Transferts thermiques et protéines

Ce sujet comprend trois parties totalement indépendantes. Dans un premier temps on s'intéresse aux mélanges binaires puis à l'étude calorimétrique de la dénaturation d'une protéine. Dans un deuxième temps, on aborde l'étude cinétique de réactions d'oxydation catalysées par une enzyme. Enfin, une troisième partie envisage l'étude structurale de quelques intermédiaires d'un cycle catalytique faisant intervenir cette enzyme.

A. Transferts thermiques

A.I. ÉQUILIBRES BINAIRES SOLIDE-LIQUIDE

A.I.1. Équilibre entre phases dans un mélange binaire

On considère un mélange binaire liquide de deux constituants A et B à la température T sous la pression P. On notera x la fraction molaire de A dans ce mélange ; $\mu^*_{A(T,P)}$, $h^*_{A(T,P)}$ et $s^*_{A(T,P)}$, respectivement, le potentiel chimique, l'enthalpie molaire et l'entropie molaire de A liquide pur à T et P.

A.I.1.1. Exprimer le potentiel chimique de A dans le cas où le mélange est réel. On précisera l'état de référence choisi.

A.I.1.2.a) Démontrer la relation de Gibbs-Helmoltz liant H, G et T.

A.I.1.2.b) Exprimer l'enthalpie molaire partielle et l'entropie molaire partielle de A dans le cas d'un mélange réel.

A.I.1.3. On note G_m, H_m et S_m l'enthalpie libre molaire, l'enthalpie molaire et l'entropie molaire de ce mélange. Exprimer G_m, H_m et S_m en fonction de x.

A.I.1.4. Représenter l'allure des variations de G_m en fonction de x (à T et P constantes) dans l'hypothèse où A et B forment un mélange liquide idéal.

A.I.1.5. Démontrer grâce à la relation de Gibbs-Duhem que la tangente à la courbe $G_m = f(x)$ au point M d'abscisse x_M coupe les axes $x = 0$ et $x = 1$ en $\mu_B(T,P,x_M)$ et $\mu_A(T,P,x_M)$. Ce résultat reste-t-il exact dans le cas d'un mélange liquide réel ?

A.I.1.6. L'allure de la courbe $G_m = f(x)$ (à T et P constantes) peut être sensiblement différente dans le cas d'un mélange réel. Dans certains cas, elle peut présenter l'allure du schéma 1.
Un mélange de ce type présente-t-il une enthalpie libre de mélange positive ou négative ? Justifier votre réponse.

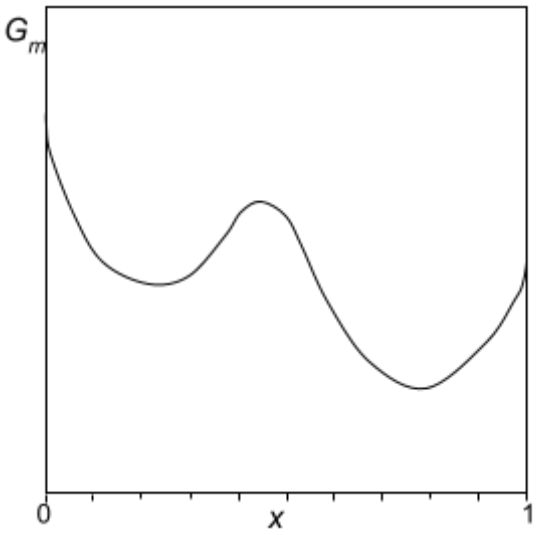


Schéma 1

A.I.1.7. Montrer qu'un mélange tel que celui envisagé à la question précédente présente un phénomène de démixtion. Déterminer les domaines de composition correspondant à un mélange homogène et la composition des phases en équilibre de démixtion.

A.I.2. Construction d'un diagramme de cristallisation isobare d'un mélange binaire A-B.

Le diagramme de cristallisation du mélange de deux constituants A et B présente un point eutectique. Si A et B sont totalement miscibles en phase liquide, ils ne présentent, par contre, aucune miscibilité à l'état solide et ne forment aucun composé défini.
Les courbes de refroidissement de deux mélanges I et II de même masse présentent un palier eutectique de même durée.

I : 30 % A, 70 % B (% en masse)
II : 50 % A, 50 % B (% en masse)

Point de fusion de A : 300°C
Point de fusion de B : 400°C
Température eutectique : T_E = 200°C

Une construction, proposée par Tamman, consiste à tracer, vers le bas, perpendiculairement à l'horizontale T_E, un segment de longueur proportionnelle à la durée du palier eutectique pour une composition donnée (qui est l'abscisse de ce segment). L'ensemble des extrémités de ces segments génère deux autres segments qui forment, avec l'horizontale d'équation $T = T_E$, le triangle de Tamman.

A.I.2.1. Décrire de manière générale une méthode expérimentale permettant de construire un diagramme binaire solide-liquide.
Indiquer schématiquement, dans le cas des mélanges A-B envisagés ici, les différentes courbes de refroidissement possibles en justifiant le tracé des pentes.

A.I.2.2. En utilisant le triangle de Tamman, déterminer la composition du mélange eutectique. Représenter schématiquement le diagramme d'équilibre binaire en indiquant les différentes phases présentes dans chacun des domaines du diagramme. Définir la variance et donner sa valeur dans chacun des domaines du diagramme en indiquant sa signification.

A.I.2.3. On étudie maintenant un mélange inconnu C qui contient en masse plus de corps A que de corps B. On sait d'autre part que la durée du palier eutectique est égale à 40% de la longueur du palier du mélange eutectique. Déterminer la composition de C et tracer la courbe de refroidissement en fonction du temps.

A.I.3. Applications.

A.I.3.1. *Diagramme Sn-Pb*

On considère maintenant des mélanges binaires d'étain (M_{Sn} = 118,71 g.mol^{-1}) et de plomb Pb (M_{Pb} = 207,2 g.mol^{-1}). L'allure du diagramme de cristallisation isobare de ces mélanges est celle du schéma 2.

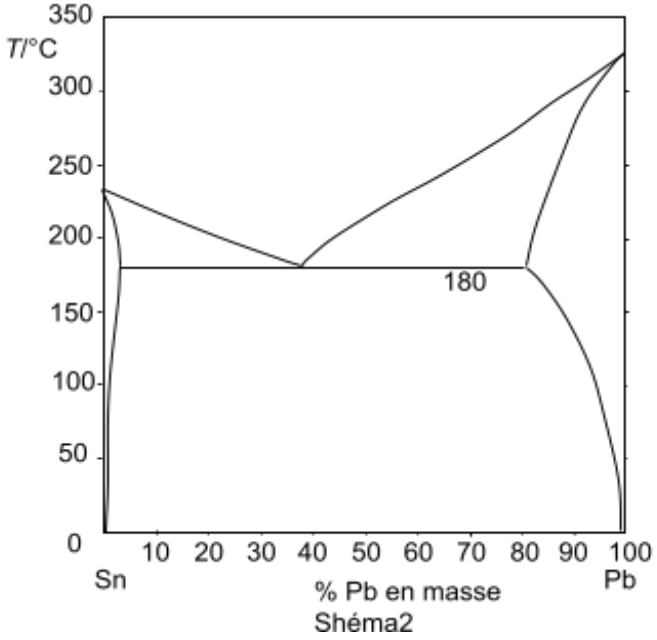


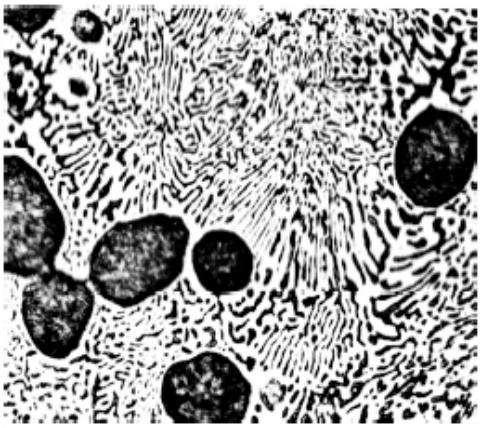
Schéma 2

A.I.3.1.a) On note w la fraction massique en plomb d'un mélange porté initialement à la température T = 350°C. Tracer l'allure des courbes de refroidissement pour des mélanges de compositions w = 0,2 ; w = 0,6 et w = 0,9. Préciser, dans chaque cas, la nature des phases en présence au cours des refroidissements étudiés.

