

**ÉCOLES NORMALES SUPÉRIEURES
ÉCOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSÉES**

CONCOURS D'ADMISSION SESSION 2018

FILIÈRE BCPST

COMPOSITION DE CHIMIE

Épreuve commune aux ENS de Lyon, Paris, Paris-Saclay et à l'ENPC

Durée : 4 heures

L'utilisation des calculatrices n'est pas autorisée pour cette épreuve.

MONOXYDE D'AZOTE *IN VIVO*

Le monoxyde d'azote (NO), initialement réputé pour sa présence néfaste dans la fumée de cigarette et les gaz d'échappement, est aussi un messenger cellulaire de première importance chez les mammifères. Son implication dans de nombreux processus biologiques, tels que les systèmes cardiovasculaire, nerveux central et périphérique ou encore immunitaire a été démontrée depuis les années 1980. Le monoxyde d'azote peut agir comme neurotransmetteur, vasodilatateur, ou agent cyostatique et cytotoxique. La découverte de ses propriétés biologiques nombreuses et inattendues valut à cette molécule le titre de « Molécule de l'année » en 1992 !

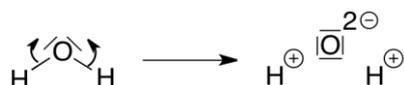
Ce problème s'intéresse à la structure du monoxyde d'azote, à ses dérivés d'oxydo-réduction et à sa réactivité *in vitro* (Partie A) puis à sa formation *in vivo* grâce aux enzymes NO-synthases et à différents cofacteurs (Partie B) et enfin à son action en tant qu'agent vasodilatateur ou toxique (Partie C).

Données

Une classification périodique est donnée dans l'annexe 1.

Nombre d'oxydation d'un élément au sein d'une entité polyatomique :

Le nombre (ou degré) d'oxydation d'un élément au sein d'un édifice polyatomique est défini comme étant la charge formelle que porte cet élément lorsqu'on attribue les deux électrons de chaque liaison covalente à l'atome le plus électronégatif impliqué dans la liaison. Ce nombre se note en chiffre romain. Par exemple, dans le cas de la molécule d'eau H₂O, l'électronégativité de O étant supérieure à celle de H, les charges formelles de H et de O sont H⁺ et O²⁻. Les nombres d'oxydation sont donc (+I) pour H et (-II) pour O.



Par extension, le nombre d'oxydation d'un élément au sein d'un ion monoatomique correspond à la charge de cet atome.

Potentiels standards d'oxydoréduction à T = 300 K et pH = 0 (V/ESH) :

ESH : Électrode Standard à Hydrogène

$E^{\circ}_1(\text{NO}_3^-/\text{NO}_2) = 0,77$; $E^{\circ}_2(\text{NO}_2/\text{NO}_2^-) = 0,90$; $E^{\circ}_3(\text{NO}_2/\text{HNO}_2) = 1,10$

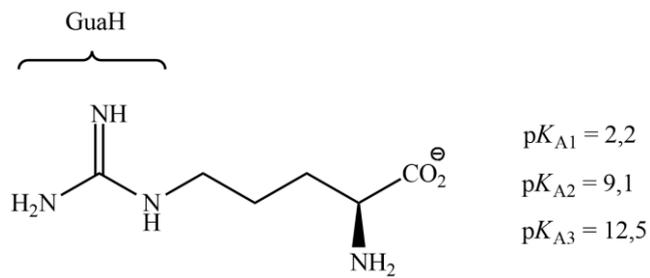
Données thermodynamiques à T = 300 K :

Constante de Faraday : $F = 96500 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$, approximée ici à $F \sim 10^5 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$

$\text{p}K_A(\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-) = 3,3$; $\text{p}K_A(\text{HNO}_3/\text{NO}_3^-) = -1$

$\text{p}K_A(\text{RCOOH}/\text{RCOO}^-) \sim 2-5$; $\text{p}K_A(\text{RNH}_3^+/\text{RNH}_2) \sim 8-10$

On donne la structure de la L-arginine (Arg) sous sa forme la plus basique et les pK_A associés :



Équilibre acido-basique du couple $\text{GuaH}_2^+/\text{GuaH}$:



La forme GuaH_2^+ est la forme la plus protonée de l'extrémité GuaH.

Données numériques :

On donne à $T = 300 \text{ K}$:

$$\frac{RT \ln(10)}{F} = 0,06 \text{ V} ; RT = 2,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\log(x) = \frac{\ln(x)}{\ln(10)}$$

$$\exp(10) = 2,2 \times 10^4$$

Partie A/ Étude de NO *in vitro*

1/ Structure et réactivité du monoxyde d'azote et de ses dérivés

Selon l'environnement, NO peut se trouver sous des formes plus ou moins réduites ou oxydées, et sous forme de dimères ou de monomères. Les structures de Lewis de ces espèces peuvent comporter des électrons non-appariés (aussi appelés électrons célibataires), qui seront représentés par un point.

Le monoxyde d'azote NO réagit avec le dioxygène dissout pour former le dioxyde d'azote NO₂.

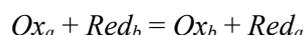
1. Proposer une structure de Lewis de NO et une de NO₂ faisant chacune apparaître un électron non-apparié sur l'atome d'azote.
2. Donner le nombre d'oxydation de l'atome d'azote dans les molécules de NO et de NO₂.
3. Écrire les demi-équations d'oxydoréduction des couples impliqués dans l'oxydation de NO en NO₂ par le dioxygène. En déduire l'équation de la réaction.

Le dioxyde d'azote NO₂ existe aussi en solution aqueuse sous forme de dimère : le tétraoxyde de diazote N₂O₄. Ce dernier peut se dismuter en ions nitrate (NO₃⁻) et nitrite (NO₂⁻), ou réagir avec NO pour former du trioxyde de diazote (N₂O₃).

4. Proposer une structure de Lewis pour chacun des ions NO₃⁻ et NO₂⁻.
5. Donner la géométrie de NO₃⁻ et celle de NO₂⁻, en les justifiant dans le cadre de la théorie VSEPR. L'angle ONO est de 120° dans NO₃⁻ et 115° dans NO₂⁻. Commenter ces valeurs.
6. La liaison NO est plus longue dans NO₃⁻ que dans NO₂⁻. Expliquer.

2/ Étude des propriétés d'oxydoréduction de NO₂

Pour la réaction d'oxydoréduction suivante entre les couples (Ox_a/Red_a) et (Ox_b/Red_b) :



la différence de potentiel standard associée, ΔE° , sera définie comme : $\Delta E^\circ = E^\circ_a - E^\circ_b$.

