du peroxyde d'hydrogène est très lente. Il faut donc la catalyser, par exemple avec des traces de métaux de transition ou une enzyme adaptée.

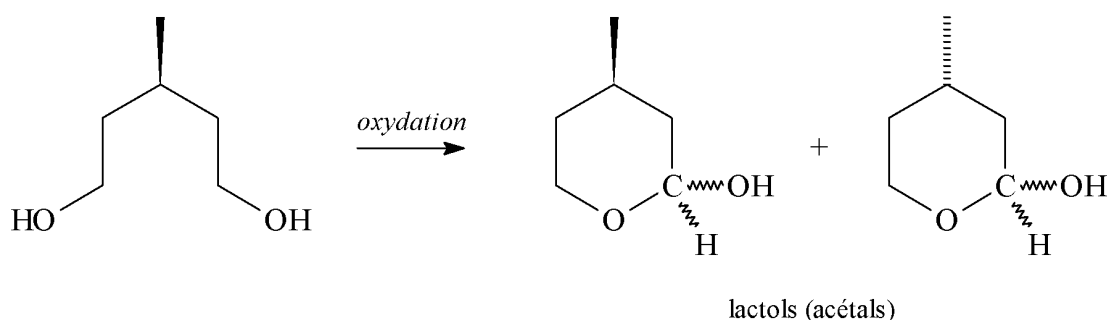
q C.7.

A voir...

q C.8.

A priori l'oxydation du diol conduit dans un premier temps à l'aldéhyde alcool, qui se cyclise vraisemblablement en lactol (acétal cyclique). Ce dernier est ensuite oxydé en lactone en présence du même système oxydant (il subsiste le fragment $CHOH$, responsable de la possibilité d'oxydation).

Le schéma serait alors le suivant :



L'oxydation des lactols, obtenus vraisemblablement dans les mêmes proportions que les lactones, conduit aux lactones.

NOTE : On aurait pu invoquer la formation du dialdéhyde, suivie d'une réaction de dismutation de type Cannizzaro pour donner l'acide et l'alcool, suivie d'une cyclisation en lactone. Mais cette éventualité est peu réaliste, la dismutation des aldéhydes ne se produisant qu'en présence de très fortes concentrations d'hydroxyde de sodium.

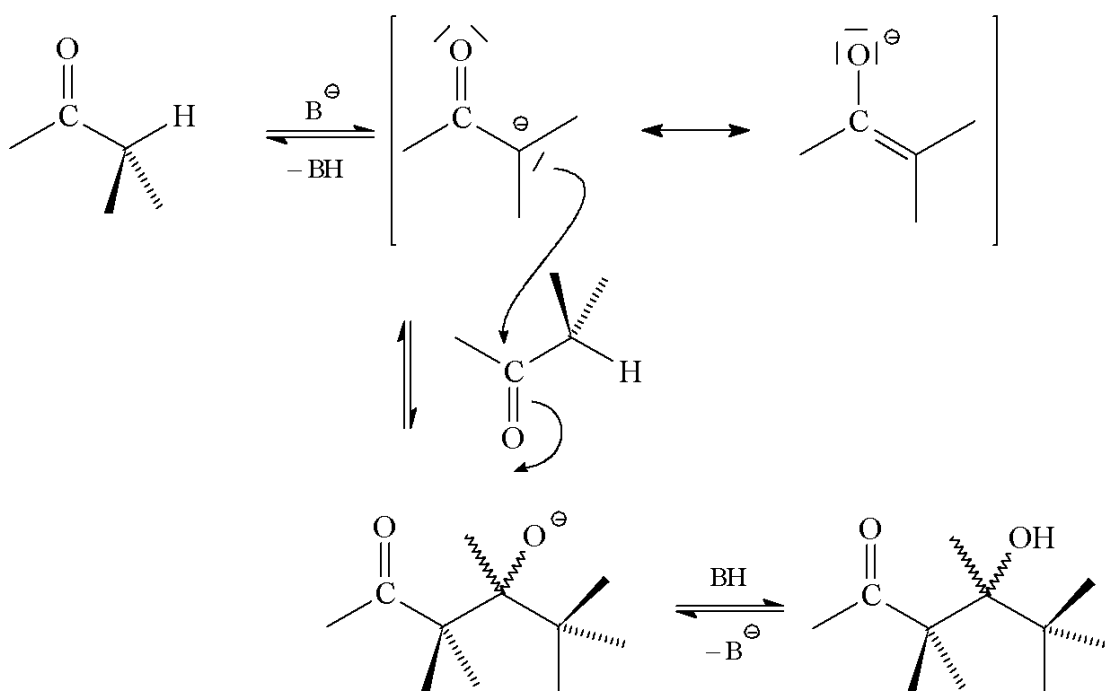
Partie D : Exemple de créations de liaisons C-C

q D.1.

La voie métabolique est celle de la formation du glucose (néoglucogenèse)

q D.2.

La réaction correspond à une aldolisation croisée. Il est possible *a priori* d'obtenir tous les produits envisageables d'addition nucléophile d'un énolate sur un carbonyle, mais les produits correspondants à l'addition d'un énolate sur la cétone sont peu favorisés du point de vue thermodynamique et cinétique. Le produit concurrent majoritaire sera donc vraisemblablement le dimère du G3P.

