

SESSION 2008

Filière BCPST

CHIMIE

Épreuve commune aux ENS de Paris, Lyon et Cachan

Durée : 4 heures

L'usage de calculatrices électroniques de poche à alimentation autonome, non imprimantes et sans document d'accompagnement, est autorisé. Cependant, une seule calculatrice à la fois est admise sur la table ou le poste de travail, et aucun échange n'est autorisé entre les candidats.

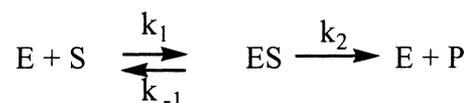
Cette épreuve est constituée de trois parties indépendantes. La première partie traite de cinétique enzymatique, la deuxième développe la synthèse organique de deux molécules bioactives, la (+)-muconine et l'apratoxine. Ces synthèses constituent elles-mêmes deux sous-parties indépendantes. Enfin, la troisième partie est consacrée à l'étude par spectroscopies UV-visible et Mössbauer de l'enzyme méthane mono-oxygénase MMO, capable de réaliser l'oxydation du méthane en méthanol.

I. Cinétique enzymatique

I.A. Cinétique de Michaelis-Menten

I.A.1. Cas simple

On considère le schéma réactionnel suivant, communément admis pour l'étude de la cinétique enzymatique, mettant en jeu une enzyme **E**, un substrat **S**, le complexe enzyme-substrat **ES** et un produit **P** :



I.A.1.1. En supposant $[ES] \ll [S]$, montrer que la loi de vitesse globale de la réaction peut se mettre sous la forme suivante (équation de Michaelis-Menten) :

$$v = \frac{k_2[E]_0}{1 + \frac{K_M}{[S]}}$$

avec $\begin{cases} [E]_0 \text{ quantité totale d'enzyme} \\ K_M \text{ constante de Michaelis} \end{cases}$

Développer l'expression de K_M . On posera pour la suite $v_{\max} = k_2[E]_0$.

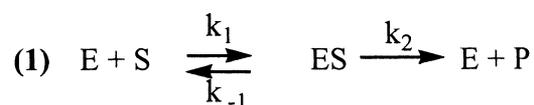
I.A.1.2. En déduire l'allure du graphique $v = f([S])$, en précisant les éléments caractéristiques de cette courbe (asymptote, tangente à l'origine).

I.A.1.3. Pour quelle valeur de v obtient-on facilement K_M par simple lecture du graphique ?

I.A.1.4. Si cette valeur de v n'est pas connue, quelle autre représentation graphique permettrait d'obtenir K_M ?

I.A.2. Présence d'un inhibiteur I

Considérons le schéma réactionnel suivant :



Les étapes (2) et (3) correspondent à des équilibres rapides par rapport à la réaction de formation du produit.

I.A.2.1. Rappeler ce qu'est un inhibiteur. Quels modes d'action peut-il présenter ?

I.A.2.2. On se restreint tout d'abord au cas d'un inhibiteur compétitif, correspondant aux étapes (1) et (2).

I.A.2.2.1. Quelles propriétés géométriques et électroniques l'inhibiteur va-t-il probablement présenter ?

I.A.2.2.2. Etablir la nouvelle loi de vitesse. On introduira $K_{I(E)}$, constante de dissociation du complexe **EI**.

I.A.2.2.3. Par analogie avec l'équation de Michaelis-Menten, on écrira la loi de vitesse sous la forme :

$$v = \frac{v_{\max}^I}{1 + \frac{K_M^I}{[S]}}$$

Donner l'expression de v_{\max}^I (pour $[I] \neq 0$) en fonction de v_{\max} (pour $[I] = 0$). De même, exprimer K_M^I (pour $[I] \neq 0$) en fonction de K_M (pour $[I] = 0$).

I.A.2.2.4. La concentration en inhibiteur étant très grande devant celle de l'enzyme, on considèrera qu'elle reste constante tout au long de l'étude. Représenter graphiquement $1/v = f(1/[S])$ pour $[I] = 0$ et $[I] \neq 0$. Commenter.

I.A.3. Cas d'autres types d'inhibiteur

I.A.3.1. On étudie ensuite le cas d'un inhibiteur incompétitif, correspondant aux étapes **(1)** et **(3)** :

I.A.3.1.1. Etablir la nouvelle loi de vitesse. On introduira cette fois-ci la constante $K_{I(ES)}$ de dissociation du complexe **ESI**.

I.A.3.1.2. En considérant de nouveau que la concentration en inhibiteur reste constante au cours de l'étude, représenter graphiquement $1/v = f(1/[S])$ pour $[I] = 0$ et $[I] \neq 0$.

I.A.3.1.3. En déduire la relation entre v_{\max}^I et v_{\max} , ainsi qu'entre K_M^I et K_M (on utilisera les mêmes notations qu'à la question I.A.2.2.3.). Commenter.

I.A.3.2. On considère enfin le cas d'un inhibiteur mixte, correspondant à l'ensemble des étapes **(1)**, **(2)** et **(3)**. Donner l'allure des représentations graphiques $1/v = f(1/[S])$, en l'absence ou en présence d'inhibiteur.

I.A.4. Application

L'activité de la malonyl-transacylase, notée **E**, est inhibée par l'acétyl-coenzyme A notée **I**. Le tableau ci-dessous donne les vitesses de la réaction (unité arbitraire u.a.) pour différentes concentrations en substrat **S**, et différentes concentrations en inhibiteur **I** :

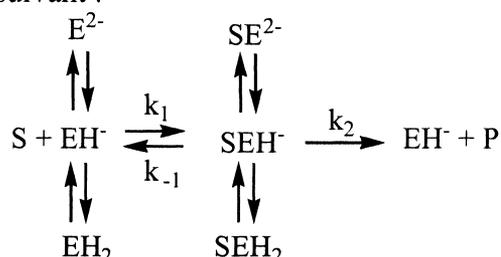
[S] ($10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$)	Vitesse (u.a.)		
	[I] = 0 mol.L^{-1}	[I] = 225 $\mu\text{mol.L}^{-1}$	[I] = 450 $\mu\text{mol.L}^{-1}$
8,5	0,25	0,1	0,065
17	0,4	0,19	0,12
25	0,5	0,25	0,17
40	0,61	0,35	0,245
60	0,7	0,45	0,33
100	0,8	0,575	0,45

Déterminer le type d'inhibition et la constante $K_{I(E)}$ ou $K_{I(ES)}$ correspondante.

I.B. Etudes de quelques paramètres influençant la cinétique

I.B.1. Cas du pH

Soit le schéma réactionnel suivant :



I.B.1.1. Les propriétés acido-basiques des enzymes peuvent-elles être assimilées à celles d'un ampholyte ? Justifier.

I.B.1.2. Par analogie avec l'équation de Michaelis-Menten, établir la loi de vitesse globale du processus décrit ci-dessus, en la mettant sous la forme suivante :

$$v = \frac{v_{\max}^h}{1 + \frac{K_M^h}{[S]}}$$

On posera $h = [H_3O^+]$ et on introduira les constantes d'acidité K_{E1} relative au couple (EH_2/EH^-) et K_{E2} relative au couple (EH^-/E^{2-}) ; et de même K_{ES1} (SEH_2/SEH^-) et K_{ES2} (SEH^-/SE^{2-}) . Par la suite, on prendra $K_{E2} \ll K_{E1}$ et $K_{ES2} \ll K_{ES1}$.

Etablir l'expression de v_{\max}^h en fonction de v_{\max} et de h . De même, exprimer K_M^h en fonction de K_M et de h .

I.B.1.3. On cherche à représenter qualitativement la courbe $\log(v_{\max}^h) = f(\text{pH})$:

I.B.1.3.1. Discuter des cas $h \ll K_{ES2}$ et $h \gg K_{ES1}$.

I.B.1.3.2. D'après les équations des droites obtenues, montrer que l'on peut facilement obtenir $\text{p}K_{ES1}$ et $\text{p}K_{ES2}$.

I.B.1.3.3. Montrer que $\log(v_{\max}^h)$ est strictement inférieur à $\log(v_{\max})$, quelle que soit la valeur du pH.