Les équations de réaction devront être écrites avec la forme majoritaire des espèces dans chaque condition précisée dans l'énoncé.

7. Écrire l'équation de dismutation de NO₂ en solution aqueuse pour pH ≤ 3,3. Calculer la valeur du ΔE° de cette réaction. Donner l'expression de l'affinité chimique standard en fonction de ΔE° et calculer sa valeur pour la réaction considérée ici.
8. Même question pour pH ≥ 3,3.
9. Écrire la relation de Nernst pour chacun des couples (1) NO₃⁻/NO₂, (2) NO₂/NO₂⁻ et (3) NO₂/HNO₂. On considérera les espèces en solution. Donner l'expression des potentiels standards apparents $E^{\circ'}_{1,pH}$, $E^{\circ'}_{2,pH}$, $E^{\circ'}_{3,pH}$ en fonction du pH et des potentiels standards E°_1 , E°_2 , E°_3 , respectivement.

10. Pour chaque zone de pH ($\text{pH} \leq 3,3$ et $\text{pH} \geq 3,3$), exprimer la différence de potentiel d'oxydoréduction standard apparente $\Delta E^{\circ'}_{\text{pH}}$ associée à la réaction de dismutation de NO_2 en fonction du pH. Calculer les valeurs des pentes et des ordonnées à l'origine, et la valeur de $\Delta E^{\circ'}_{\text{pH}}$ pour $\text{pH} = 3,3$. Représenter l'allure du graphe $\Delta E^{\circ'}_{\text{pH}} = f(\text{pH})$.

11. Sur la base des résultats de cette partie (questions 7 à 10), expliquer comment le NO_2 produit notamment par les moteurs à combustion et les centrales thermiques contribue au phénomène d'acidification des océans.

3/ Cinétique de réaction de NO avec le dioxygène in vitro

NO est oxydé en ion nitrite NO_2^- par le dioxygène dissout comme indiqué figure 1, en solution aqueuse aérobie (c'est-à-dire exposée à l'air) tamponnée à $\text{pH} = 7,4$. La réaction est supposée totale.

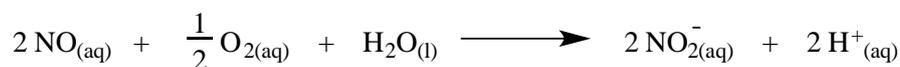


Figure 1 – Réaction d'oxydation de NO

On s'intéresse dans un premier temps à la vitesse initiale de cette réaction, notée v_0 , définie en début de réaction. Les concentrations des réactifs sont alors égales à leurs valeurs initiales. On supposera que la réaction admet dans ces conditions un ordre, appelé ordre initial.

Les tableaux ci-dessous donnent la vitesse initiale v_0 de la réaction d'oxydation de NO dans différentes conditions expérimentales :

- 1^{ère} série d'expériences : $[\text{O}_2]_0 = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$

$[\text{NO}]_0 \text{ (mol.L}^{-1}\text{)}$	$3,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-7}$
$v_0 \text{ (mol.L}^{-1}\text{.s}^{-1}\text{)}$	$1,35 \times 10^{-7}$	$1,50 \times 10^{-8}$	$1,35 \times 10^{-9}$	$1,50 \times 10^{-10}$	$1,35 \times 10^{-11}$

- 2^{ème} série d'expériences : $[\text{NO}]_0 = 3,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$

$[\text{O}_2]_0 \text{ (mol.L}^{-1}\text{)}$	$2,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-7}$
$v_0 \text{ (mol.L}^{-1}\text{.s}^{-1}\text{)}$	$1,22 \times 10^{-7}$	$6,10 \times 10^{-8}$	$1,22 \times 10^{-8}$	$6,10 \times 10^{-9}$	$1,22 \times 10^{-9}$

12. En vous aidant de ces deux séries d'expériences, donner, en la justifiant, l'expression de v_0 en fonction de $[\text{NO}]_0$, $[\text{O}_2]_0$ et d'une constante de vitesse k .

13. Déterminer une valeur approchée de k et préciser son unité.

On suppose à présent que la loi de vitesse initiale est également valable à tout instant $t > 0$ de la réaction.

14. On se place pour cette question dans des conditions où la concentration en O_2 est constante. Exprimer le temps de demi-réaction $t_{1/2}$ en fonction de k et des concentrations initiales $[NO]_0$ et $[O_2]_0$. On démontrera le résultat. Calculer $t_{1/2}$ pour $[NO]_0 = 3,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ et $[O_2]_0 = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

On s'intéresse maintenant à la formation du dimère N_2O_4 à partir de NO , pour laquelle on propose le mécanisme décrit figure 2. Les deux étapes sont des actes élémentaires.

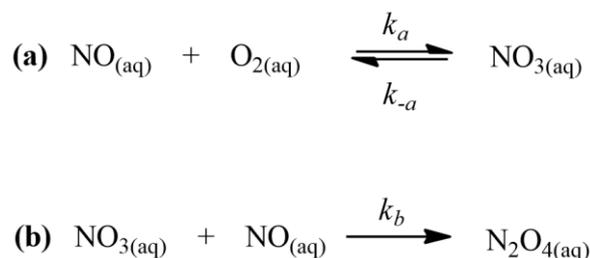


Figure 2 – Mécanisme de formation de N_2O_4

L'étape **(a)** est un pré-équilibre rapide. L'étape **(b)** est l'étape cinétiquement déterminante.

15. Exprimer la vitesse de formation de N_2O_4 en fonction de k_b , $[NO]$ et $[NO_3]$.

16. Montrer que la vitesse de formation de N_2O_4 peut s'écrire $v = \gamma \cdot [NO]^\alpha \cdot [O_2]^\beta$. Donner les valeurs de α et β et expliciter γ .

17. On réalise l'oxydation de NO dans l'eau au moyen du dioxygène de l'air. La solubilité du dioxygène dans l'eau est la suivante :

Température / °C	0	5	15	25	60
Solubilité / mg.L ⁻¹	14,6	12,8	10,1	8,28	4,59

Discuter l'effet de la température sur la vitesse de la réaction.

Partie B/ Formation de NO *in vivo*

La biosynthèse de NO doit être extrêmement bien régulée pour que l'organisme contrôle l'équilibre entre les fonctions physiologiques de NO et la toxicité des espèces dérivées de NO. *In vivo*, NO est produit par transformation de la L-arginine (Arg) en L-citrulline (Cit) par l'intermédiaire de la N-hydroxy-L-arginine (ArgOH) (figure 3).