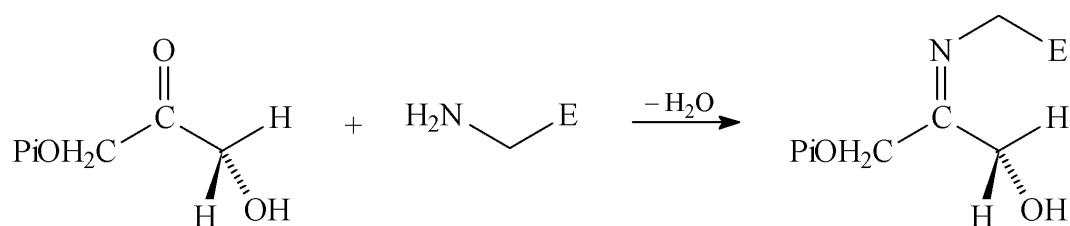


Le mécanisme de la réaction est représenté ci-dessus.

Bien entendu, en l'absence d'enzyme, tous les stéréoisomères du FDP et des produits secondaires sont susceptibles d'être obtenus. Il n'est pas sûr, à ce propos, que le G3P conserve une stéréochimie définie, l'énolisation risquant de le racémiser plus ou moins partiellement.

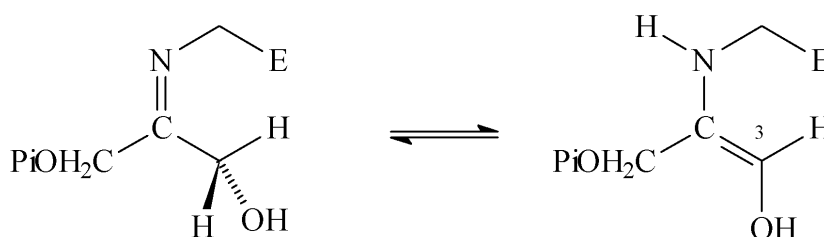
q D.3.

Il se forme vraisemblablement une imine entre le groupe amino terminal de la lysine et le groupe carbonyle du DHAP :



Le groupe fonctionnel est plan, deux isomères sont possibles autour de la double liaison $C=N$.

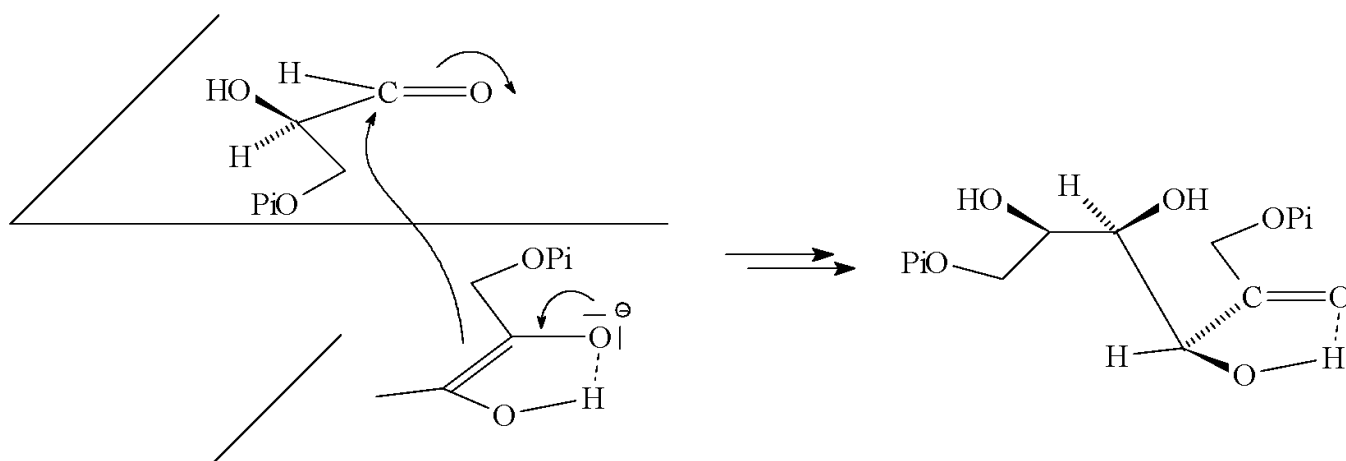
L'intermédiaire nucléophile est vraisemblablement le suivant, à la fois énol et énamine. Il possède un caractère nucléophile sur l'atome de carbone 3.



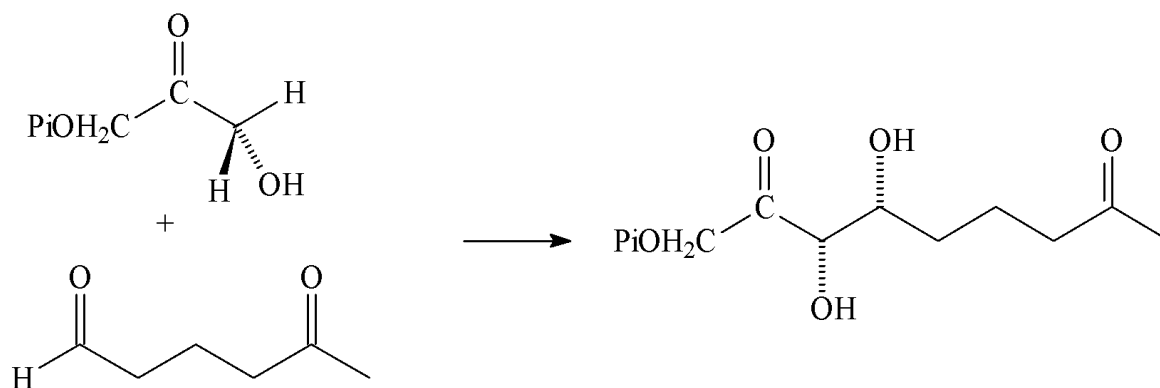
q D.4.