A.I.3.1.b) En partant d'une masse de 1 kg de mélange liquide de fraction massique en plomb w = 0,6, déterminer la composition molaire et la masse des phases en présence pour les deux températures suivantes :

- T = 182 °C - T = 178 °C

A.I.3.1.c) La figure reproduite ci-contre représente la photographie prise à température ambiante sous microscope d'un alliage Sn-Pb de fraction massique en plomb égale à 0,6. Les zones les plus sombres sont plus riches en plomb. Quels cristaux se sont formés initialement ? Quelle est la composition des zones dendritiques ? Quelle est l'origine des petites zones claires présentes dans les cristaux sombres ?



A.I.3.1.d) Représenter l'allure des courbes G_m = f(w) à 150 °C, 180 °C et 200 °C.

A.I.3.2. *Diagramme Lanthane-Argent*.

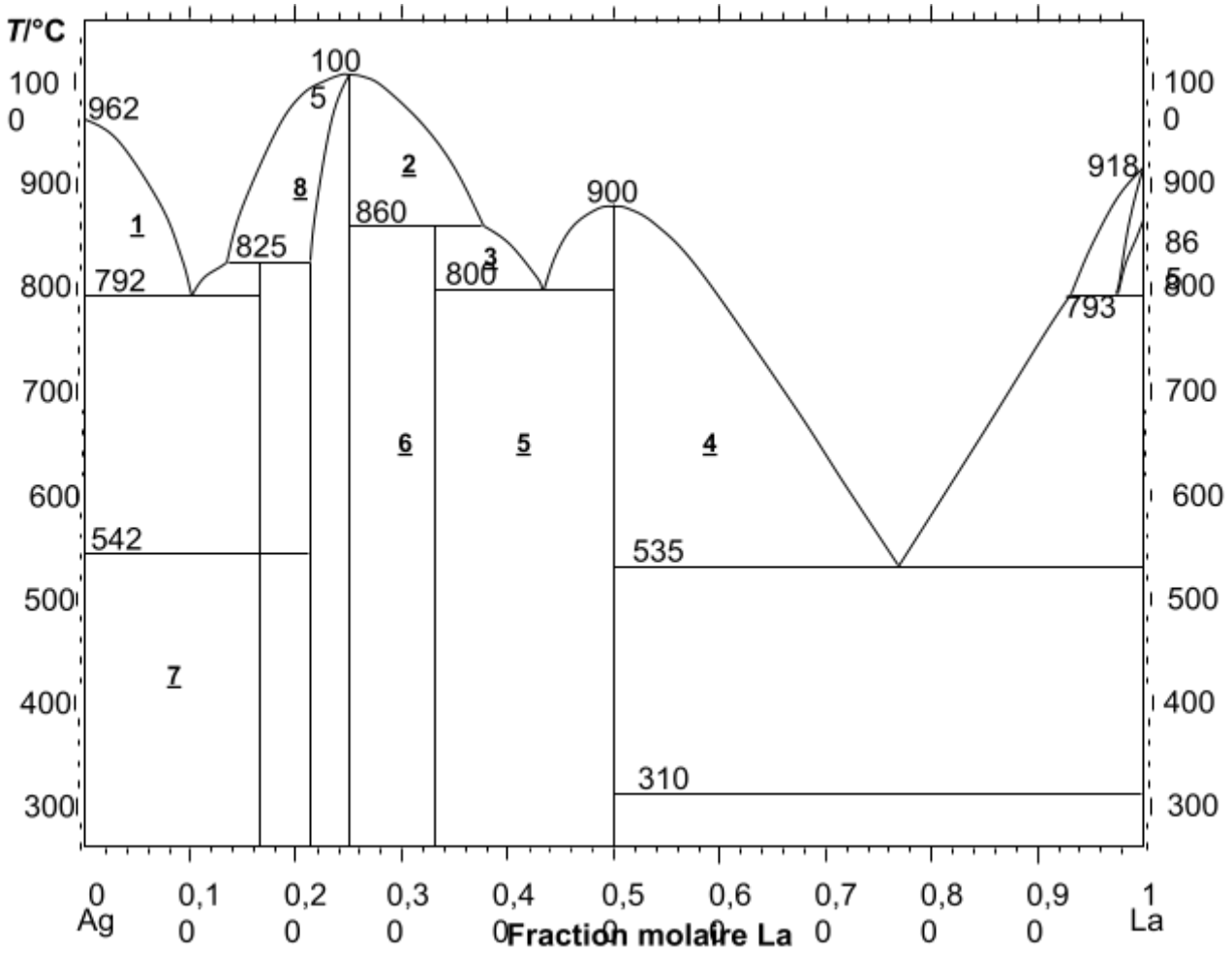


Figure 1. Diagramme de phases lanthane-argent

A.I.3.2.a) La figure 1 représente l'allure du diagramme de cristallisation sous pression atmosphérique des mélanges Ag-La. Identifier les composés définis formés par La et Ag en indiquant leur formule. Commenter.

A.I.3.2.b) Identifier la nature des phases en présence dans chacun des domaines numérotés de 1 à 8.

A.I.3.2.c) Représenter et commenter les courbes de refroidissement relatives aux mélanges de fractions molaires en lanthane égales à : 0,08 ; 0,14 ; 0,20.

A.I.3.2.d) Un mélange liquide initialement constitué de 6 moles d'argent et 4 moles de lanthane à 1000 °C est progressivement refroidi. Déterminer la nature des phases en présence à 820 °C. Préciser la composition et la quantité de matière présente dans chacune de ces phases.

A.II. DÉNATURATION DES PROTÉINES ÉTUDIÉE PAR ANALYSE THERMIQUE DIFFÉRENTIELLE

L'analyse thermique différentielle (ATD) est une technique calorimétrique permettant de mesurer les capacités thermiques et les enthalpies de changement de phase d'une espèce en solution. Nous étudierons ici (A.II.2.) quelques propriétés de protéines en solution aqueuse tamponnée. Auparavant, quelques notions classiques de calorimétrie seront rappelées.

A.II.1. Dosage calorimétrique de l'acide phosphorique par la soude

Pour illustrer le principe des dosages calorimétriques, on réalise une expérience de dosage d'une solution aqueuse d'acide phosphorique par la soude.

A.II.1.1. Faire un schéma du montage expérimental permettant de réaliser ce dosage.

A.II.1.2. Comment faut-il choisir les concentrations de l'acide et de la soude pour que l'expérience soit concluante (proposer un ordre de grandeur raisonnable de leurs valeurs) ?

A.II.1.3. Quelle grandeur mesure-t-on au cours de ce dosage ?

A.II.1.4. Qu'observe-t-on entre chaque équivalence ?
Quelle est l'allure de la courbe de dosage obtenue ? Justifier brièvement cette allure de courbe.

A.II.1.5. *Interprétation*.
Ecrire la (ou les) réaction(s) de dosage.
Peut-on utiliser ce dosage pour déterminer la concentration de l'acide phosphorique ?
Quelle fonction d'état U, H, S, F ou G possède une propriété remarquable pour l'interprétation de ce dosage ? Quelle est cette propriété ?
Quelle grandeur de réaction ce dosage permet-il de déterminer : $\Delta_r H°$, $\Delta_r S°$, $\Delta_r G°$ ou $\Delta_r C_p°$?
Expliquer le principe de cette détermination.

