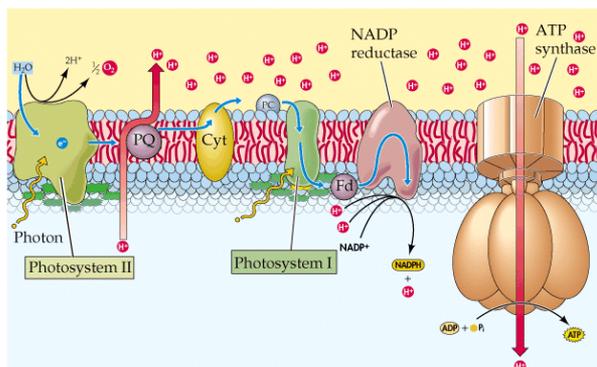


# Chimie Inorganique Avancée

## CMI - 2<sup>ème</sup> année : les bases de la Chimie Inorganique

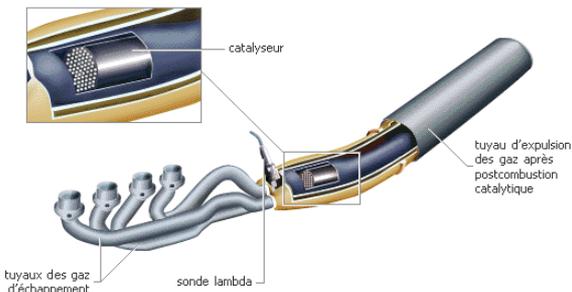
- métaux de transition, complexes, chimie organométallique
- réactivité, synthèses (substitutions, chimie douce)
- propriétés optiques (couleur, luminescence), iono-électroniques (semiconducteurs, photo), ...

## CIA - 3<sup>ème</sup> année : Sujets d'avant-garde : catalyses



- **Biocatalyse et Bioinorganique :**  
Catalyse acide, redox,  
Photosynthèse  
Éléments de catalyse enzymatique

6h, SN



- **Catalyse Industrielle :**  
homogène vs hétérogène  
procédés, développements  
cinétique, mécanismes, ...

6h, CSZ

# Philosophy

Process



Chemistry (catalyst)

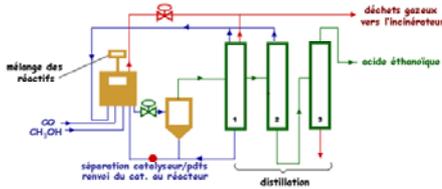


Mechanism

## 2 - Homogeneous Catalysis

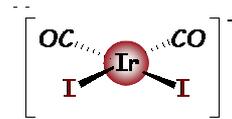
### Industrial

- Friedel-Crafts (acylations)
- Monsanto-Cativa (acetic acid)
- Ziegler-Natta, metallocenes (PE & PP)
- (-)-menthol (Takasago)



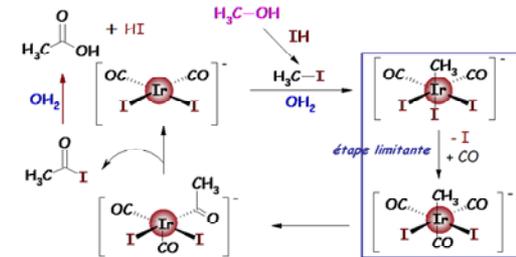
### Catalysts

Organometallics, Phosphines,  
Carbonyl metals, Metallocenes,  
Asymmetric Catalysts, ...



### Mechanisms/Kinetics

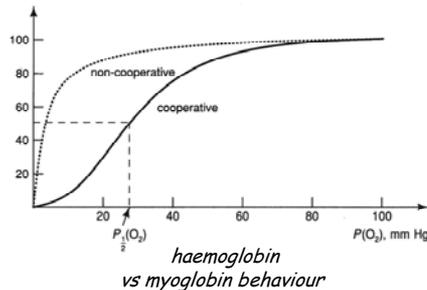
Oxidative Addition, Reductive  
Elimination, Insertion-Migration  
Rate laws



## 4 - Redox Biocatalysis

### Biological

- Electron transfer
- Photosynthesis
- Dioxygen management
- Dioxygen carriage & storage



### Metalloenzymes

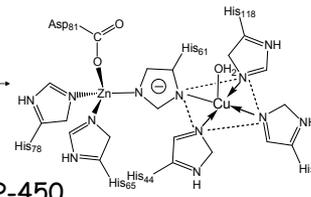
Cytochromes (Fe)  
Iron-Sulfur proteins  
Manganese clusters  
Plastocyanin (Cu)

Superoxide dismutase  
Catalase, Peroxidase

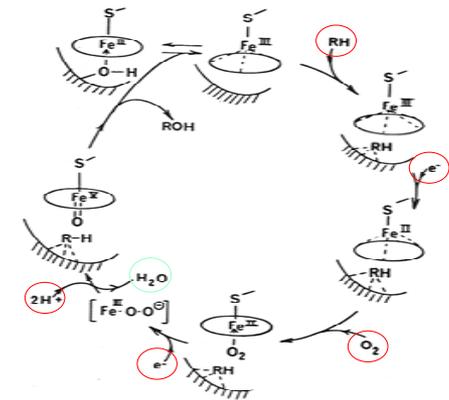
Oxygenases, Cytochrome P-450

Cobalamins (Co)

Haemoglobin, Haemocyanin, Haemerythrin



### Mechanisms/Models



Cyt P-450 proposed cycle

# Partie A- Biocatalyse

I - Métaux et ligands de la biosphère

II - Transport et stockage de l'oxygène

➤ *Hémoglobine*

III - Catalyse acide

➤ *Métalloenzymes*

➤ *Anhydrase carbonique, Carboxypeptidase*

IV - Catalyse redox, transfert d'électrons

IV.1 - Gestion de l'oxygène

➤ *Superoxyde dismutase, catalase, peroxydase*

➤ *Oxygénases, cytochrome P-450*

IV.2 - Autres centres redox

➤ *Vitamine B12, seule biomolécule organométallique*

➤ *Les centres redox de la photosynthèse*

*Chlorophylle*

*Clusters de Mn*

*Les protéines à Cu bleues*

*Protéines Fer-Soufre*

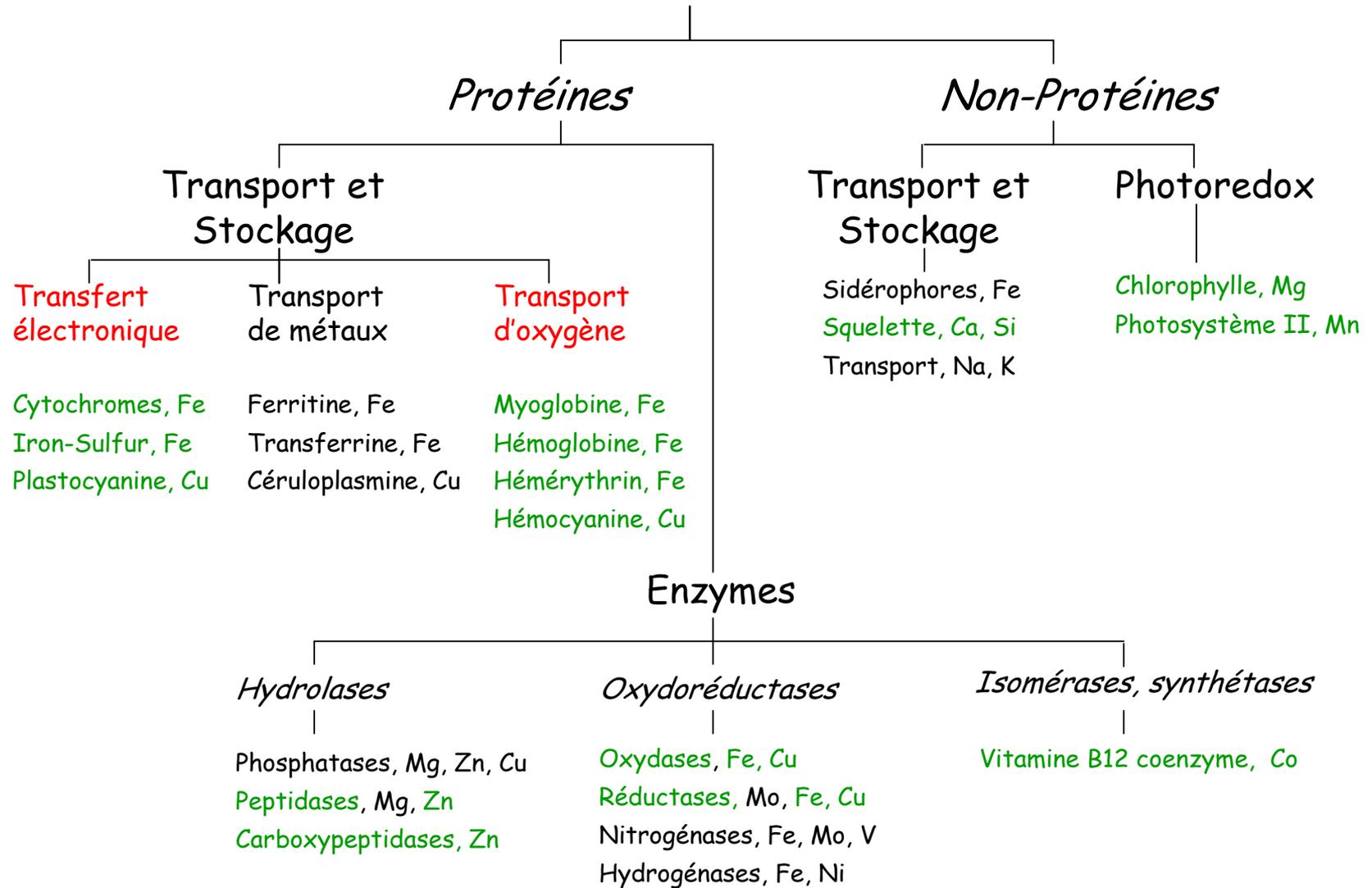
V - Catalyse enzymatique

➤ *Réactions biocatalysées*

➤ *Procédés industriels*

# I. Métaux et ligands de la biosphère

## Métallobiomolécules



# Métaux dans les systèmes biologiques

Complexes peu stables, diamagnétiques  
Chimie ionique

4 grandes catégories de  
fonctions biologiques

	Métal	g/75kg		
Groupes Ia, IIa	Na	100	}	
	K	170		
	Ca	1100	}	
	Mg	25		
Métaux de transition	V	15 $10^{-3}$	}	
	Cr	2 $10^{-3}$		
	Mn	1		
	Fe	4-5		}
	Mo	10 $10^{-3}$		
	Cu	100 $10^{-3}$		
	Zn	2-3		}
Co	1.2 $10^{-3}$			

1. Régulation de potentiel, maintien de la pression osmotique (équilibre hydrique)
2. Activation d'enzymes, stabilisation de la structure des protéines, calcification
3. Transfert électronique, catalyse redox, transport de l'oxygène
4. zinc promoteur de structuration et acide de Lewis : métalloenzymes à zinc

Composés de coordination, effet du champ de ligands, large gamme de degrés d'oxydation

## Abondants : Na, K, Mg, Ca

- Régulation (équilibre  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ )
- Certaines enzymes ne fonctionnent qu'en présence de cations  $\text{Mg}^{2+}$  ou  $\text{Ca}^{2+}$  (grande affinité pour les  $\text{CO}_2^-$ ) (ex : coagulation sanguine)
- Chlorophylle ( $\text{Mg}^{2+}$  photosynthèse)

## Traces : Fe, Cu, Zn

redox      acide de Lewis, pas de redox

### 1. Catalyse acide, enzymes à zinc

ex carboxypeptidase, anhydrase carbonique

### 2. Transport de $\text{O}_2$

hémoglobine, hémocyanine, hémérythrine

### 3. Transfert d'électrons, catalyse redox

protéines Fe-S, cytochromes de la chaîne de transfert, plastocyanine (Cu),  
détoxification (superoxyde dismutase, catalase, peroxydase), cyt P450

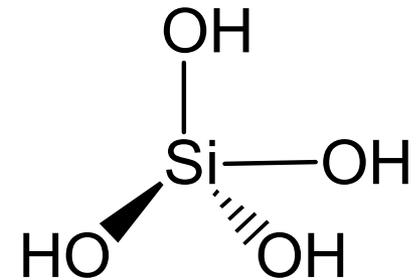
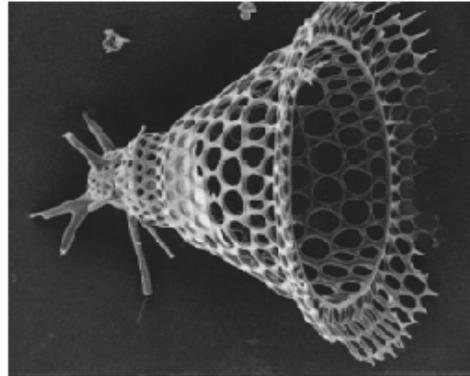
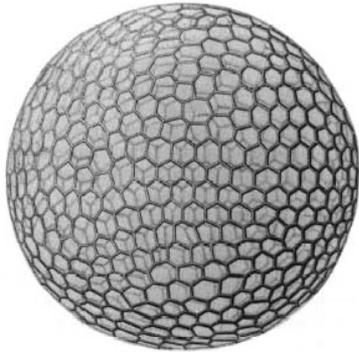
## Ultra-traces : Mn, Co

Exemples: Clusters de manganèse (photosynthèse)

Coenzyme B12 (cobalt)

# Rôle structural du Si et du Ca

Rappel de 2<sup>ème</sup> année : Silicium : Radiolaires



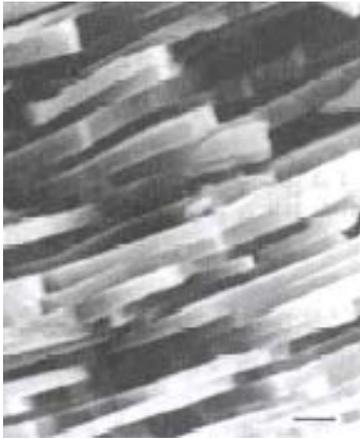
*Squelettes silicieux de radiolaires  
(plancton marin)*

Condensation de l'acide silicique :  $(\text{Si-OH} + \text{HO-Si} \rightarrow \text{Si-O-Si} + \text{H}_2\text{O})$

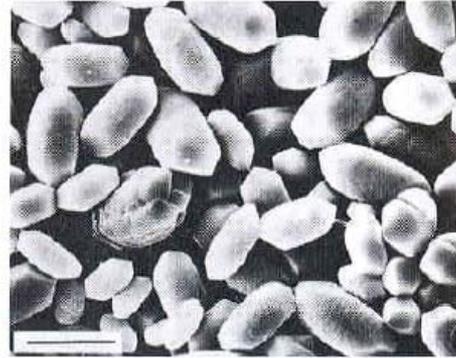


Les terres de diatomées sont utilisées dans l'industrie comme filtres chimiques pour purifier l'eau, comme matériau de polissage, comme insecticide, etc.

# Calcium : Carbonate $\text{CaCO}_3$

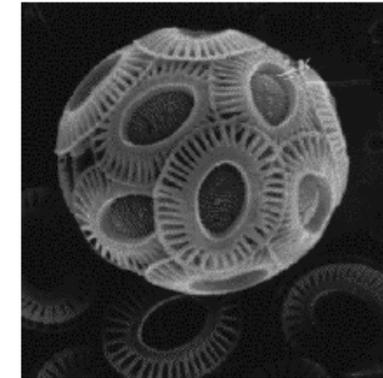


Nacre



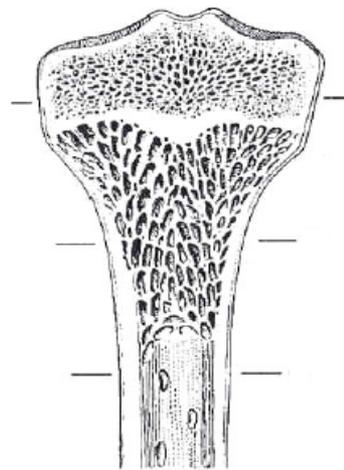
8  $\mu\text{m}$

Cristaux de calcite de l'oreille interne : détecteurs de gravité

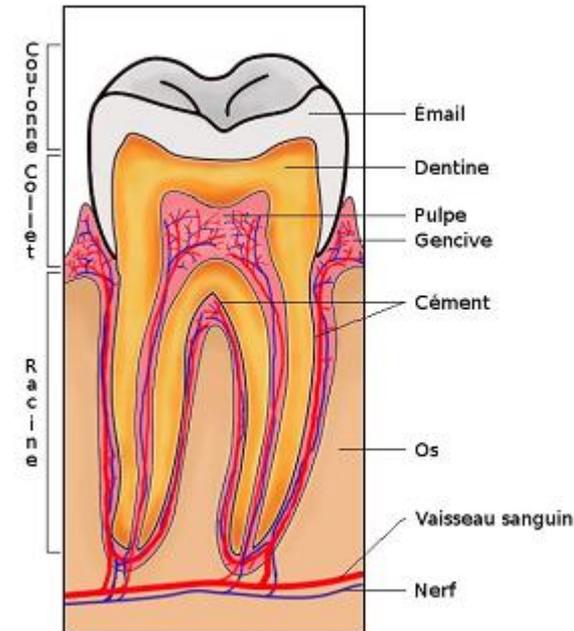


Coccolithe de calcite (phytoplancton)

# Calcium : Phosphates



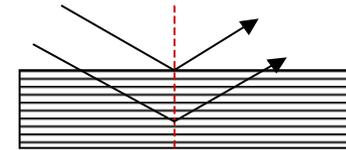
hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$   
Os : 65%, Dentine 70%



# La nacre, un matériau hybride

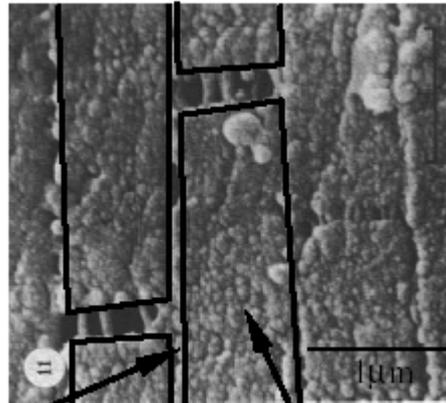
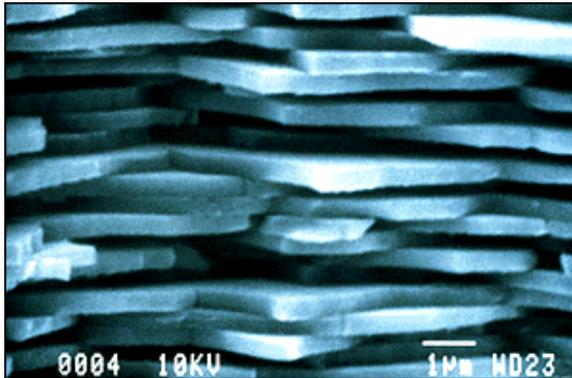


Diffusion cohérente de la lumière :

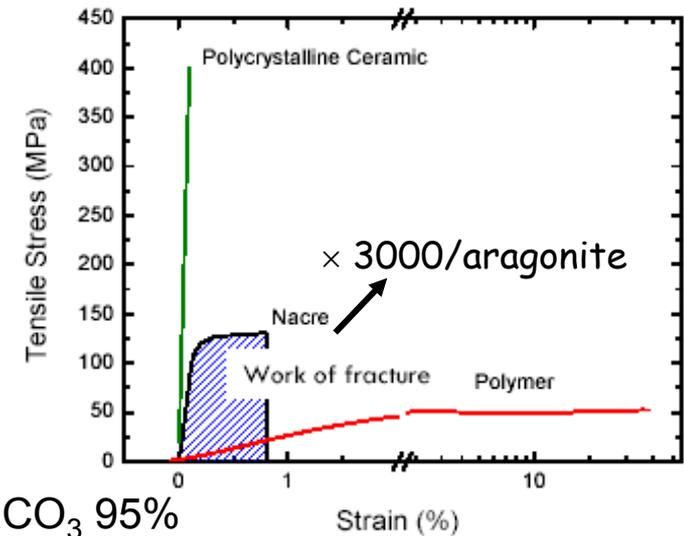


Période 0.3-0.5  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  irisation

C'est un composite lamellaire :



Couche organique (30 nm) Aragonite  $\text{CaCO}_3$  95%



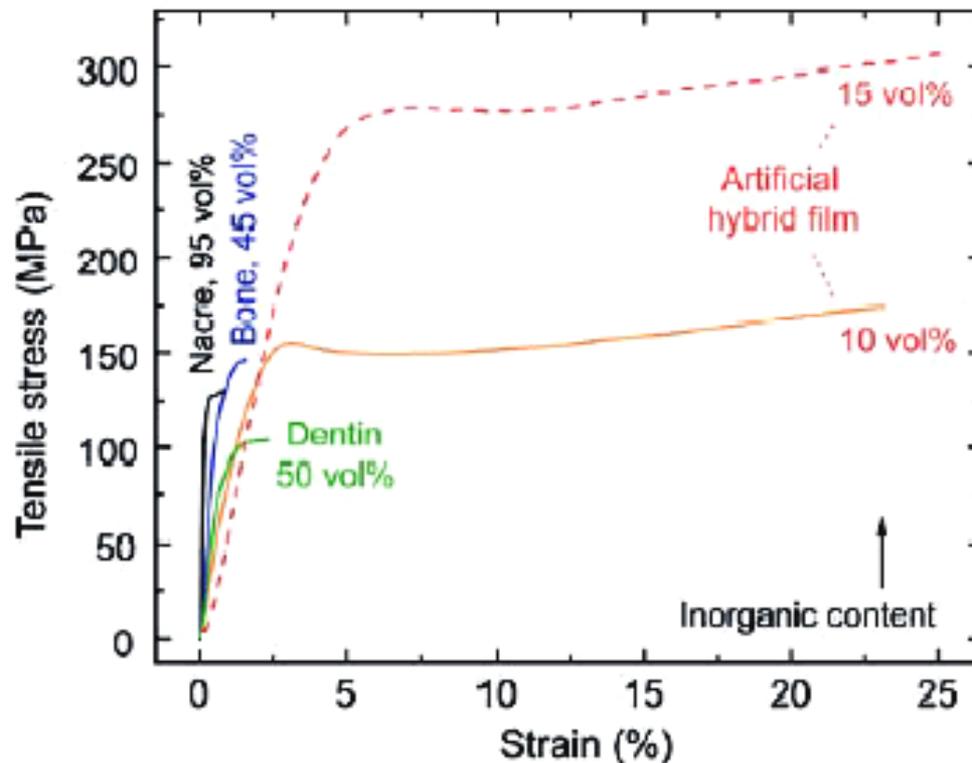
La nacre se comporte comme une céramique qui peut se déformer plastiquement