Lors de la formation du FDP, deux centres asymétriques sont créés (l'atome de carbone asymétrique du G3P conserve sa configuration).

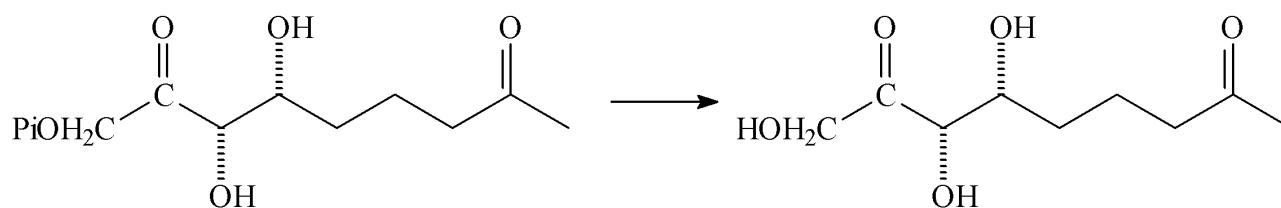
Le nucléophile énolate attaque perpendiculairement (ou presque) le groupe carbonyle. Il y a peut-être une liaison hydrogène intramoléculaire qui stabilise la conformation de l'énolate (ou de ce qui lui ressemble dans le site actif...).

**q D.5.**

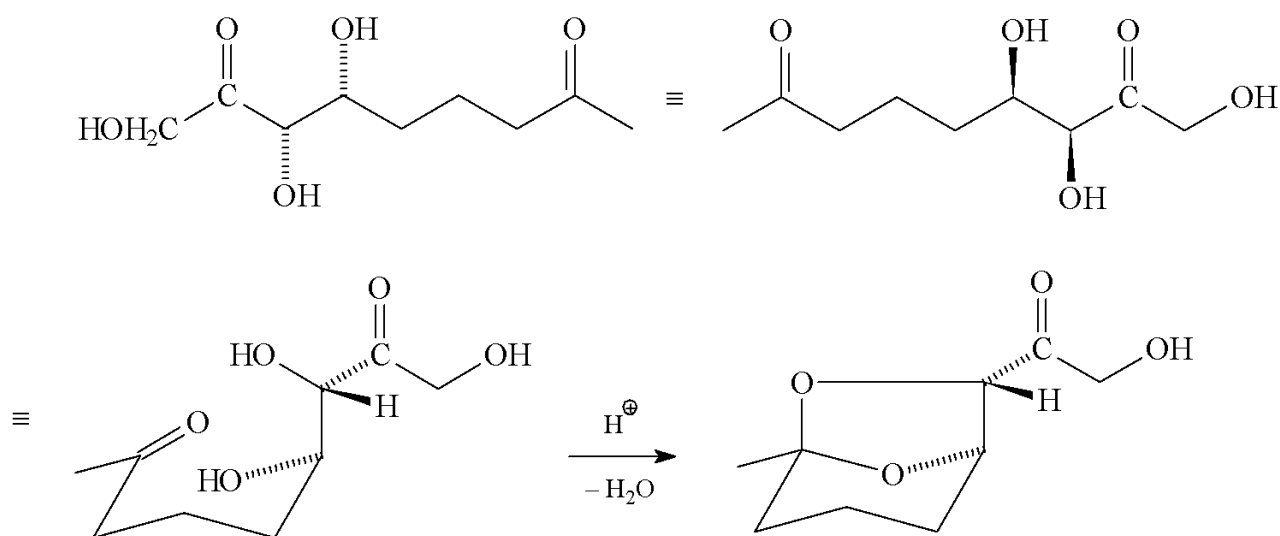
On peut raisonnablement penser que la structure tridimensionnelle du produit (9) va être la même que celle du FDP :

**q D.6.**

La phosphatase alcaline hydrolyse l'ester pour donner l'alcool correspondant (10) :



Il se forme ensuite un cétal bicyclique par réaction intramoléculaire.