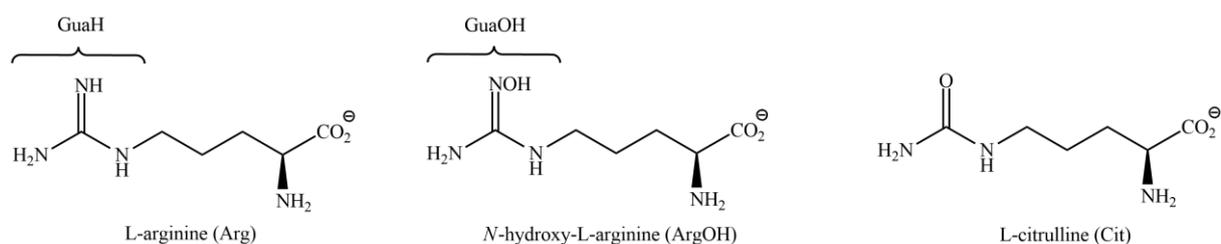


Figure 3 – Structures des molécules intervenant dans la biosynthèse de NO, sous leurs formes les plus basiques

Chaque réaction de cette transformation, catalysée par les NO synthases (*NOS*), consomme du dioxygène et utilise du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (noté NADPH) et de la tétrahydrobioptérine (notée H₄Bio) comme cofacteurs enzymatiques (figure 4).

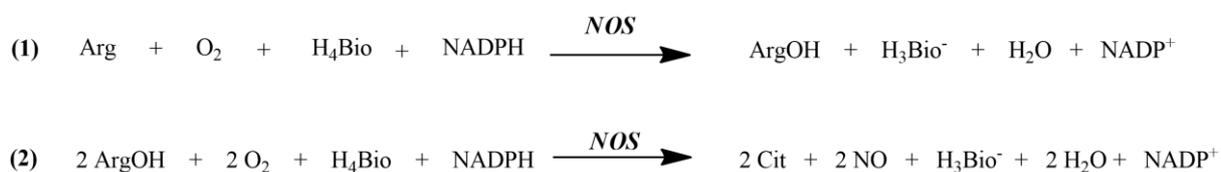
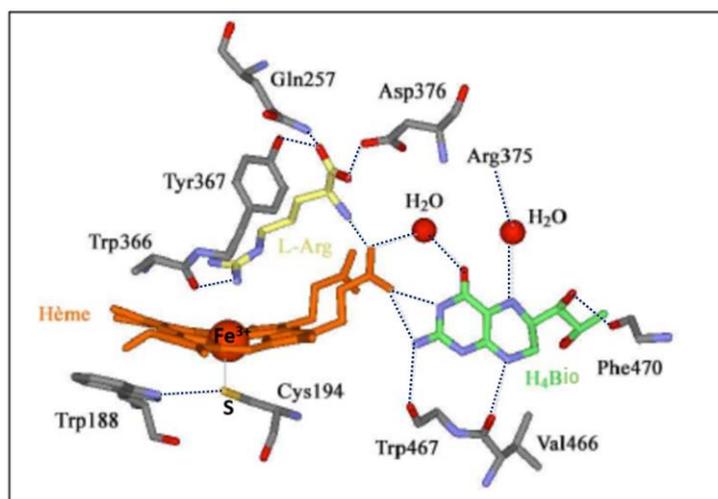


Figure 4 – Biosynthèse de NO catalysée par les NOS

1/ Activation de la NO-synthase

On s'intéresse tout d'abord à la première étape du mécanisme de formation de NO catalysée par la NO-synthase, qui consiste en la N-hydroxylation d'Arg en ArgOH dans le domaine catalytique de l'enzyme NOS en présence de deux cofacteurs : un hème et la tétrahydrobioptérine H₄Bio (réaction (1) de la figure 4). On représente la structure du site actif de l'enzyme avec les acides aminés impliqués (numérotés), en présence de la L-arginine et des cofacteurs hème (complexe de Fer(III) avec le ligand protoporphyrine) et H₄Bio (figure 5).

A/



B/

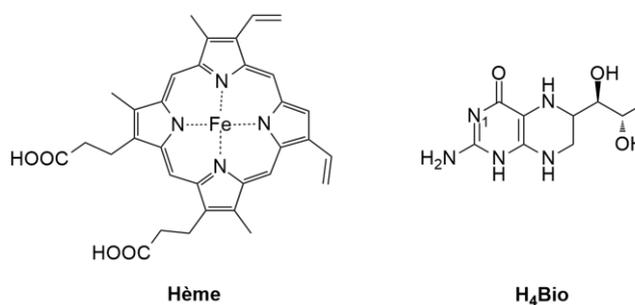


Figure 5 – A/ Site actif de NOS en présence de l'hème, de Arg et de H₄Bio. On précise que les hydrogènes ne sont pas représentés. Les atomes de soufre et de fer sont indiqués et les molécules d'eau sont représentées par des boules. Les liaisons hydrogènes sont représentées par des traits en pointillés et la liaison de coordination entre le soufre et le fer(III) est représentée en trait plein. B/ Structures chimiques des cofacteurs hème et H₄Bio.

18. Représenter l'hème et la L-arginine dans leur état de protonation à pH physiologique (pH=7,4). On précise que l'état de protonation des azotes dans le site de coordination de l'hème n'est pas modifié par rapport à la figure 5B.

19. Rappeler les conditions nécessaires à l'établissement d'une liaison hydrogène. Donner l'ordre de grandeur de l'énergie mise en jeu pour une telle liaison.

20. Décrire les différentes interactions impliquant l'hème au sein du site actif de l'enzyme en présence des cofacteurs H₄Bio et L-arginine (10 lignes maximum).

21. Initialement, le fer est au degré d'oxydation +III dans le site actif. Donner la configuration électronique de l'ion Fe³⁺ isolé à l'état fondamental.

2/ Oxydation à deux électrons de L-Arg en ArgOH

Tous les acteurs nécessaires à la synthèse de NO par les NOS sont convenablement positionnés dans le site actif de l'enzyme. L'oxydation à deux électrons de Arg en ArgOH va se dérouler en présence de NADPH et de dioxygène (réaction (1) de la figure 4). Le texte ci-dessous décrit les différentes étapes du cycle catalytique :

Étape 1 : État de coordination du fer et déclenchement de la réaction

Structurellement, le fer compte 5 ligands : les 4 atomes d'azote de la porphyrine et l'atome de soufre de la cystéine proximale. À l'état natif, le fer de l'hème est au degré d'oxydation (+III) et présente un équilibre entre la forme coordonnée à 5 sites (forme α) et la forme coordonnée à 6 sites (forme β) qui comporte une molécule d'eau comme sixième ligand. L'équilibre entre les formes α et β est déplacé en présence de H₄Bio et de la L-arginine qui favorisent la forme α . La transition de la forme β vers la forme α entraîne une augmentation du potentiel d'oxydoréduction de l'hème d'environ 100 mV. Il devient alors suffisamment oxydant pour recevoir un électron et passer à l'état d'oxydation Fe(II).