# La recherche sur la nacre artificielle est active :

## Bioinspired Design and Assembly of Platelet Reinforced Polymer Films

Lorenz J. Bonderer, *et al.*  
*Science* **319**, 1069 (2008);

Plaquettes d' $\text{Al}_2\text{O}_3$  + dérivé de chitine



*Questions ouvertes :*

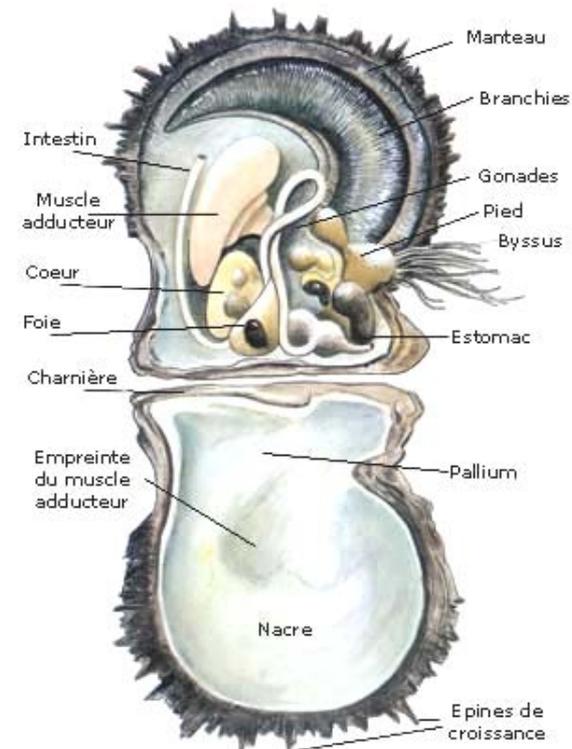
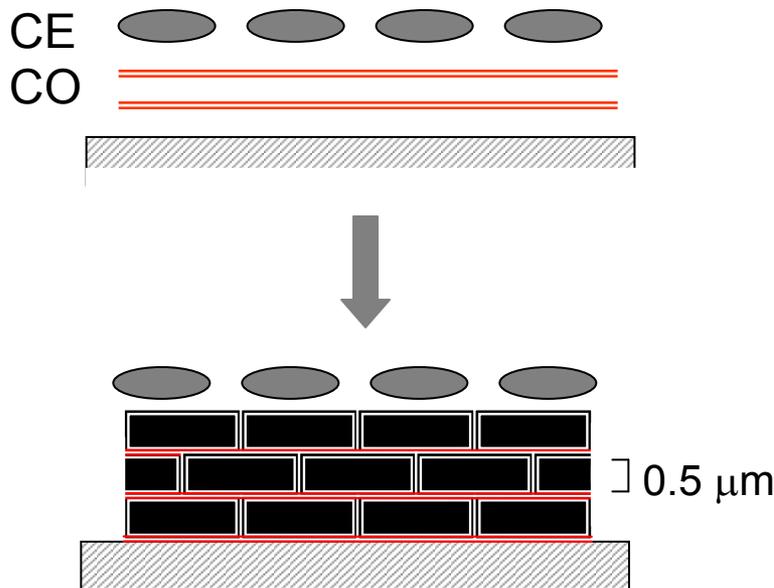
- *Microarchitecture*

- *Mécanisme de formation*

# Mécanisme proposé pour la formation de la nacre

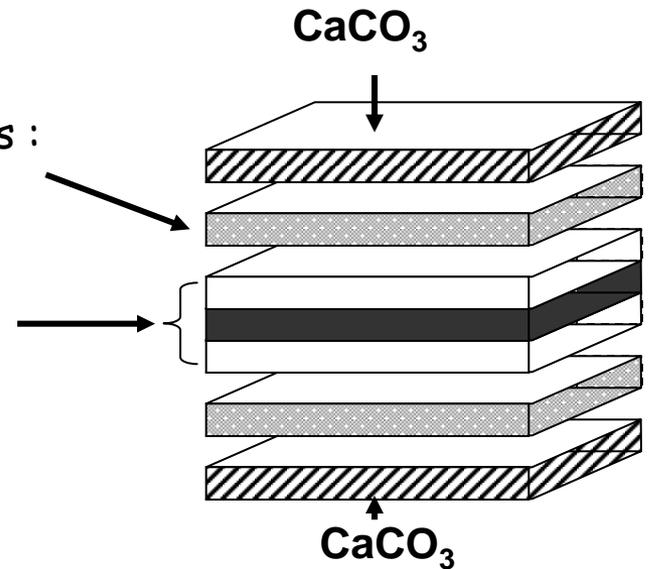
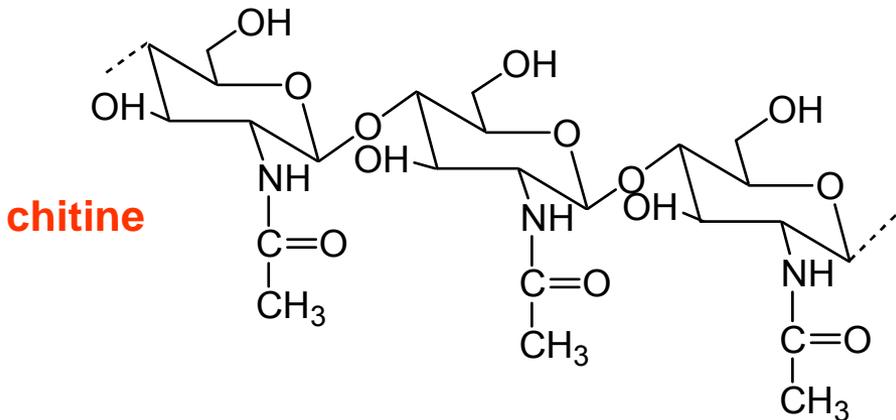
Les cellules épithéliales (CE) du manteau sécrètent périodiquement des couches organiques de conchyoline (CO) :

L'aragonite cristallise entre les couches organiques. La croissance 2D s'arrête quand les cristaux, enrobés d'une couche organique, se touchent :



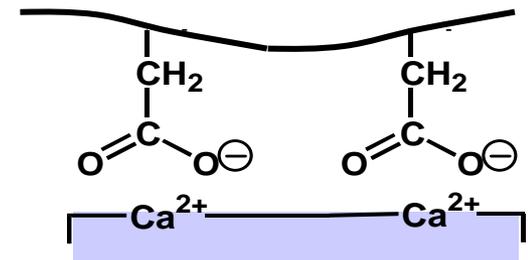
Glycoprotéines acides riches en carboxylates :  
les  $\text{CO}_2^-$  sont les sites de nucléation

Chaînes de chitine en sandwich entre des feuillets  $\beta$



**$\text{CaCO}_3$  se forme sous le contrôle des protéines :**

$\text{Ca}^{2+}$  complexés par les carboxylates latéraux à bonne distance le long de la chaîne polypeptidique

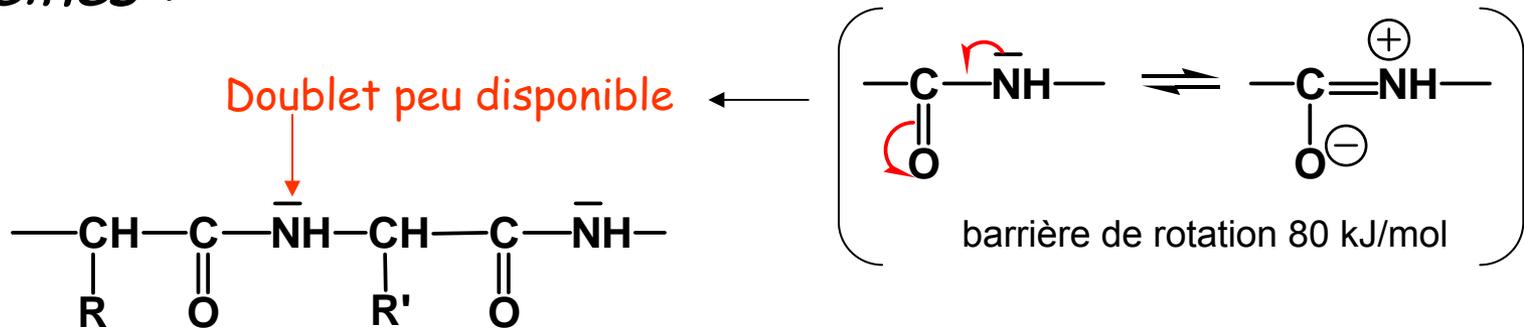


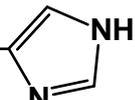
Adéquation entre la distance  $\text{Ca-Ca}$  dans la maille  $\text{CaCO}_3$  et la position des aspartates et des glutamates sur la chaîne polypeptidique

**Croissance épitaxiale  $\Leftrightarrow$  Contrôle spatial**

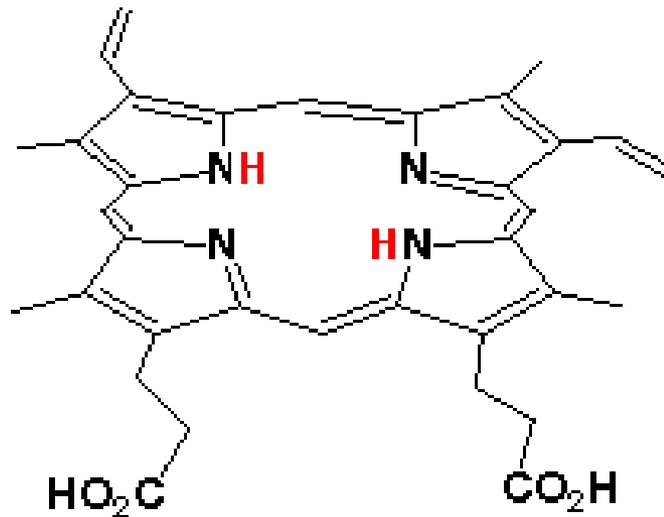
# Ligands biologiques

*Protéines :*

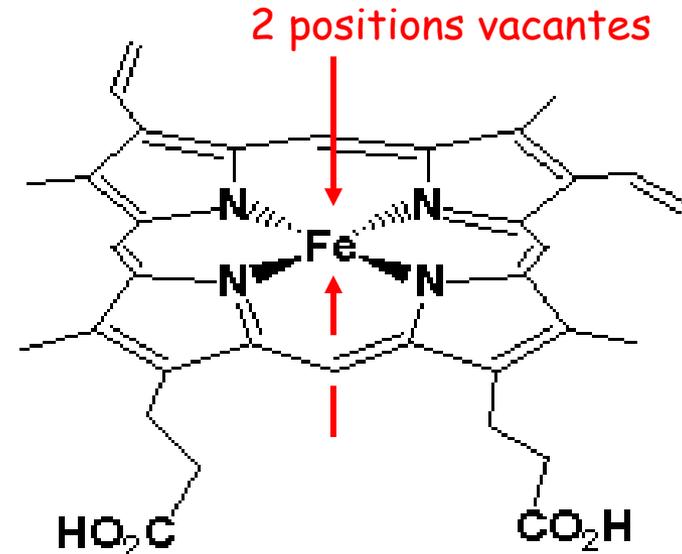


Aspartate	<b>Asp</b>	carboxylate	$-\text{CH}_2\text{-CO}_2^-$
Glutamate	<b>Glu</b>	carboxylate	$-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}_2^-$
Cystéine	<b>Cys</b>	thiol	$-\text{CH}_2\text{-SH}$
Méthionine	<b>Met</b>	thioéther	$-(\text{CH}_2)_2\text{-S-CH}_3$
Tyrosine	<b>Tyr</b>	phénol	$-\text{CH}_2\text{-C}_5\text{H}_4\text{-OH}$
Lysine	<b>Lys</b>	amine	$-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$
Histidine	<b>His</b>	imidazole	$-\text{CH}_2\text{-}$ 

*Hémoprotéines* : Protéines qui environnent un hème (porphyrine de fer)

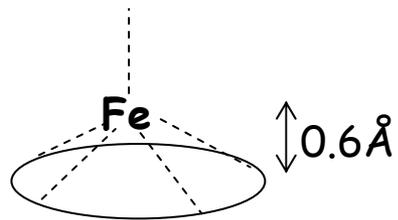


*Protoporphyrine IX*



*Hème*

L'une des positions est occupée par un résidu qui lie l'hème à la protéine.  
La dernière position reste libre pour réagir sur un substrat.



Le ligand axial fait sortir le fer du plan de l'hème.  
L'arrivée du substrat joue sur la distance fer-hème  
→ Contrôle fin  
→ Possibilité de régulation par allostérie

Les hémoprotéines ont de nombreuses fonctionnalités :

hémoprotéine	ligand axial du Fe	rôle
Hémoglobine	Imidazole (His)	Transport de O <sub>2</sub>
Cytochrome c	Imidazole (His) Thioéther (Met)	Transfert d'électrons
Catalase	Phénol (Tyr)	Catalyse de : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
Cytochrome a <sub>3</sub>	Imidazole (His)	Catalyse de : $\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$
Cytochrome P450	Thiolate (Cys)	Catalyse de : $\text{RH} + \text{O}_2 + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$

Hémoglobine

Fe<sup>II</sup> fixe O<sub>2</sub>

Peroxydase, catalase

Fe<sup>III</sup> fixe H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Cytochromes

Fe<sup>II</sup>/Fe<sup>III</sup> transfert d'électrons

(Chlorophylle : Mg à la place du Fe)

# Rappel : Affinité métal-ligand : classification HSAB (critère de Pearson)

Qui se ressemble s'assemble

**DURS**

**INTERMEDIAIRES**

**MOUS**

**Cations**

*petite taille  
charge élevée  
faible électronégativité*

$\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  
 $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$

$\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  
 $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$

*grande taille  
faible charge  
électronégativité élevée*

$\text{Cu}^+$

**Ligands**

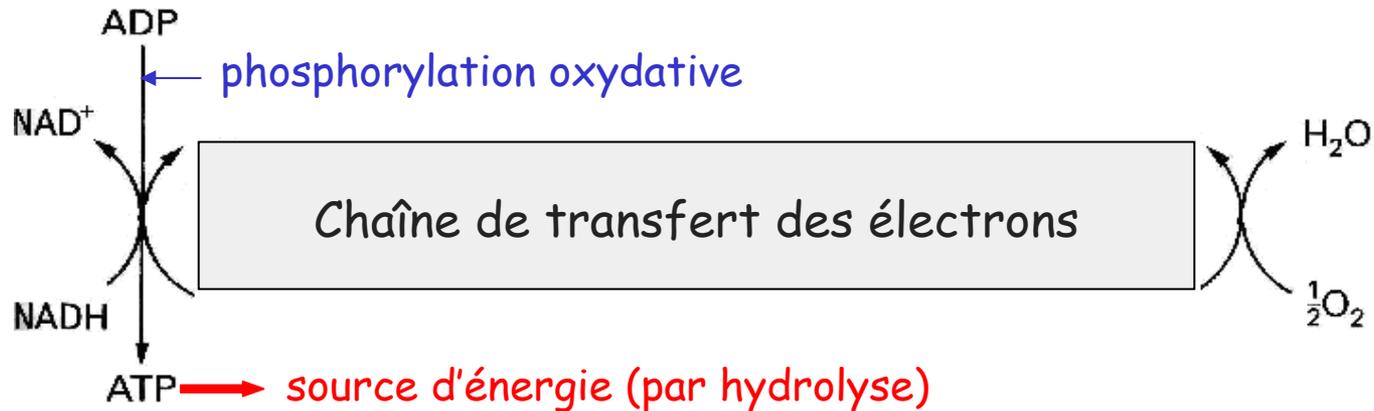
$\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{ROH}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  
amines,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  
 $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{RCO}_2^-$

pyridine,  
 $\text{N}_2$ ,  $\text{N}_3^-$ ,  
 $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$

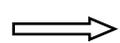
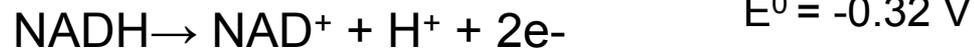
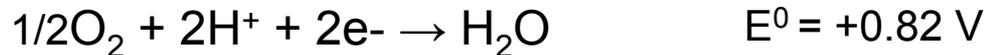
$\text{RSH}$ ,  $\text{RS}^-$ ,  $\text{R}_2\text{S}$ ,  
 $\text{CO}$ ,  $\text{CN}^-$ ,  
 $\text{H}^-$ ,  $\text{R}^-$ ,  $\text{PPh}_3$

# II - Transport et fixation d'oxygène

L'oxygène est l'accepteur terminal d'électrons dans la respiration cellulaire. Le transfert d'électrons est accompagné d'un déplacement de protons qui conduit à la réduction de  $O_2$  :



Une ddp de 1.14V entre  $NADH$  et  $O_2$  assure le transport des électrons le long de la chaîne :

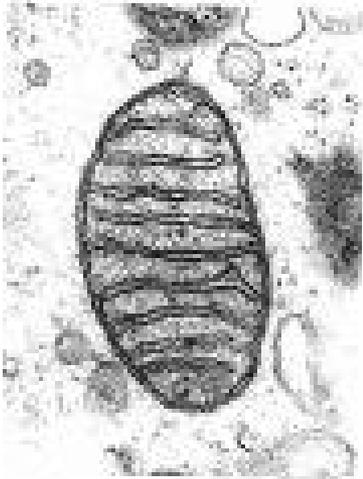


$$\Delta E^0 = +1.14 \text{ V}$$

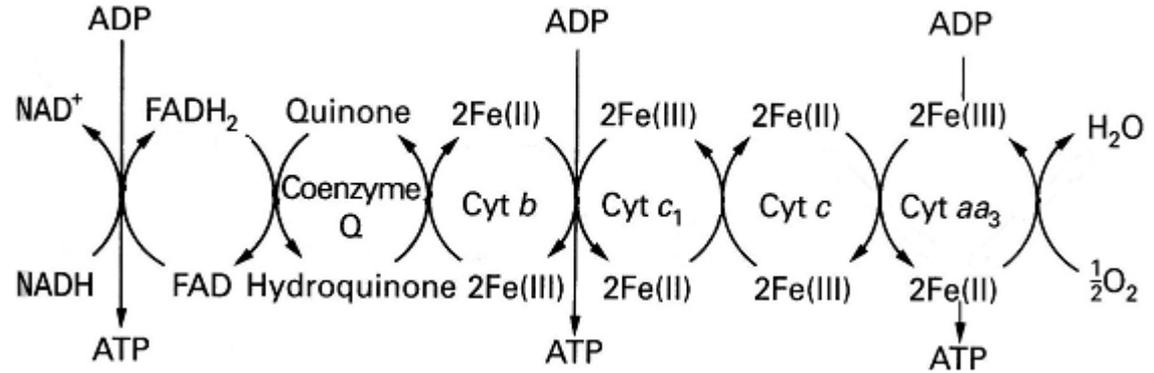
L'énergie libre de la réaction est donnée par :

$$\Delta G^0 = -nF\Delta E^0 = -2 \times 23.06 \times 1.14 = -52.6 \text{ kcal/mol}$$

## Chaîne respiratoire dans les mitochondries

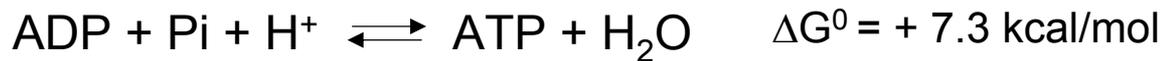


mitochondrie



*Paliers : la chaîne comprend plus de 20 centres redox*

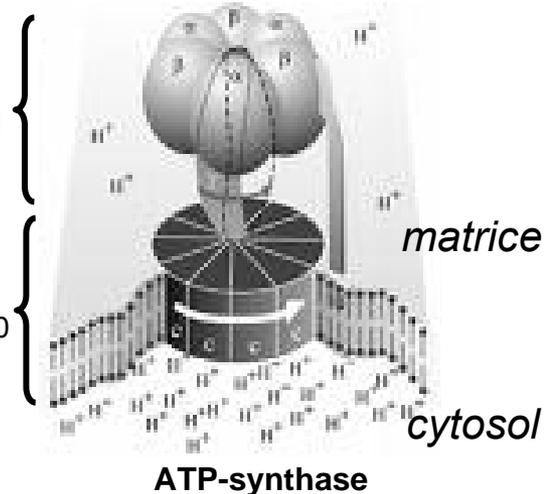
Cette énergie libre est utilisée pour synthétiser l'ATP :