I.B.1.3.4. En déduire l'allure de la courbe $\log(v_{\max}^h) = f(\text{pH})$.

I.B.1.4. Application :

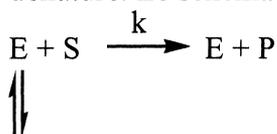
On mesure la vitesse v_{\max}^h et la constante K_M^h pour différentes valeurs de pH. La concentration initiale en enzyme est de $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ et la constante de vitesse k_2 a été évaluée à 12 s^{-1} . Ces données sont regroupées dans le tableau suivant :

pH	v_{\max}^h ($10^{-4} \text{ mol.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	K_M^h ($10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)
3	0,057	1
4	0,537	1,07
5	3,21	1,45
6	6,4	1,89
7	7,05	1,99
8	6,55	2
9	3,6	2
10	0,655	2
11	0,07	2

Déterminer pK_{ES1} et pK_{ES2} . Commenter les valeurs obtenues.
 On utilisera le papier millimétré fourni, en précisant bien les systèmes d'axes et d'unités employés.

I.B.2. Cas de la température

Les enzymes sont particulièrement sensibles à la température de leur milieu. Dans des conditions défavorables, l'enzyme se dénature. Le schéma réactionnel est alors le suivant :



E' forme dénaturée

avec $K = [E'] / [E]$ constante de dénaturation

I.B.2.1. Le mécanisme réactionnel envisagé ici est une version simplifiée de celui vu au début de l'épreuve. On notera ainsi de nouveau $[E]_0$ la concentration totale en enzyme initialement présente. Déterminer l'expression de la loi de vitesse globale $v = f([S])$. On introduira $k_{obs} = k / (1+K)$.

I.B.2.2. Exprimer la constante de vitesse k en fonction de la température T , en nommant les termes employés. Comment s'appelle cette loi ?

I.B.2.3. En introduisant ΔrG° , enthalpie libre standard de réaction de dénaturation de l'enzyme, donner l'expression de K en fonction de T . En déduire l'expression de k_{obs} en fonction de T .

I.B.2.4. Application :

La dénaturation d'une protéine a été étudiée par spectroscopie d'absorption UV-visible : on mesure la différence d'absorbance ΔA_λ à une longueur d'onde donnée entre une solution de protéine à 25°C, température à laquelle la totalité de l'enzyme est fonctionnelle, et cette même solution à une température θ variable. On obtient les résultats suivants :

θ (°C)	ΔA_λ
40	0,01
42,5	0,028
45	0,063
47,5	0,125
50	0,19
52,5	0,25
55	0,26
57,5	0,27
60	0,28
70	0,28

I.B.2.4.1. Sachant que la forme dénaturée n'absorbe pas à la longueur d'onde considérée, donner la relation entre l'absorbance mesurée et la concentration en enzyme fonctionnelle $[E]$. On précisera l'identité des termes introduits dans la relation ainsi que leur unité.

I.B.2.4.2. Exprimer $A_\lambda(\theta)$ en fonction de $A_\lambda(\theta_0 = 25^\circ\text{C})$.

I.B.2.4.3. On considère qu'à 70°C l'enzyme est totalement dénaturée. Sachant qu'entre deux valeurs de température données, la courbe $\Delta A_\lambda = f(T)$ est assimilable à un segment, en déduire la température $\theta_{1/2}$ pour laquelle $[E'] = [E]$ (température dite de « demi-transition »).

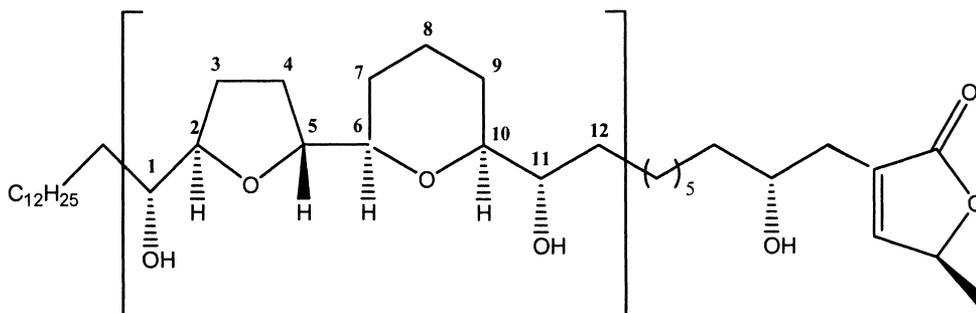
Le tracé de la courbe $\Delta A_\lambda = f(\theta)$ n'est pas demandé.

II. Synthèse organique de deux molécules bioactives

Afin de simplifier l'écriture des formules chimiques, les doublets non liants n'ont pas été représentés sur le dessin des molécules. Cependant, les mécanismes demandés devront être écrits avec des formules de Lewis correctes, la totalité des doublets non liants devant être représentée.

II.A. Synthèse de la (+)-muconine

La (+)-muconine est un antitumoral pour les poumons et le pancréas. Cette molécule possède la structure suivante :



Pour la suite, on s'intéressera plus particulièrement au fragment entre crochets.

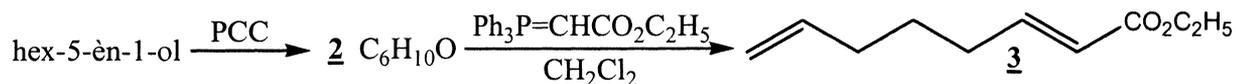
II.A.1. Stéréochimie :

II.A.1.1. Combien y-a-t-il d'atomes de carbone asymétriques (centres stéréogènes) dans le fragment considéré ?

II.A.1.2. Donner les configurations absolues (descripteurs stéréochimiques) des atomes de carbone C-1, C-2 et C-11 du fragment. Justifier.

II.A.2. Synthèse séquentielle du fragment :

La première étape consiste en l'oxydation ménagée du hex-5-èn-1-ol par le chlorochromate de pyridinium (PCC). Le composé **2** est ensuite engagé dans une réaction dite de Wittig (que l'on va détailler ci-après) pour donner le composé **3** :

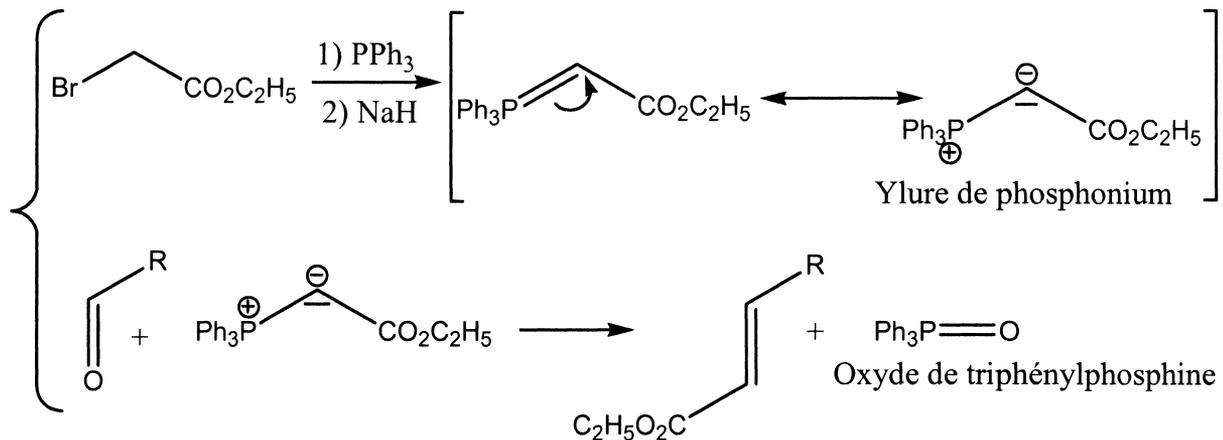


II.A.2.1. Donner la formule semi-développée du hex-5-èn-1-ol.

II.A.2.2. Donner un réactif analogue au PCC pour effectuer l'oxydation ménagée d'un alcool.