Étape 2 : Activation du dioxygène

L'affinité du dioxygène étant beaucoup plus forte pour Fe(II) que pour Fe(III), une fois le fer réduit à l'état Fe(II), une molécule de dioxygène (O₂) peut venir se fixer à l'hème. On observe la formation du complexe Fe(II)-O-O qui est équivalent au complexe Fe(III)-O-O[•]. Pour poursuivre le cycle catalytique, le complexe Fe(III)-O-O[•] doit recevoir un électron supplémentaire. C'est le cofacteur H₄Bio qui sert de source d'électron auxiliaire capable de réduire le complexe Fe(III)-O-O[•]. Le cofacteur H₄Bio réalise la réduction du complexe Fe(III)-O-O[•] en complexe hème peroxy Fe(III)-O-O⁻ et s'oxyde en radical H₄Bio^{•+} par transfert monoélectronique.

Étape 3 : Formation de l'espèce oxydante et mono-hydroxylation de L-Arg

Le mécanisme de mono-hydroxylation se poursuit par la protonation du complexe peroxy Fe(III)-O-O⁻. Le complexe hydroperoxy Fe(III)-O-OH formé reçoit un deuxième proton, ce qui conduit à la formation d'un complexe Fe(III)-O-OH₂⁺ qui, par rupture hétérolytique de la liaison O-O, perd une molécule d'eau et forme le complexe hème-perferryle (hème(π +•)-Fe(IV)=O), où hème(π +•) désigne une forme oxydée du ligand hème. C'est le complexe hème-perferryle qui réalise l'hydroxylation du groupe guanidinium de l'arginine pour former l'hydroxy-arginine. Le complexe hème(π +•)-Fe(IV)=O réalise une attaque radicalaire sur un atome d'hydrogène du groupe guanidinium et devient hème-Fe(IV)-OH, puis la fonction hydroxyle formée se rattache à l'atome d'azote qui a perdu H[•]. Le fer est ainsi régénéré sous sa forme Fe(III).

Étape 4 : Régénération du cofacteur H₄Bio

Quelle que soit l'espèce oxydante qui intervient dans l'oxydation de L-Arg en ArgOH, l'enzyme doit encore régénérer le cofacteur H₄Bio qui avait fourni le deuxième électron lors de l'activation du dioxygène pour pouvoir poursuivre le cycle catalytique. L'électron nécessaire à la réduction de H₄Bio^{•+} en H₄Bio est fourni par la NOS.

On considère que les complexes à 6 ligands ont une géométrie octaédrique avec le fer comme atome central et que les complexes à 5 ligands ont une géométrie pyramidale à base carrée. Les géométries des complexes de métaux de transition sont présentées en annexe 2.

22. Donner le nombre de sites auxquels le fer est coordonné dans le complexe réduit de Fe(II) obtenu à l'issue de l'étape 1 du cycle catalytique.

23. Ecrire l'équation de la réaction d'oxydo-réduction mise en jeu entre le cofacteur H₄Bio et le complexe Fe(III)-O-O[•] lors de l'étape 2 du cycle catalytique. Représenter le complexe hème-peroxy en simplifiant la représentation du ligand porphyrine comme indiqué figure 6.

24. Proposer un mécanisme pour l'hydroxylation du groupe GuaH₂⁺ de la L-arginine en GuaOH₂⁺ par le complexe hème-perferryle intervenant lors de l'étape 3 du cycle catalytique. On utilisera la représentation simplifiée de la figure 6.

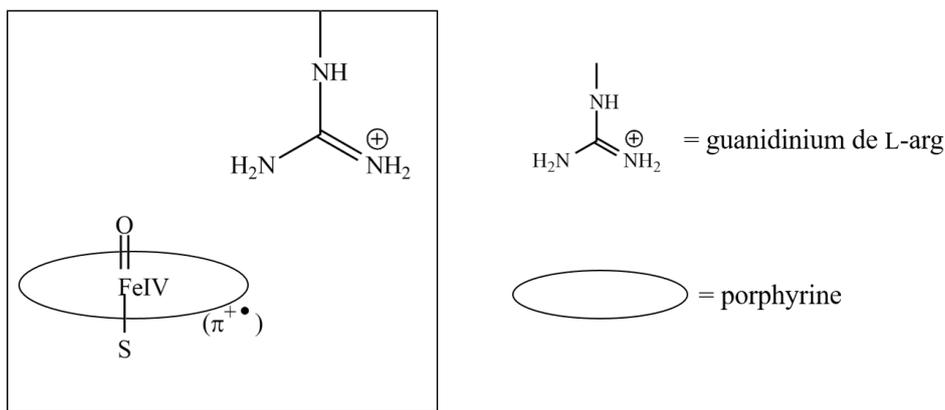


Figure 6 – Approche du motif guanidinium de la L-arginine vers le complexe hème-perferryle

3/ Étude chimique du cofacteur H_4Bio

On donne la structure de la molécule de cofacteur H_4Bio (figure 7) :

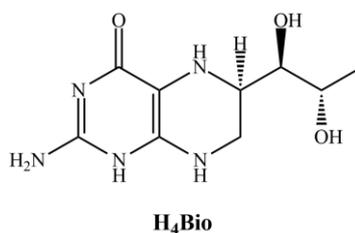


Figure 7 – Structure chimique de H_4Bio

25. Identifier les atomes de carbone asymétriques de H_4Bio . Préciser leurs configurations absolues, en les justifiant. Donner le nombre de stéréoisomères de configuration de la molécule H_4Bio .

La voie de synthèse privilégiée pour préparer la tétrahydrobioptérine H_4Bio utilise un sucre, le L-(+)-rhamnose (**1**), comme molécule de départ (figure 8). On étudie ici une partie de cette synthèse.