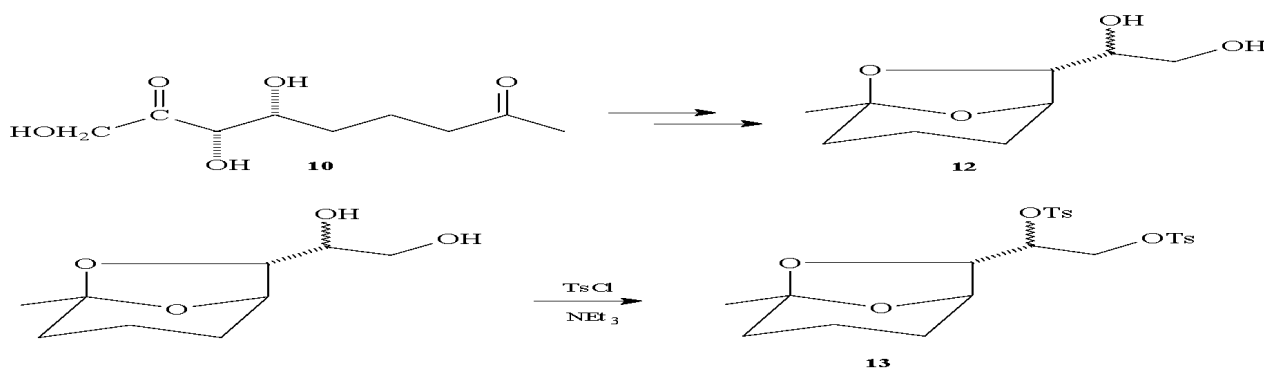
Mécanisme : voir cours.

q D.7.

Dans la sulfonylation des alcools par TsCl, la triéthylamine joue un double rôle : basique (déprotone le sulfonylester protoné) et nucléophile (formation d'un sulfonyleammonium, plus réactif que TsCl face à l'alcool car la liaison S-N est plus polarisable que la liaison S-Cl), quoique ce dernier point soit actuellement critiqué).

q D.8.

La réduction d'un groupe carbonyle par NaBH_4 conduit à la formation d'un groupe hydroxy.
Le composé (**13**) est le ditosylate de (**12**).



q D.9.

Il suffit d'hydrogéner le composé en présence de nickel ou de palladium.

q D.10.

NOTE : On se demande ce que vient faire la méthode de Williamson ici...

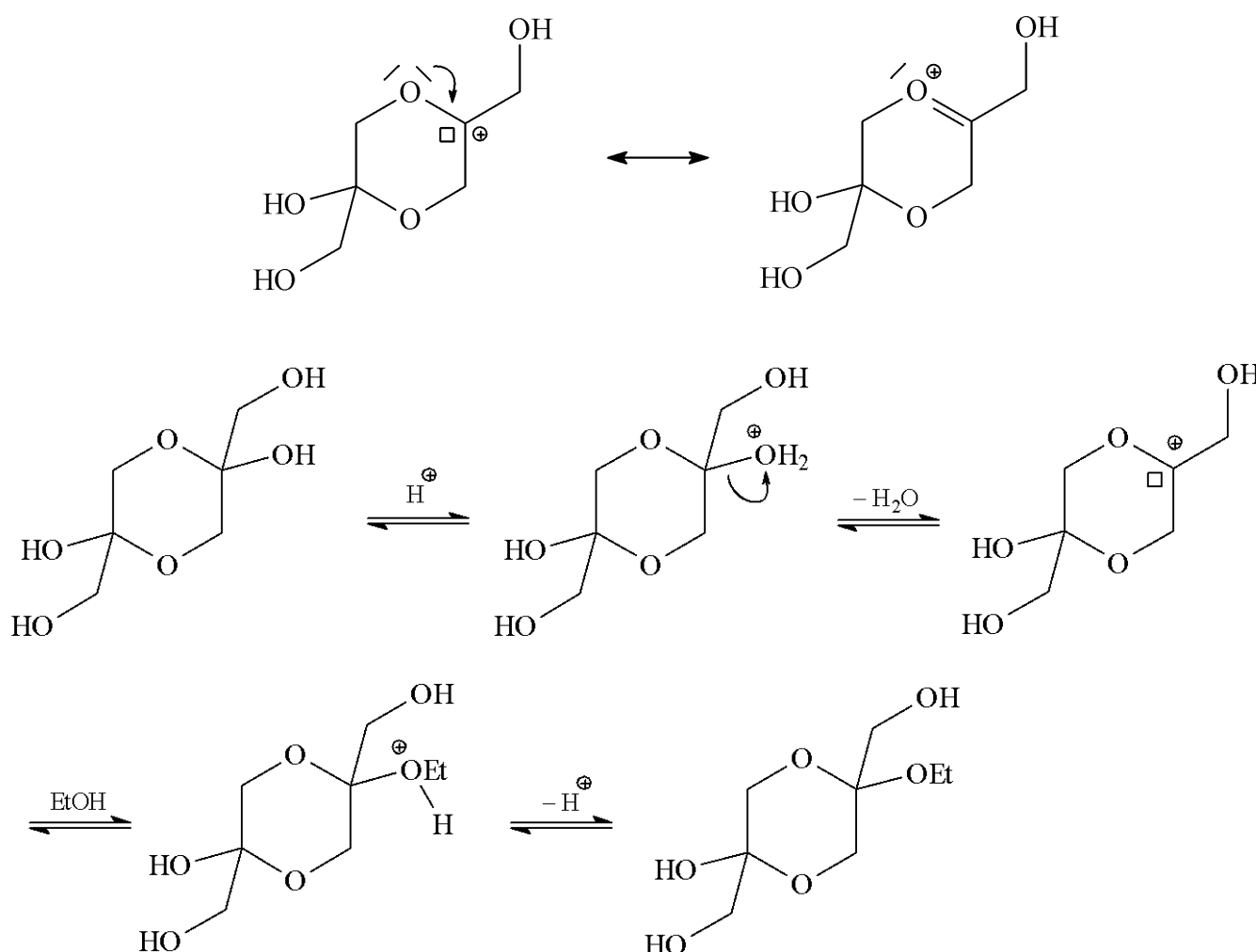
Pour transformer un alcool en éther-oxyde, on procède, dans la méthode de Williamson, de la façon suivante : déprotonation de l'alcool par une base forte (NaH, typiquement) ou par réaction d'oxydoréduction avec le sodium (alcool primaire ou secondaire) ou le potassium (alcool tertiaire),