II.A.2.3. Donner la structure du produit **2**.

II.A.2.4. La réaction de passage du composé **2** au composé **3** est une réaction de Wittig, dont le schéma réactionnel est le suivant :



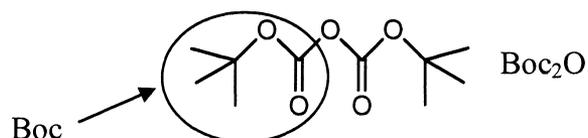
La première étape permet d'obtenir un ylure de phosphonium à partir de la triphénylphosphine (PPh_3) et d'un dérivé halogéné, en présence de l'hydrure de sodium NaH , qui joue ici le rôle d'une base forte. L'ylure effectue ensuite une addition nucléophile sur le composé carbonyle, formant ainsi un composé zwitterionique qui se cyclise en oxaphosphétane (hétérocycle de 4 atomes). Ce dernier se décompose en alcène et oxyde de triphénylphosphine.

II.A.2.4.1. Dessiner la formule de Lewis de la molécule de triphénylphosphine PPh_3 ($Z(\text{P}) = 15$). Quel type de réactivité présente l'atome de phosphore ? Justifier.

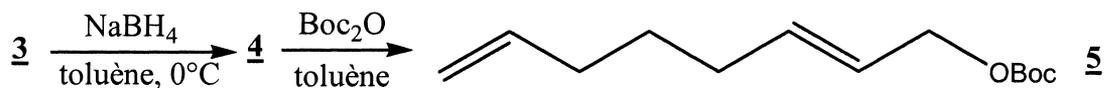
II.A.2.4.2. Proposer un mécanisme pour l'obtention de l'ylure de phosphonium.

II.A.2.4.3. En s'appuyant sur le schéma réactionnel indiqué et en suivant l'énoncé, proposer un mécanisme pour la transformation 2 \rightarrow 3.

II.A.3. Le composé 3 est ensuite réduit par le tétrahydroborate de sodium NaBH_4 pour donner le composé 4, dont la fonction alcool est protégée par l'oxyde de di-*tert*-butylcarbonate Boc_2O , de formule semi-développée suivante :



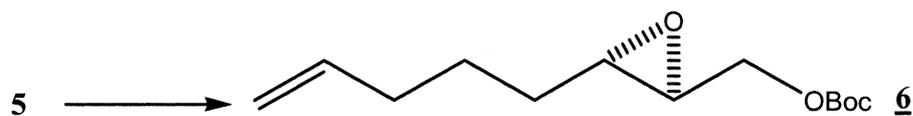
Le schéma réactionnel est ainsi le suivant :



II.A.3.1. Donner la structure du composé 4.

II.A.3.2. Proposer un mécanisme pour le passage du composé 4 au composé 5.

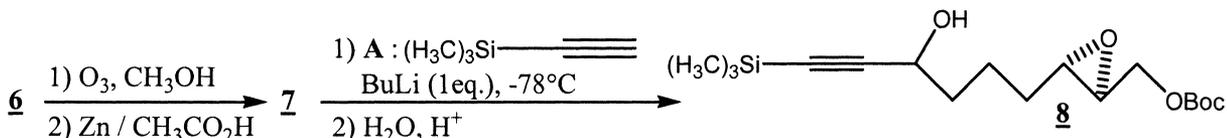
II.A.4. Le composé 5 est ensuite transformé selon le bilan suivant :



II.A.4.1. Quelle est la fonction chimique formée dans le composé **6** ?

II.A.4.2. Proposer une méthode d'obtention de **6**.

II.A.5. Le composé **6** est ensuite traité par l'ozone en milieu réducteur pour donner le composé **7**. Ce dernier subit une addition nucléophile de l'alcynure obtenu par déprotonation par la base forte $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{Li}$ (BuLi) de l'alcynure terminal **A** décrit ci-dessous :

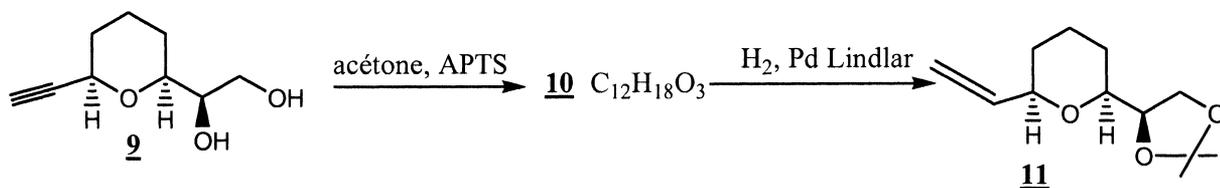


II.A.5.1. Donner la structure du composé **7**.

II.A.5.2. Quel produit aurait-on obtenu si l'ozonolyse avait été suivie d'un traitement oxydant ?

II.A.5.3. Sachant que la première étape décrit la formation de l'alcynure par action de la base forte BuLi sur l'alcynure, proposer un mécanisme pour le passage du composé **7** au composé **8**.

II.A.6. Le composé **8** est transformé en **9** par une suite réactionnelle que nous ne détaillerons pas ici. Le composé **9** réagit ensuite avec un équivalent d'acétone (propanone) en présence d'acide paratoluène sulfonique (APTS) pour donner le composé **10**. Ce dernier est enfin hydrogéné sur palladium de Lindlar et donne le composé **11**.

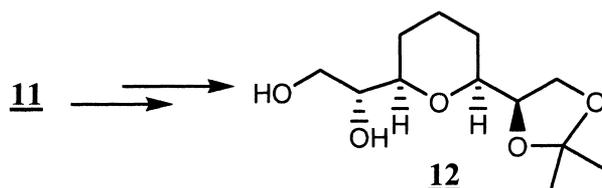


II.A.6.1. Donner la structure du composé **10**. Comment appelle-t-on la nouvelle fonction obtenue ?

II.A.6.2. Donner le mécanisme de la transformation **9** \rightarrow **10**.

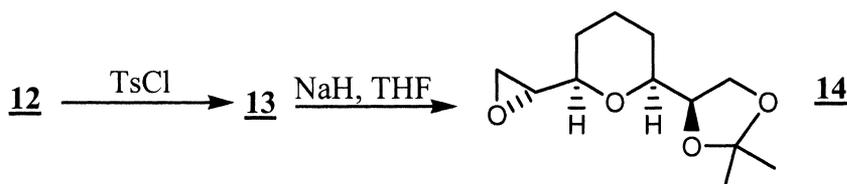
II.A.6.3. Le passage du composé **10** au composé **11** consiste en l'hydrogénation ménagée de la fonction alcynure sur le catalyseur de Lindlar, qui est dit « empoisonné ». Proposer une définition de ce qu'est un catalyseur « empoisonné ». Qu'aurait-on obtenu avec un catalyseur « non empoisonné » ?

II.A.7. Le composé **11** est ensuite transformé en **12** selon le bilan suivant :

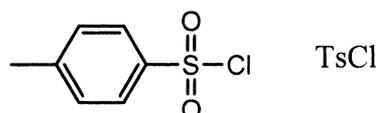


Proposer une méthode d'obtention de **12**, sachant une série de deux réactions est attendue.

II.A.8. Une des fonctions alcool du composé **12** est ensuite activée par le chlorure de tosyloxy (TsCl), pour former sélectivement le composé **13**, qui réagit avec un équivalent d'hydrure de sodium NaH pour donner le composé **14** :



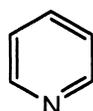
II.A.8.1. Le chlorure de tosyloxy se présente de la manière suivante :



Proposer, par analogie avec une réaction connue, un réactif permettant la transformation de l'acide paratoluènesulfonique en chlorure de tosyloxy.

II.A.8.2. Justifier en quoi une molécule de TsCl, en présence de pyridine, peut activer une fonction alcool.