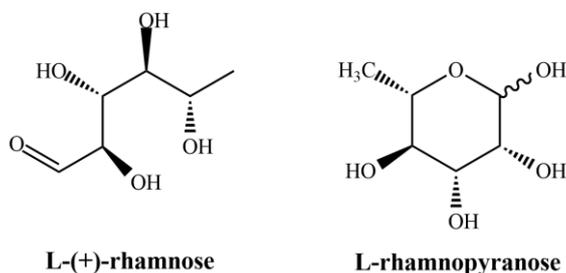


Figure 8 – Structures chimiques du L-(+)-rhamnose (**1**) et du L-rhamnopyranose

On précise que la liaison « en zigzag » n'a pas d'orientation particulière

26. Expliquer la signification des préfixes L et (+) dans L-(+)-rhamnose.

27. L'hémicétylation intramoléculaire du L-rhamnose conduit au L-rhamnopyranose dont la structure est représentée figure 8. Écrire le mécanisme de cette réaction en milieu acide. Donner le nombre de stéréoisomères de configuration obtenus et leur(s) relation(s).

28. En s'appuyant sur des considérations thermodynamiques (enthalpie libre, enthalpie, entropie), montrer que la réaction d'hémiacétalisation intramoléculaire est favorisée par rapport à la réaction intermoléculaire impliquant deux molécules de L-(+)-rhamnose.

Après quelques étapes, le L-(+)-rhamnose protégé **2** est transformé en composé **3** (figure 9). On précise que Bn correspond au groupement benzyl ($-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), groupement protecteur des fonctions alcool.

29. Proposer une voie de synthèse multi-étapes permettant d'obtenir **3** à partir de **2**. On précisera pour chaque étape la nature des réactifs et la structure des produits obtenus. Les mécanismes ne sont pas demandés.

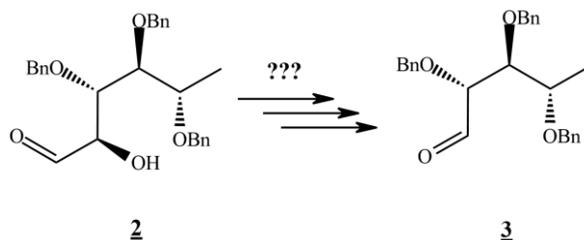


Figure 9 – Transformation du L-(+)-rhamnose protégé en **3**

On obtient **4** après déprotection des fonctions alcool de **3**. Le composé **4** réagit ensuite avec la phénylhydrazine, en milieu acide, pour donner le composé **5** (figure 10).

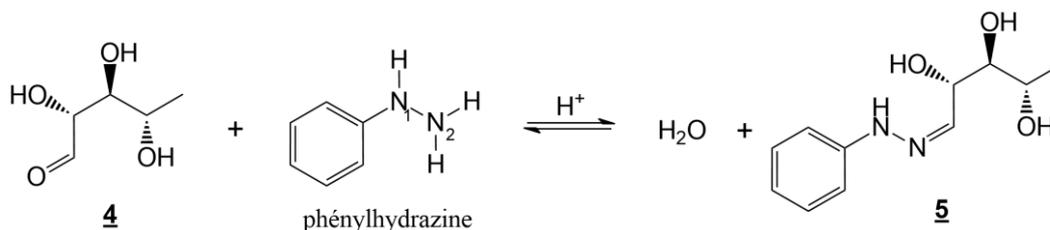


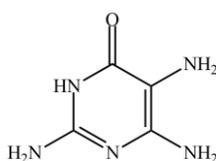
Figure 10 – Réaction du composé **4** avec la phénylhydrazine, en milieu acide

30. Identifier l'atome d'azote le plus nucléophile de la phénylhydrazine. On justifiera sa réponse par deux arguments.

31. En s'appuyant sur la réponse à la question précédente et sur l'équation de réaction donnée à la figure 10, proposer un mécanisme pour la transformation de **4** en **5**.

32. Le composé **5** réagit avec trois équivalents d'anhydride éthanoïque pour donner le composé **6**. Écrire le mécanisme de la réaction pour un équivalent et donner la structure du composé **6**.

On obtient ensuite le squelette bicyclique de H_4Bio en faisant réagir le composé **6** avec le réactif **7** (figure 11) :



7
Figure 11

33. En s'appuyant sur la structure de H₄Bio donnée à la figure 7, identifier les atomes d'azote du réactif **7** impliqués dans sa réaction avec **6**. Pour chacun de ces atomes, préciser le type de réaction mis en jeu (addition nucléophile, addition électrophile, substitution nucléophile, élimination).

Quelques étapes sont encore nécessaires pour obtenir H₄Bio.

4/ Mesure de l'activité enzymatique de la NO-synthase (NOS)

Une des méthodes pour évaluer l'activité de l'enzyme NO-synthase consiste à déterminer la concentration en NO₂⁻ résultant de la décomposition du NO formé par l'enzyme. Le NO formé au cours du cycle catalytique peut en effet réagir totalement avec le dioxygène dissout dans le milieu et s'oxyder en NO₂⁻ (voir la partie A3). La détection de ces ions s'effectue par le test colorimétrique de Griess présenté figure 12, dans lequel les deux réactions **(3)** et **(4)** sont quantitatives.