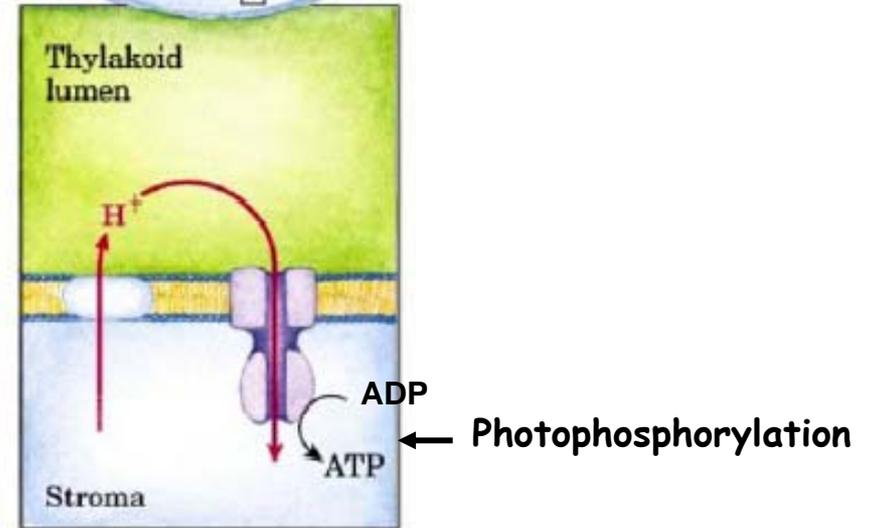
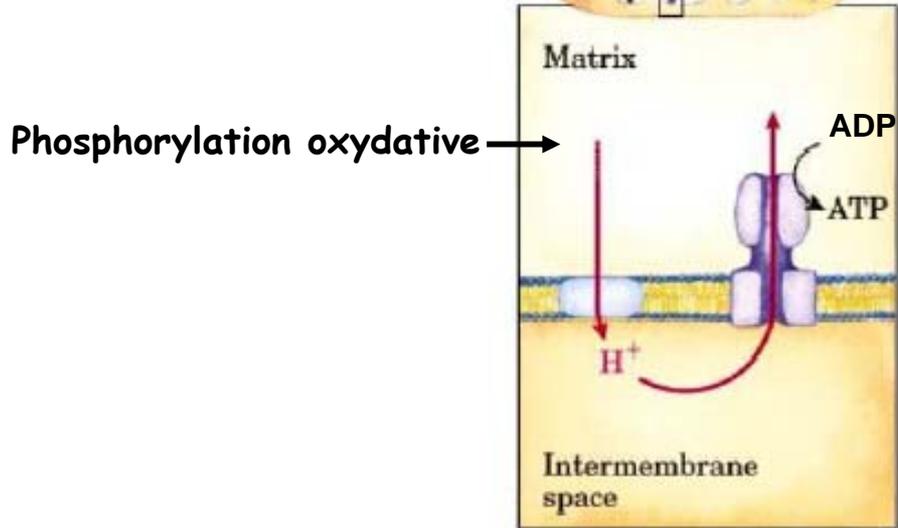
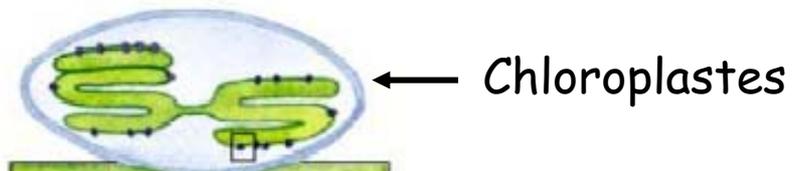
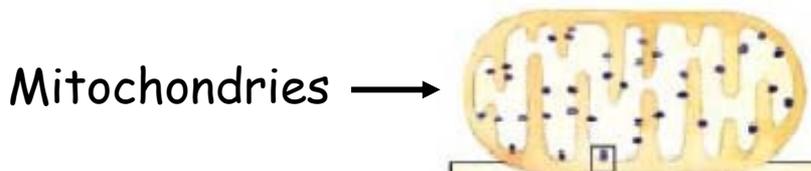
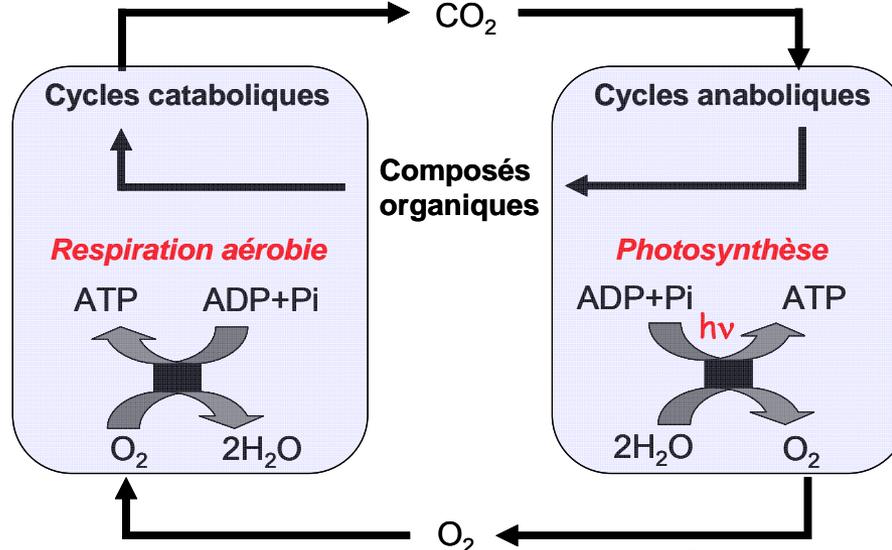


Cette réaction a lieu grâce à un complexe enzymatique, l'ATP-synthase, situé dans la membrane interne des mitochondries :

site catalytique pour la synthèse de l'ATP ← Unité F<sub>1</sub>

canal protonique ← Unité F<sub>0</sub>

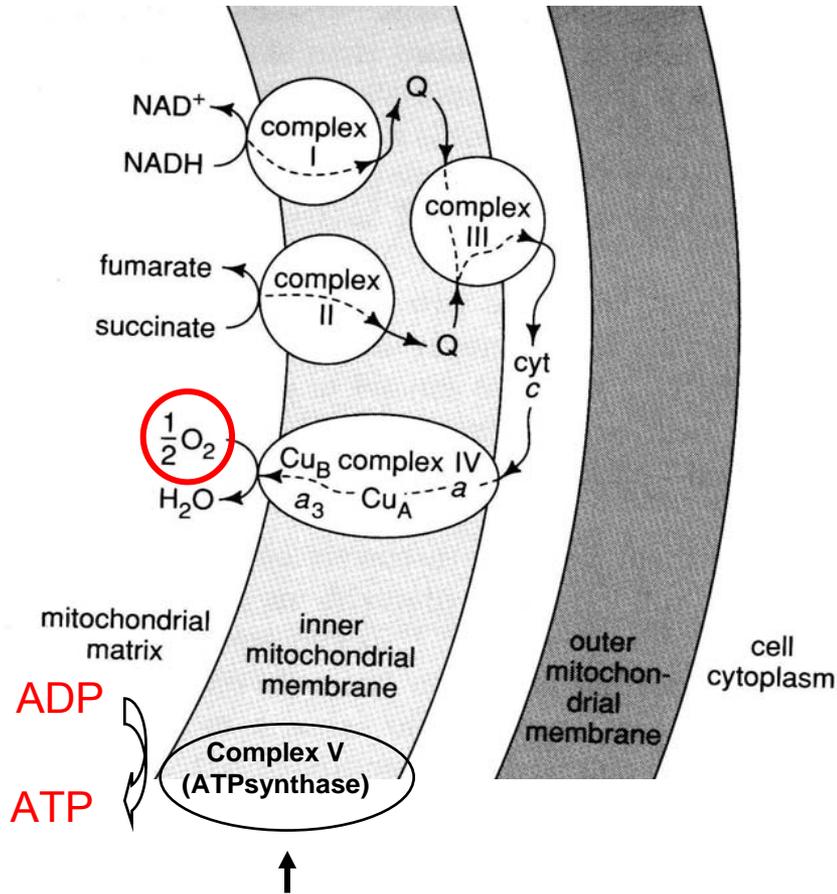




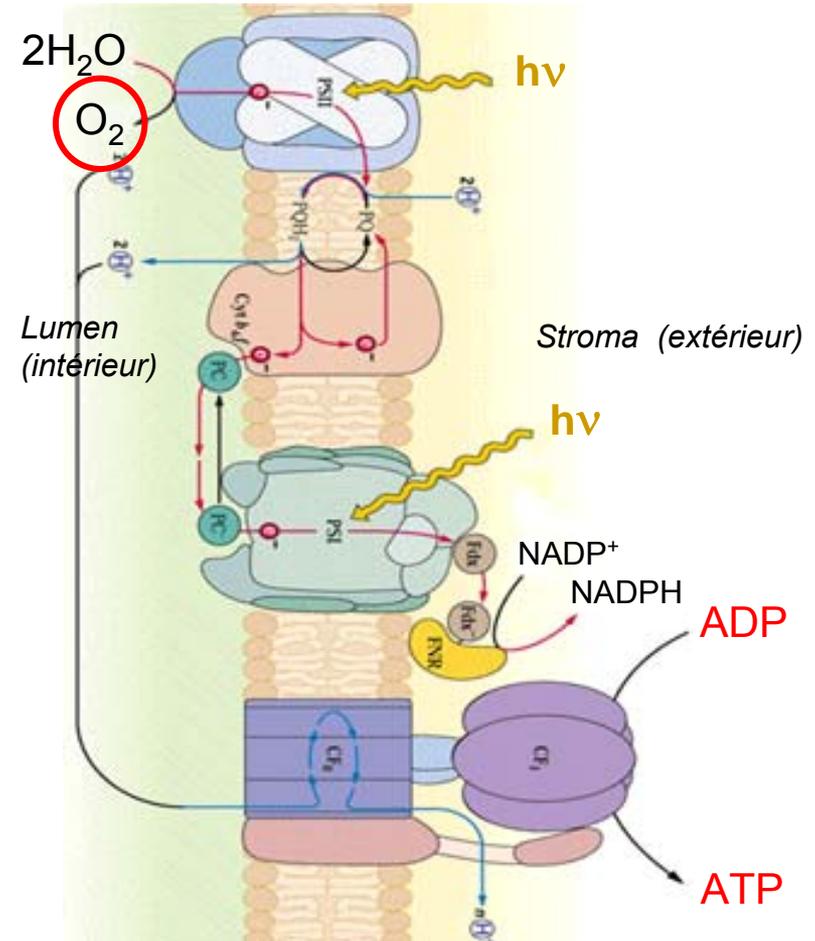
### Théorie chimio-osmotique

le flux d'électrons à travers la chaîne redox crée une force proton-motrice

Transfert d'électrons et synthèse d'ATP sont très semblables dans les chloroplastes et les mitochondries : oxydation/réduction séquentielles entre transporteurs redox sur des protéines membranaires : cytochromes, protéines Fe-S, protéines à Cu.



Membrane interne mitochondrie

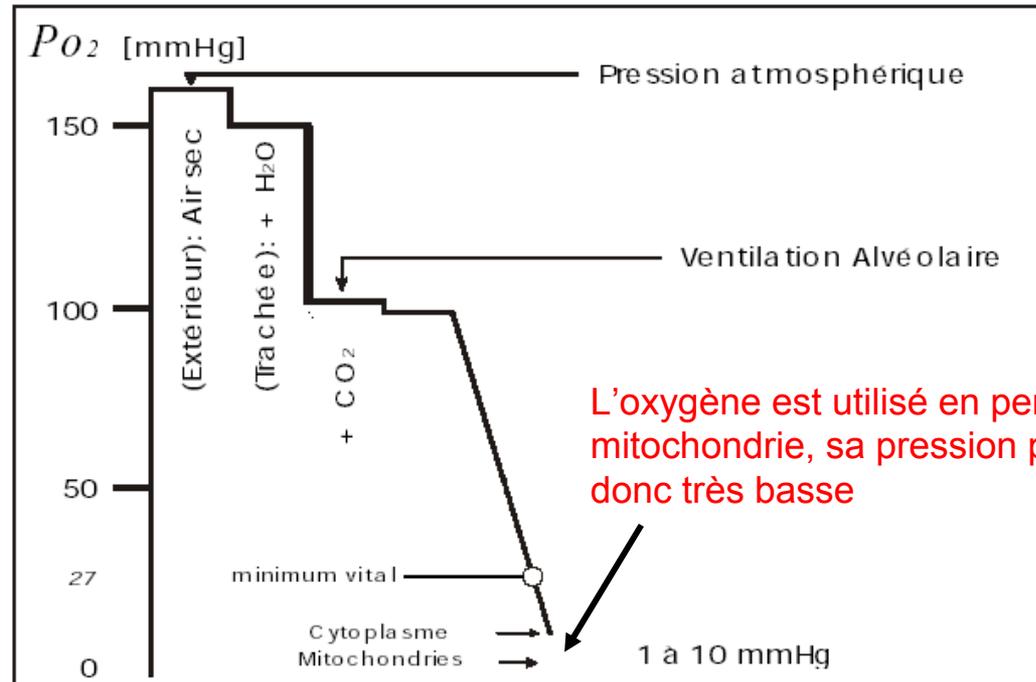


Membrane thylacoïde (interne chloroplaste)

Un apport *ininterrompu* d'oxygène aux mitochondries est nécessaire pour assurer le métabolisme aérobie des tissus.

## La cascade de l'oxygène, moteur du transport :

Tout gaz diffuse d'une zone de haute pression partielle vers une zone de basse pression partielle



Du milieu extérieur aux mitochondries contenant les enzymes de la chaîne respiratoire au sein des cellules, l'oxygène diffuse selon des gradients successifs de pression partielle

Mais il y a un problème de solubilité (et de diffusion) :

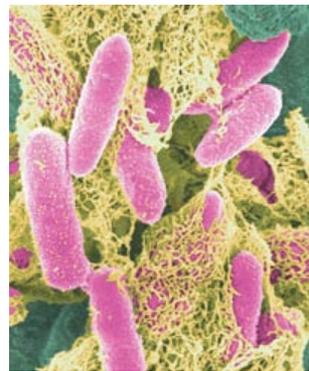
Cte de solubilité des gaz dans l'eau à 37 °C

Oxygène	0,024
Dioxyde de Carbone	0,570
Monoxyde de Carbone	0,018
Azote	0,012
Hélium	0,008

Le stockage, le transport ainsi que la libération de  $O_2$ , sont assurés par des protéines utilisant un atome ou une paire d'atomes métalliques : **Fe** ou **Cu**



hémoglobine



hémérythrine



hémocyanine

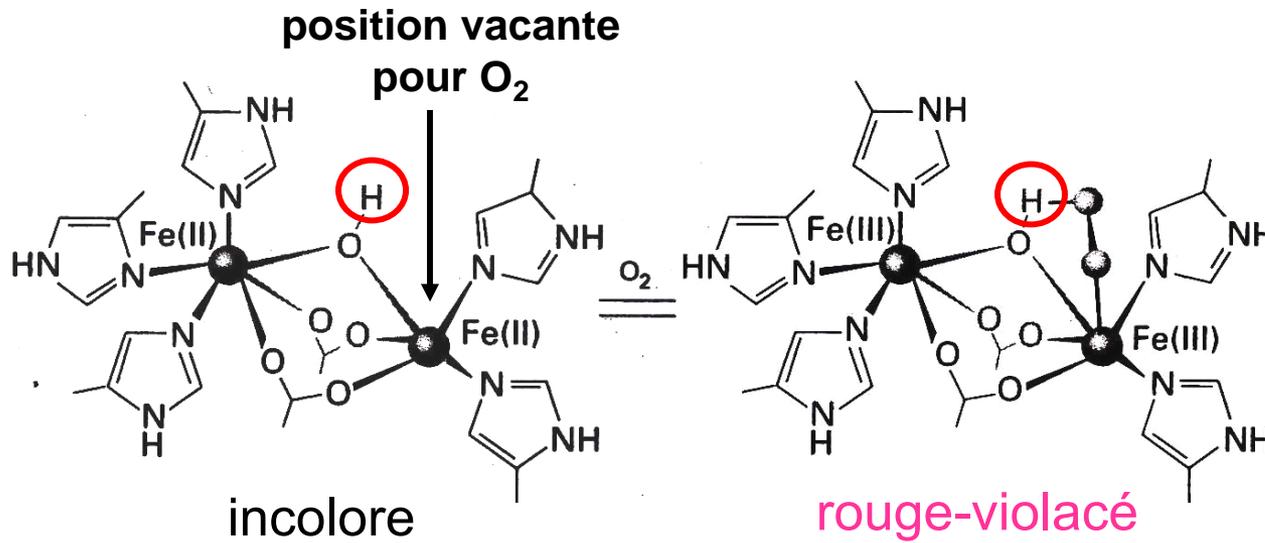
Ces enzymes porteuses permettent d'augmenter la solubilité de  $O_2$  dans le sang

D'un facteur x30 pour l'hémoglobine : Solubilité à 20 °C :

➤ dans l'eau :  $6.6 \text{ cm}^3/\text{L}$

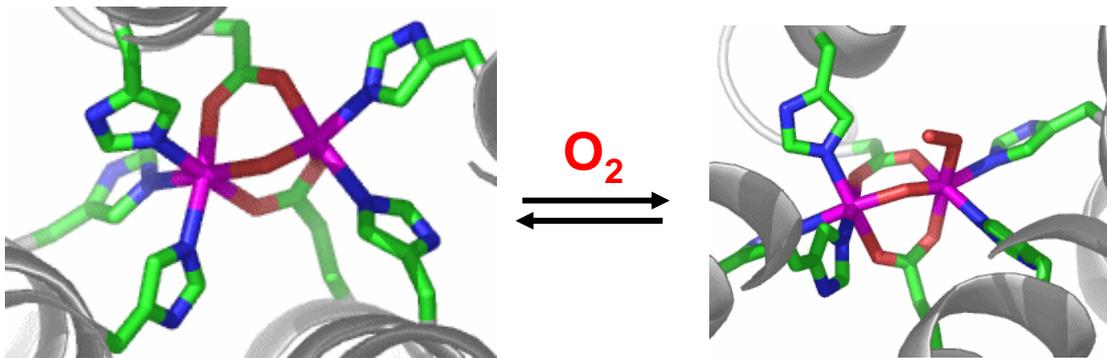
➤ dans le sang :  $200 \text{ cm}^3/\text{L}$

# 1. Hémeérythrine Hr



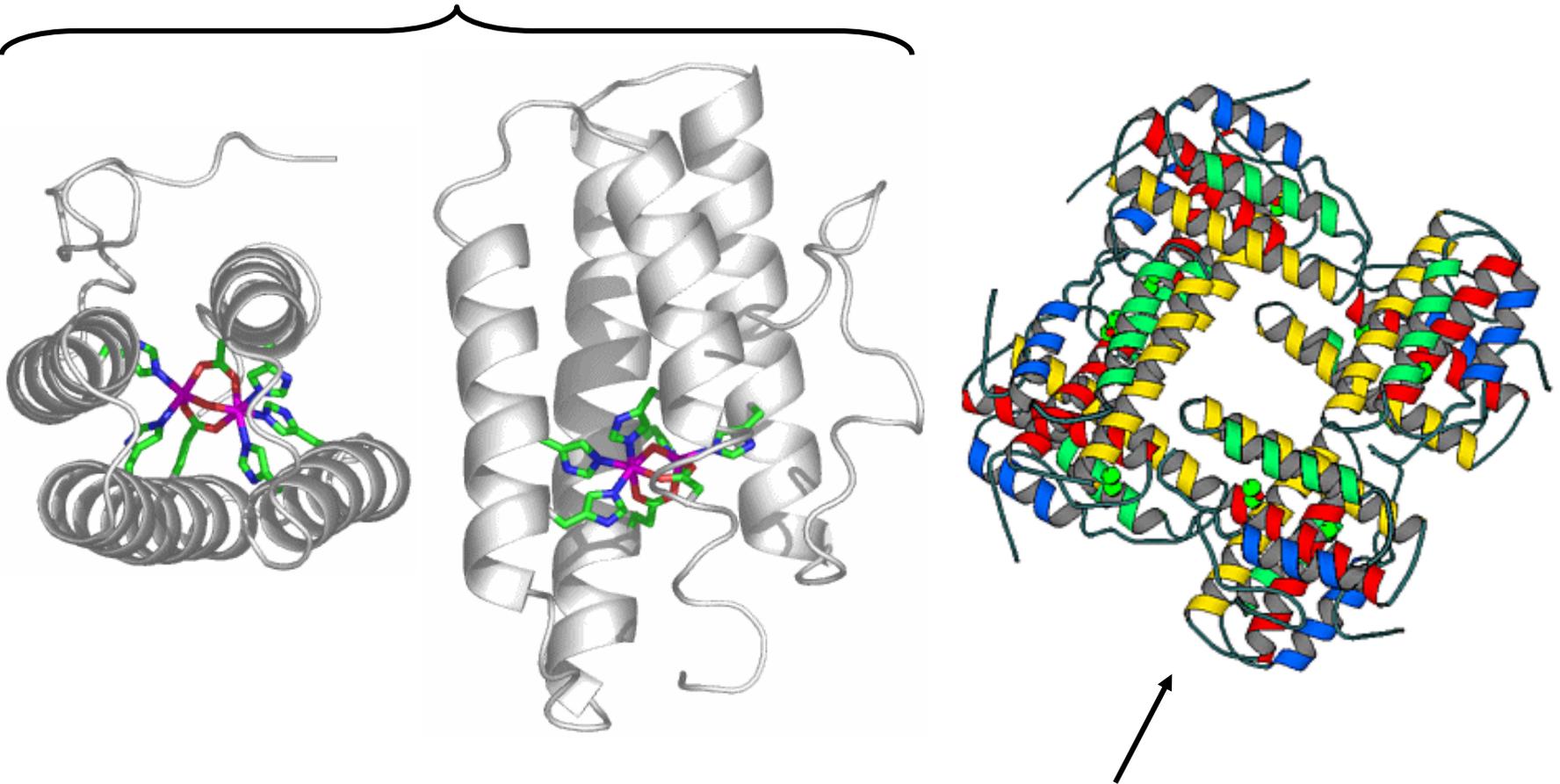
Migration du proton  $\mu$ -hydroxo qui stabilise la liaison  $\mu$ -peroxo

→ Hydroperoxo M-OOH (Raman 844cm<sup>-1</sup>)



Bactérie  
*Methylococcus capsulatus*

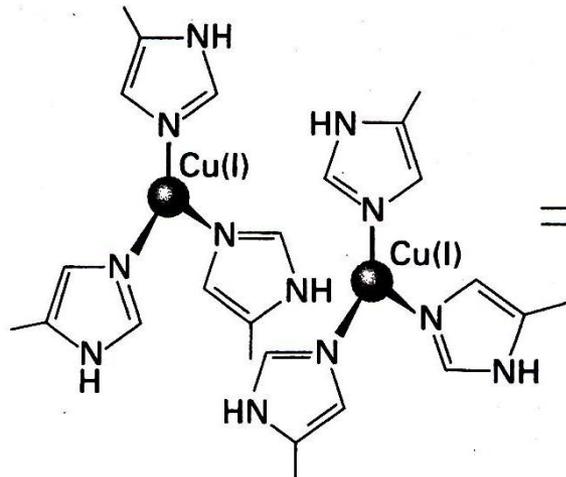
Unité de base : Polypeptide de 113 AA ( $M_w$  13500)  
formant 4 hélices  $\alpha$  presque alignées : cette topologie  
crée une poche pour le complexe métallique



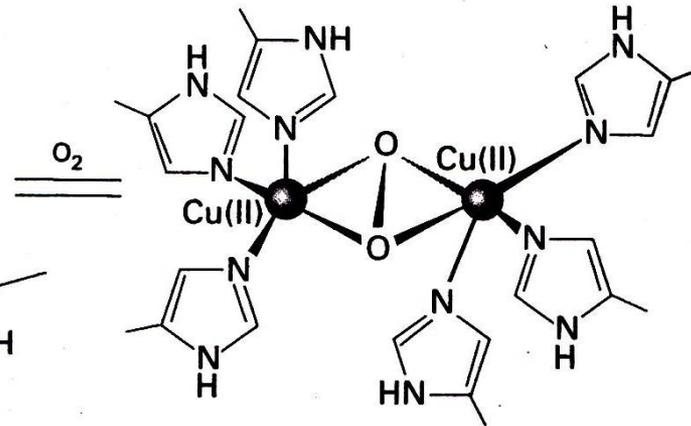
L'hémérythrine est le plus souvent trouvée sous forme d'un octamère de 108 000 Da, mais il existe des formes dimériques, trimériques ou tétramériques chez certains organismes.

## 2. Hémo-cyanine Hc

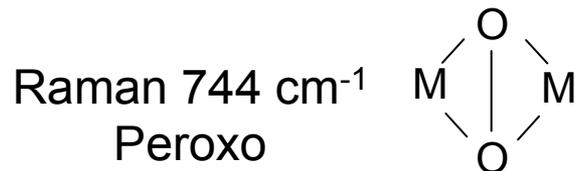
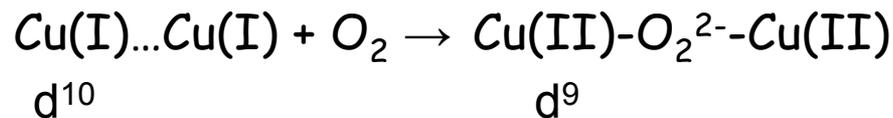
Chez certains arthropodes (crustacés et arachnides) et mollusques (pieuvre). Le sang est distribué à basse pression dans des sinus autour des organes internes.