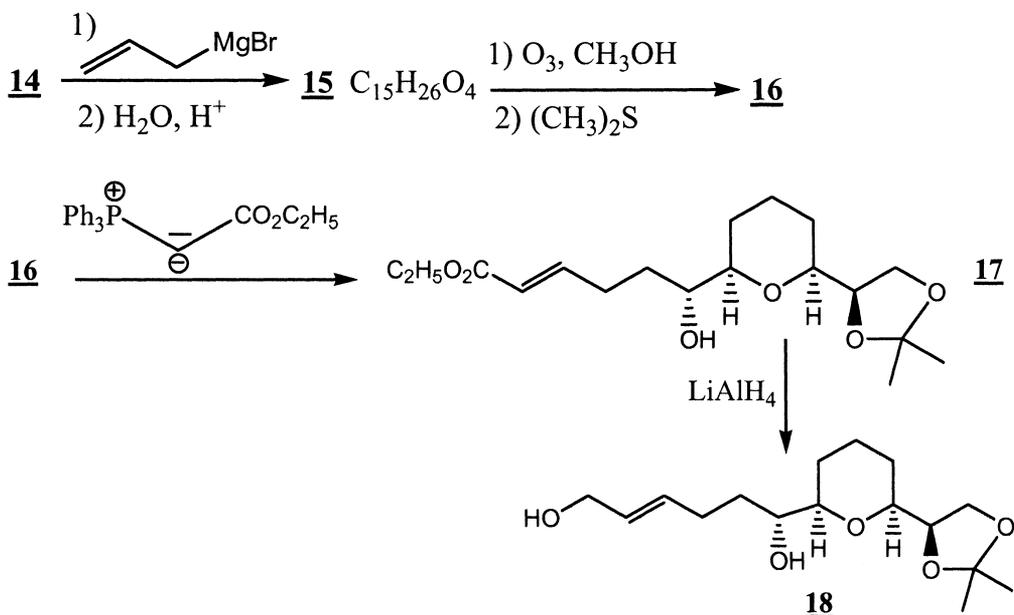
On rappelle la structure de la pyridine :



II.A.8.3. Donner la structure du composé **13** obtenu, en justifiant la sélectivité observée.

II.A.8.4. Sachant que l'hydrure de sodium NaH agit ici comme une base, proposer un mécanisme pour la transformation **13** → **14**.

II.A.9. Le composé **14** est ensuite traité par un organomagnésien pour former le composé **15**, puis **15** subit une ozonolyse en milieu réducteur pour donner le composé **16**. Ce dernier est engagé dans une réaction de Wittig pour former **17**, qui traité par le tétrahydroaluminat de lithium LiAlH₄ donne finalement le composé **18** :



II.A.9.1. Quelles conditions opératoires sont préconisées lors de la synthèse d'un organomagnésien ?

II.A.9.2. Donner la structure du composé **15**.

II.A.9.3. Donner le mécanisme du passage du composé **14** au composé **15**, en justifiant la régiosélectivité de l'attaque.

II.A.9.4. Donner la structure du composé **16**.

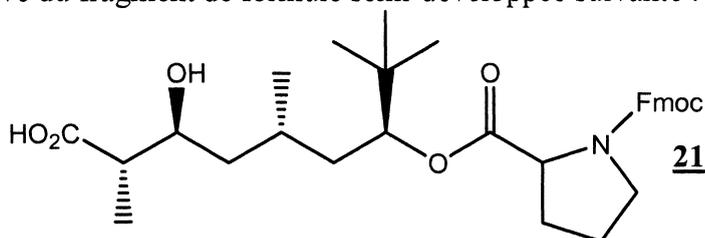
II.A.9.5. En vous appuyant sur les développements de la question II.A.2.4., justifier l'obtention du composé **17**.

II.A.9.6. Si l'on souhaitait poursuivre la synthèse, comment pourrait-on détruire le cétal cyclique à 5 atomes de **18** pour obtenir un diol ?

II.B. Synthèse de l'apratoxine

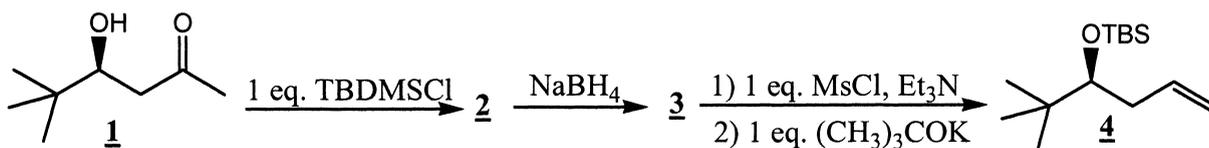
Les produits naturels présentant des propriétés cytotoxiques constituent une importante source pour les traitements anticancéreux. De plus, la découverte de molécules capables de s'adapter à plusieurs milieux, selon les organes ou les tissus touchés, est particulièrement intéressante. La molécule d'apratoxine fait partie de ce nouveau vivier.

Cette molécule dérive du fragment de formule semi-développée suivante :

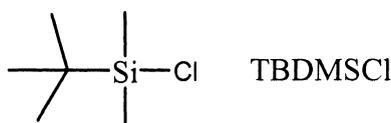


On se propose d'en établir la synthèse via une séquence en plusieurs étapes.

II.B.1. La synthèse du fragment débute par la protection d'une fonction hydroxyle par un équivalent de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle TBDMSCl, en présence d'une base, pour donner le composé **2**. **2** est ensuite traité par NaBH₄ et se transforme en **3**. Enfin, le composé **3** est lui même traité par un équivalent de chlorure de mésyle MsCl en présence d'une base, la triéthylamine Et₃N, puis soumis à l'action d'un équivalent de *tert*-butanolate de potassium selon la suite réactionnelle suivante :



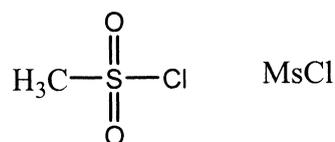
II.B.1.1. Le *tert*-butyldiméthylsilyle TBDMSCl a la structure suivante :



Ce composé se comporte comme un dérivé halogéné. En déduire la structure du composé **2**. On notera par la suite le groupement formé -OTBS.

II.B.1.2. Donner la structure du composé **3**.

II.B.1.3. Le chlorure de mésyle MsCl se présente sous la forme suivante :



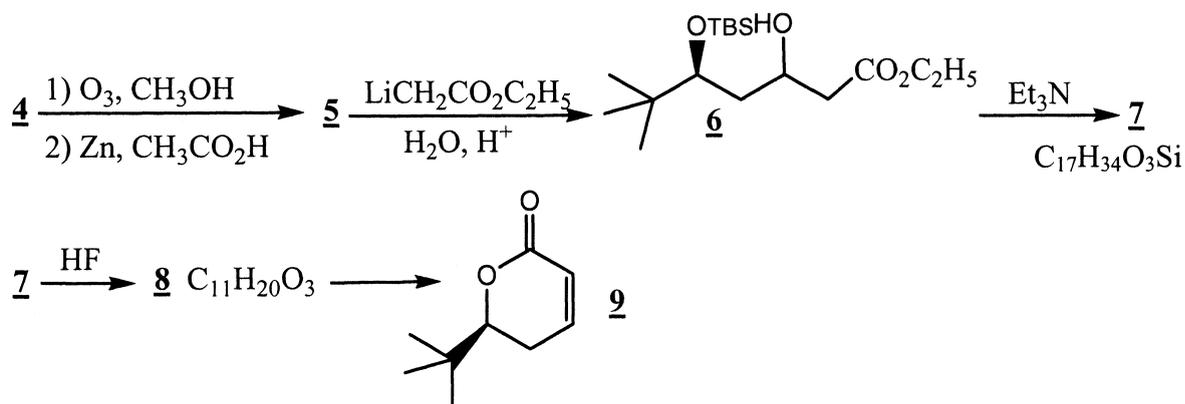
Le passage du composé 3 au composé 4 est constitué de deux étapes. La première comprend une addition nucléophile de l'alcoolate formé sur l'atome de soufre de la molécule de MsCl, suivie d'une élimination.

Proposer un mécanisme pour le passage du composé 3 au composé 4.

II.B.1.4. En particulier, quel est l'intérêt d'utiliser le *tert*-butanolate de potassium ?