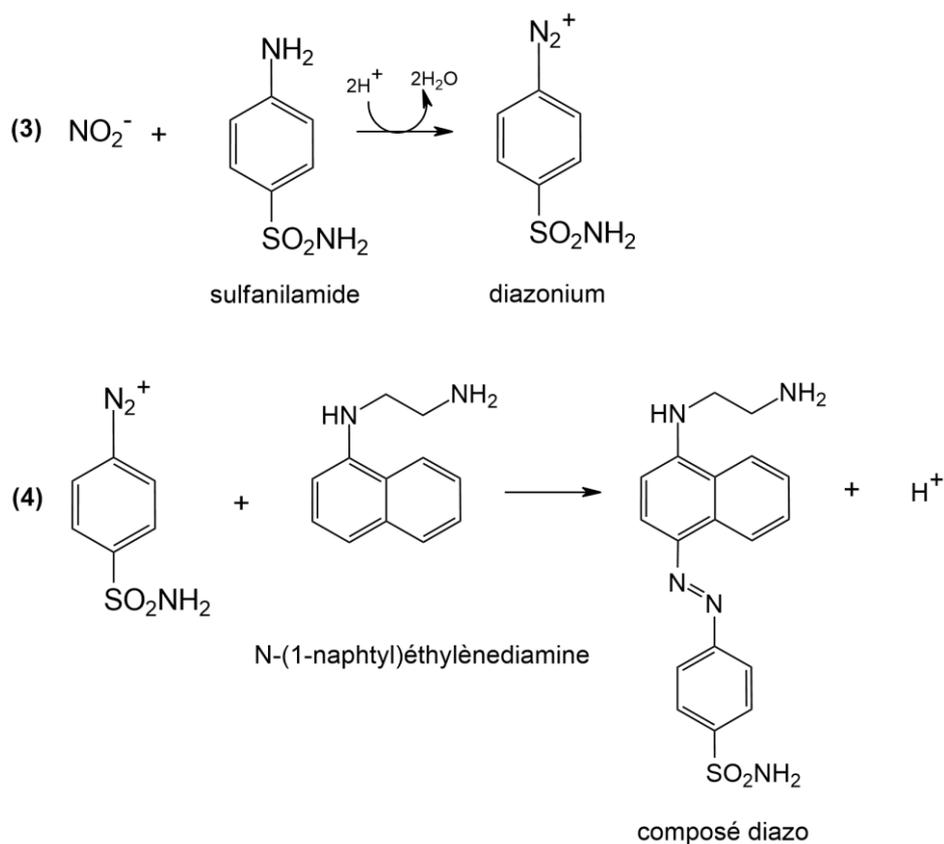


Figure 12 – Réactions chimiques intervenant dans le test colorimétrique de Griess

On s'intéresse pour commencer à la réaction **(3)**, que l'on peut réécrire sous forme simplifiée de la manière suivante (figure 13) :

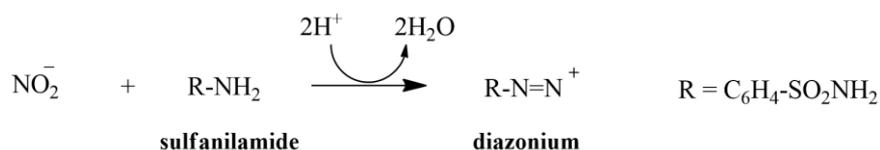


Figure 13 - Ecriture simplifiée de la réaction **(3)**

34. La première étape du mécanisme de la réaction (3) conduit à la formation de l'espèce NO^+ par réaction entre l'ion nitrite NO_2^- et deux équivalents d'ions H_3O^+ . Écrire l'équation de réaction correspondante.

35. L'étape suivante du mécanisme de la réaction (3) conduit à l'intermédiaire $\text{R-NH}_2^+-\text{N}=\text{O}$, par réaction entre le sulfanilamide et NO^+ . Le sulfanilamide joue-t-il le rôle d'un nucléophile ou d'un électrophile lors de cette étape ? Justifier.

36. L'ion diazonium est obtenu à partir de l'intermédiaire $\text{R-NH}_2^+-\text{N}=\text{O}$ de la question précédente, par élimination d'une molécule d'eau. Proposer un mécanisme. On fera notamment intervenir des échanges de protons.

37. La réaction (3) peut être suivie par résonance magnétique du proton (RMN ^1H). Le spectre de RMN ^1H présenté figure 14 correspond-il au spectre du sulfanilamide ou de l'ion diazonium ? Justifier. On pourra s'aider de la table de déplacements chimiques donnée en annexe 3.

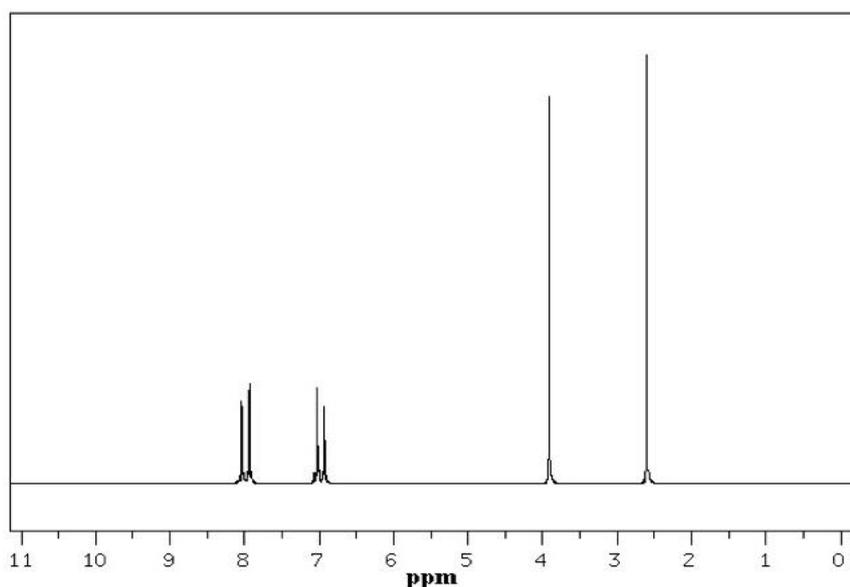


Figure 14 – Spectre RMN ^1H du réactif ou du produit de la réaction (3)

38. On s'intéresse maintenant à la réaction (4) (figure 12). Sachant que le *N*-(1-naphtyl)éthylènediamine joue le rôle d'un nucléophile et l'ion diazonium celui d'un électrophile, proposer une forme mésomère du *N*-(1-naphtyl)éthylènediamine expliquant la régiosélectivité observée.

Comme son nom l'indique, le test colorimétrique de Griess produit un composé coloré qui peut être dosé par spectroscopie d'absorption UV-visible. Le dosage est effectué dans les conditions optimisées de la méthode de Griess, à $\text{pH} = 1,7$ et en solution aqueuse.

39. On donne le spectre d'absorption d'une solution aqueuse à $5,0 \mu\text{mol.L}^{-1}$ du composé diazo (figure 15). Donner la couleur de cette solution en s'aidant du cercle chromatique fourni en annexe 4.

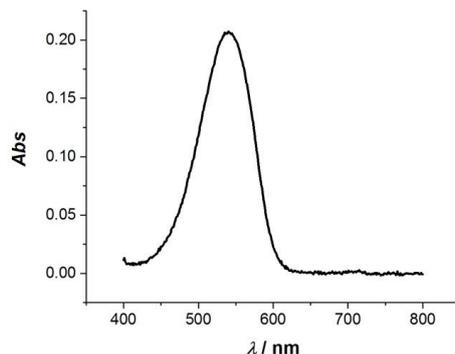


Figure 15 – Spectre d'absorption UV-visible de la solution aqueuse du composé diazo à $5,0 \mu\text{mol.L}^{-1}$ (cuve de longueur 1,0 cm)

40. Énoncer la loi de Beer-Lambert, en donnant le nom et l'unité de chaque terme. Préciser les conditions de validité de cette loi.

41. En utilisant la figure 15, déterminer la valeur approximative du coefficient d'absorption molaire, noté $\epsilon_{\lambda_{\text{max}}}$, du composé diazo à sa longueur d'onde maximale d'absorption. Mentionner au moins deux facteurs influençant ce coefficient.