A.II.2. Analyse thermique différentielle (ATD)

L'ATD est une technique qui permet de déterminer la capacité calorifique de la substance étudiée, ici une protéine.
Le principe d'une expérience d'ATD est le suivant (figure 2) :

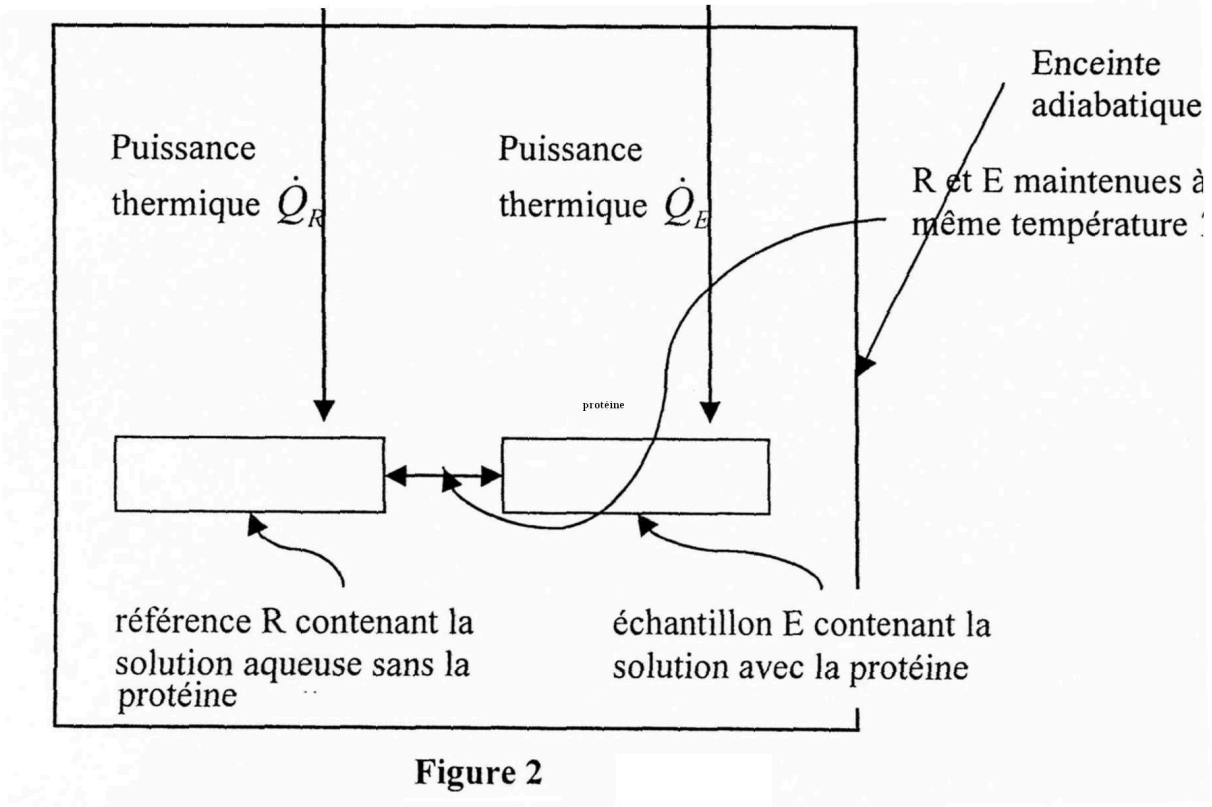


Figure 2

- Deux cuves scellées sont placées dans une enceinte adiabatique.
- La pression est égale à la pression atmosphérique (1 bar) dans chaque cuve.
- La 1ère cuve E contient l'échantillon constitué d'une solution aqueuse tamponnée et d'une protéine P (quantité de matière *n*) en solution. Cette cuve reçoit par chauffage une puissance thermique $\dot{Q}_E$ ($\dot{Q}_E = \frac{\delta \dot{Q}}{dt}$).
- La 2ème cuve R contient la solution aqueuse seule (même quantité que dans E) et sert de référence. Elle reçoit une puissance thermique $\dot{Q}_R$.
- La température *T* est contrôlée pendant l'expérience, de telle façon que les deux cuves soient toujours à la même température T et que : $\dot{T} = \frac{dT}{dt}$ soit constante.
- On mesure la différence $\dot{Q} = \dot{Q}_E - \dot{Q}_R$.

A.II.2.1. En effectuant un bilan thermique pour chaque cuve entre 2 instants t et $t + dt$, montrer que

$\dot{Q}$ et C_P , capacité calorifique molaire à pression constante de la protéine P, vérifient :

$$C_P = \frac{\dot{Q}}{n\dot{T}} \qquad (1)$$

On précisera les approximations que l'on est amené à faire.
On considérera dans la suite que le résultat d'une expérience d'ATD peut être représenté par le graphe de C_p en fonction de la température T.

A.II.2.2. *Etude de la dénaturation d'une protéine : modèle à deux états.*

L'enregistrement de C_p en fonction de la température a conduit aux résultats présentés figure 3.

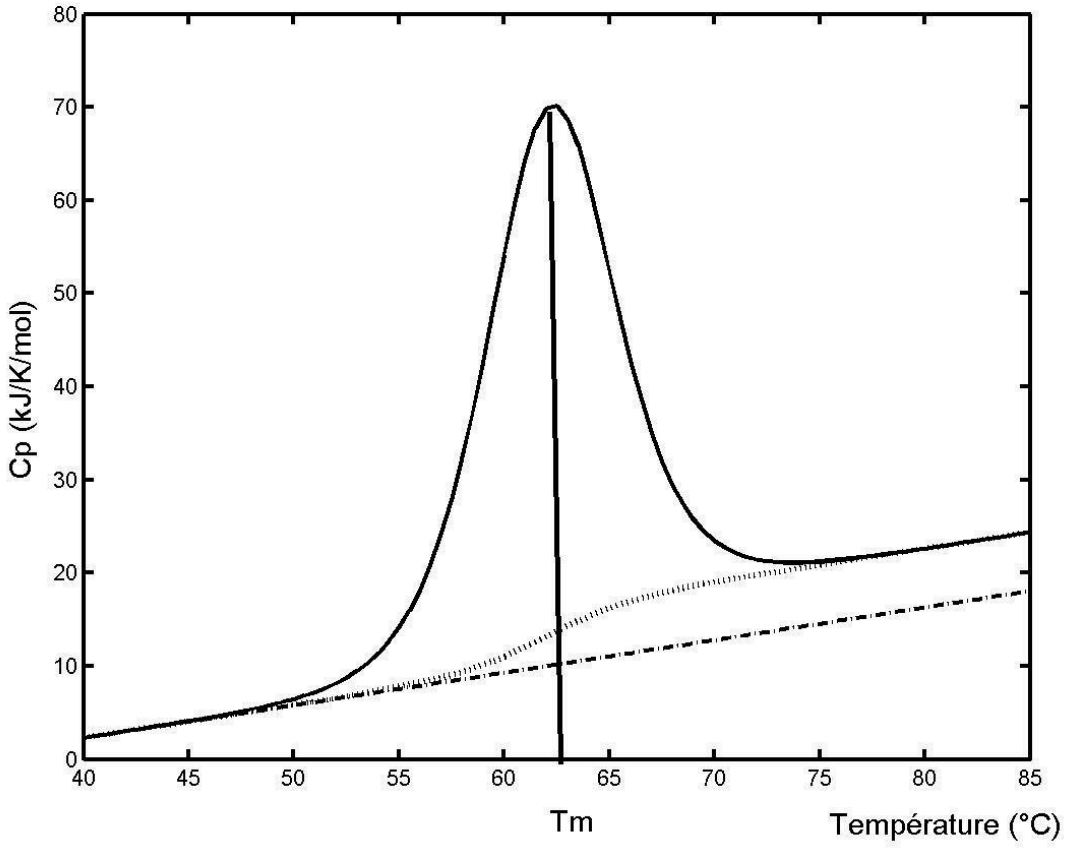


Figure 3

——— C_P ---------- $C_{P,base}$ ıııııııı ıııııııı C_{PN}

Le graphe obtenu montre l'existence d'un pic autour d'une température T_m. Ce pic correspond à un phénomène de dénaturation de la protéine.

A.II.2.2.a.1. Rappeler ce qu'est une protéine.
A.II.2.2.a.2. Citer un facteur autre que le chauffage pouvant provoquer la dénaturation.

Pour interpréter la courbe de la figure 3, on suppose l'existence, au voisinage de T_m, d'une transition entre une conformation native (N) et une conformation dépliée (D) :

N = D (2) (constante d'équilibre $K°(T)$)

A.II.2.2.a.3. Comment peut-on expliquer la cohésion de la conformation native ?
Dans quel domaine de température peut-on prévoir que cette conformation est stable ?

A.II.2.2.b) On appelle x la fraction de protéine sous forme dépliée et on suppose :
- que la solution aqueuse est idéale,
- que l'équilibre thermodynamique est constamment réalisé.

Exprimer x en fonction de $K°(T)$.

A.II.2.2.c.1. Rappeler la définition des grandeurs de réaction $\Delta_r H(T)$ et $\Delta_r C_p(T)$. Quelle relation existe-t-il entre ces deux grandeurs ? Justifier.