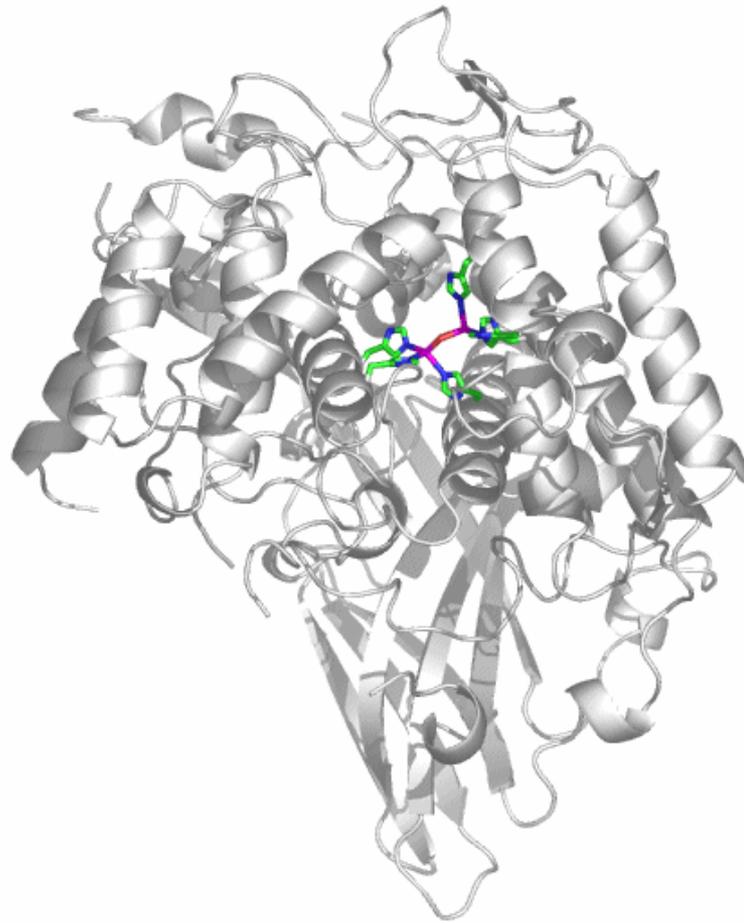
incolore



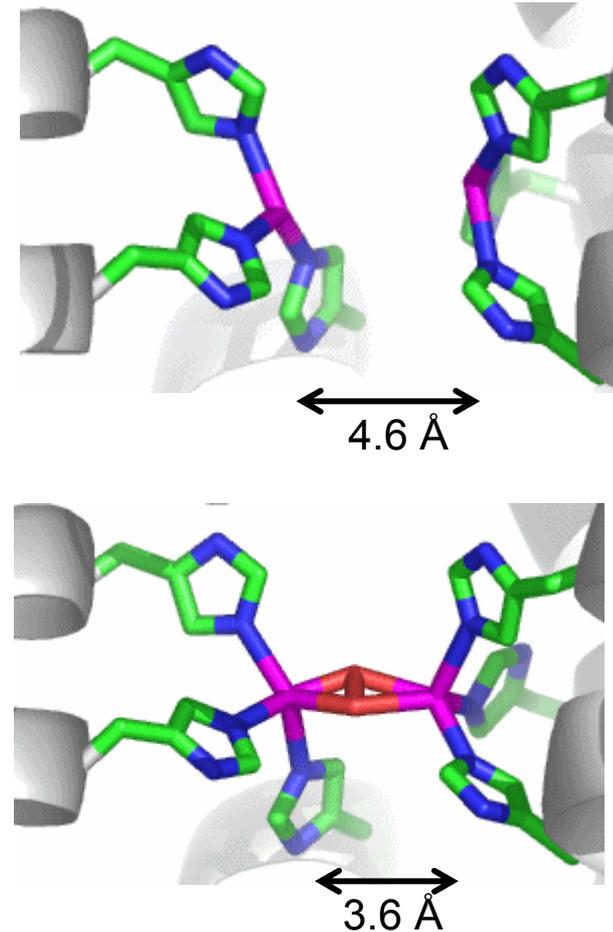
bleu (Transfert de charge ligand-métal)



*Limule*



monomère d'hémocyanine

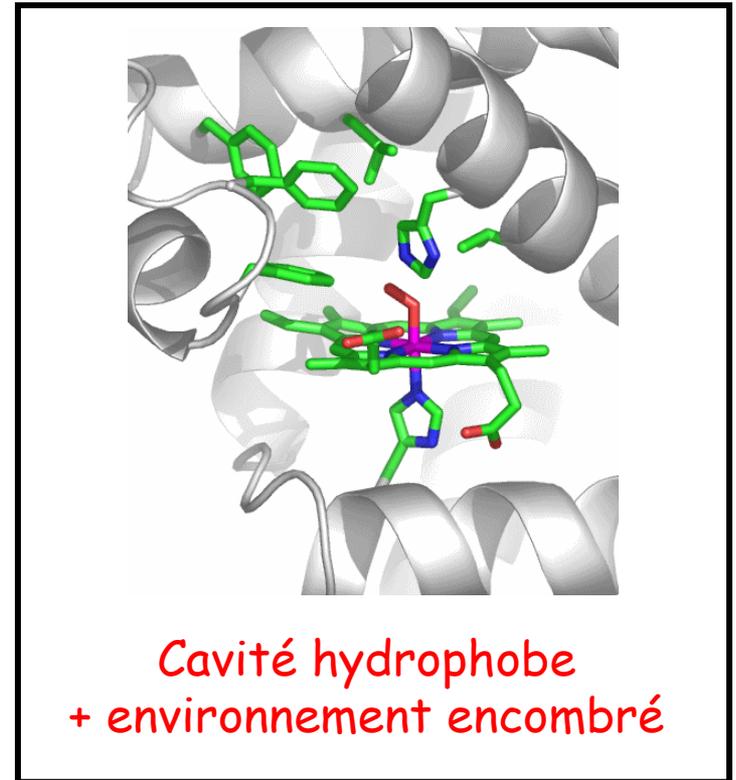
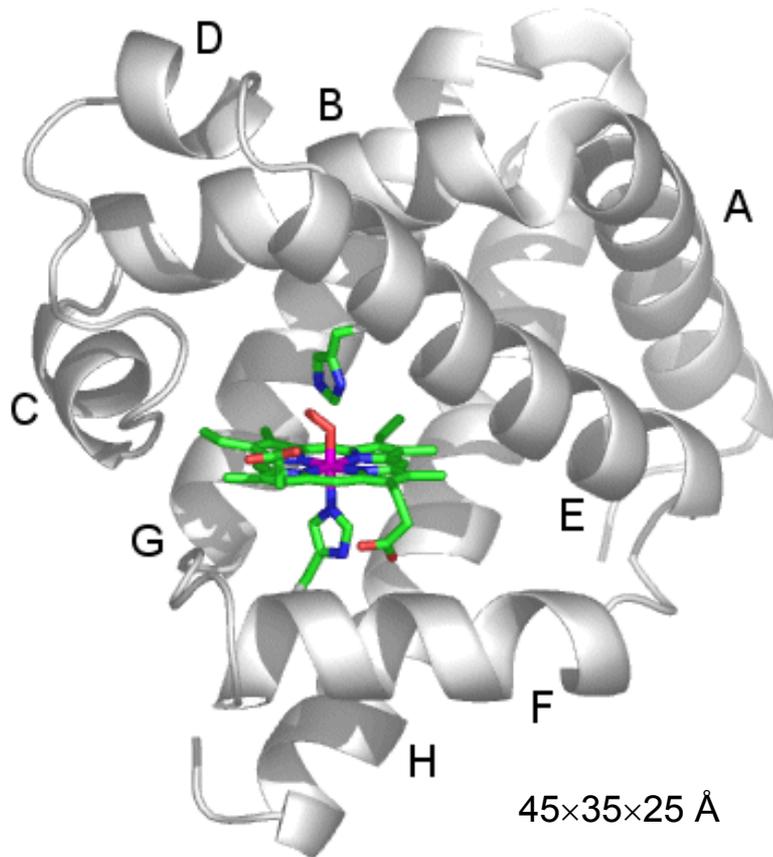


La structure quaternaire de Hc est constituée de 8 hexamères, chacun résultant de l'association de 6 sous-unités possédant chacune un centre métallique Cu-Cu  
Hc contient donc 48 sites de fixation de  $O_2$  , Mw 3 500 000



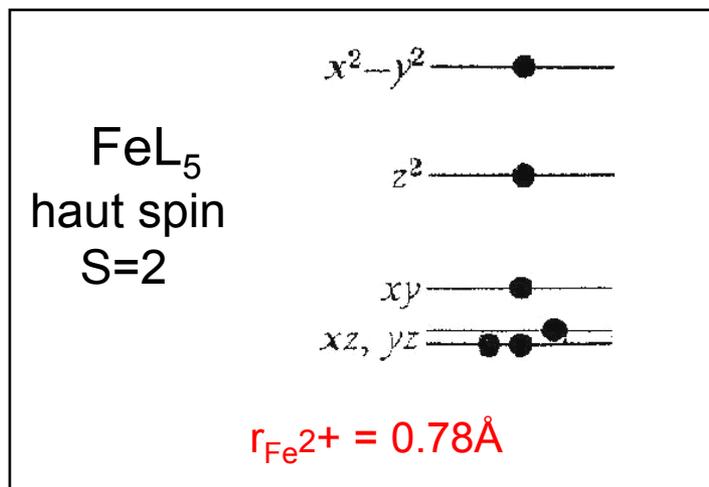
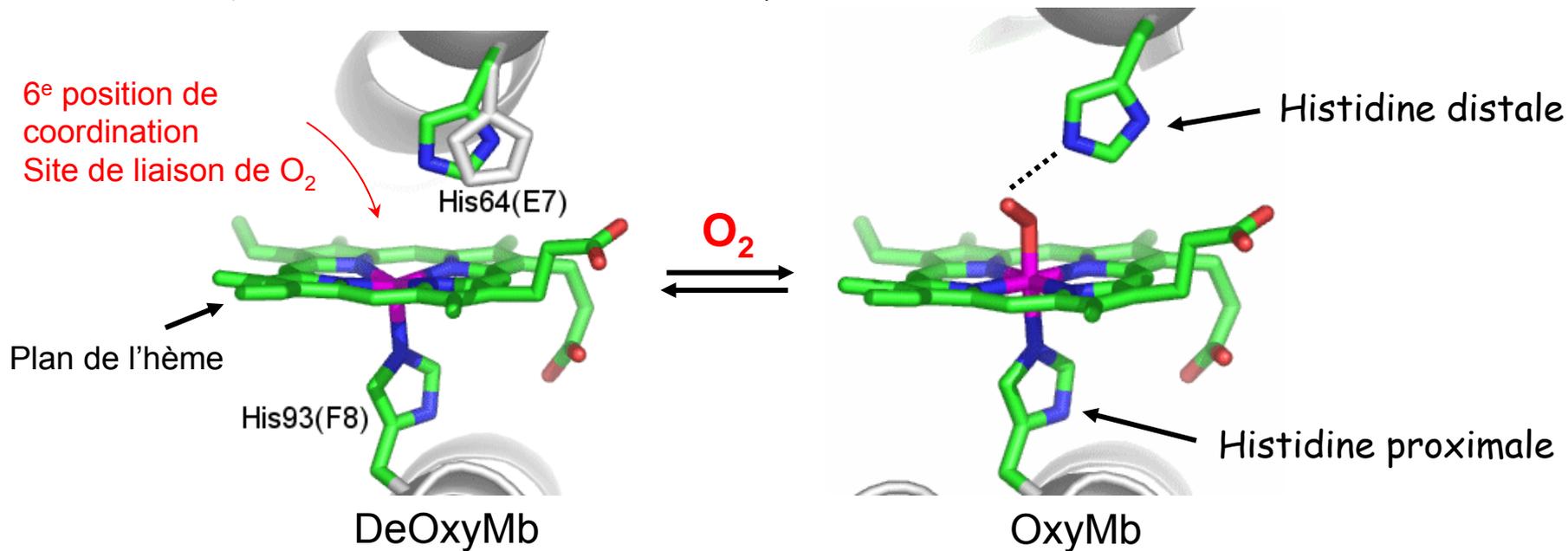
### 3. Hémoglobine Hb et myoglobine Mb

O<sub>2</sub> est transporté par l'hémoglobine, et stocké par la myoglobine :



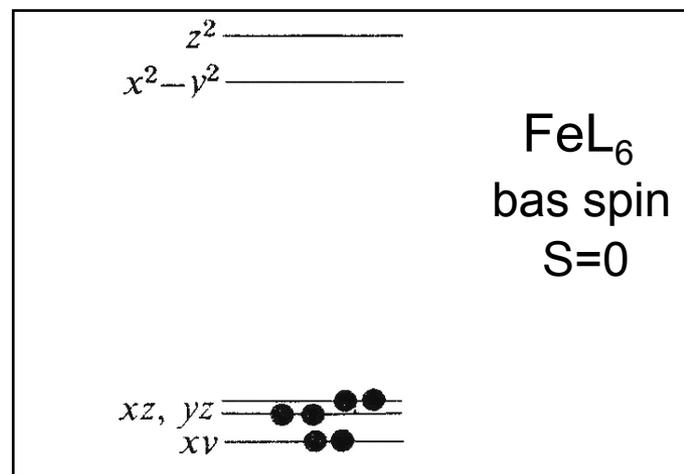
Myoglobine : protéine globulaire contenant un hème, constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 160 acides aminés. Structure secondaire composée de 8 hélices  $\alpha$  (cf A-H), formant une cavité hydrophobe abritant l'hème

Lors de l'oxygénation, l'histidine distale établit une liaison hydrogène avec l'atome d'oxygène terminal, ce qui favorise la formation de OxyMb



Fe<sup>2+</sup> d<sup>6</sup>

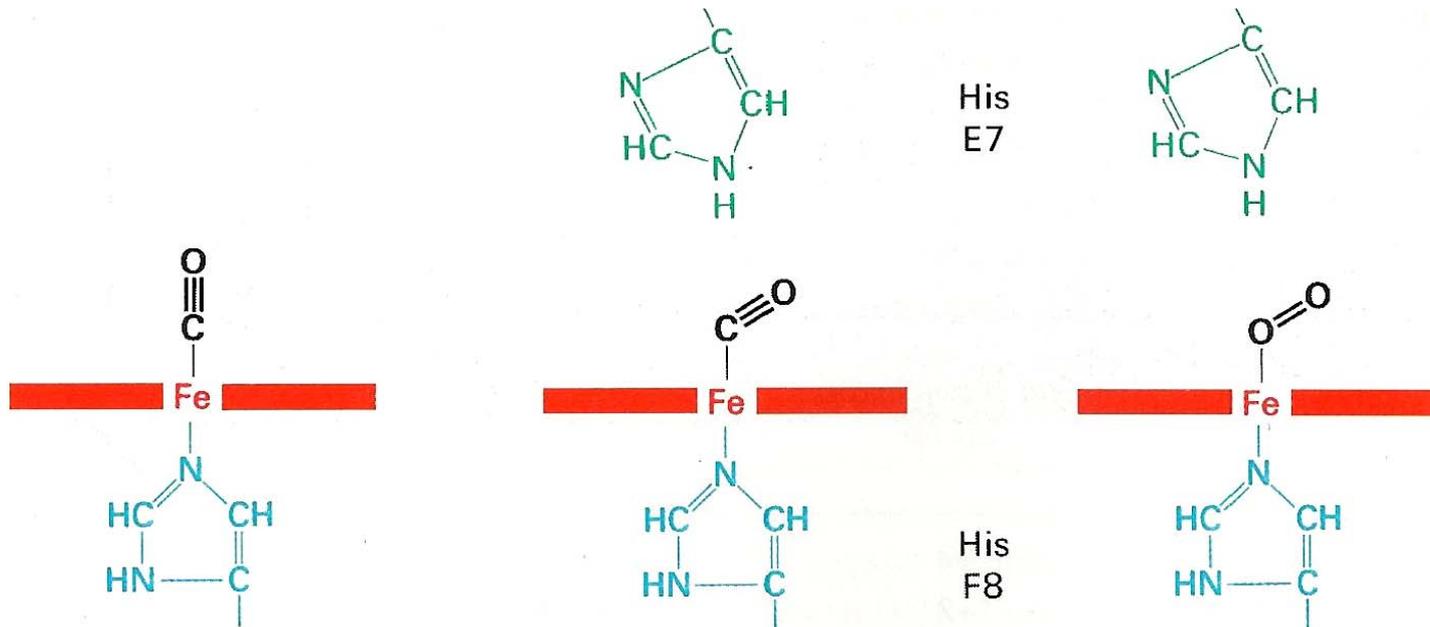
rayon ↓



➔ Fe<sup>2+</sup> rentre dans le plan du macrocycle

L'histidine distale protège aussi la porphyrine des molécules se liant de façon linéaire, comme le monoxyde de carbone ou NO

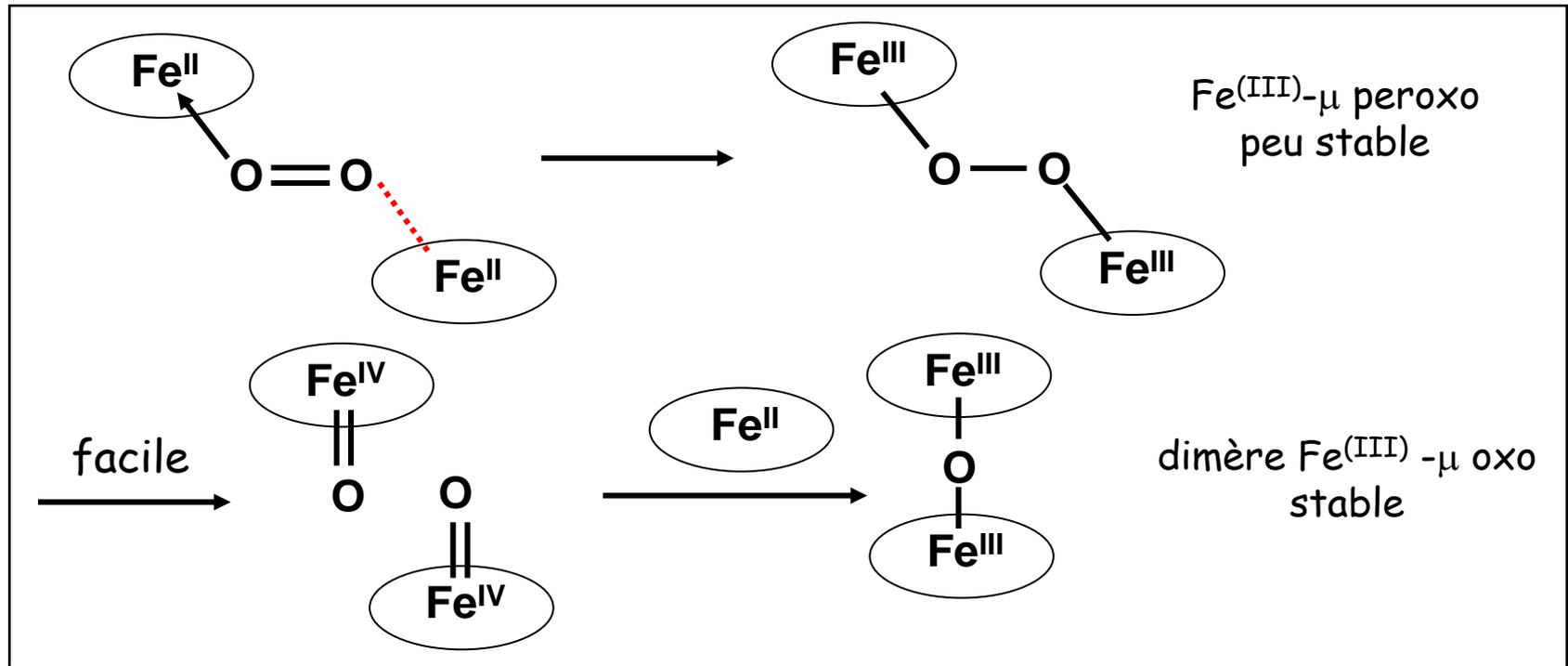
Un hème isolé en solution se lie à CO 25000 × plus fortement qu'à O<sub>2</sub>



Mode linéaire de liaison de CO dans les porphyrines isolées

Mode angulaire de liaison de CO et O<sub>2</sub> dans la myoglobine et l'hémoglobine, imposé par His E7

En solution, l'hème ferreux est très rapidement oxydé en hème ferrique  
→ La fixation de l'oxygène devient alors irréversible

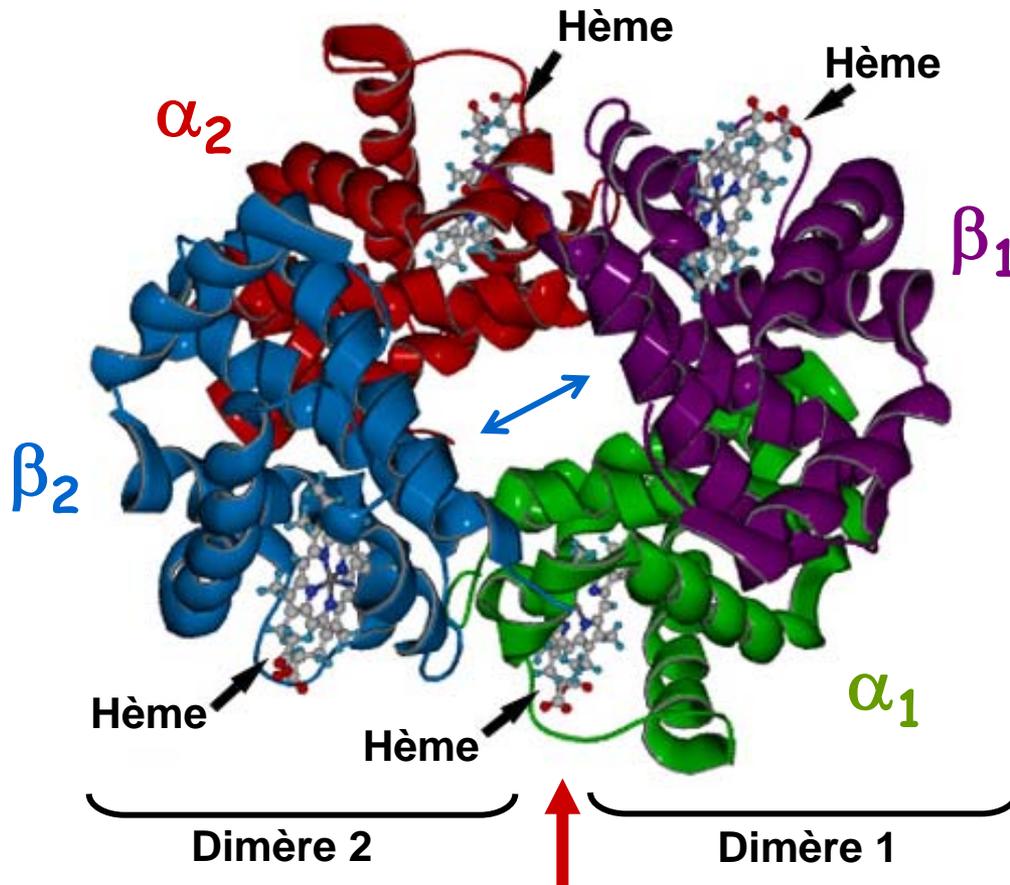


→ Cette dimérisation oxydante improductive est un défaut fatal pour leur fonction biologique

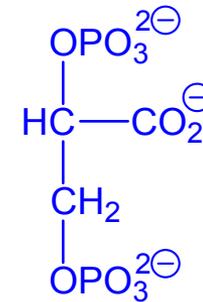
→ Le repliement globinique protège l'hème dans un environnement qui lui permet de transporter O<sub>2</sub> de façon réversible.