42. On donne à la figure 16 les spectres d'absorption des cuves disponibles au laboratoire. Indiquer laquelle (lesquelles) peut (peuvent) être utilisée(s) pour réaliser le dosage dans les conditions décrites ci-dessus. On justifiera sa réponse.

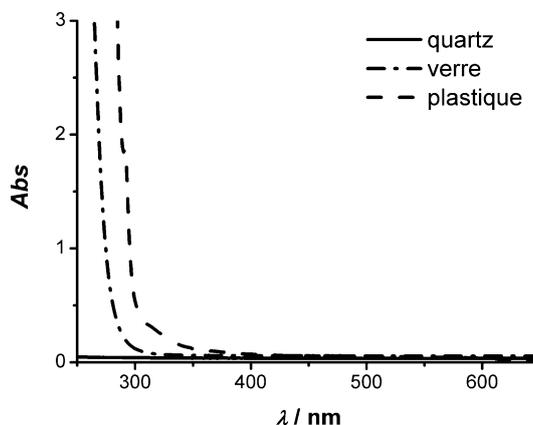


Figure 16 – Spectres d'absorption des cuves disponibles au laboratoire

5/ Étude chimique de la L-arginine et de l'un de ses analogues

La découverte des pathologies liées à un dérèglement de l'activité NO-synthase constitue le point de départ de nombreuses études dont le but est de trouver de nouveaux substrats efficaces et des inhibiteurs spécifiques des NOS. Il est donc important d'étudier précisément les interactions entre le substrat naturel L-Arg et des analogues de ce substrat au sein du site actif de NOS. Pour cela, on s'intéresse particulièrement à l'extrémité guanidinium (GuaH) de ces substrats et donc au pK_A de cette fonction afin de connaître précisément l'état de protonation des analogues en conditions physiologiques. Le pK_A de l'extrémité guanidinium varie en effet de manière significative avec la structure de l'analogue.

43. Donner le diagramme de prédominance des espèces de la L-arginine en fonction du pH, en précisant les structures des différentes espèces.

44. Établir l'expression du pH d'une solution aqueuse de L-arginine (sous sa forme zwitterionique, c'est-à-dire globalement neutre) à $c_0 = 0,10 \text{ mol.L}^{-1}$. Calculer sa valeur.

Considérons maintenant l'un des analogues synthétiques de la L-arginine, que l'on notera **A** (figure 17) :

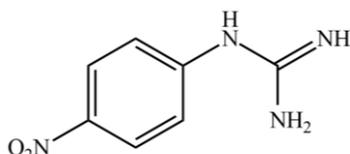


Figure 17 – Analogue synthétique de la L-arginine, **A**

À l'issue de sa synthèse, **A** se présente sous la forme d'une solution de AH^+Cl^- dans l'acide chlorhydrique. On procède au titrage de 10,0 mL de ce mélange par de la soude (NaOH) à $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. Le $\text{p}K_A$ du couple AH^+/A est déterminé grâce au suivi du pH et de la conductivité lors de ce titrage. Les résultats sont présentés à la figure 18 :

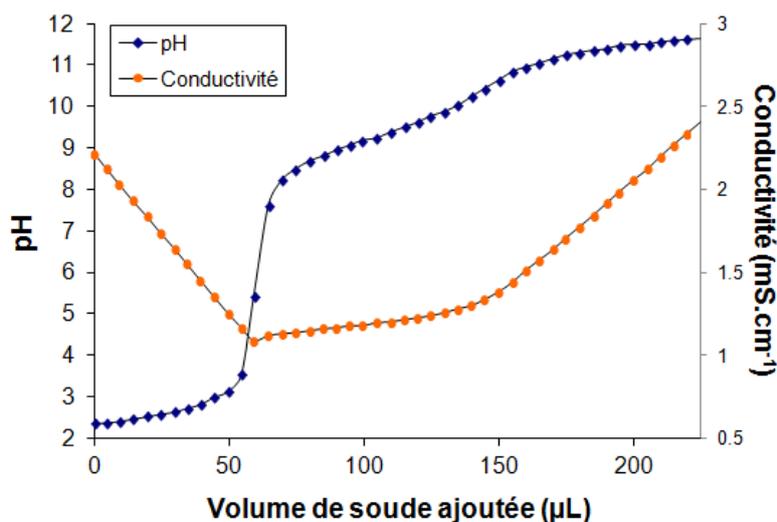


Figure 18 – Suivi pH-métrique et conductimétrique du titrage de la solution de AH^+Cl^- dans l'acide chlorhydrique par la soude NaOH

45. À quelle condition peut-on suivre un titrage par conductimétrie ?

46. Écrire les équations des réactions de titrage.

47. Pourquoi le suivi pH-métrique n'est-il pas suffisant pour déterminer précisément le $\text{p}K_A$ du couple AH^+/A ?

48. Pour chaque zone du titrage, expliquer qualitativement l'évolution de la conductivité. Indiquer les réactions mises en jeu, les espèces présentes et exprimer la conductivité en fonction des concentrations de ces espèces. On précise que les valeurs des conductivités molaires ioniques limites sont telles que : $\lambda^0(\text{AH}^+) < \lambda^0(\text{Na}^+) < \lambda^0(\text{OH}^-) < \lambda^0(\text{H}_3\text{O}^+)$.

49. Déterminer la valeur du pK_A du couple AH^+/A en utilisant les courbes de la figure 18. On justifiera soigneusement sa réponse.

Partie C/ NO : effet vasodilatateur, intoxication

Dans cette partie, on s'intéresse à deux phénomènes biologiques impliquant NO : son effet comme agent vasodilatateur et le mécanisme d'intoxication au NO.

1/ Effet vasodilatateur

Lors de l'augmentation du flux sanguin, la production de NO est activée. Ce dernier diffuse au travers des parois cellulaires et interagit avec une enzyme appelée guanylate cyclase soluble (GCs) qui possède un ion Fe(II) complexé avec un ligand hème et le résidu imidazole ImH d'une histidine. Le phénomène de vasodilatation est alors induit par la transformation enzymatique de la GTP (guanosine triphosphate) en GMPc (guanosine monophosphate cyclique) selon la réaction (5) de la figure 19. Cette transformation s'accompagne de la libération d'une molécule de pyrophosphate inorganique (PPi).

2/ Thermodynamique de l'intoxication au NO

Un phénomène d'intoxication au monoxyde d'azote est observé par échange du dioxygène O₂ de l'hémoglobine Hb par le monoxyde d'azote NO selon la réaction (7) (figure 21). L'apport en dioxygène est restreint et peut alors entraîner de graves troubles physiologiques.