A.II.2.2.c.2. On suppose dans la suite que $\Delta_r C_p$ ne dépend pas de la température.

Exprimer alors $\Delta_r H(T)$ en fonction de $\Delta_r C_p$, T, T_m et $\Delta_r H_m = \Delta_r H(T_m)$.

A.II.2.2.d.1. Etablir la relation de Van't Hoff existant entre $K°(T)$, $\Delta_r H°(T)$ et T.

A.II.2.2.d.2. La température T_m est définie de telle façon que 50 % de la protéine soit sous la forme dépliée à T_m. Que vaut $K°(T_m)$?

A.II.2.2.d.3. Exprimer $K°(T)$ en fonction de $\Delta_r H_m^0$, $\Delta_r C_p^0$, T et T_m (relation (3)).
On supposera que $\Delta_r H_m^0 = \Delta_r H_m$.

A.II.2.2.e. <u>*Expression littérale de C_P*</u>

A.II.2.2.e.1. Exprimer la capacité calorifique molaire C_p du système (protéine native N + protéine dépliée D) en fonction de l'enthalpie molaire h_N (respectivement h_D) de N (respectivement D) et de x.

A.II.2.2.e.2. En déduire l'expression de $C_P(T)$ (définie par la relation (1)) :

$$C_p(T) = \Delta_r H(T).\frac{dx}{dT} + C_{p,base} \qquad (4)$$

$$\text{avec } C_{p,base} = x. \frac{d(\Delta_r H)}{dT} + \frac{dh_N}{dT} \qquad (5)$$

A.II.2.2.e.3. Montrer qu'il est possible de déterminer l'expression littérale de C_p en fonction de la seule variable température (le calcul complet n'est pas demandé).

A.II.2.2.f. *Interprétation de la courbe de la figure 3*

A.II.2.2.f.1. On a calculé, puis représenté sur la figure 3, les variations en fonction de la température T de :

- $C_p(T)$
- $C_{p,N}$ capacité calorifique molaire de la forme native seule
- $C_{p,base}$ grandeur définie par la relation (5)

Commenter l'allure de ces courbes ainsi que leur signification physique.

A.II.2.2.f.2. Montrer que $\Delta_r C_p$ apparaît simplement sur le graphe de la figure (3).

A.II.2.2.f.3. A quelle grandeur correspond l'aire comprise entre la courbe $C_p(T)$ et la ligne de base ?

A.II.2.2.f.4. A partir de la figure 3, proposer une estimation de $\Delta_r H_m^0$.

A.II.2.3. *Dénaturation du plasminogène.*

Le plasminogène est une protéine de masse molaire élevée (M = 90000 g.mol^{-1}). L'analyse par ATD de sa dénaturation a conduit aux résultats de la figure 4.

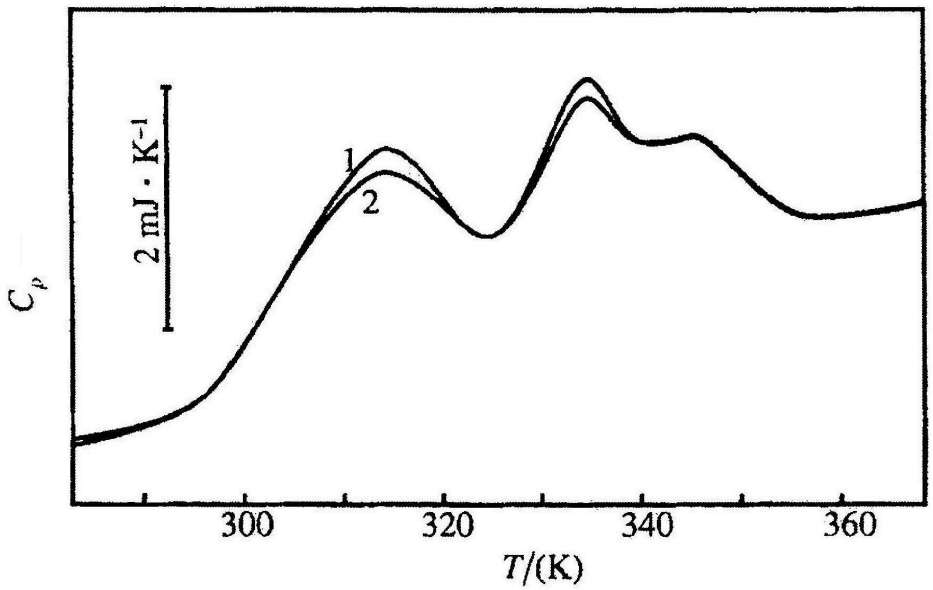


Figure 4. Dénaturation du plasminogène

A.II.2.3.a) Comparer cette courbe avec celle d'une protéine de plus petite masse molaire (figure 3).

A.II.2.3.b) Quelles relations peut-on faire entre la structure tridimensionnelle de cette protéine et le fait que sa dénaturation a lieu en plusieurs étapes ?

B. ETUDE CINÉTIQUE DE L'OXYDATION DE L'ÉTHANOL CATALYSÉE PAR LES ENZYMES P450.

Les cytochromes P450 sont nommés d'après leur maximum d'absorption UV-Visible situé à 450 nm. Ils constituent une famille d'enzymes monooxygénases qui catalysent l'hydroxylation d'un grand nombre de substrats R-H (qui peut être tout composé organique, pas uniquement un hydrocarbure) selon la réaction :

$$RH + O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow ROH + H_2O \quad (1)$$

Le cycle catalytique simplifié est représenté figure 5.
Le site actif de ces cytochromes comprend notamment un atome de fer et un cycle porphyrine non représenté sur la figure 5.
Le but de cette partie est d'examiner si cette enzyme suit le modèle de Michaëlis et, le cas échéant de relier les paramètres cinétiques (K_m et k_{cat}) aux constantes de vitesse des différentes étapes (figure 5).

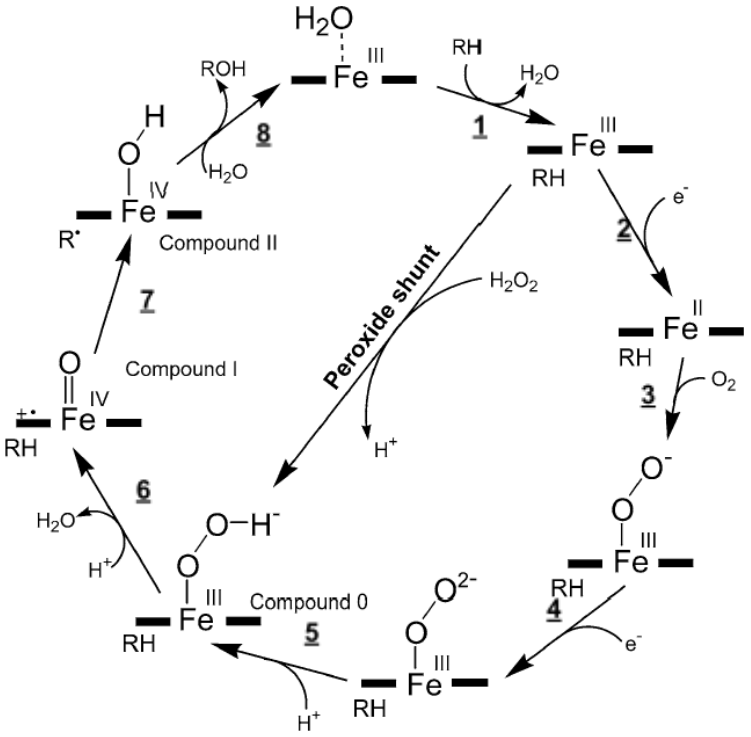


Figure 5. Cycle catalytique des cytochromes P450

B.I. Catalyse enzymatique : modèle de Michaëlis.

On envisage tout d'abord le modèle suivant en deux étapes :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES$$

$$ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P$$

E, S et P désignent respectivement l'enzyme, le substrat et le produit de la réaction.
On pose :

$$K_m = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

B.I.1. Comment appelle-t-on ES ?

B.I.2. Quel nom et quelle signification physique attache-t-on usuellement à K_m ?

B.I.3. Etablir l'expression de la vitesse volumique v de la réaction S → P en fonction de [S], $[E]_0$, k_{cat} et de K_m.