II.B.1.5. A partir du composé 3, quelles autres conditions réactionnelles aurait-on pu utiliser pour former la double liaison C=C ? Quel produit aurait-on obtenu dans ce cas ? Justifier.

II.B.2. 4 est ensuite traité par l'ozone en milieu réducteur pour donner le composé 5. Ce dernier subit l'attaque d'un composé lithié et se transforme en composé 6, qui présente en spectroscopie infrarouge deux bandes, l'une vers 3500 cm^{-1} et l'autre vers 1750 cm^{-1} . 6 sous l'action d'un équivalent de triéthylamine se transforme en composé 7, qui ne présente plus la bande à 3500 cm^{-1} et décolore l'eau de brome. Après un traitement à l'acide fluorhydrique 7 se transforme en 8. Enfin, le composé 8 se transforme spontanément en composé 9 :



II.B.2.1. Donner la structure du produit 5.

II.B.2.2. Le composé lithié $\text{LiCH}_2\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ réagit formellement comme la paire d'ions (Li^\oplus , $\ominus\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$). Proposer un mécanisme pour justifier la structure du composé 6 obtenu lors du passage 5 → 6.

II.B.2.3. D'après les données fournies en annexe, attribuer les valeurs des nombres d'onde associés aux bandes de vibration infrarouge évoquées pour le composé 6.

II.B.2.4. D'après les données de l'énoncé, quelle nouvelle fonction possède le produit 7 ? Justifier.

II.B.2.5. Donner la structure du composé 7.

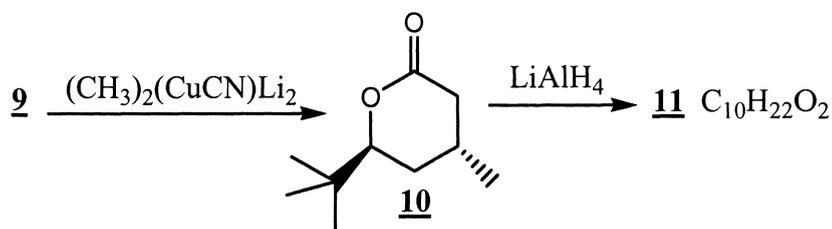
II.B.2.6. L'acide fluorhydrique permet la déprotection sélective des alcools protégés par une fonction éther de silyle, c'est à dire de type $-\text{OSiR}_3$. En déduire la structure du composé 8.

II.B.2.7. Quelles précautions expérimentales doit-on prendre pour manipuler HF ?

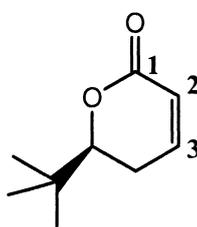
II.B.2.8. Proposer un mécanisme pour le passage du composé 8 au composé 9.

II.B.2.9. Quel type de réaction a-t-on effectué pour le passage de 8 à 9 ? Comment peut-on expérimentalement favoriser l'obtention d'un tel produit ?

II.B.3. Le composé **9** présente une fonction énone qui réagit avec l'organocuprate lithié $(\text{CH}_3)_2(\text{CuCN})\text{Li}_2$ pour former le composé **10**. Ce dernier est traité par le tétrahydruroaluminat de lithium LiAlH_4 et donne le composé **11** :



II.B.3.1. On rappelle la structure du composé **9** :

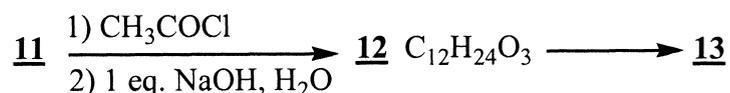


Au moyen de formules limites, justifier le caractère électrophile du carbone C-3 de la fonction énone du composé **9**.

II.B.3.2. On assimile l'organocuprate lithié $(\text{CH}_3)_2(\text{CuCN})\text{Li}_2$ à un méthylure CH_3^\ominus . Proposer un mécanisme d'obtention du composé **10**.

II.B.3.3. Le tétrahydruroaluminat de lithium LiAlH_4 est un réducteur puissant, capable de réduire une fonction ester. En déduire la structure du produit **11** formé.

II.B.4. **11** réagit ensuite avec un excès de chlorure d'éthanoyle CH_3COCl en présence d'une base puis, après isolement, avec un équivalent d'hydroxyde de sodium pour former **12**. Le composé **12** subit à son tour une oxydation ménagée et se transforme en **13**. Ce dernier présente un spectre RMN du proton avec un singulet de déplacement chimique de 9,9 ppm et d'intensité 1, et réagit positivement au test de la liqueur de Fehling.

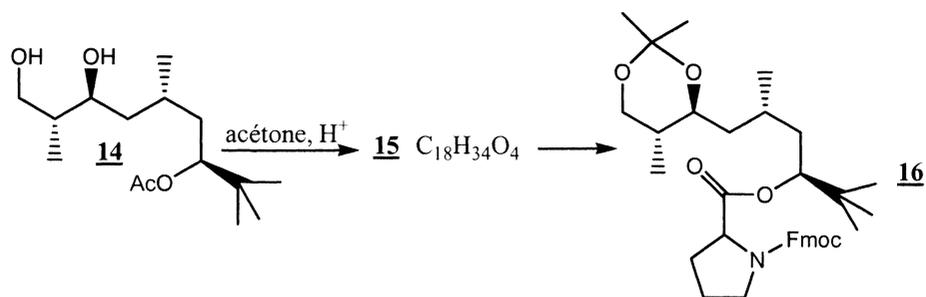


II.B.4.1. Donner la structure du composé **12**.

II.B.4.2. Justifier la sélectivité observée lors de l'obtention du composé **12**.

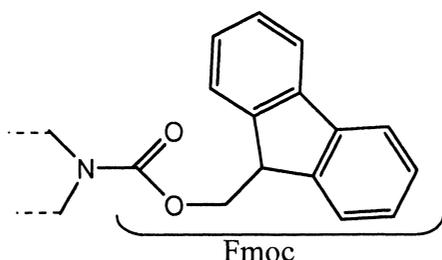
II.B.4.3. En vous appuyant sur les données fournies dans l'énoncé et en annexe, donner la structure du produit **13**. Justifier.

II.B.5. Le composé **13** est ensuite engagé dans une suite réactionnelle que nous n'étudierons pas ici, et est transformé en composé **14**. Ce dernier est traité par l'acétone en milieu acide pour donner le composé **15**. **15** réagit ensuite avec un équivalent de proline protégée pour former le produit **16** :



II.B.5.1. Donner la structure du composé **15**.

II.B.5.2. Le réactif utilisé dans la transformation **15** → **16** est le chlorure d'acide formé à partir d'une proline dont le groupement amino a été protégé par le groupement Fmoc :

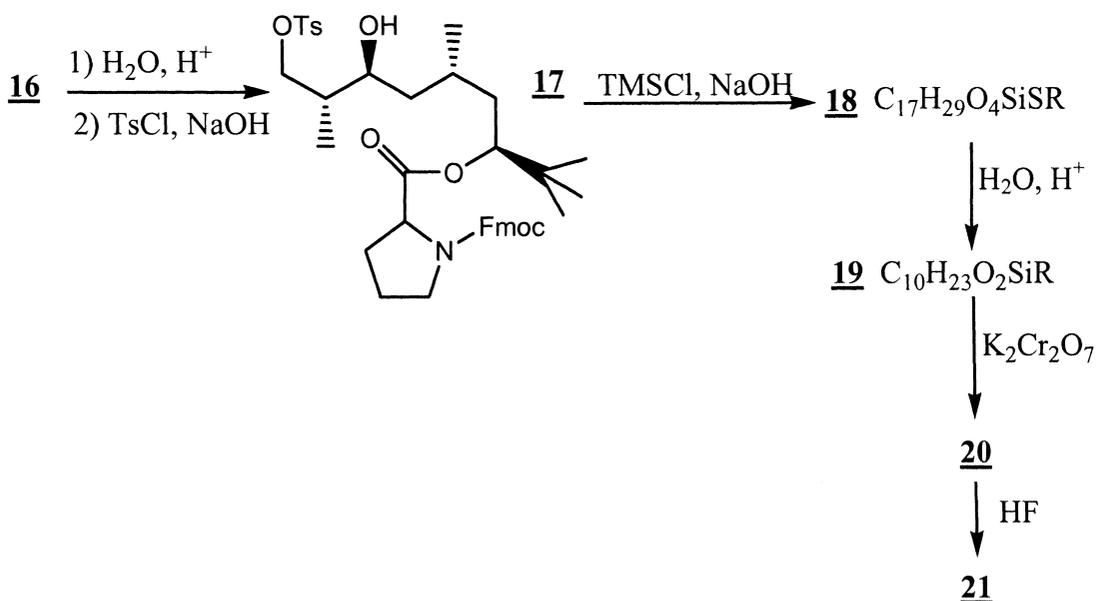


Rappeler la structure de la proline.