# Hémoglobine

hétéro-tétramère  $\alpha_1\beta_1\alpha_2\beta_2$  (association de deux dimères fonctionnels  $\alpha\beta$ )  
(4 globines de 8 hélices  $\alpha$ )  $\varnothing$  6nm,  $M_W = 64500$

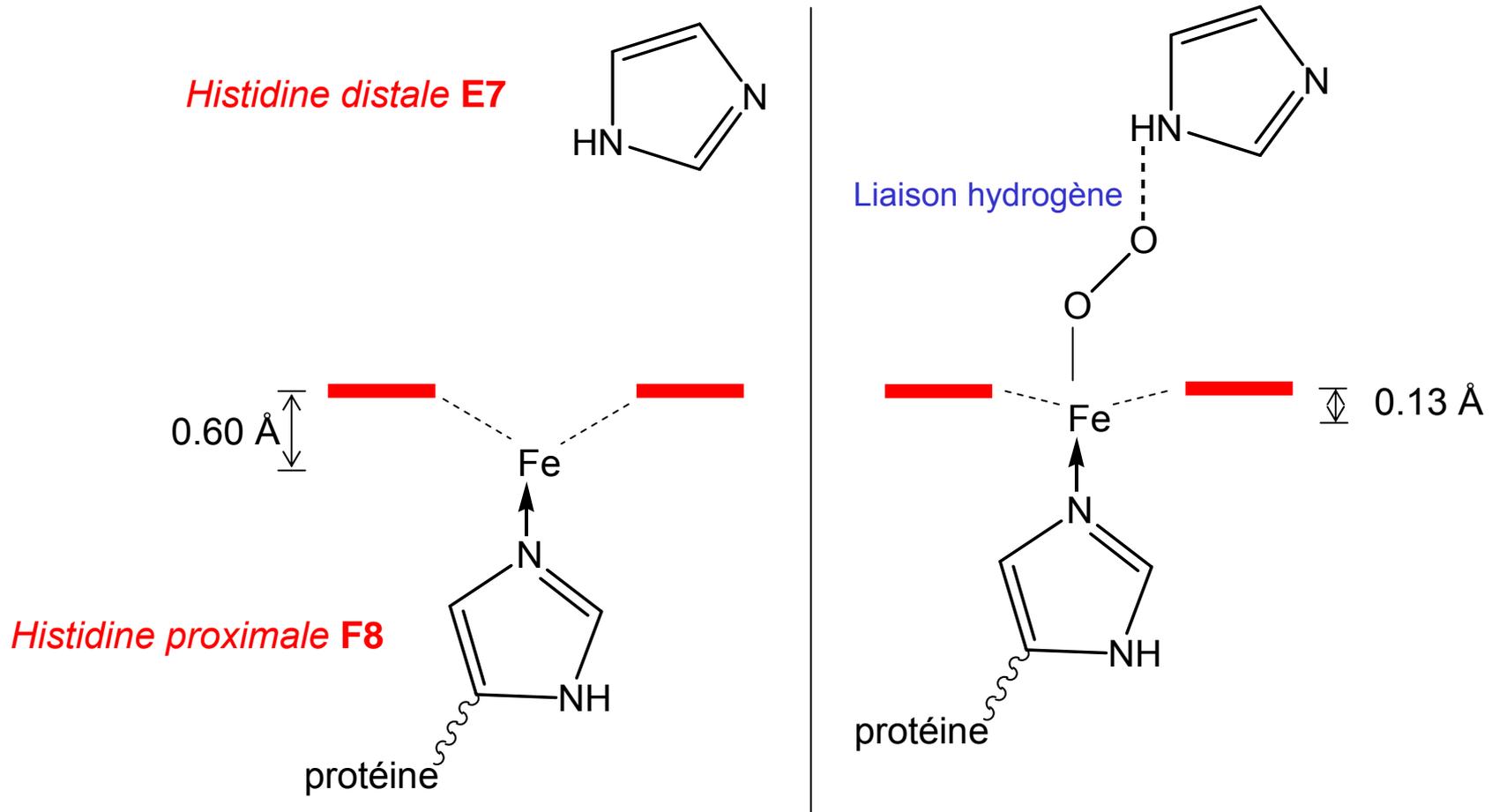


Contact entre les unités  $\beta$   
par l'intermédiaire d'une  
molécule de 2,3-BPG qui  
stabilise la forme déoxygénée



Zone de glissement : les résidus en contact sont différents  
suivant que l'Hb est oxygénée (R: Relax) ou non (T: Tendu)

# 4. Coopérativité

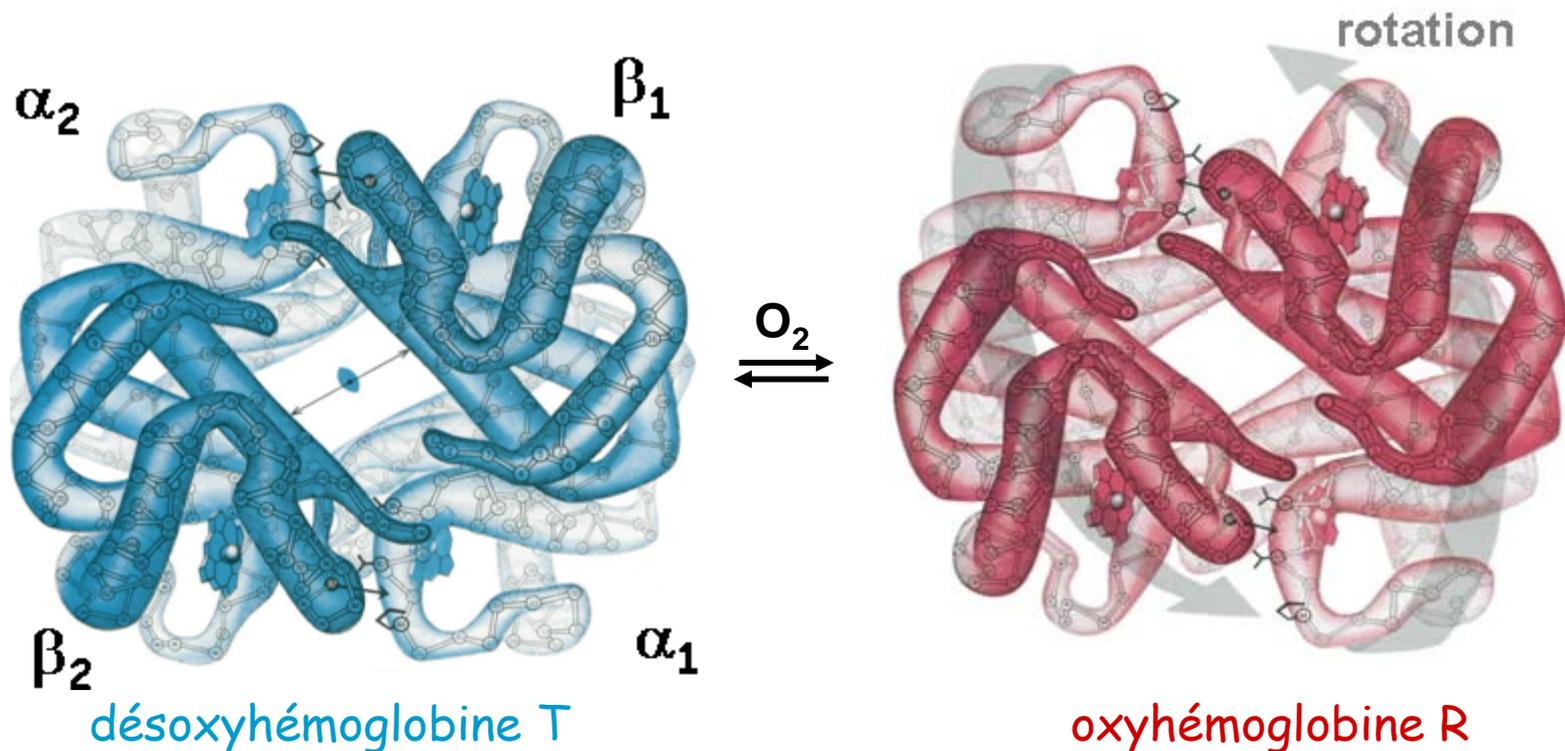


Quand  $\text{Fe}^{2+}$  fixe une molécule de  $\text{O}_2$ , il change de coordination, son rayon diminue, l'ion rentre dans le macrocycle : HisF8 se déplace, induisant un mouvement de l'hélice F, et la rotation du dimère

➔ Les 4 sites ne sont pas indépendants

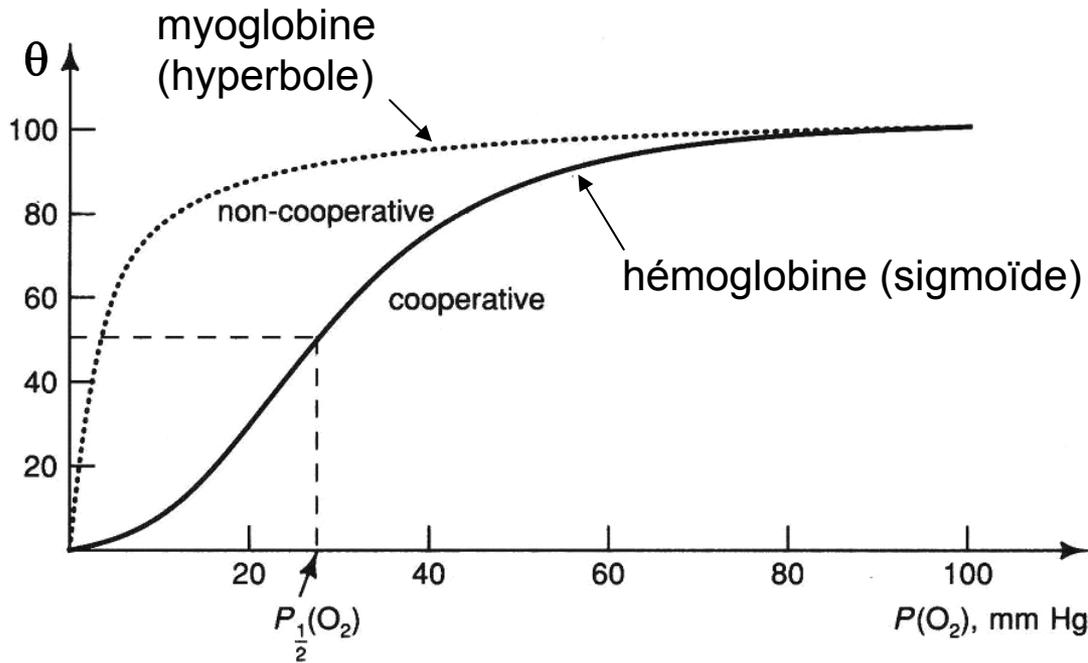
# La structure de l'hémoglobine se modifie lors de l'oxygénation : modulation du pouvoir oxyphorique

Changement de coordination du Fe  $\longrightarrow$  Déplacement de l'hélice F  
 $\longrightarrow$  Rotation de 15° du dimère  $\alpha_1 \beta_1 / \alpha_2 \beta_2$

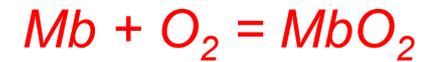


La fixation de dioxygène induit un changement de structure tertiaire et quaternaire : 2,3-DPG est expulsé, il y a rupture de ponts hydrogène et libération de protons. La structure oxygénée est plus compacte.

# Comportement coopératif des 4 globines



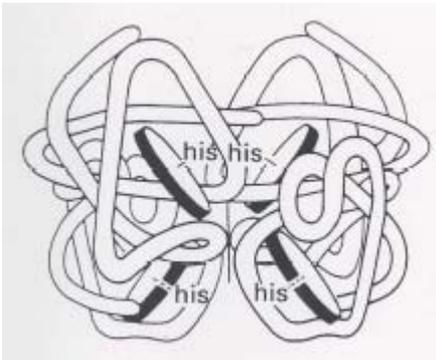
Saturation  $\theta$  = fraction des sites occupés par  $O_2$



$$K = \frac{[MbO_2]}{[Mb]P}$$

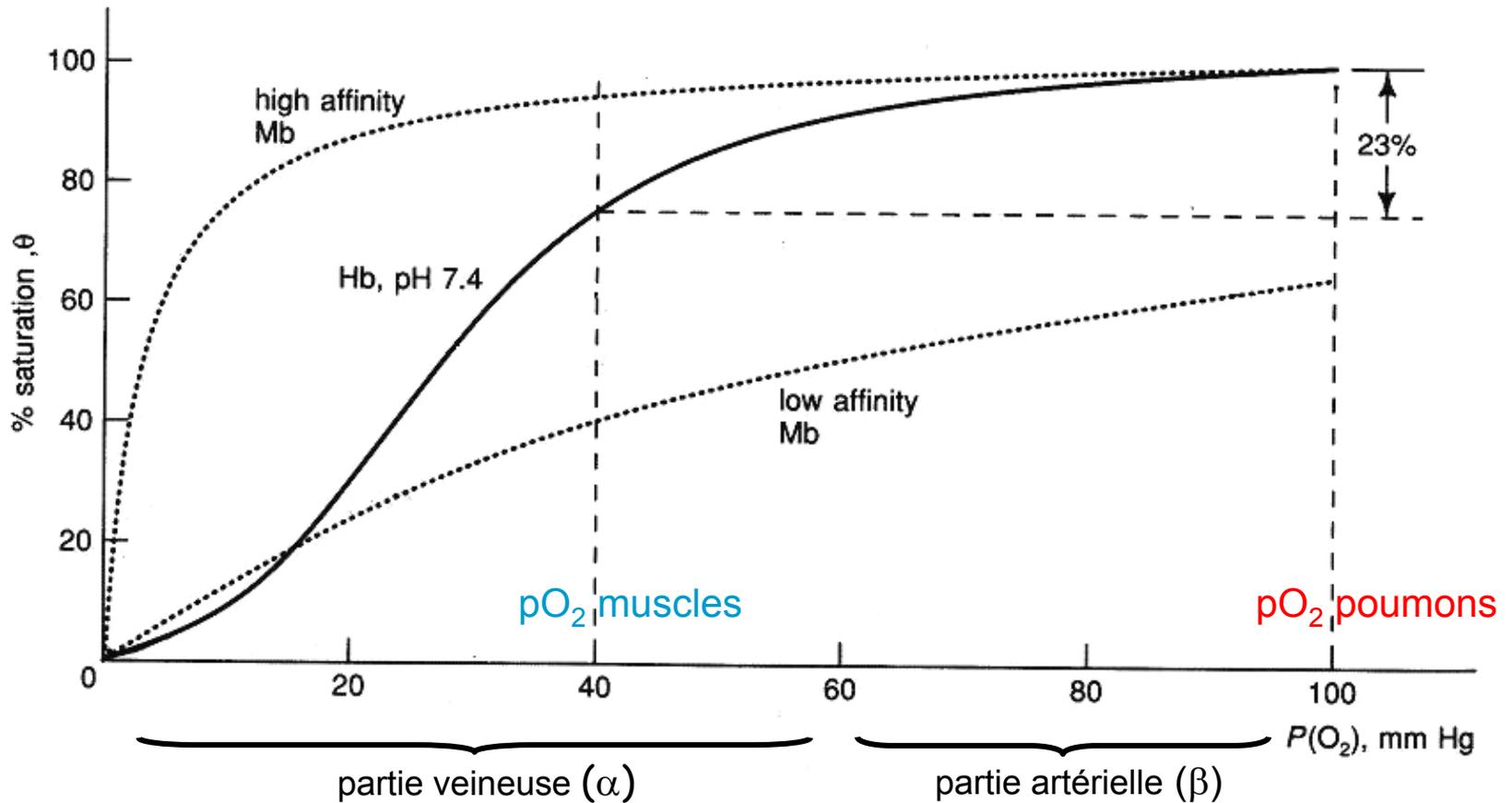
$$\theta = \frac{[MbO_2]}{[Mb] + [MbO_2]} = \frac{KP}{1 + KP}$$

hyperbole



La fixation d'une molécule de  $O_2$  par l'Hb se répercute sur les autres unités qui basculent aussi de T à R. Dans l'état R, la sous-unité a une affinité plus grande pour  $O_2$ , ...

contrôle allostérique positif



Cette forme est très avantageuse sur le plan physiologique :

- sécurité de captation
- rapidité de libération

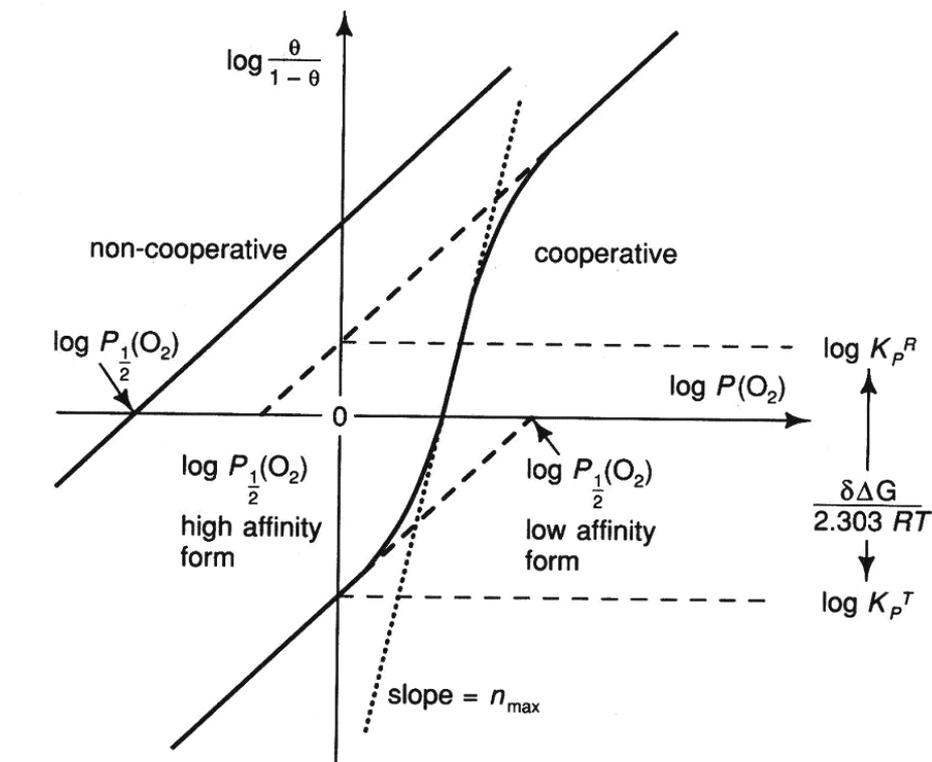
La coopérativité fait de l'hémoglobine un transporteur d'oxygène efficace

# Courbe de Hill

$$\theta = \frac{KP}{1 + KP}$$

Représentation de Hill :

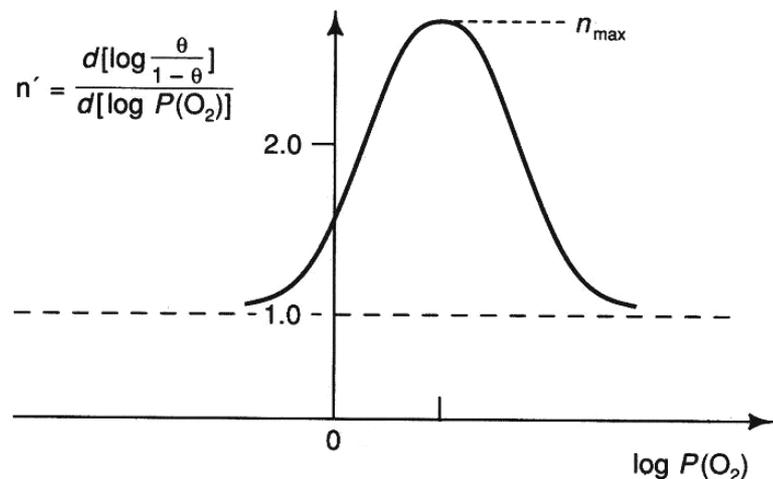
$$\log \frac{\theta}{1 - \theta} = \log KP = \log P - \log P_{1/2}$$



$$\delta\Delta G^0 = -RT \ln \frac{K^T}{K^R}$$

$$\frac{\theta}{1 - \theta} = KP^n$$

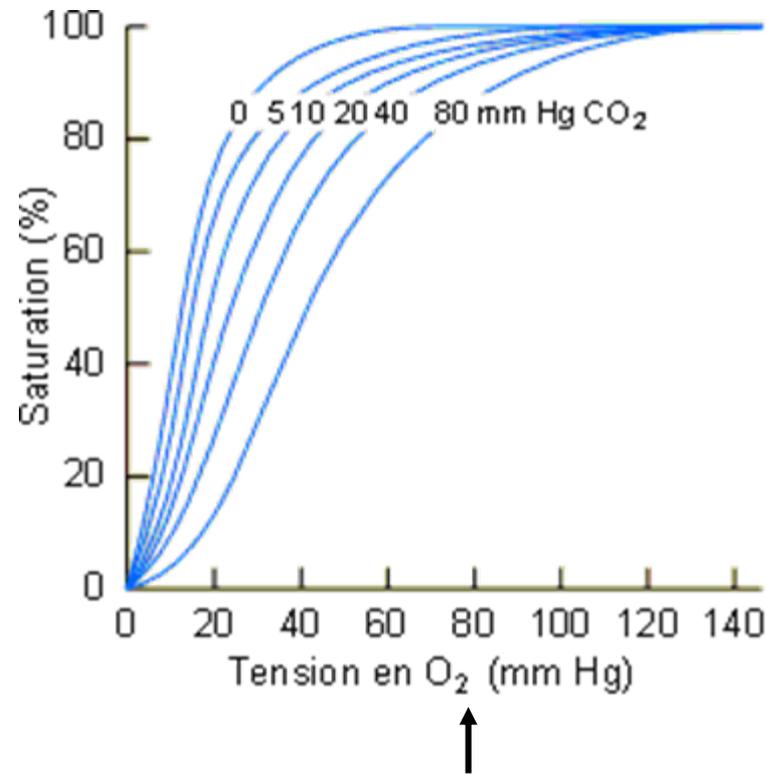
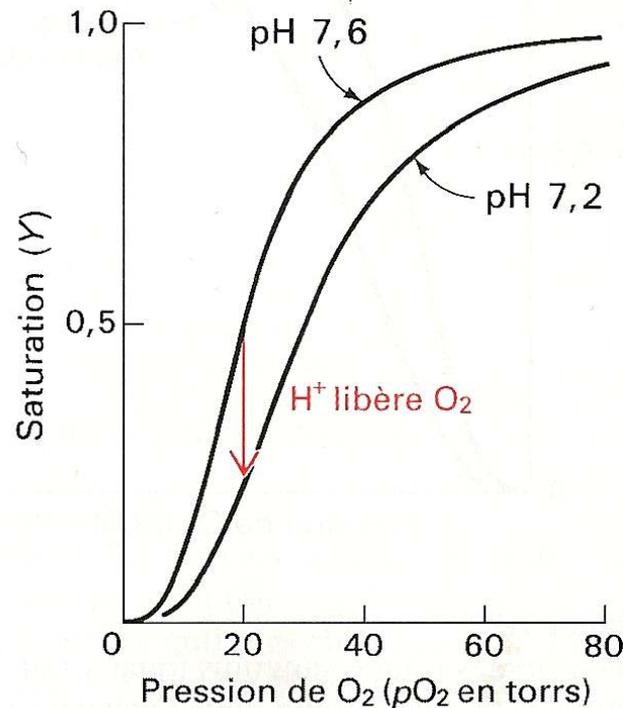
$$\log \frac{\theta}{1 - \theta} = n \log P - \log P_{1/2}$$



property	hemoglobin	hemocyanin	hemerythrin
$P_{1/2}^T$ (torr)	9	45	20
$P_{1/2}^R$ (torr)	0.25	2	2
$\delta(\Delta G)_{\max}$ (kcal/mol)	3	5	1.4
$n_{\text{rep}}$	2.8	4	2