puis réaction de SN sur le composé halogéné souhaitable. La méthode ne fonctionne qu'avec des composés halogénés primaires ou, à la rigueur, secondaires (sinon l'élimination E2 devient majoritaire et même exclusive).

Ici, on utilise le fait que l'un des groupes OH fait partie d'une fonctionnalité de type hémicétal. Le carbocation résultant de la perte de ce groupe OH (après protonation pour que le groupe partant ait une aptitude nucléofuge convenable) est particulièrement stable et ainsi, la régiosélectivité de la réaction est assurée (l'éthanol, mauvais nucléophile, ne peut déplacer un groupe OH_2^+ sur un atome de carbone primaire par réaction bimoléculaire de type $\text{S}_\text{N}2$).

Le mécanisme de la réaction est représenté ci-après.

Le carbocation intermédiaire est stabilisé par délocalisation électronique :

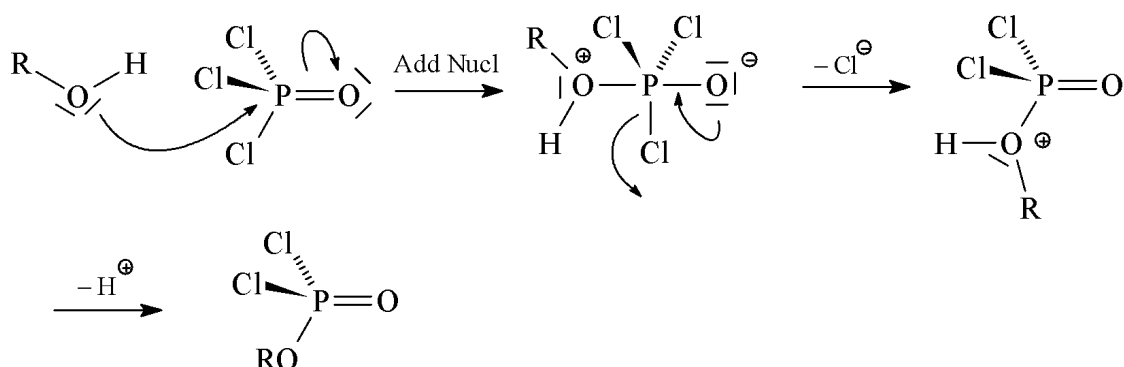


Le même mécanisme s'applique pour la formation de l'autre groupe OEt.

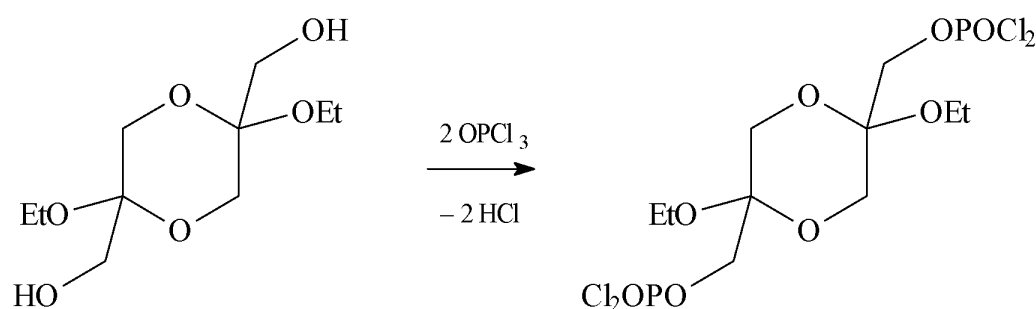
En fait, ce n'est pas une étherification au sens strict, mais le passage d'un hémicétal à un cétal.

q D.11.

Le mécanisme est formellement analogue à celui de l'acylation d'un alcool par un chlorure d'acyle :

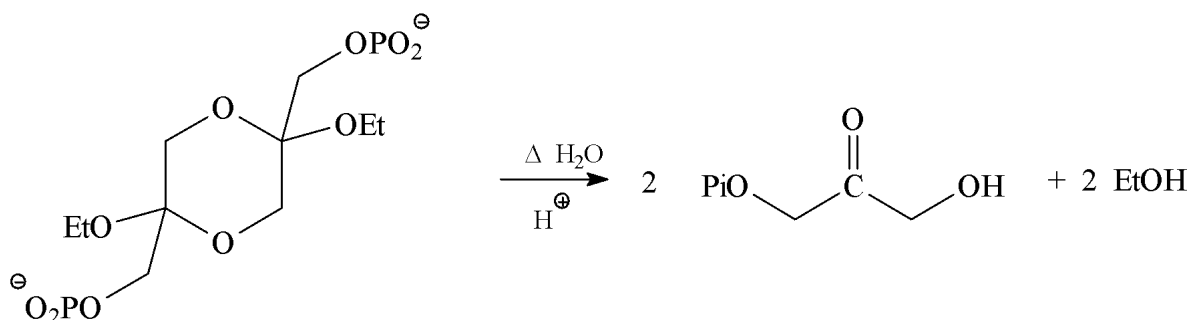


Le bilan de la réaction est donc le suivant, permettant la synthèse de (17) :



q D.12.