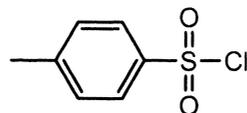
II.B.5.3. Quel est l'intérêt de la protection de l'amine ? Du passage par le chlorure d'acide ?

II.B.5.4. Proposer des réactifs permettant la formation de ce chlorure d'acide.

II.B.6. Le composé **16** est ensuite engagé dans la suite réactionnelle suivante : **16** est traité en milieu acide puis réagit avec un équivalent de chlorure de tosyle TsCl en présence d'une base pour donner **17**. Ce dernier est lui même traité par un équivalent de chlorure de triméthylsilane TMSCl et se transforme en **18**, qui en milieu acide donne **19**. **19** subit l'action du dichromate de potassium pour former **20**, qui enfin traité par HF donne la molécule finale **21**, présentée en début d'énoncé. On remarquera que le groupe -Fmoc ne réagit pas tout au long de la séquence.

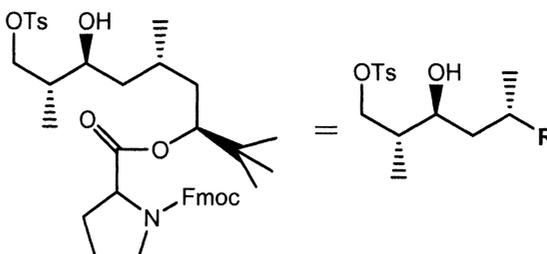


II.B.6.1. On rappelle la structure du chlorure de tosyle TsCl (question II.A.8.) :



Justifier l'obtention du composé **17** en justifiant la sélectivité observée.

II.B.6.2. Dans la suite, on simplifiera l'écriture de la molécule de la manière suivante :



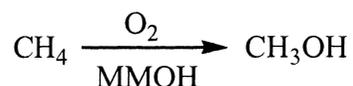
Le triméthylsilane $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ (TMSCl) appartient à la même famille que le TBDMSCl vu en début de problème à la question II.B.1.1. En se reportant à cette question, et d'après la formule brute fournie, donner la structure de **18**.

II.B.6.3. Donner les structures des composés **19** et **20**, sachant que pour le passage de **20** à **21**, l'acide fluorhydrique HF a le même rôle que celui détaillé à la question II.B.2.6.

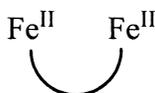
III. Quelques pas vers la modélisation de l'enzyme méthane monooxygénase MMO

Le méthane CH_4 constitue une source d'énergie, mais la réaction $\text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_3\text{OH}$ ne se réalise pas facilement car la liaison C-H est une liaison de forte énergie ($\sim 435 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). De ce fait, il n'existe pas de nos jours de procédé industriel capable d'effectuer directement la conversion de méthane en méthanol. Cependant, dans la nature, certaines bactéries sont capables de réaliser sélectivement cette oxydation, bien que la molécule de CH_4 soit *a priori* un substrat difficile à fixer, de par son moment dipolaire nul et l'absence de fonctionnalité particulière. Cette performance est réalisée par l'enzyme *méthane monooxygénase* MMO.

Cette enzyme possède trois sous-unités dont une, l'unité MMOH, est directement responsable de l'oxydation du méthane en méthanol :



Cette unité contient deux atomes de fer liés par différents ponts. On symbolisera par la suite la MMOH sous sa forme réduite (MMOH_{red}), c'est-à-dire avant l'introduction du dioxygène, de la manière suivante (les deux atomes de fer ont alors un degré d'oxydation égal à +II) :

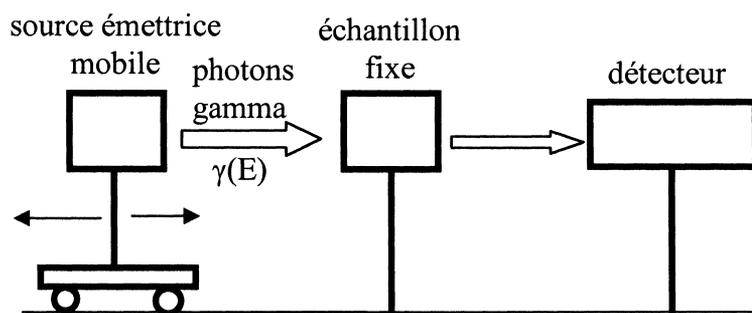


La réaction d'oxydation du méthane se déroule selon un cycle au cours duquel la MMOH est oxydée puis régénérée. Le mécanisme exact de cette oxydation n'est pas entièrement connu, mais certains intermédiaires ont pu être caractérisés grâce à de nombreuses techniques de spectroscopie, et grâce à l'étude de composés modèles.

Dans la suite, on se propose de déterminer la structure approchée de deux intermédiaires, grâce aux techniques de spectroscopie UV-Visible et Mössbauer. Dans un premier temps, on étudiera plus particulièrement le principe de la technique Mössbauer, avant de se pencher sur un cycle d'oxydation du méthane par le dioxygène dans la MMOH.

III.A. Principe de la spectroscopie Mössbauer

La spectroscopie Mössbauer a valu, en 1961, le prix Nobel de chimie à son découvreur, Rudolph Ludwig Mössbauer. Le montage peut être schématisé de la manière suivante :



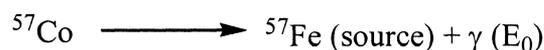
Montage d'une expérience de spectroscopie Mössbauer

Une source radioactive émet un rayonnement gamma d'énergie E_0 . On fait varier cette énergie en déplaçant la source. Ainsi, l'énergie des photons gamma perçus par un échantillon fixe est modulée par la vitesse de déplacement de la source. L'expression de cette énergie est la suivante :

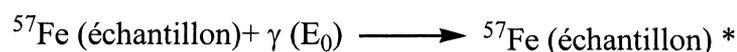
$$E = E_0 \left(1 + \frac{v}{c} \right)$$

$$\text{avec } \begin{cases} v = \text{vitesse algébrique de la source} \\ c = 3.10^8 \text{ m.s}^{-1} \text{ célérité de la lumière dans le vide} \end{cases}$$

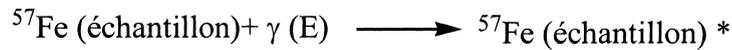
Un des éléments les plus étudiés par cette technique est le fer ^{57}Fe . Dans ce cas, la source émettrice utilisée est un cristal pur de cobalt ^{57}Co . La désintégration d'un atome de ^{57}Co de la source émettrice donne un atome de ^{57}Fe et produit un rayonnement γ d'énergie E_0 :



Ce rayonnement permet à son tour d'exciter un atome de ^{57}Fe présent dans l'échantillon si celui-ci possède le même degré d'oxydation et le même environnement chimique (même nature et même géométrie des plus proches voisins de l'atome étudié) qu'un atome de ^{57}Fe de la source :



Si l'échantillon contient d'autres atomes de ^{57}Fe ayant un degré d'oxydation ou un environnement chimique différent des atomes de ^{57}Fe de la source, ils seront excités par des rayonnements d'énergie $E = E_0 (1 + v/c)$ obtenus en déplaçant la source (effet Doppler) :



Lorsque l'énergie du rayonnement incident correspond à l'énergie d'excitation d'un atome de ^{57}Fe de l'échantillon, ce rayonnement est absorbé par cet atome, et l'intensité collectée par le détecteur placé derrière l'échantillon diminue.