# Effet Bohr

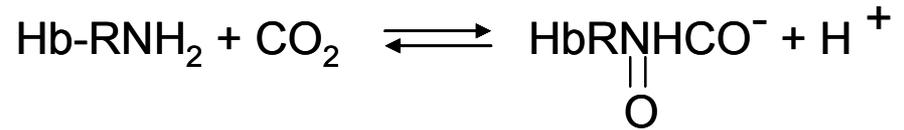
La concentration plus élevée en  $H^+$  ou  $CO_2$  dans les tissus actifs (muscles) active la libération de l'oxygène : effet allostérique négatif (hétérotropique)



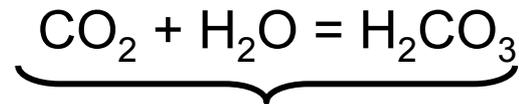
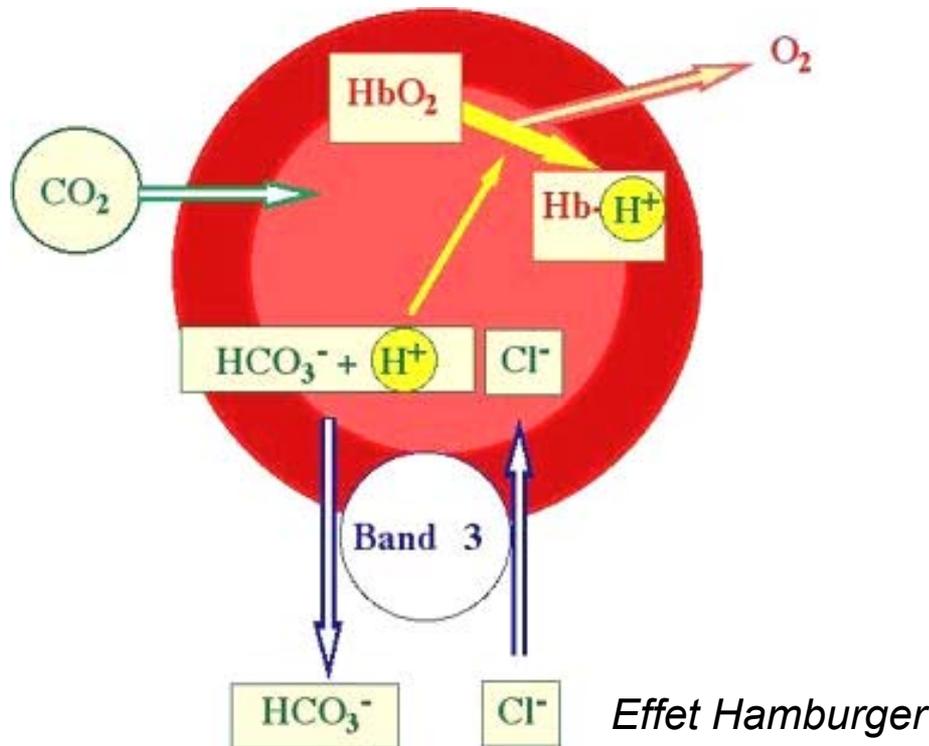
*Reproduction du graphique original de Bohr (1904) concernant l'effet de la  $PCO_2$  sur la courbe de dissociation de l' $O_2$  du sang humain.*

Les globules rouges délivrent  $O_2$  mais aussi contribue à l'évacuation du  $CO_2$  produit par le métabolisme cellulaire.

Le  $CO_2$  forme des carbamates avec les N-terminaux des globines de la déoxy-Hb formant la carbamino-hémoglobine :



La plus grande partie est transportée dissoute dans la circulation sous forme bicarbonate :



très lente dans le plasma.

Catalysée dans l'érythrocyte par l'anhydrase carbonique (voir plus loin).



# 5. Modèles synthétiques

---

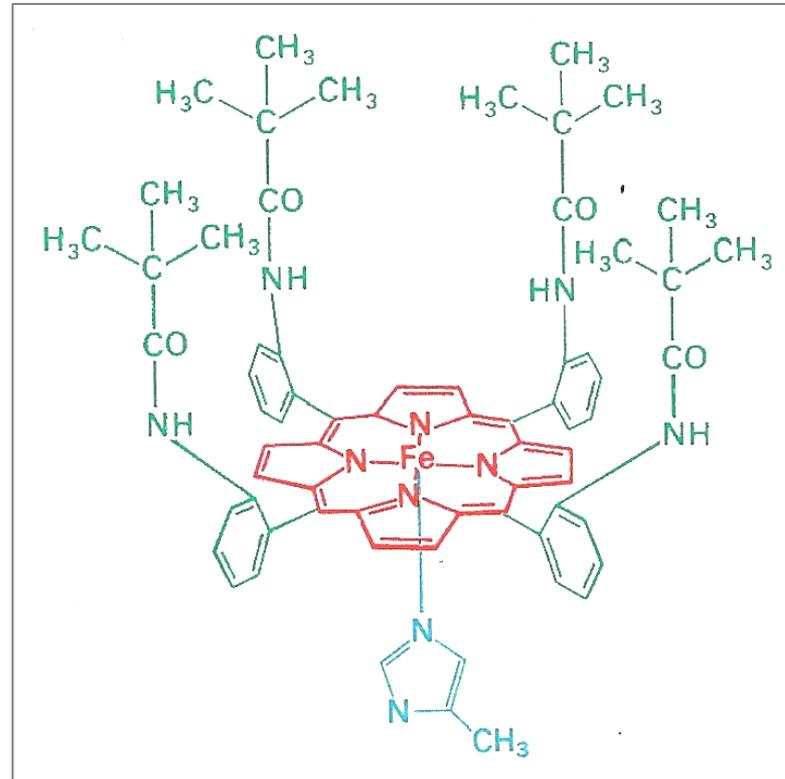
## Pourquoi des modèles synthétiques ?

- Comprendre le fonctionnement des transporteurs d'oxygène
- Comprendre les chemins réactionnels d'oxydation par  $O_2$
- Etude de l'influence de plusieurs paramètres (nature du ligand axial, polarité du site de liaison, contraintes stériques, ...)

## Avantages :

- Espèces bio-inorganiques moins complexes
- Structures cristallines mieux résolues
- Disponibles en + grande quantité et à moindre coût que les homologues naturels

## Modèles synthétiques d'hèmes encombrés : "porphyrines à piquets"



*James Collman, 1978*

Piquets = barrière protectrice qui empêche la formation du dimère  $\mu$ -oxo et stabilise le complexe de Fe(II) oxygéné

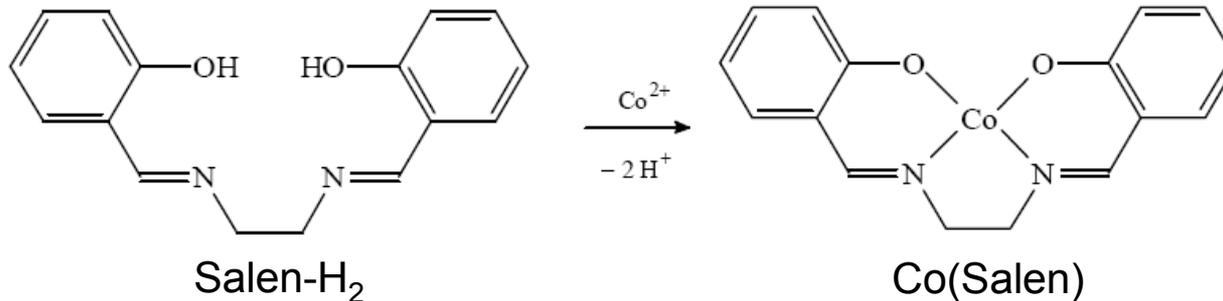
Ces composés peuvent rester en milieu aérobie plusieurs jours sans oxydation

# Modélisation par les complexes de cobalt

Comme l'hème, les complexes de Co(II) réagissent avec  $O_2$ .

En présence d'une base (pyridine ou imidazole qui joue le rôle de ligand axial = F8 de Hb), ces complexes réagissent avec  $O_2$  selon une réaction réversible rapide qui évoque les réactions de Hb ou Mb.

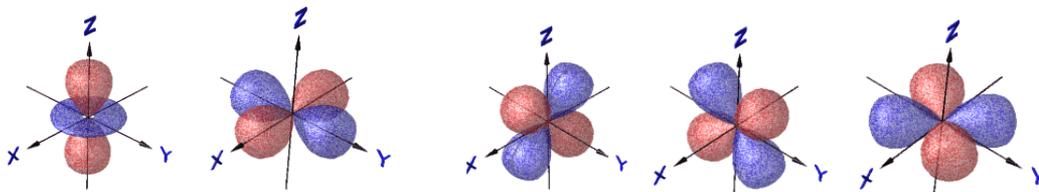
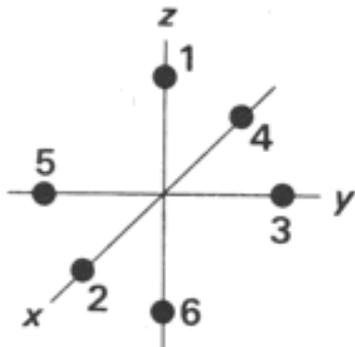
Exemple :



1. Indiquer la géométrie du complexe [Co(salen)] et donner, en utilisant le recouvrement angulaire la levée de dégénérescence des orbitales 3d de l'ion cobalt dans cette géométrie.

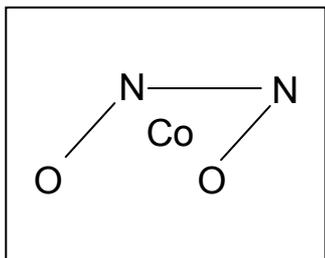
Dans le cas de ce complexe, on a  $\epsilon_\pi > \frac{1}{2} \epsilon_\sigma$ .

2. Ce complexe est-il stable ? (Appliquer la règle des 16/18 électrons)
3. Quelle géométrie va-t-il effectivement adopter en solution ?

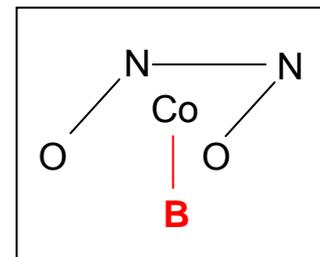
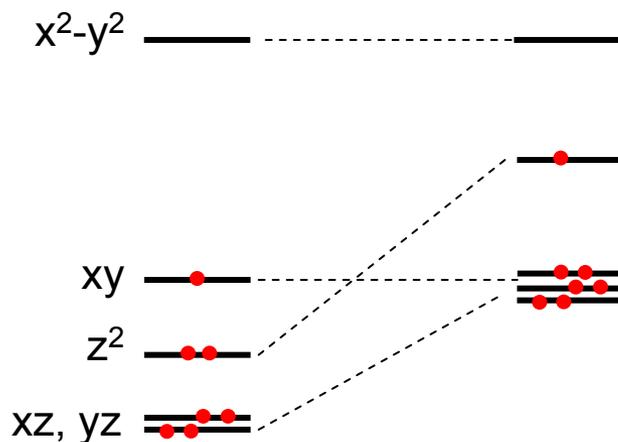


position ligand		OA du métal				
		$z^2$	$x^2-y^2$	$xz$	$yz$	$xy$
contributions $\sigma$	1	1	0	0	0	0
	2	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	0	0	0
	3	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	0	0	0
	4	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	0	0	0
	5	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	0	0	0
	6	1	0	0	0	0
contributions $\pi$	1	0	0	1	1	0
	2	0	0	1	0	1
	3	0	0	0	1	1
	4	0	0	1	0	1
	5	0	0	0	1	1
	6	0	0	1	1	0

	$z^2$	$x^2-y^2$	$xz$	$yz$	$xy$
$\Sigma\sigma_O$					
$\Sigma\pi_O$					
$\Sigma\sigma_N$					
$\Sigma\pi_N$					
$\Sigma\sigma$					
$\Sigma\pi$					



plan carré

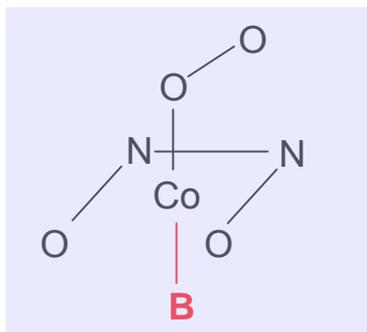
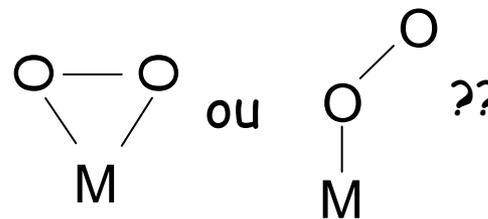


pyramide base carrée

Complexe neutre donc  $Co^{2+}$  donc d7 donc 15 électrons  $\Rightarrow$  instable

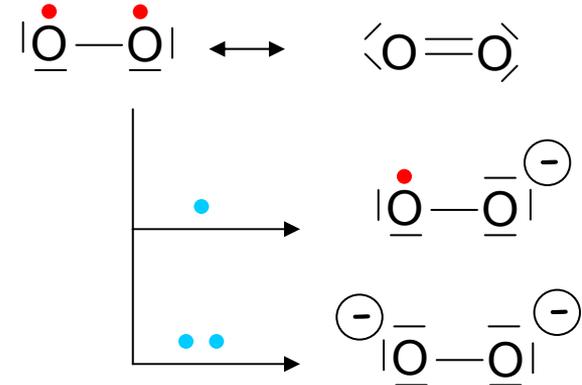
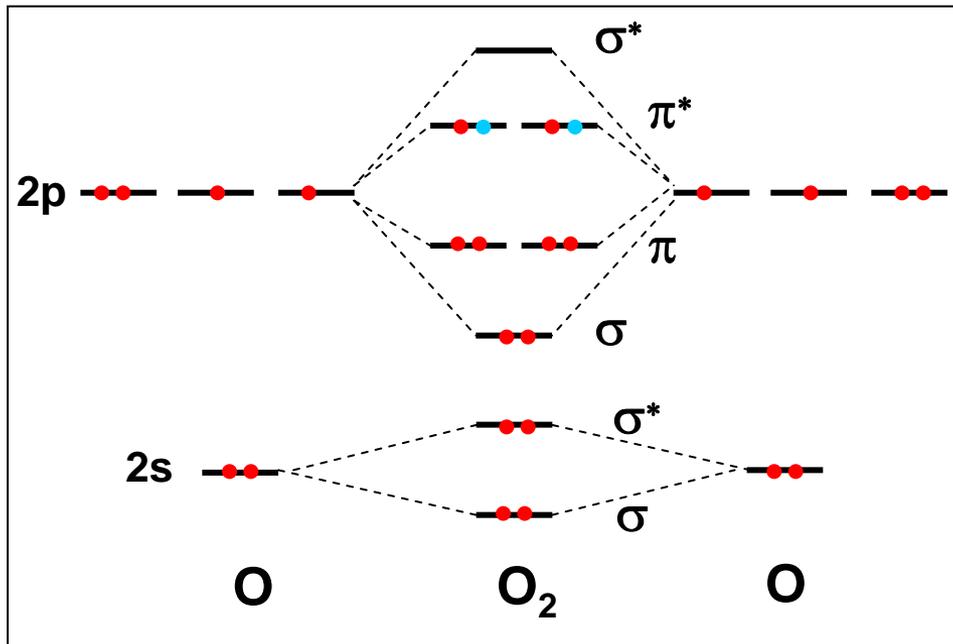
Coordine une molécule de solvant B  $\Rightarrow$   $dz^2$  devient accessible

Quel mode de coordination pour  $O_2$  :



Structure cristalline de  $Co(salen)(DMSO)O_2$   
 $\Rightarrow$  superoxyde, angle  $125^\circ$

# L'oxygène et ses dérivés



Composé		O-O(Å)	$\nu_{\text{O-O}}$ (cm <sup>-1</sup> )	Ordre de liaison
O <sub>2</sub>	O=O	1.21	1580	2
O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	superoxyde	1.34	1100	1.5
O <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	peroxyde	1.49	800	1

Oxyde, superoxyde, peroxyde sont des formules limites. Difficile de savoir si le transfert d'électron vers O<sub>2</sub> est complet. On mesure la longueur O-O pour savoir où on se situe entre les représentations hypothétiques extrêmes.

# III - Catalyse acide

---

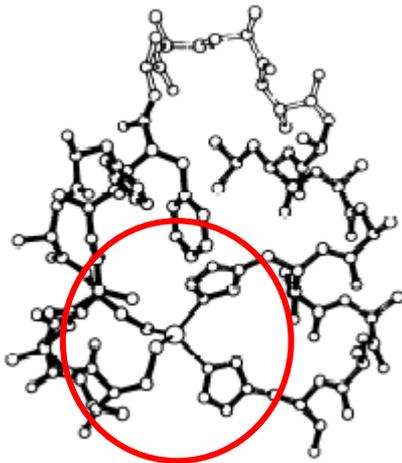
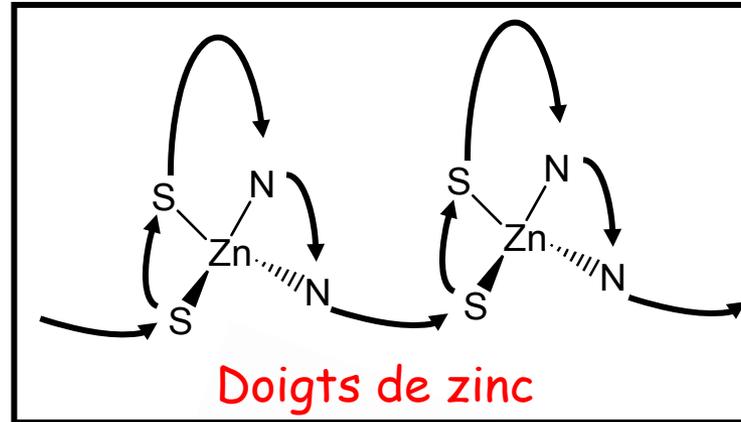
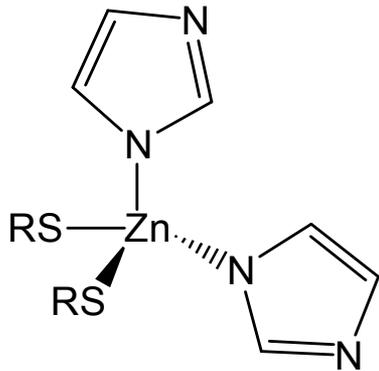
## Enzymes à zinc

### Caractéristiques particulières du Zn

- Plus présent que Ni, Cd, Cu
- Plus fortement complexé que Mn(II), Fe(II)
- Echange de ligands plus rapide que Ni(II), Mg(II)
- Pas d'activité redox comme Cu(II), Fe(II), Mn(II)
- Géométrie de coordination plus flexible que Ni(II), Mg(II)
- Bon acide de Lewis : parmi les ions M(II), seul  $\text{Cu}^{2+}$  est plus fort

# Rôle structural du zinc

## Repliement des protéines



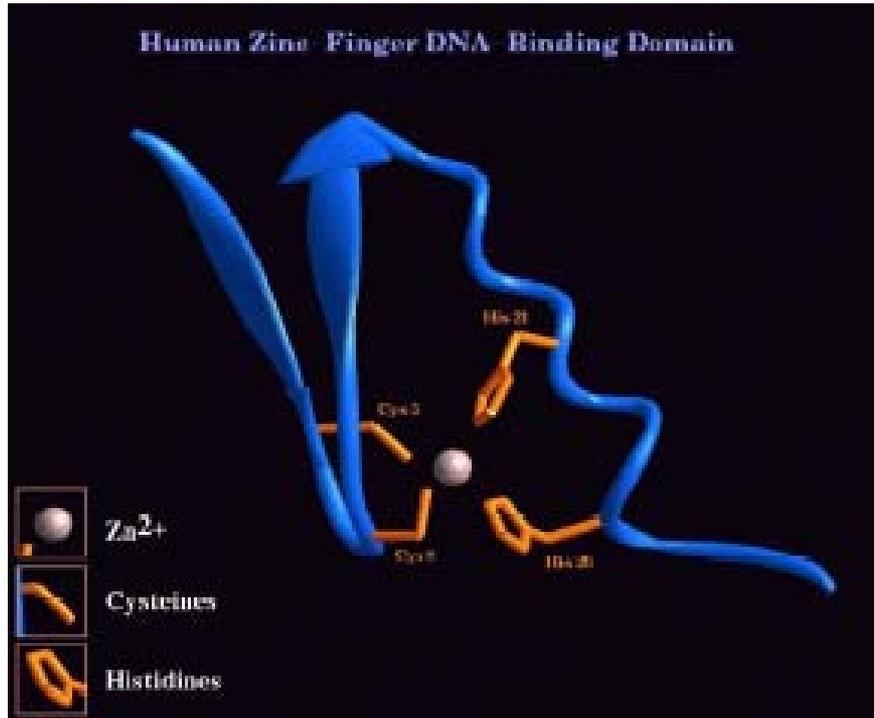
Séquences répétées de :