Il suffit de chauffer (18) en milieu acide aqueux et de distiller l'éthanol obtenu pour rendre thermodynamiquement totale la réaction inverse de la cétylisation.



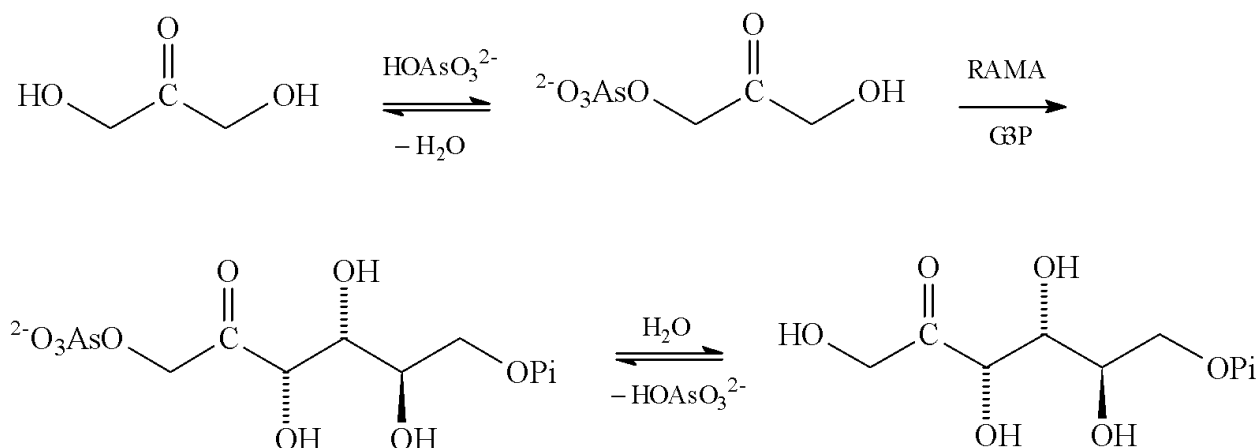
Partie E : Mise au point d'un ligand non naturel – Cinétique

q E.1.

Le phosphore et l'arsenic sont situés dans la même colonne de la classification de Mendeleiev et ont donc la même configuration électronique externe : $ns^2 - np^3$ ($n = 3$ pour le phosphore, $n = 4$ pour l'arsenic). Les ions phosphate et arséniate ont le même type VSEPR autour de l'atome central, à savoir AX_4 . La structure géométrique est de type tétragonale, les 4 atomes d'oxygène étant situés aux quatre sommets d'un tétraèdre dont le centre est occupé par l'atome central.

q E.2.

L'ion ROAsO_3^{2-} est, pour les mêmes raisons que précédemment, tout à fait analogue à ROPO_3^{2-} . Lorsque l'on mélange les différents réactifs, la réaction ne démarre que lorsque l'arséniate est ajouté, ce qui montre que le dihydroxyacétonearséniate est substrat de l'enzyme RAMA (il mime le DHAP en « leurrant » l'enzyme), au contraire de la dihydroxyacétone. On peut imaginer le cycle catalytique suivant, où l'arséniate est consommé puis régénéré et où sa présence permet à la réaction de fonctionner (il est donc bien un catalyseur).

**q E.3.**

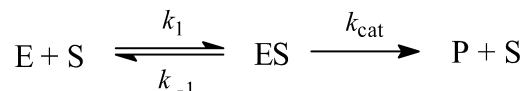
Il faut utiliser la représentation de Lineweaver-Burk : $\frac{1}{V} = f\left(\frac{1}{S}\right)$; en effet la relation proposée se

transforme en : $\frac{1}{V} = \frac{1}{k_{\text{cat}} E_0} \left(1 + \frac{K_M}{S}\right)$. Les résultats sont les suivants :



La régression linéaire donne : $\frac{1}{V / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}} = 33,2 \times \frac{1}{S / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}} + 3,07$; la relation est bien vérifiée, la cinétique est de type *Michaelis*.

Rappelons le schéma cinétique d'une cinétique de ce type :



E_0 représente la concentration totale de l'enzyme, somme des concentrations de la forme libre E et de la forme complexe enzyme-substrat ES . K_M , constante de Michaelis, est définie par :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{\text{cat}}}{k_1}$$

La constante de Michaelis est obtenue sur la courbe par l'inverse de l'abscisse du point d'intersection de la droite de régression avec l'axe des abscisses. En effet :

$$\frac{1}{V} = 0 \Leftrightarrow S = -K_M$$

On obtient numériquement : $K_M = 10,8 \text{ mmol/L}$

$$V_M = k_{\text{cat}} E_0 = 0,326 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

q E.4.