Pour quantifier les différences de degré d'oxydation et d'environnement chimique entre deux atomes de ^{57}Fe , l'un appartenant à la source et l'autre à l'échantillon, on introduit les deux paramètres suivants :

- le déplacement isomérique δ_i (mm.s^{-1}) : ce paramètre reflète l'écart de degré d'oxydation cité précédemment *via* la différence de densité de probabilité de présence d'un électron sur la sous-couche externe s du noyau d'un atome de Fe de l'échantillon (i) et de la source (s):

$$\delta_i = A (|\Psi_s|^2_{(i)} - |\Psi_s|^2_{(s)})$$

avec $\left\{ \begin{array}{l} A \text{ constante strictement négative} \\ |\Psi_s|^2 \text{ densité de probabilité de présence d'un électron sur la sous-couche externe s} \end{array} \right.$

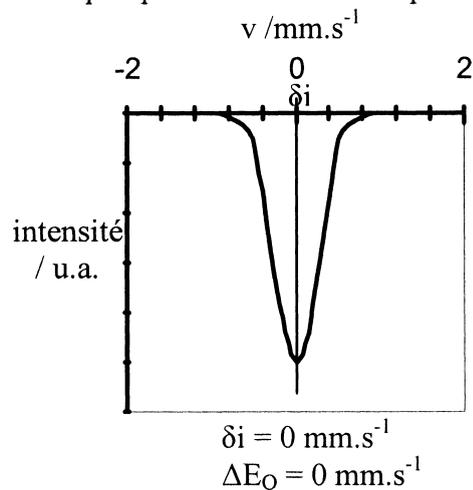
- l'éclatement quadripolaire ΔE_Q (mm.s^{-1}) : ce paramètre reflète l'écart d'environnement chimique et s'exprime de la manière suivante :

$$\Delta E_Q = \begin{cases} B \sqrt{1 + \frac{\eta^2}{3}} & \text{pour une symétrie de coordination donnée} \\ 0 & \text{pour une sphère} \end{cases}$$

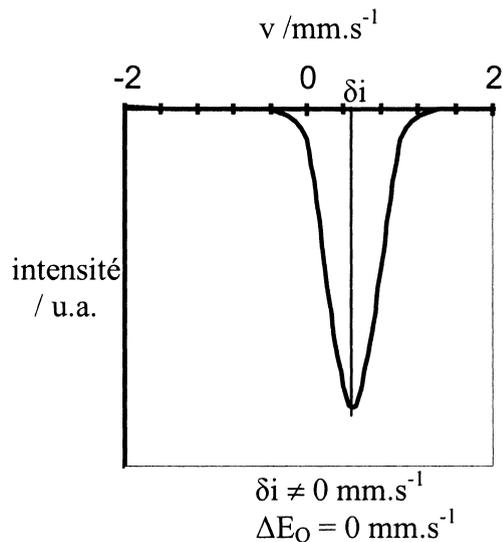
avec $\left\{ \begin{array}{l} B \text{ constante strictement positive} \\ \eta \text{ paramètre d'asymétrie} \end{array} \right.$

Ainsi, un spectre Mössbauer se présente de la manière suivante :

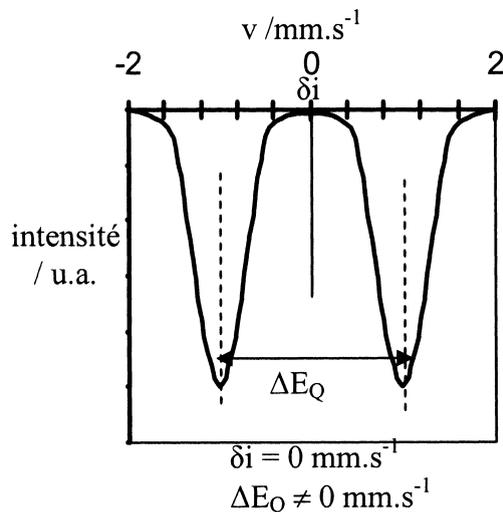
- pour un échantillon constitué d'atomes de fer de même degré d'oxydation et de même environnement chimique que les atomes de fer présents dans la source :



- pour un échantillon constitué d'atomes de fer de même environnement chimique que les atomes de fer présents dans la source, mais dans un degré d'oxydation différent :



- pour un échantillon constitué d'atomes de fer de même degré d'oxydation que les atomes de fer présents dans la source, mais dans un environnement chimique différent :



III.A.1. Quelques généralités :

III.A.1.1. Rappeler la définition de deux atomes isotopes.

III.A.1.2. Citer un autre exemple de manifestation de l'effet Doppler.

III.A.1.3. Sachant que dans le cas du ^{57}Fe , le rayonnement de la source a une énergie E_0 d'environ 0,1 eV, donner l'ordre de grandeur de la vitesse v de la source pour un déplacement en énergie $\Delta E = E - E_0$ d'environ 10^{-12} eV.

III.A.1.4. D'après ce résultat, les ordres de grandeur des paramètres δ_i et ΔE_Q définis précédemment vous paraissent-ils cohérents ?

III.A.2. L'élément fer possède un numéro atomique $Z = 26$.

III.A.2.1. Ecrire la configuration électronique d'un atome de fer, sachant qu'il possède deux électrons dans la sous-couche 4s ($n = 4$) et six électrons dans la sous-couche 3d ($n = 3$).

III.A.2.2. Ecrire de même la configuration électronique d'un atome de fer de degré d'oxydation +II, et celle d'un atome de fer de degré d'oxydation +III.

III.A.2.3. Le déplacement isomérique mesuré pour un atome de fer de degré d'oxydation +II est strictement supérieur à celui mesuré pour un atome de fer de degré d'oxydation +III. En déduire le signe de la différence de densité de probabilité de présence d'un électron sur la sous-couche externe s ($|\Psi_s|^2(\text{Fe}^{\text{II}}) - |\Psi_s|^2(\text{Fe}^{\text{III}})$) pour deux atomes de fer de degré d'oxydation +II et +III.

III.A.2.4. En s'appuyant sur les configurations électroniques précédemment déterminées, proposer une justification pour le résultat obtenu.

III.A.3. Eclatement quadrupolaire ΔE_Q .

III.A.3.1. On considère le complexe $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$:

III.A.3.1.1. Quelle est la géométrie de ce complexe ?

III.A.3.1.2. Ce complexe est-il plutôt symétrique ou asymétrique ?

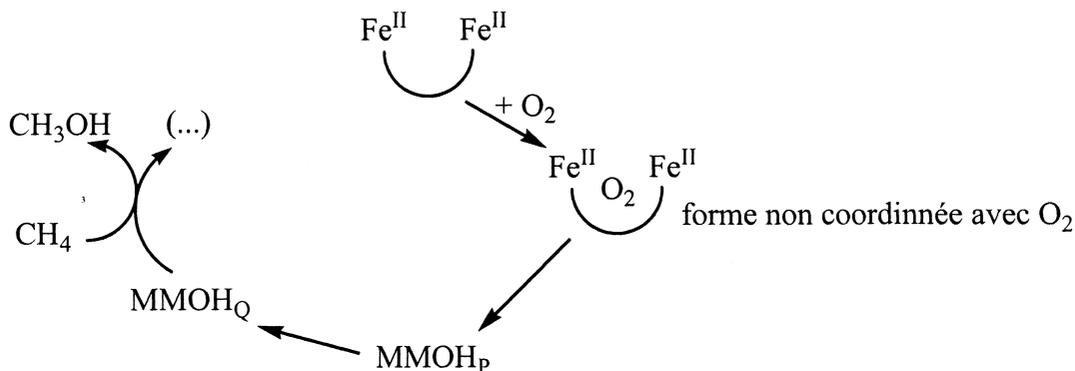
III.A.3.1.3. Donner l'allure du spectre Mössbauer attendu pour ce complexe.