B.I.4. Définir la vitesse limite V_s et donner son interprétation physique.

B.I.5. Tracer l'allure de v en fonction de [S]. Faire apparaître K_m et V_s sur le graphe.

B.I.6. On étudie le cas : $[S] << K_m$. Montrer que la constante $k = k_{cat}/K_m$ joue alors le rôle d'une constante apparente pour la réaction.

B.I.7. On a représenté figure 6 les graphes de $[E]_0[S]/v$ en fonction de [S] obtenus en conditions aérobiques à 37°C pour l'oxydation de :

- l'éthanol non marqué [^{1}H] (▲)
- l'éthanol marqué CH_3CD_2OH : 1,1-[^{2}H]-éthanol (■)

La concentration initiale en enzyme est : $[E]_0 = 10^{-6}$ mol.L^{-1}.

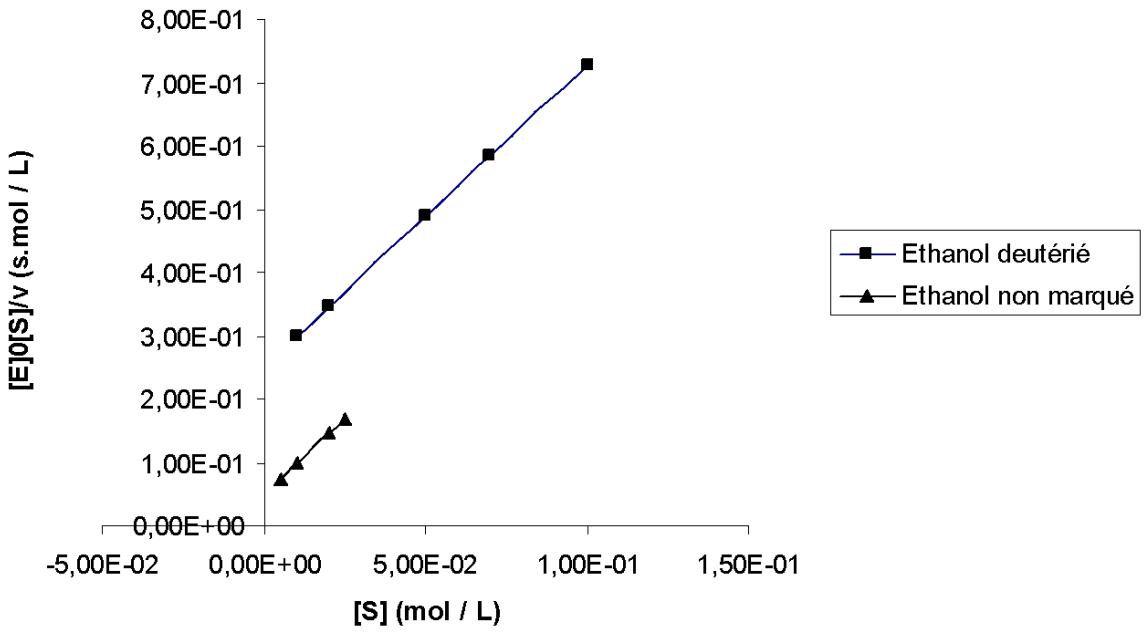


Figure 6. Oxydation de l'éthanol non marqué (▲) ou marqué au deutérium (■). [S] est en mol.L^{-1} ; [E]$_0$[S]/v en s.mol.L^{-1}. Les mélanges réactionnels à 37°C, tamponnés à pH 7,4 renferment initialement 1,0 µmol.L^{-1} d'enzyme.

B.I.7.1. Montrer que le modèle de Michaëlis est en accord avec les résultats expérimentaux.

B.1.7.2. Déterminer les valeurs de K_m et de k_{cat} pour chacune des 2 expériences.

B.II. Effet cinétique isotopique

B.II.1.1. Rappeler les définitions suivantes :
- élément chimique
- isotope

B.II.1.2. Donner les structures du deutérium et du tritium.

B.II.1.3. Dans quelles circonstances l'utilisation du deutérium a-t-elle été développée ?

B.II.1.4. Citer deux techniques de séparation des isotopes.

B.II.1.5. Citer une technique de détection des composés marqués au :
- deutérium
- tritium

B.II.2.1. Donner une définition, en cinétique chimique, de l'effet isotopique.

B.II.2.2. Quelle est son origine physique ?

B.II.3.1. Calculer pour l'oxydation de l'éthanol (figure 6), les rapports isotopiques suivants :

- $^{D}V = \dfrac{k_{cat}(\mathrm{H})}{k_{cat}(\mathrm{D})}$
- $\dfrac{K_m(\mathrm{D})}{K_m(\mathrm{H})}$
- $^{D}(V/K) = \dfrac{k_{cat}(\mathrm{H}).K_m(\mathrm{D})}{K_m(\mathrm{H}).k_{cat}(\mathrm{D})}$

B.II.3.2. Quelle conclusion peut-on tirer des valeurs obtenues à la question B.II.3.1. ?

B.II.4. Dans le cas de l'oxydation de l'éthanol, quel est le composé ROH formé lors de l'étape **8** du cycle catalytique ? Comment évolue-t-il ensuite ? Peut-il constituer un substrat pour un 2ème cycle catalytique ?

B.II.5. Pour l'oxydation de l'éthanal en acide éthanoïque on obtient, dans les mêmes conditions :

- $k_{cat} = 0{,}13\ s^{-1}$
- $K_m = 0{,}5\ 10^{-3}\ mol.L^{-1}$.

Commenter.

B.III. Phase rapide de la cinétique.

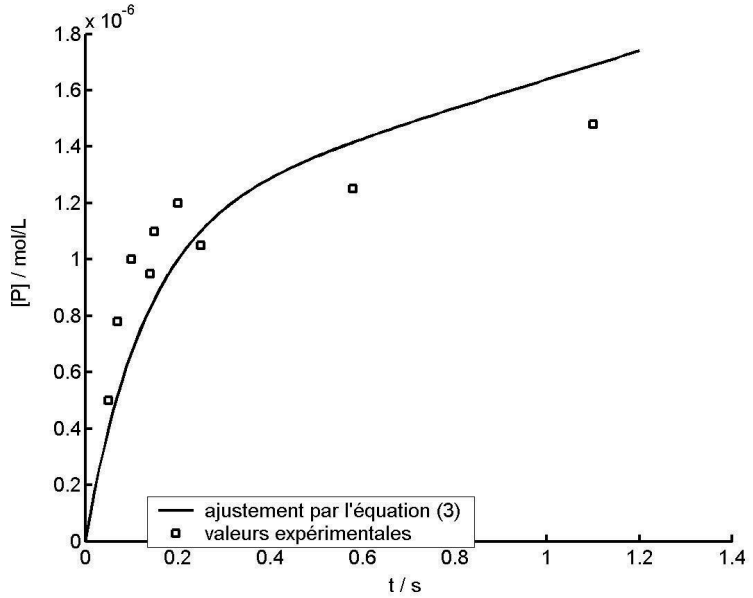


Figure 7. Oxydation de l'éthanol ([S] = 0,5 mol.L^{-1}) par les cytochromes P450. $[E]_0 = 1{,}8\ 10^{-6}$ mol.L^{-1}

On s'intéresse maintenant à la phase rapide de la cinétique (figure 7).
A temps court (inférieur à 0,2 s environ), on observe une croissance très rapide de la concentration en produit P.
A temps long (supérieur à 0,2 s), on observe une phase plus lente de la réaction.
Un ajustement des résultats expérimentaux de la figure 7 est obtenu par l'équation (3) ci-dessous :

$$[\mathrm{P}](t) = A.(1 - \exp(-k_{p,ss}.t) + k_{ss}.t) \qquad (3)$$

avec $k_{p,ss} = 7{,}9\ \mathrm{s}^{-1}$.

B.III.1. Quelle(s) technique(s) expérimentale(s) permet(tent) de suivre les temps courts de cette cinétique. On décrira une de ces techniques.

B.III.2. Déterminer les valeurs de A et de k_{ss}.

B.III.3. L'examen qualitatif de la figure 7 permet-il de savoir si l'étape cinétiquement déterminante de la réaction est antérieure ou postérieure à la libération du produit P ?
Ce résultat est-il en accord avec la valeur du rapport isotopique ${}^{D}V$ obtenu plus haut, question B.II.3.1 ?