Dans ces conditions, la vitesse de la réaction de formation de l'ester arsénique est grande devant la vitesse de la réaction enzymatique.

q E.5.

Dans un premier temps (faibles concentrations en enzyme), la vitesse initiale de la réaction est proportionnelle à la concentration en enzyme. On est donc sous un régime où c'est la réaction enzymatique qui impose la vitesse du processus, la vitesse de formation de l'ester arsénique est grande devant la vitesse de la réaction enzymatique (en régime de type Michaelis, la vitesse initiale est proportionnelle à la concentration totale en enzyme, pour des concentrations en substrat fixées, cf E.3).

Dans un second temps (fortes concentrations en enzyme), la vitesse du processus est constante, imposée par l'étape la plus lente, donc la formation de l'ester (indépendante de la concentration en enzyme).

L'étape la plus lente dans la formation de l'ester arsénique doit être l'addition nucléophile de l'alcool sur l'arsenic, donc la vitesse de la réaction est de la forme :

$$r_0 = k_0 c_{\text{DHA}} c_{\text{As}}$$

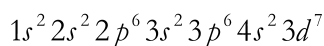
Dans cette expression, c_X désigne la concentration initiale de l'espèce X (dihydroxyacétone —DHA— et arséniate —As).

Avec $r_0 \approx 6 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, on trouve $k_0 = 0,67 \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$

Partie F : Utilisation de la cobalamine

q F.1.

Le cobalt ($Z = 27$) est un élément de la première série de transition. Sa configuration électronique est :



q F.2.

La corrine CorrH est un ligand neutre, de même pour L. L'ion cobalt porte donc une charge (+3) : il est au degré d'oxydation III.

La configuration électronique externe est alors $4s^0 3d^6$: il est impossible de prévoir les propriétés magnétiques du complexe puisque les électrons sont appariés en situation de champ fort (complexe bas spin, ici diamagnétique car les électrons sont en nombre pair) ou partiellement désappariés en situation de champ faible (complexe haut spin, paramagnétique, 4 électrons célibataires).

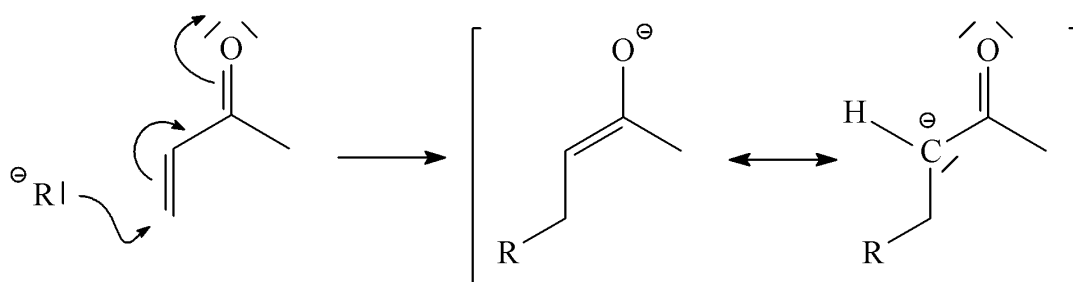
q F.3.

Si l'on postule que ni L, ni la corrine ne sont affectées par la réduction, le cobalt récupère deux électrons lors de la réduction en (19) et passe au degré d'oxydation $(+I)$. Dans (20), le cobalt cède un doublet d'électrons au groupe R et ne change pas de degré d'oxydation.

NOTE : On pourra se référer à un article du JCE sur le même sujet :

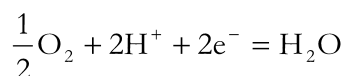
q F.4.

Tout se passe comme si il y avait réduction du complexe $[L\text{CorrCo} - R]^+$ en $L\text{CorrCo}$ et R^- , ce dernier pouvant réaliser une addition 1,4 sur l' α -énone :



L'énolate formé se reprotone dans l'eau pour donner un peu d'énol et la cétone. L'énol est de toutes façons immédiatement et quantitativement transformé en cétone.

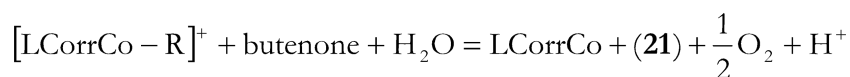
Corrélativement, il y a oxydation de l'eau en dioxygène selon la demi-équation :



La demi-équation équilibrée de réduction s'écrit :



L'équation bilan complète est donc :

**q F.5.**

Un organocuprate lithié, préparé à partir de CuI et RBr, de formule stœchiométrique R_2CuLi , peut réagir sur la buténone pour conduire après hydrolyse au composé (**21**). Il est aussi possible d'utiliser un organomagnésien en présence de quantité catalytique d'iodure de cuivre(I), l'espèce réactive étant sans doute un organocuprate magnésien de formule stœchiométrique R_2CuMgBr .

Le mécanisme de la réaction est complexe, fait vraisemblablement intervenir des transferts monoélectroniques puis biélectroniques autour du cuivre et n'est en rien une simple addition nucléophile sur l'atome de carbone terminal.

q F.6.

En imposant un potentiel cathodique de $-1,6 \text{ V}$ au mélange des réactifs, il peut se former dans un premier temps (**19**). Ce dernier réagit alors avec RBr pour donner (**20**), lui-même réduit en présence de buténone pour conduire à (**21**).