2 Cys, 2 His, 1 Zn en coordination tétraédrique

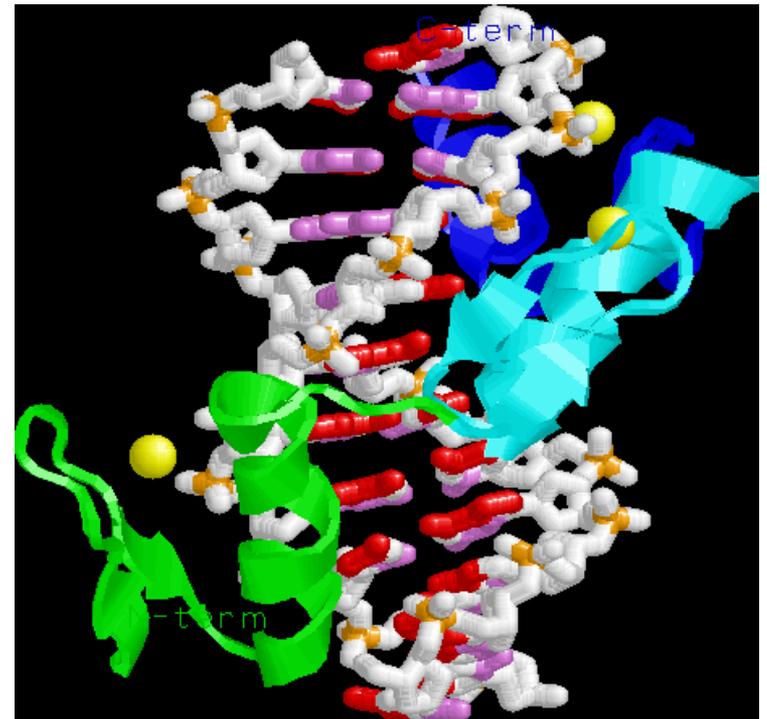
→ Sites de repliement

Ponte les chaînes peptidiques à la manière d'un disulfure,  
moins sensible à l'environnement réducteur de la cellule

## Doigts de zinc facteurs de transcription de l'ADN

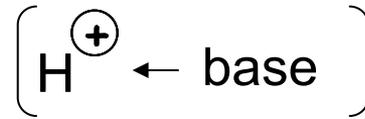
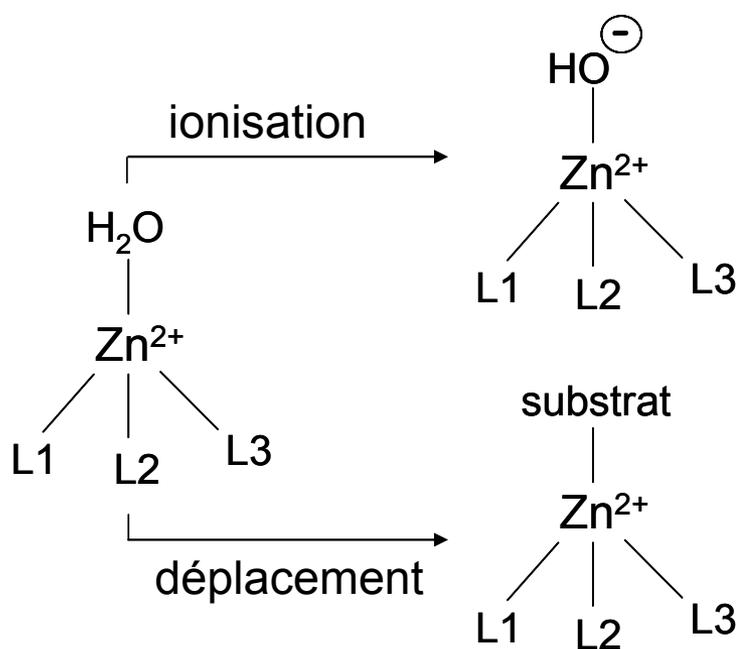


*Protéines à doigts de zinc, découvertes en 1985,  
Elles reconnaissent certaines séquences ADN,  
Rôle clé dans la transcription ADN → ARN.*

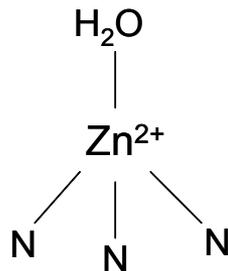


3 doigts de zinc dans le grand sillon  
reconnaissent 3 pb chacun

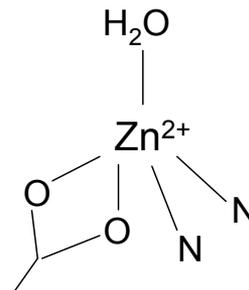
# Rôle catalytique du zinc (catalyse acide)



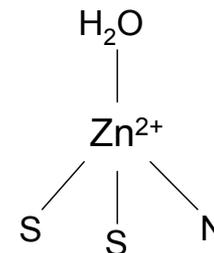
Enzyme	Ligand1	Ligand2	Ligand3	Ligand4
Anhydrase Carbonique	His	His	His	$H_2O$
Carboxypeptidase	His	Glu	His	$H_2O$
Alcool Déshydrogénase	Cys	His	Cys	$H_2O$



**Anhydrase Carbonique**

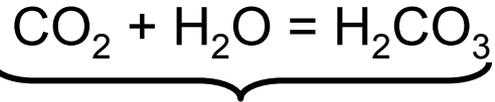


**Carboxypeptidase**



**Alcool Déshydrogénase**

# Anhydrase Carbonique



très lente dans le plasma

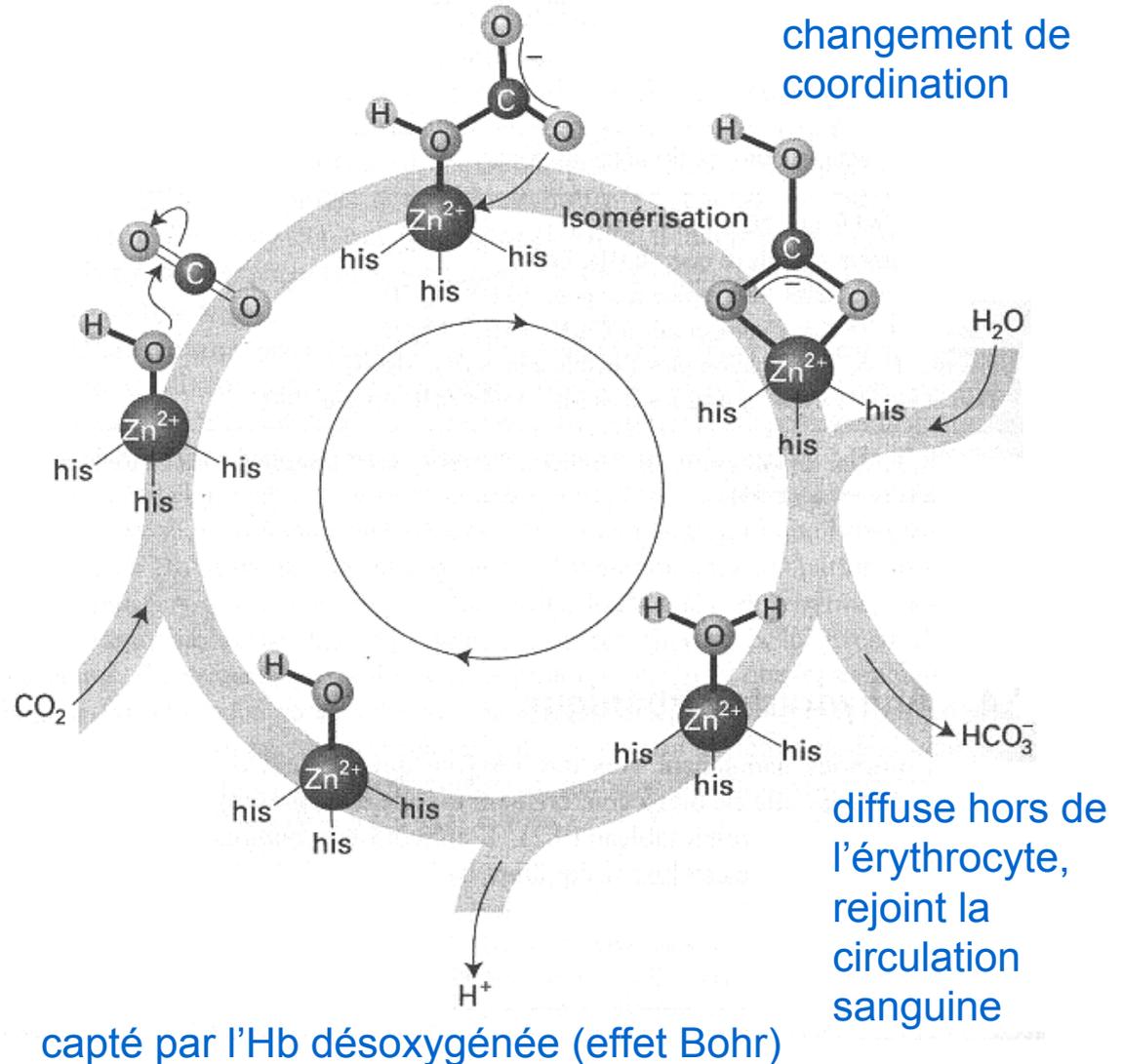
$$[\text{CO}_2] = 400 - 1000 \times [\text{H}_2\text{CO}_3]$$

Dans les globules rouges :

⇒ vitesse × 10<sup>7</sup>



spontanée au pH physiologique



# IV - Catalyse redox

## 1 - Gestion de l'oxygène.

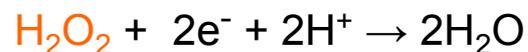
### 1.1 Espèces ROS

O<sub>2</sub> accepteur final d'électrons : combien d'électrons pour la réduction en H<sub>2</sub>O ?



$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$	<i>superoxyde</i>	étape endothermique non spontanée nécessitant une enzyme : <b>oxydase</b>	E <sup>0</sup> = - 0.33V
$O_2^{\cdot-} + e^- (+ 2H^+) \rightarrow \text{"}O_2^{2-}\text{" (H}_2O_2)$		spontanée catalysée par <b>SOD</b>	E <sup>0</sup> = + 0.89V
$H_2O_2 + e^- (+ H^+) \rightarrow \cdot OH + OH^- (+ H^+)$		spontanée catalysée par <b>catalase</b>	E <sup>0</sup> = + 0.38V
$\cdot OH + e^- (+ H^+) \rightarrow H_2O$			E <sup>0</sup> = + 2.31V

- L'oxygène est inerte dans les conditions biologiques
- Le superoxyde est un piètre oxydant mais un bon réducteur !
- En solution on ne distingue pas le processus à 1 ou 2 électrons



- Produits libérés toxiques pour la cellule ⇒ enzymes de détoxification

## 1.2 Détoxification

O<sub>2</sub>  
triplet



O<sub>2</sub><sup>•-</sup>  
doublet

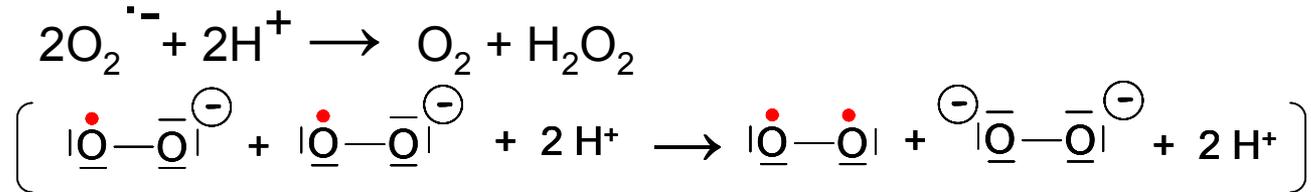


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
singulet



•OH

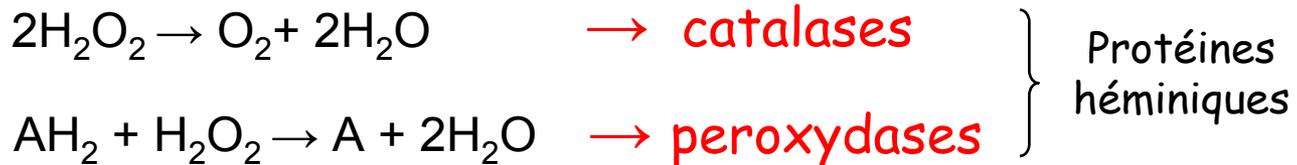
### Dismutation du radical superoxyde :



endothermique : non spontanée → superoxyde dismutases

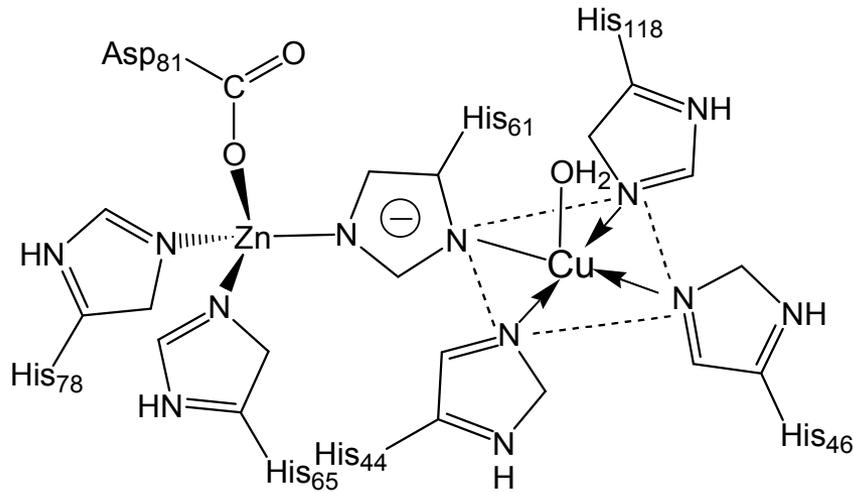
{ Protéines non hémiques :  
- monométalliques Fe ou Mn  
- dimétalliques Cu-Zn

### Conversion du peroxyde d'hydrogène :

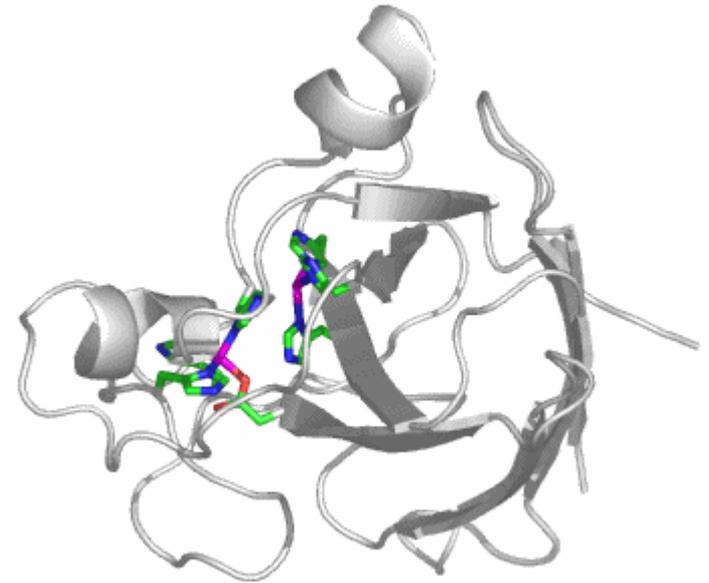


Pas de défense enzymatique  
Mais très courte durée de vie (ns?)

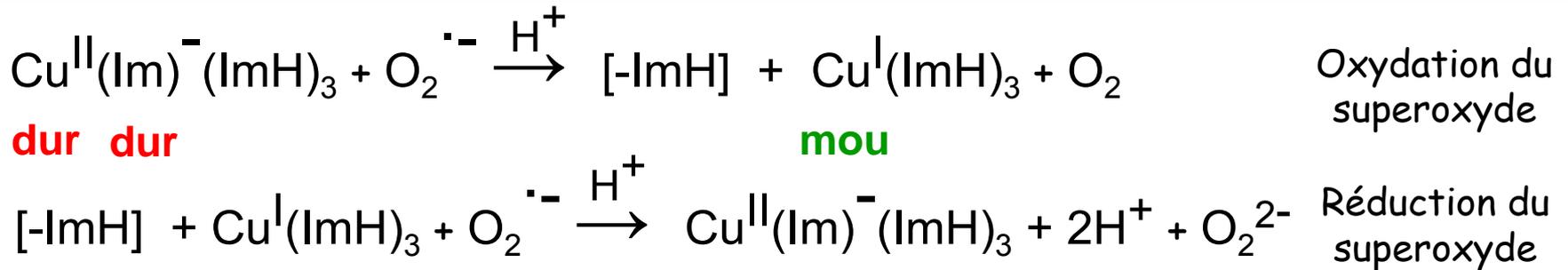
# Site actif de la superoxyde dismutase (SOD) de bovin



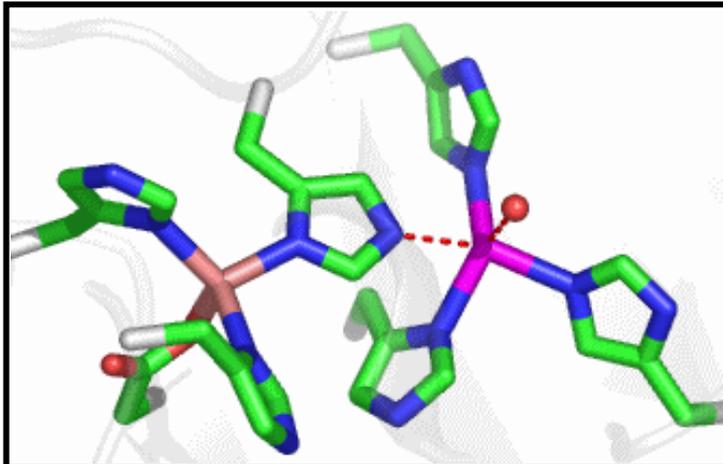
*Seul Cu a une activité redox*



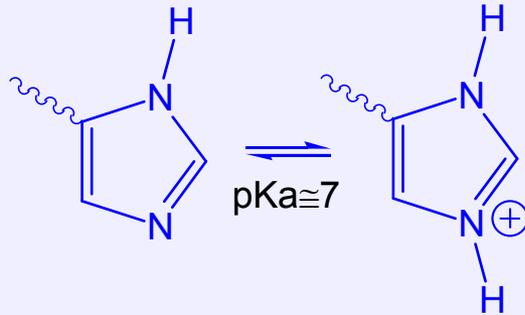
*Protéine à cuivre pas bleue 32kDa*



**Synergie entre le transfert d'électron et caractère dur et mou du métal  
+ transfert de proton par l'imidazole**

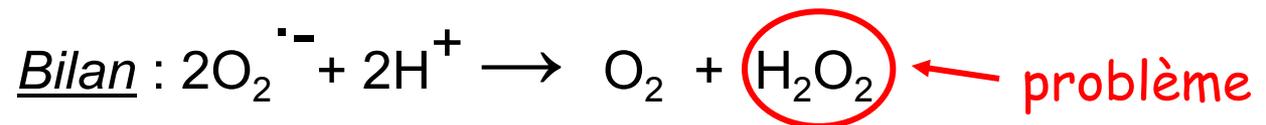
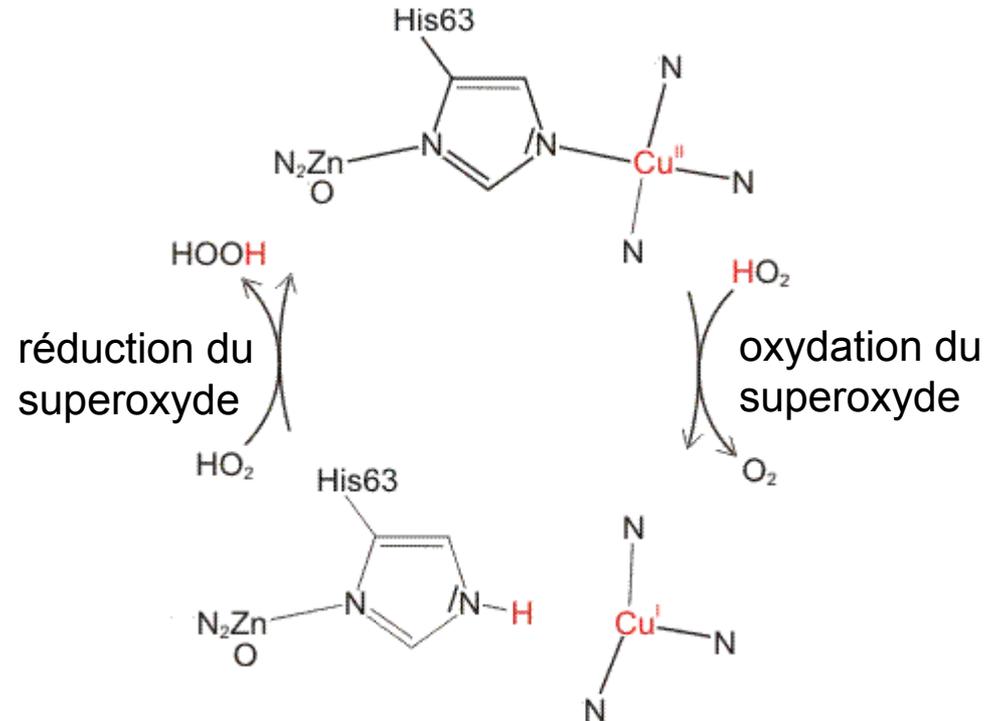


Catalyse acide-base pour l'aller-retour du proton = imidazole (histidine)