On envisage le modèle simplifié suivant pour rendre compte de ces résultats :

$$\mathrm{E} + \mathrm{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \xrightarrow{k_2} \mathrm{E}' + \mathrm{P}$$

$$\mathrm{E}' \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} \mathrm{E}$$

On donne :

- $k_1 = 1{,}0.10^7\ \mathrm{L.mol^{-1}.s^{-1}}$
- $[\mathrm{S}] = 4{,}2.10^{-2}\ \mathrm{mol.L^{-1}}$
- $[\mathrm{E}]_0 = 1{,}8\ 10^{-6}\ \mathrm{mol.L^{-1}}$

et on fait les hypothèses suivantes :

- $k_2 << k_{-1}$
- $k_3 = k_{-3}$
- la concentration en complexe ES est quasi stationnaire.

B.III.4. Relier K_m, k_1 et k_{-1}. En déduire la valeur de k_{-1} en considérant que le résultat obtenu en B.I.7.2. demeure valable pour l'éthanol non marqué.

B.III.5. Exprimer $\dfrac{\mathrm{d}[\mathrm{E}]}{\mathrm{d}t}$ en fonction de $[\mathrm{E}]_0$, $[\mathrm{E}]$, k_3 et $k = k_3 + k_{-3} + \dfrac{k_1(k_2 + k_3)[\mathrm{S}]}{k_2 + k_{-1}}$
En déduire l'expression de $[\mathrm{E}](t)$, puis, par intégration, celle de $[\mathrm{P}](t)$.

B.III.6. Quelle est l'allure du graphe représentant $[\mathrm{P}](t)$ en fonction de t ?

Retrouve-t-on l'allure de la courbe expérimentale de la figure 7 ?

B.III.7. Relier les grandeurs mesurées : A, $k_{p,ss}$ et k_{ss} aux constantes de vitesse du modèle et aux concentrations $[E]_0$ et [S].

B.III.8. Déterminer les valeurs des constantes de vitesse k_3 et k_2.

B.IV. Conclusion.

B.IV.1. Dans le cycle représenté figure 5, quelle est l'étape la plus susceptible de présenter un effet isotopique notable ? Justifier.

B.IV.2. Les résultats de la partie B.III. ci-dessus sont-ils compatibles avec l'effet isotopique (ou son absence) observé sur :

- k_{cat} ?
- K_m ?

B.IV.3. Quelles remarques peut-on faire sur la compatibilité du cycle catalytique de l'enzyme (figure 5) et le modèle cinétique de la question B.III.3. ?

C. ÉTUDE STRUCTURALE DE QUELQUES INTERMEDIAIRES D'UN CYCLE CATALYTIQUE

Les cytochromes P450 sont l'une des familles d'enzymes les plus polyvalentes existant dans la nature. On a dit plus haut qu'ils permettent un grand nombre de réactions d'insertion d'oxygène dans des composés organiques, processus d'importance vitale dans diverses biosynthèses et dans la destruction par les organismes vivants de composés toxiques.
Nous nous proposons d'étudier dans cette partie différents intermédiaires du cycle catalytique le plus couramment admis pour interpréter le rôle des cytochromes P450 dans ces processus. Les numérotations des intermédiaires étudiés dans la suite sont indiquées sur la figure 8 ci-contre qui est une approche complémentaire à la figure 5 rencontrée précédemment.

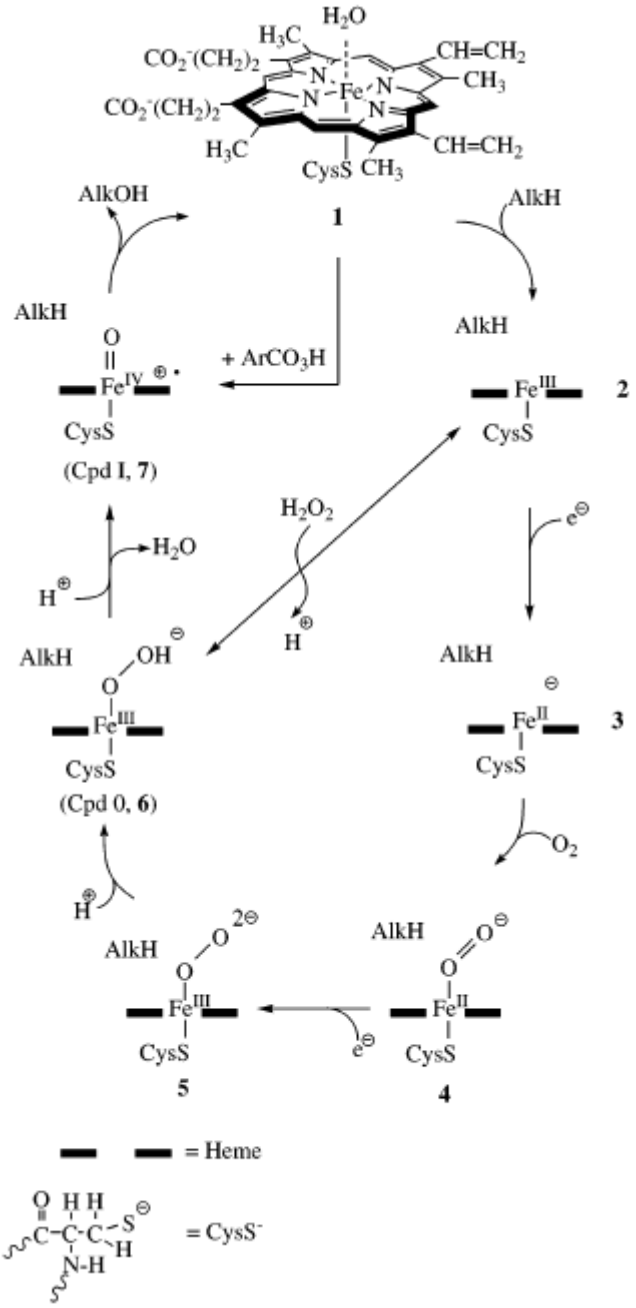


Figure 8. Cycle catalytique des P450

C.I. Préliminaires.

Il existe deux types principaux de complexes tétracoordinés : les tétraédriques et les plans-carrés.

C.I.1.1. On considère le diamminedichloroplatine (II). Expérimentalement, on observe qu'il

existe deux diastéréoisomères de ce complexe.

C.I.1.1.a) En déduire à quel type de géométrie appartient ce complexe.

C.I.1.1.b) Les solutions aqueuses de ces complexes présentent une conductivité faible mais supérieure à la conductivité de l'eau ayant servi à préparer la solution. Justifier cette propriété.

C.I.1.1.c) Indiquer une propriété physique susceptible de différencier ces deux diastéréoisomères.

C.I.1.1.d) Chacun des deux diastéréoisomères est soumis aux opérations suivantes :
- réaction avec de l'oxyde d'argent en milieu légèrement basique, on observe un précipité de chlorure d'argent, dans les deux cas.
- élimination du solide.
- réaction avec l'anion oxalate. Avec un stéréoisomère, l'anion oxalate réagit mole à mole ; avec l'autre, il faut deux moles d'anions par mole de complexe.
Interpréter ces observations.

C.I.1.2. A quel groupe de symétrie appartient l'anion tétrachloroplatinate (II), complexe plan-carré ?

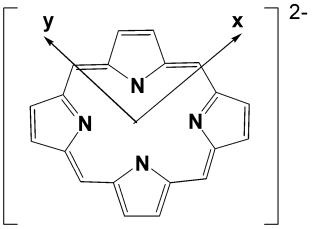
C.I.2. *Diagramme énergétique des orbitales à fort caractère métallique dans un complexe plan carré simple*.

Considérons, un complexe plan carré d'un métal de transition. Les ligands sont supposés ponctuels et purement σ donneurs.

C.I.2.1. Définir le terme " ligand σ donneur ".

C.I.2.2. En justifiant votre proposition par un raisonnement détaillé, proposer un diagramme énergétique plausible pour les orbitales à fort caractère métallique de ce complexe. On optera pour la convention suivante : l'axe des z est normal au plan contenant le complexe, les axes des x et des y pointent entre les quatre ligands.

C.II. Structure d'un complexe porphyrique.