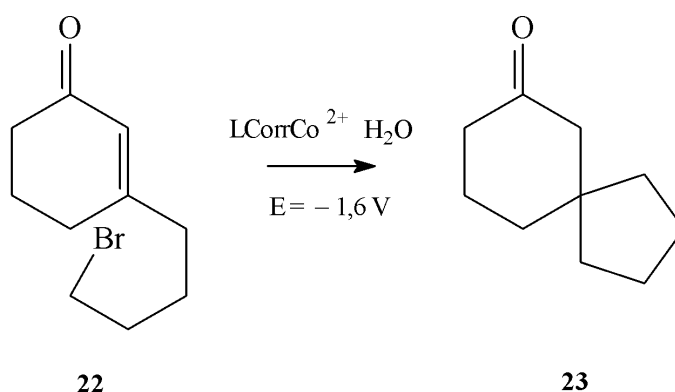
Il faudrait être sûr qu'aucune autre réduction électrochimique n'intervienne. Pour cela, le choix des électrodes est primordial.

La cobalamine peut vraisemblablement (??) être utilisée en quantité catalytique : en effet, la réoxydation de (**19**) par le dioxygène de l'air (ou celui dissous dans l'eau) est thermodynamiquement favorable.

q F.7.

Il se forme un complexe analogue à (**20**), qui contient à la fois le fragment α -énone et le fragment $-\text{R}$.

Il y aura donc formation du composé spirannique (**23**) par addition nucléophile 1,4 intramoléculaire :

**Partie G : Anticorps catalytiques****q G.1.**

On a les relations de définition des constantes d'équilibre, en confondant activité et concentration « réduite » :

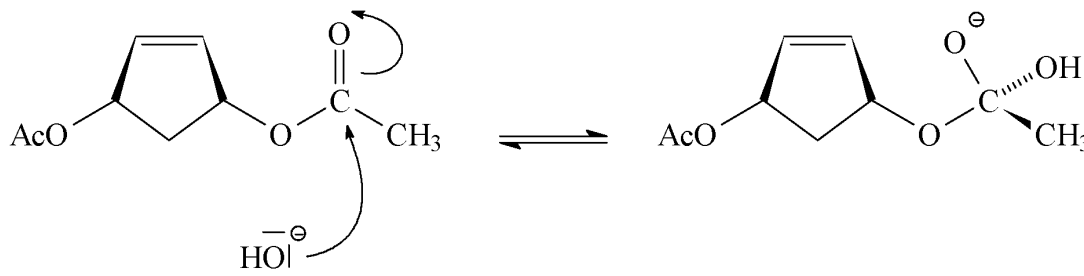
$$K_1 = \frac{c_I}{c_A} \quad K_2 = \frac{c_{EI}}{c_{EA}} \quad K = \frac{c_{EA} c_O}{c_A c_E} \quad K^* = \frac{c_{EI} c_O}{c_I c_E}$$

On a donc : $\frac{K_2}{K_1} = \frac{K^*}{K}$ et par conséquent : $\frac{k_{cat}}{k} = \frac{K^*}{K} \approx 10^{10}$

La question suivante semble évidente...

q G.2.

En milieu basique aqueux, l'hydrolyse d'un ester débute par l'addition nucléophile des ions hydroxyde sur le groupe carbonyle :



q G.3.

L'environnement autour de l'atome de phosphore est lui aussi tétraédrique, l'atome central possède trois atomes d'oxygène dont un chargé négativement.

q G.4.

$$\frac{K^*}{K} = \frac{k_{cat}}{k} = 3,9 \times 10^4$$

Selon la formule démontrée à la question G.1., nous avons :

L'origine de la sélectivité pour l'anticorps réside dans son caractère chiral : le composé **(23)** est prochiral et donne lieu à la formation de deux énantiomères **(24)** et **(26)**. Seul un composé chiral peut ici induire une énantiosélectivité.

Le meilleur catalyseur est celui qui a la constante k_{cat} la plus élevée, donc l'enzyme.

Compte tenu de l'expression de la constante de Michaelis : $K_M = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}$, on voit que si K_M est plus grand pour l'anticorps alors que k_{cat} est plus élevée, c'est que la constante k_1 est plus petite pour l'anticorps que pour l'enzyme, autrement dit que l'enzyme interagit plus facilement avec le substrat que l'anticorps (...).

q G.5.

L'haptène **(25)** est la cible privilégiée de l'anticorps et va donc se fixer plus facilement et de façon plus quantitative sur l'anticorps. Il y a donc inhibition compétitive puisque l'inhibiteur **(25)** est un analogue structural du substrat et prend sa place dans le site actif.

q G.6.

L'ACE ne permet pas d'inverser la stéréosélectivité (le site actif a une conformation tridimensionnelle que l'on ne peut pas changer et qui implique un seul mode de fixation, donc de réaction pour **(23)** — sauf à fabriquer l'énantiomère de l'ACE...

En revanche, en fabriquant un anticorps catalytique énantiomère de celui dirigé contre **(25)**, autrement dit dirigé contre l'énantiomère de **(25)**, on peut espérer inverser l'énantiosélectivité.

NOTE : On pourra lire l'article du JCE portant sur ce sujet : 7/99, vol 76, p 977