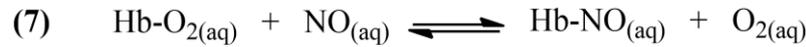


Figure 21

Le seuil d'intoxication au monoxyde d'azote est atteint, à 300 K, lorsque $\frac{[\text{Hb-NO}]}{[\text{Hb-O}_2]} = 7 \times 10^{-2}$.

On donne à 300 K :



52. Calculer l'enthalpie libre standard $\Delta_r G_7^\circ$ de la réaction (7) et la valeur approchée de sa constante d'équilibre K_7° .

53. Calculer la valeur du rapport minimum [O₂]/[NO] permettant la désintoxication au monoxyde d'azote.

La constante d'équilibre a été mesurée en fonction de la température :

T(°C)	15	27	35
K_7°	$1,9 \times 10^4$		$2,5 \times 10^4$

54. Expliquer la variation observée en précisant le caractère endo- ou exothermique de la réaction dans le sens de l'intoxication au NO.

55. Donner la relation entre la constante d'équilibre standard K° et la température, dans le cadre de l'approximation d'Ellingham que l'on rappellera. En déduire une méthode graphique pour déterminer la constante thermodynamique K_7° à 27 °C.

Fin de l'épreuve

ANNEXES

Annexe 1 : Tableau périodique des éléments

1 H 1,008																	2 He 4,003
3 Li 6,94	4 Be 9,01											5 B 10,81	6 C 12,01	7 N 14,01	8 O 16,00	9 F 19,00	10 Ne 20,18
11 Na 22,99	12 Mg 24,30	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13 Al 26,98	14 Si 28,09	15 P 30,97	16 S 32,06	17 Cl 35,45	18 Ar 39,95
19 K 39,10	20 Ca 40,08	21 Sc 44,96	22 Ti 47,87	23 V 50,94	24 Cr 52,00	25 Mn 54,94	26 Fe 55,85	27 Co 58,93	28 Ni 58,69	29 Cu 63,55	30 Zn 65,38	31 Ga 69,72	32 Ge 72,63	33 As 74,92	34 Se 78,97	35 Br 79,90	36 Kr 83,80
37 Rb 85,47	38 Sr 87,62	39 Y 88,91	40 Zr 91,22	41 Nb 92,91	42 Mo 95,95	43 Tc -	44 Ru 101,1	45 Rh 102,9	46 Pd 106,4	47 Ag 107,9	48 Cd 112,4	49 In 114,8	50 Sn 118,7	51 Sb 121,8	52 Te 127,6	53 I 126,9	54 Xe 131,3
55 Cs 132,9	56 Ba 137,3	57-71	72 Hf 178,5	73 Ta 180,9	74 W 183,8	75 Re 186,2	76 Os 190,2	77 Ir 192,2	78 Pt 195,1	79 Au 197,0	80 Hg 200,6	81 Tl 204,4	82 Pb 207,2	83 Bi 209,0	84 Po -	85 At -	86 Rn -
87 Fr -	88 Ra -	89-103	104 Rf -	105 Db -	106 Sg -	107 Bh -	108 Hs -	109 Mt -	110 Ds -	111 Rg -	112 Cn -	113 Nh -	114 Fl -	115 Mc -	116 Lv -	117 Ts -	118 Og -

a X b	57 La 138,9	58 Ce 140,1	59 Pr 140,9	60 Nd 144,2	61 Pm -	62 Sm 150,4	63 Eu 152,0	64 Gd 157,3	65 Tb 158,9	66 Dy 162,5	67 Ho 164,9	68 Er 167,3	69 Tm 168,9	70 Yb 173,0	71 Lu 175,0
	89 Ac -	90 Th 232,0	91 Pa 231,0	92 U 238,0	93 Np -	94 Pu -	95 Am -	96 Cm -	97 Bk -	98 Cf -	99 Es -	100 Fm -	101 Md -	102 No -	103 Lr -

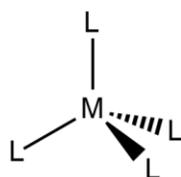
a : numéro atomique

b : masse molaire ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)

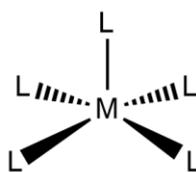
X : atome

Annexe 2 : Structures des complexes de métaux de transition

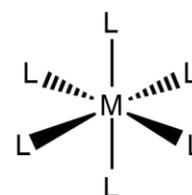
Structure tétraédrique



Structure pyramidale
base carrée



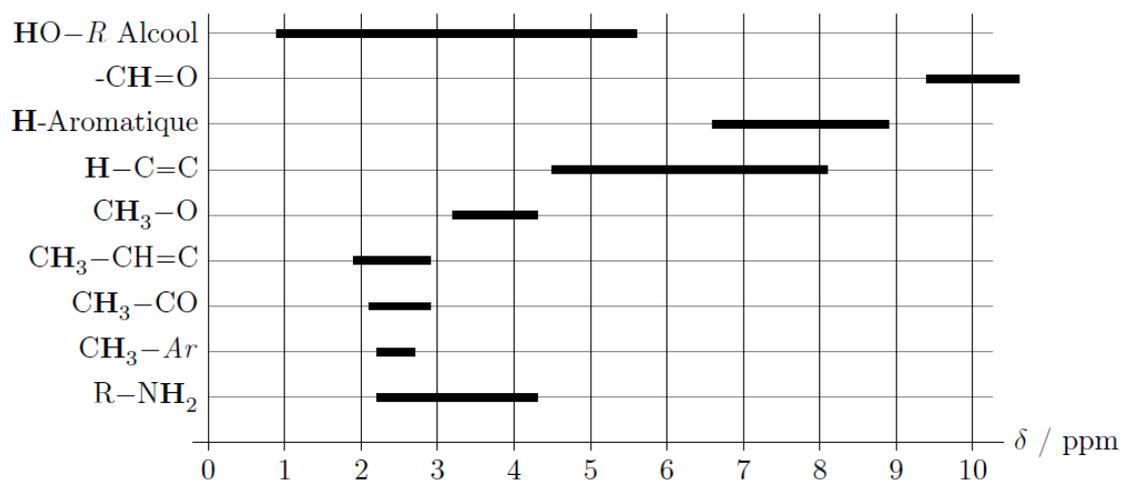
Structure octaédrique



M = métal

L = ligand

Annexe 3 : Table de déplacements chimiques caractéristiques pour la RMN du proton



Annexe 4 : Cercle chromatique