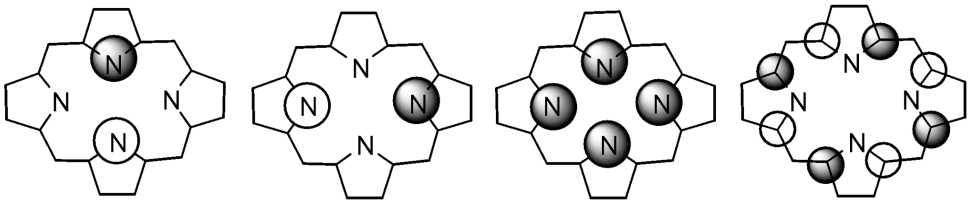


Tous les intermédiaires apparaissant dans le cycle catalytique étudié font intervenir un atome de fer complexé par un cycle porphyrique noté P dans la suite. Les conventions adoptées dans le schéma ci-contre pour les directions des axes x et y devront être respectées. On admettra que le composé FeP est plan.

C.II.1. Combien d'orbitales moléculaires " π " comporte le fragment porphyrine représenté ci-dessus ? Combien sont occupées dans l'état fondamental ?

C.II.2. Le schéma reproduit ci-dessous représente partiellement les orbitales " π " occupées de plus haute énergie (par énergie croissante de gauche à droite) de ce fragment dans son état fondamental. Seuls les coefficients affectés aux orbitales atomiques $2p_z$ des atomes de C et N susceptibles d'interagir fortement avec les orbitales du cation métallique central sont représentés.

C.II.2.1. Quel groupe de symétrie est associé au cycle porphyrique (et aux complexes FeP) ?
C.II.2.2. Attribuer à chacune d'entre elle son étiquette de symétrie.



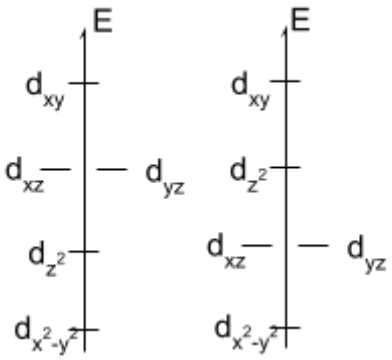
a b c d

C.II.2.3. Montrer que seules les orbitales a et b interagissent avec les orbitales d du cation métallique central.

C.II.2.4. Lors de ces interactions, P se comporte-t-il comme un ligand π donneur ou π accepteur ?

C.II.3. Les orbitales moléculaires du complexe FeP essentiellement développées sur le métal peuvent être classées par énergie croissante selon l'un des deux schémas présentés ci-dessous. Ces orbitales correspondent aux niveaux d'énergie les plus élevés susceptibles d'être occupés dans ce complexe dans son état fondamental.

C.II.3.1. En prenant comme référence le diagramme énergétique des orbitales d'un complexe plan-carré, interpréter ces diagrammes en justifiant l'ordre relatif des orbitales.
C.II.3.2. Indiquer si ces orbitales ont un caractère non liant ou antiliant en justifiant votre réponse.
C.II.3.3. Indiquer combien d'électrons occupent ces niveaux énergétiques dans l'état fondamental de FeP. Le numéro atomique du fer est 26 et son nombre d'oxydation vaut II.



C.II.4. Sachant que l'état fondamental de la porphyrine FeP est un état triplet, préciser la configuration électronique de cet état et indiquer lequel des deux schémas énergétiques précédents correspond à la réalité.

C.II.5. Les porphyrines absorbent très fortement dans le spectre visible. L'une des bandes d'absorption les plus caractéristiques de ces molécules est appelée bande de Soret. A quel type de transition cette bande est-elle due ?

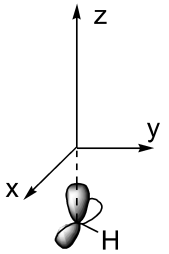
Dans la suite de ce problème, compte tenu des modifications de distances interatomiques liées à la présence des autres ligands, il est demandé de prendre comme point de départ pour les raisonnements le diagramme énergétique qui n'est pas retenu dans la question C.II.4.

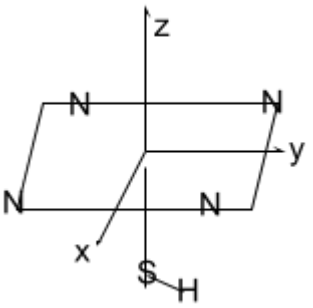
C.III Structure des intermédiaires (2) et (3). Conséquences.

Nous nous proposons, dans cette question, d'envisager une explication au phénomène suivant :

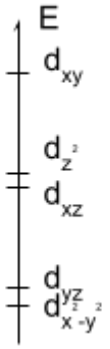
alors que le complexe initial (état 1) n'est pas réduit par la réductase, le complexe correspondant à l'état intermédiaire 2 est facilement réduit par cette même enzyme. Nous supposerons, dans la suite de cette question, que les diagrammes énergétiques des orbitales des intermédiaires 2 et 3 sont comparables.

C.III.1. L'intermédiaire (2) diffère essentiellement de la porphyrine de fer FeP étudiée à la question précédente par la présence de la cystéine en position axiale et par le degré d'oxydation du fer. Pour simplifier l'étude suivante, nous schématiserons l'ion Cys^- par un ion HS^-. Nous adopterons dans la suite le repère ci-contre (la liaison SH étant comprise dans le plan Oyz):





Nous admettrons que l'ion HS^- interagit avec les orbitales de FeP par une orbitale $3p_x$ et une orbitale de symétrie σ portée par l'axe Oz, ces deux orbitales étant, au départ, occupées chacune par deux électrons.



C.III.1.1. Dans le complexe obtenu (intermédiaire 2), les orbitales frontières gardent un caractère métallique fort. L'allure du diagramme d'énergie associé à ces orbitales est indiquée ci-contre. Expliquer l'ordre relatif observé en explicitant les perturbations apportées par la présence de HS^- au système d'orbitales du complexe FeP. Préciser quelles orbitales sont liantes, non liantes et antiliantes.

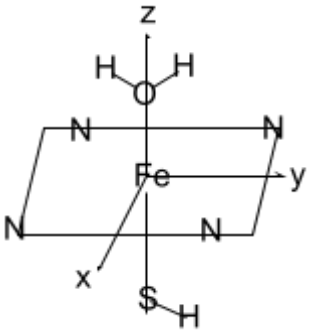
C.III.1.2. Dans son état fondamental, l'intermédiaire 3 est un quintet. Décrire la configuration électronique correspondante.

C.III.1.3. Un état énergétiquement très proche du précédent est un singulet. Décrire la représentation électronique correspondante. Expliquer pourquoi le passage de l'état quintet à l'état singulet s'accompagne d'une modification de la longueur de la liaison Fe-S.

C.III.1.4. Des mesures électrochimiques démontrent que la réduction de l'intermédiaire (2) en intermédiaire (3) est rendue beaucoup plus difficile par la présence du ligand axial symbolisé ci-dessus par HS^-. Proposer deux explications à ce phénomène.

C.III.2. Etat initial (1)

Le complexe initial (1) diffère de l'intermédiaire (2) par la présence d'une molécule d'eau en position axiale. Les liaisons O-H sont contenues dans le plan Oyz.



C.III.2.1. Sachant que l'eau interagit avec le cation métallique essentiellement par une orbitale $2p_x$, indiquer quelles perturbations apporte cette molécule d'eau au diagramme énergétique des orbitales frontières envisagé à la question précédente ? Proposer une allure plausible pour ce diagramme. Décrire la configuration électronique fondamentale sachant qu'il s'agit d'un état doublet.

C.III.2.2. La réduction de l'état initial (1) est encore plus difficile que celle de l'intermédiaire

(2). Proposer une interprétation.

C.IV. Formation du composé I.