Justifier.

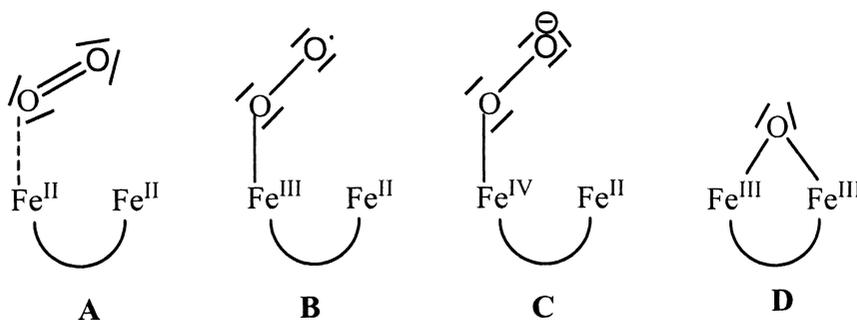
III.A.3.2. Pour un complexe contenant deux atomes de fer de même déplacement isomérique $\delta_i(\text{Fe}_1) = \delta_i(\text{Fe}_2)$, mais d'environnement chimique très différent, donner l'allure du spectre Mössbauer obtenu, en indiquant sur le graphe les déplacements isomériques $\delta_i(\text{Fe}_1)$ et $\delta_i(\text{Fe}_2)$, ainsi que les deux éclatements quadrupolaires. On prendra $\Delta E_Q(\text{Fe}_1)$ très inférieur à $\Delta E_Q(\text{Fe}_2)$.

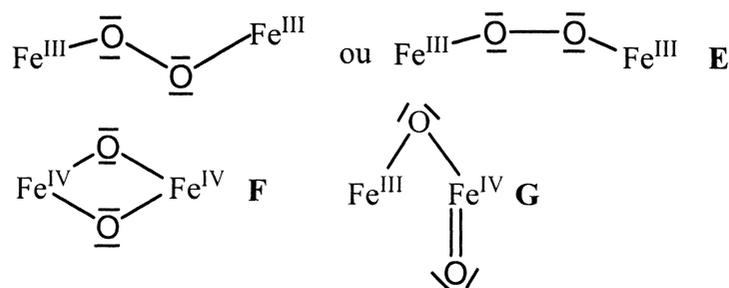
III.B. Retour au cycle de la MMO

Le cycle d'oxydation du méthane peut être en partie décrit de la manière suivante :



On se propose de déterminer les structures approchées des intermédiaires MMOH_p et MMOH_q , qui résultent de l'incorporation du dioxygène entre les atomes de fer. On peut ainsi envisager plusieurs types de coordination, dont une partie est énumérée ci-dessous :





III.B.1. On dispose d'une solution de MMOH_{red} dans le dichlorométhane. L'oxydation par le dioxygène de cette solution donne lieu à la formation d'une nouvelle espèce, notée MMOH_{p} . Lorsqu'on fait barboter de l'argon dans la solution, l'espèce initiale MMOH_{red} n'est pas régénérée. L'espèce MMOH_{p} se transforme ensuite spontanément en un autre composé MMOH_{Q} . Le tableau ci-après donne les longueurs d'onde d'absorption maximale des espèces en solution :

Espèce	$\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$
MMOH_{red}	380
MMOH_{p}	660
MMOH_{Q}	430

III.B.1.1. Suivi par spectroscopie UV-visible :

III.B.1.1.1. Décrire succinctement le fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-visible.

III.B.1.1.2. Quel est le domaine d'application de la loi de Beer-Lambert ?

III.B.1.2. De quelle couleur est l'espèce MMOH_{p} ?

III.B.1.3. Coordination de O_2 :

III.B.1.3.1. Pourquoi fait-on barboter de l'argon dans la solution ?

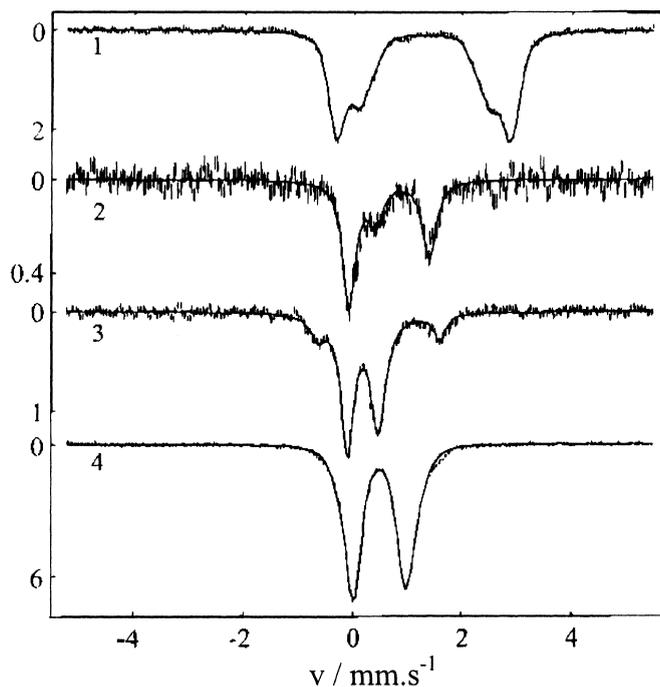
III.B.1.3.2. La réaction d'oxydation est-elle ici réversible ? Justifier.

III.B.1.3.3. Comment cela se traduit-il sur le changement structural de la molécule de dioxygène dans la forme MMOH_{p} ?

III.B.1.3.4. Eliminer en conséquence un ou plusieurs intermédiaires potentiels.

III.B.2. Suivi par spectroscopie Mössbauer :

Les spectres obtenus lors du suivi de la réaction d'oxydation sont regroupés sur la figure suivante :



Grâce à l'étude de ces quatre spectres, on a pu déterminer les caractéristiques des formes MMOH_P et MMOH_Q :

- pour l'espèce MMOH_P : $\delta_i = 0,66 \text{ mm.s}^{-1}$ et $\Delta E_Q = 1,55 \text{ mm.s}^{-1}$.
- pour l'espèce MMOH_Q : $\delta_i = 0,17 \text{ mm.s}^{-1}$ et $\Delta E_Q = 0,53 \text{ mm.s}^{-1}$.

III.B.2.1. Quel est le spectre correspondant à la forme MMOH_P ? Celui correspondant à la forme MMOH_Q ? Justifier.

III.B.2.2. Environnement des atomes de fer :

III.B.2.2.1. D'après le spectre obtenu pour la MMOH_P , et d'après les valeurs des degrés d'oxydation des deux atomes de fer pour les formes retenues jusqu'à présent, les deux atomes de fer semblent-ils posséder un environnement chimique différent ? Justifier.

III.B.2.2.2. Même question pour la forme MMOH_Q .

III.B.2.2.3. Quel(s) type(s) de coordination cette observation permet-elle d'éliminer ?

III.B.2.3. Degrés d'oxydation des atomes de fer :

III.B.2.3.1. On a $\delta_i(\text{MMOH}_P) > \delta_i(\text{MMOH}_Q)$. Quelle information peut-on en déduire sur les degrés d'oxydation des atomes de fer dans les deux structures ?

III.B.2.3.2. En déduire les structures possibles des intermédiaires MMOH_P et MMOH_Q .

III.B.2.4. Sachant que la stœchiométrie atome de fer / atome d'oxygène est de 1 pour 1, proposer une explication concernant l'évolution de ΔE_Q pour les intermédiaires MMOH_P et MMOH_Q .

Fin de l'épreuve

ANNEXE : DONNEES SPECTROSCOPIQUES IR ET RMN

Tableau A1 : nombres d'onde en cm^{-1} de bandes de vibration caractéristiques

C-H	2850 - 2960
C-H	1340 - 1465
C-C	700 - 1250
C=C	2100 - 2260
O-H	3500 - 3660
C=O	1640 - 1780
C \equiv N	2215 - 2275
N-H	3200 - 3500

Figure A2 : plages de déplacements chimiques caractéristiques pour la RMN du proton