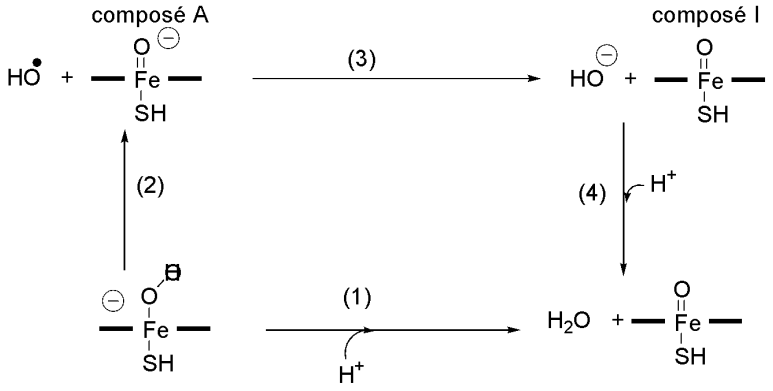
Le passage de l'intermédiaire (6) à l'intermédiaire complexe (7) (appelé également composé I) est une étape cruciale du cycle catalytique envisagé. L'étude expérimentale du composé I est très délicate à réaliser dans la mesure où ce composé ne s'accumule jamais dans le milieu réactionnel car il se situe en aval de l'étape cinétiquement déterminante du cycle catalytique étudié ici. Néanmoins, L'expérience prouve que la présence du ligand axial (cystéine) joue un rôle déterminant dans cette étape. Une transformation comparable se produisant dans d'autres cycles catalytiques (peroxydases par exemple) dans lesquels les intermédiaires (6) et (7) diffèrent par la nature du ligand axial, il est intéressant d'étudier l'influence de ce ligand sur cette étape du cycle catalytique.

C.IV.1. *Approche thermodynamique*
La transformation (6) → (7), notée transformation (1) dans les cycles décrits ci-dessus, peut être formellement décomposée suivant les cycles représentés ci-dessous, les composés étant supposés en phase gazeuse. Le cycle a) diffère du cycle b) par la présence du ligand axial qui est ici symbolisé par HS^-.

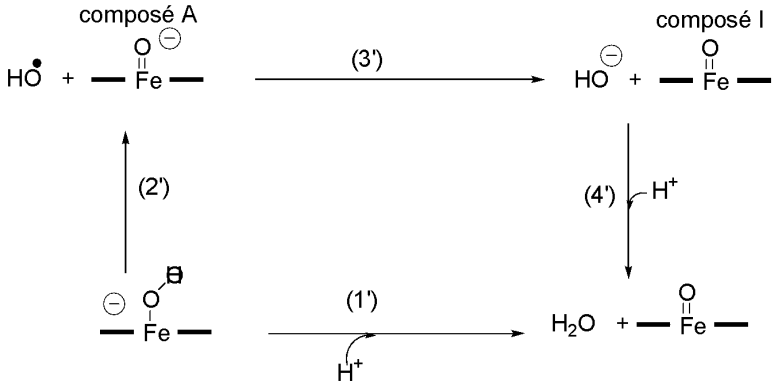
On note :
$D_{O\text{-}O}$, l'énergie de dissociation d'une liaison O-O,
PI_{cpA}, l'énergie d'ionisation du composé A
AE_{OH}, l'affinité électronique du radical OH

$\Delta E_{(i)}$, l'énergie de la réaction (i)

a)



b)



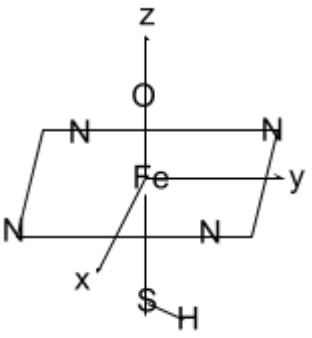
C.IV.1.1. Pour chacun de ces cycles, exprimer $\Delta E_{(1)}$ et $\Delta E_{(1')}$ en fonction de $D_{O\text{-}O}$, PI_{cpA}, $AE_{OH\text{-}}$, $\Delta E_{(4)}$ et $\Delta E_{(4')}$.

C.IV.1.2. Montrer que, dans l'hypothèse où $D_{O\text{-}O}$ ne dépend que faiblement de la présence du ligand axial, $\Delta E_{(1)}$ ne diffère de $\Delta E_{(1')}$ que par PI_{cpA} dans les cycles a) et b).

C.IV.1.3. En déduire que la formation du composé I est déterminée par le niveau énergétique de l'orbitale moléculaire la plus haute occupée du composé A.

C.IV.2. Structure électronique simplifiée du composé A

Pour l'étude suivante, nous utiliserons à nouveau le système d'axes défini ci-contre :



C.IV.2.1. *Orbitales à fort caractère métallique.*

En supposant que l'atome d'oxygène en position axiale interagit avec l'atome de fer essentiellement par ses orbitales $2p_x$, $2p_y$ et $2p_z$, proposer, en justifiant votre proposition, un diagramme énergétique pour les orbitales à fort caractère métallique du composé I. Préciser si les orbitales correspondantes ont un caractère liant, non liant ou antiliant.

C.IV.2.2. Selon certains auteurs, la H.O. du composé A n'est pas, pour le complexe étudié ici, une orbitale à fort caractère métallique. Montrer que, parmi les orbitales du fragment porphyrine représentées à la question C.II.2.2. et n'interagissant pas avec les orbitales du cation métallique central, l'une interagit avec l'orbitale de symétrie locale σ du ligand HS^-. Décrire le diagramme d'interaction. Montrer que l'une des orbitales envisagées dans cette question peut être l'orbitale moléculaire la plus haute occupée du composé A.

C.IV.2.3. Quelle influence aurait, sur les niveaux d'énergie des orbitales envisagées à la question précédente, le remplacement du ligand HS^- par un ligand histidine lié au fer par un atome d'azote ?

C.IV.2.4. En prenant en compte les différents facteurs évoqués dans les questions précédentes, montrer que l'énergie d'ionisation du composé A est fortement influencée par la nature du ligand axial.

C.IV.2.5. Quelle conclusion peut-on déduire de l'étude précédente quant à l'influence de la nature du ligand axial sur la transformation (6) –> (7) ?

C.IV.2.6. Il semble probable que, dans son état fondamental, le composé I comporte 3 électrons célibataires dont deux occupent des orbitales à fort caractère métallique. En utilisant le diagramme énergétique étudié à la question précédente, proposer une configuration électronique et commenter en conséquence la représentation du composé I (intermédiaire 7) donnée dans la figure 8.

Données : Tables des caractères C_{4v}, C_{4h}, D_{3d} et D_{4h} :

C_{4v}	E	$2C_4$	C_2	$2\sigma_v$	$2\sigma_d$		
A_1	1	1	1	1	1	z	x^2+y^2, z^2
A_2	1	1	1	–1	–1	R_z	
B_1	1	–1	1	1	–1		x^2-y^2
B_2	1	–1	1	–1	1		xy
E	2	0	–2	0	0	$(x, y), (R_x, R_y)$	(xz, yz)

C_{4h}	E	C_4	C_2	C_4^3	I	S_4^3	σ_h	S_4		
A_g	1	1	1	1	1	1	1	1	R_z	x^2+y^2, z^2
B_g	1	–1	1	–1	1	–1	1	–1		(x^2-y^2, xy)
E_g	1	i	–1	$-i$	1	i	–1	$-i$	(R_x, R_y)	(xz, yz)
	1	$-i$	–1	i	1	$-i$	–1	i		
A_u	1	1	1	1	–1	–1	–1	–1	z	
B_u	1	–1	1	–1	–1	1	–1	1		
E_u	1	i	–1	$-i$	–1	$-i$	1	i	(x, y)	
	1	$-i$	–1	i	–1	i	1	$-i$		

D_{3d}	E	$2C_3$	$3C_2$	I	$2S_6$	$3\sigma_d$		
A_{1g}	1	1	1	1	1	1		x^2+y^2, z^2
A_{2g}	1	1	–1	1	1	–1	R_z	
E_g	2	–1	0	2	–1	0	(R_x, R_y)	$(x^2-y^2, xy),(xz, yz)$
A_{1u}	1	1	1	–1	–1	–1		
A_{2u}	1	1	–1	–1	–1	1	z	
E_u	2	–1	0	–2	1	0	(x, y)	

D_{4h}	E	$2C_4$	C_2	$2C_2'$	$2C_2''$	I	$2S_4$	σ_h	$2\sigma_v$	$2\sigma_d$		
A_{1g}	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		x^2+y^2, z^2
A_{2g}	1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	R_z	
B_{1g}	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	-1		x^2-y^2
B_{2g}	1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1		xy
E_g	2	0	-2	0	0	2	0	-2	0	0	(R_x, R_y)	(xz , yz)
A_{1u}	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1		
A_{2u}	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	z	
B_{1u}	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1		
B_{2u}	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1		
E_u	2	0	-2	0	0	-2	0	2	0	0	(x,y)	