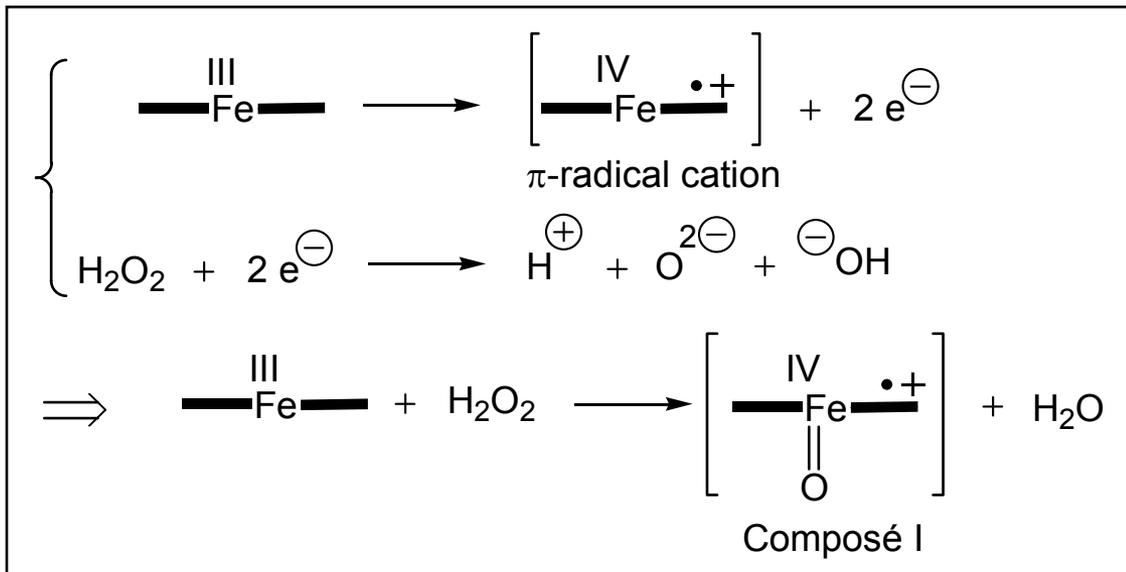
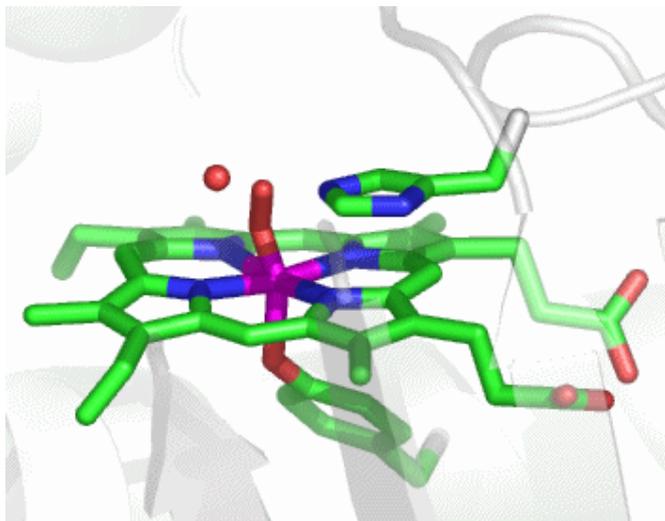
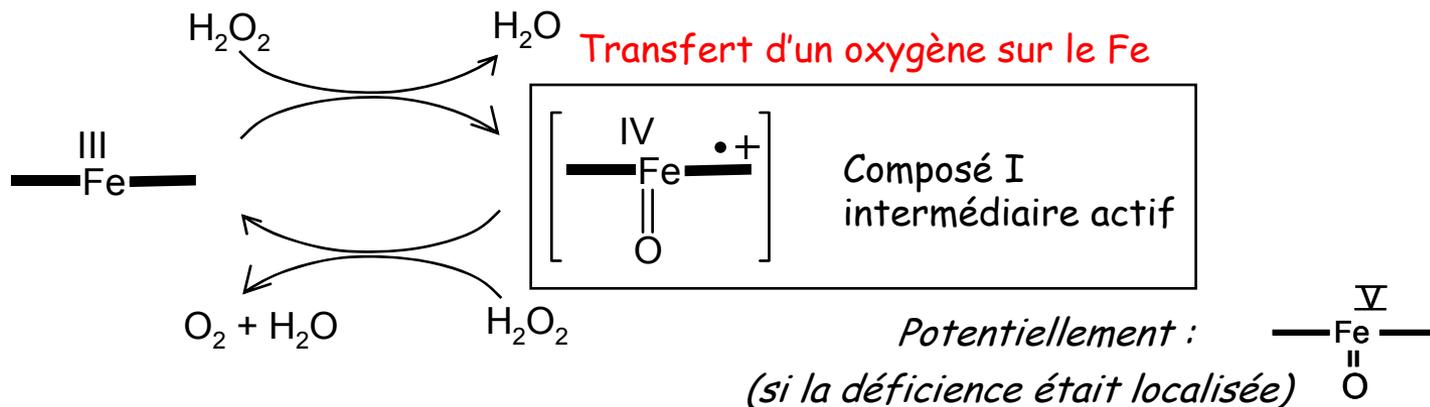
En équilibre acido-basique au pH physiologique

### Schéma du mécanisme :

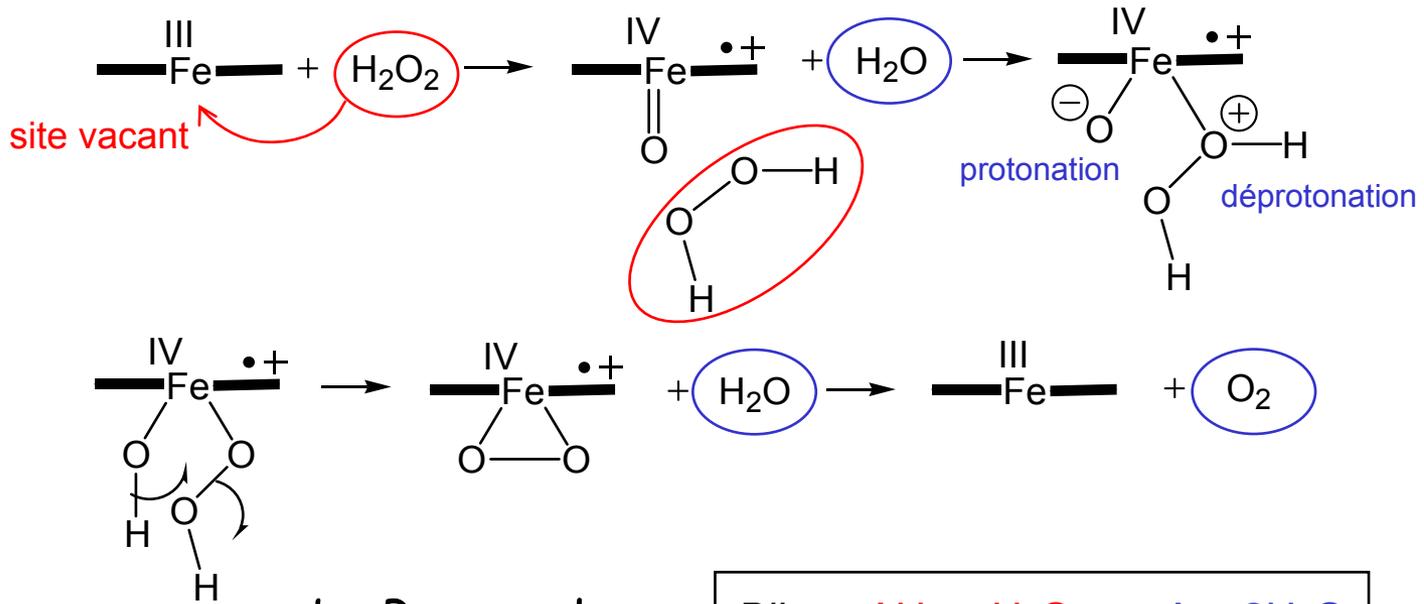
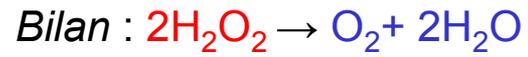


# Elimination de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

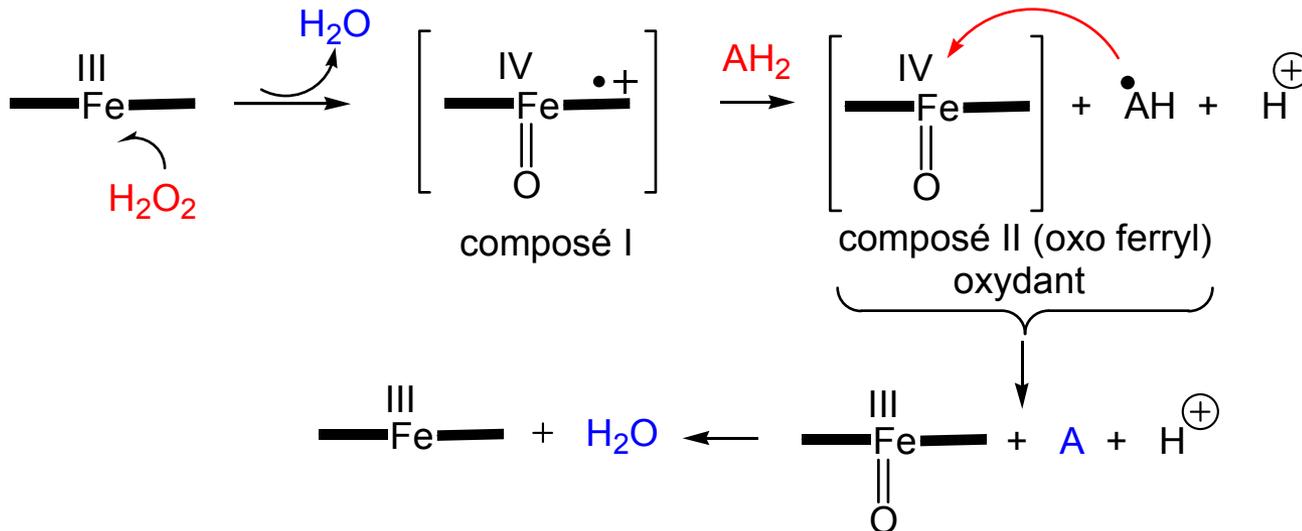
Une porphyrine de fer<sup>III</sup>  
fait un radical cation :



a- Catalase :



b- Peroxydase :



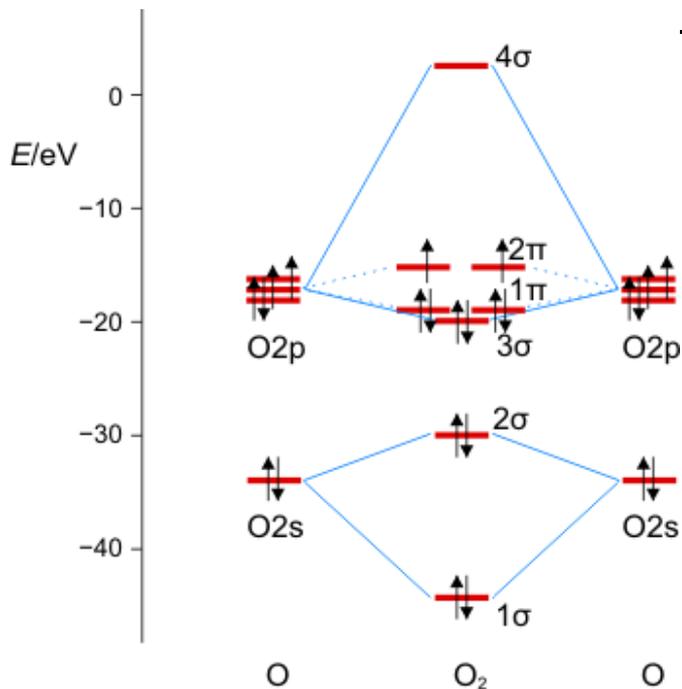
# 1.3. Activation de l'oxydation

Les réactions d'oxydation des substrats organiques sont thermodynamiquement favorables

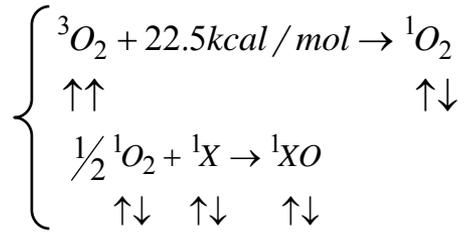
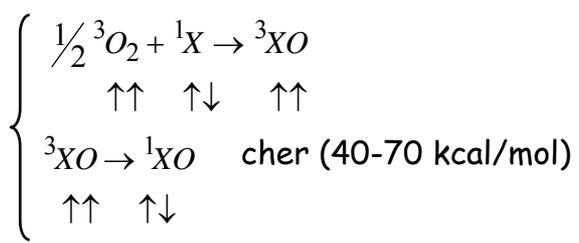
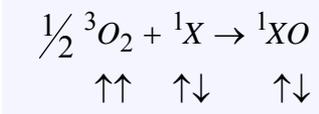
Réaction (phase gazeuse)	$\Delta H$ (kcal/mol)
$\text{CH}_4 + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{OH}$	- 30
$\text{C}_6\text{H}_6 + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	- 43
$\text{C}_6\text{H}_6\text{OH} + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	- 42
$\text{C}_2\text{H}_4 + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{C}_2\text{H}_4\text{O}$	- 25
$\text{C}_5\text{H}_5\text{N} + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{C}_5\text{H}_5\text{NO}$	- 13
$\text{H}_2 + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	- 58

Pourtant, en l'absence de catalyseur, les réactions de  $\text{O}_2$  avec les substrats organiques sont très lentes

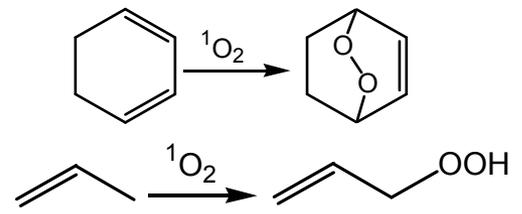
Barrière cinétique :



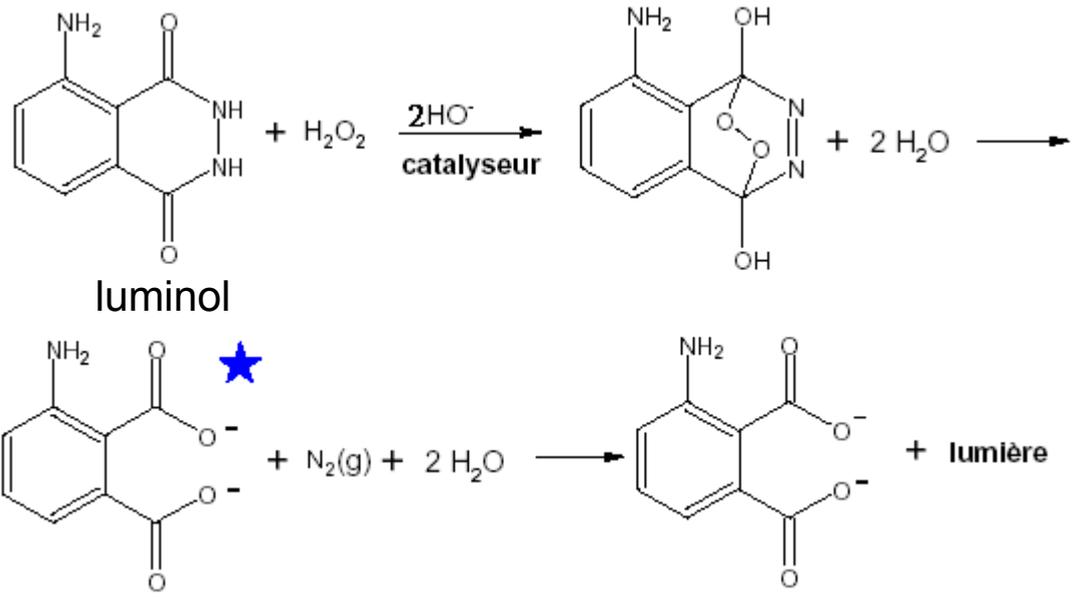
*L'état fondamental est un triplet de spin*



De plus, l'oxygène singulet présente une réactivité particulière :



Qui peut être mise à profit ...

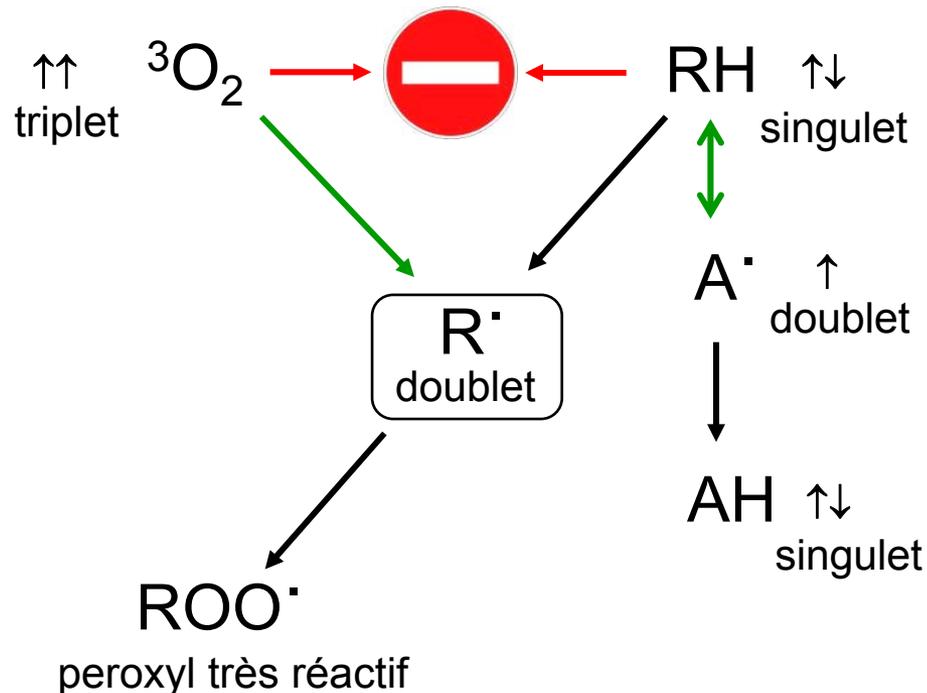


Chimiluminescence

# Les règles de restriction de spin (Wigner 1929)

1. Les singulets (molécules à électrons appariés) réagissent aisément (sauf interdiction thermodynamique) avec les doublets (radicaux libres, 1 électron non apparié), mais leur réaction avec les triplets est interdite.
2. Les doublets réagissent généralement plus lentement entre eux.
3. Les doublets réagissent lentement avec les triplets.

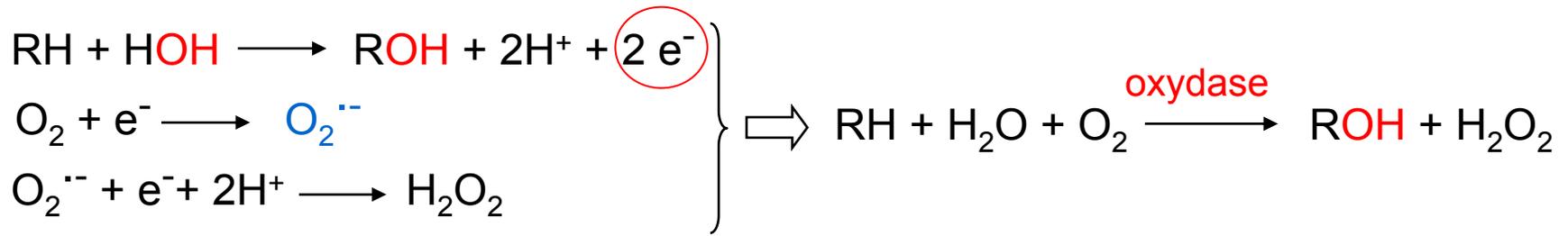
Voie simple de contournement :  
intervention d'un radical qui transforme RH en doublet



## Deux mécanismes de contournement de l'interdiction de spin

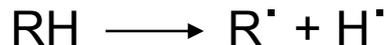
### 1. Modifier O<sub>2</sub> : Réduction de O<sub>2</sub> en doublet par des oxydases

L'oxydase permet une fixation du groupement hydroxyle OH d'une molécule H<sub>2</sub>O sur un substrat R, avec formation d'anion superoxyde.



### 2. Modification du substrat : Transformation du substrat en doublet par des déshydrogénases ou oxygénases

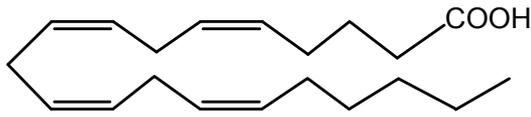
Le substrat activé peut réagir avec le dioxygène O<sup>•</sup>-O et former des espèces réactives



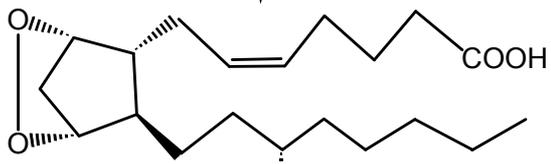
Les oxydases et les oxygénases sont des enzymes dont le site actif est un métal de transition (Fe, Cu, Mo, ...)

# Cyclooxygénase (COX)

Acide arachidonique :

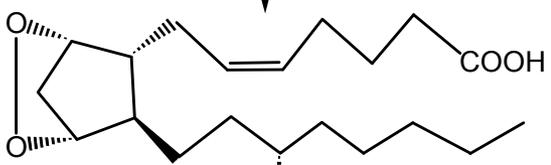


+ 2O<sub>2</sub> **Cyclooxygénase**



endoperoxyde

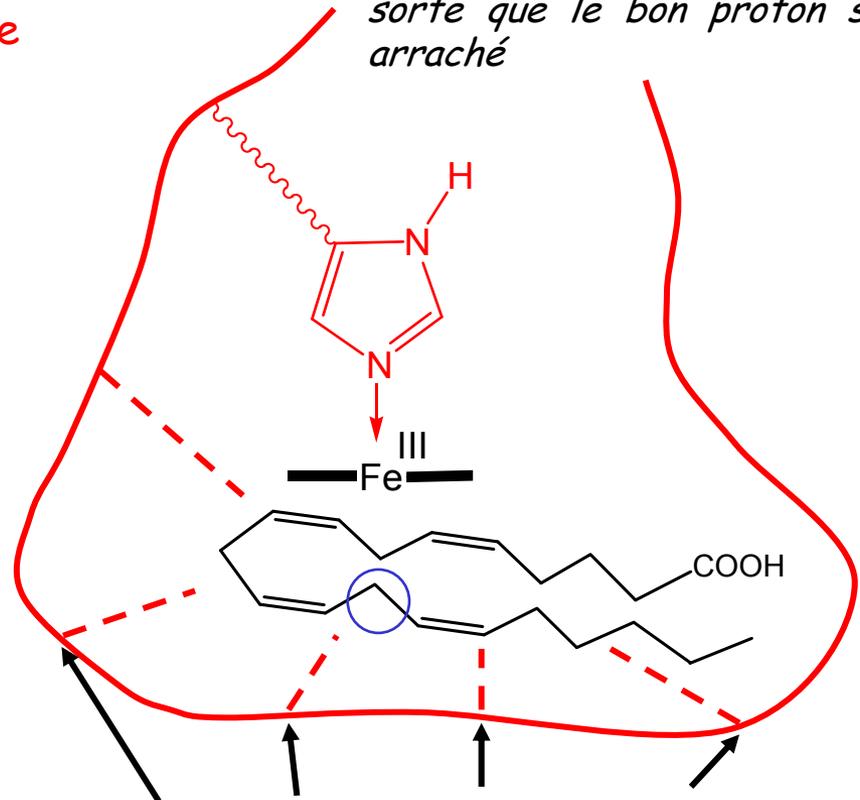
hydroperoxyde OOH **Peroxydase**



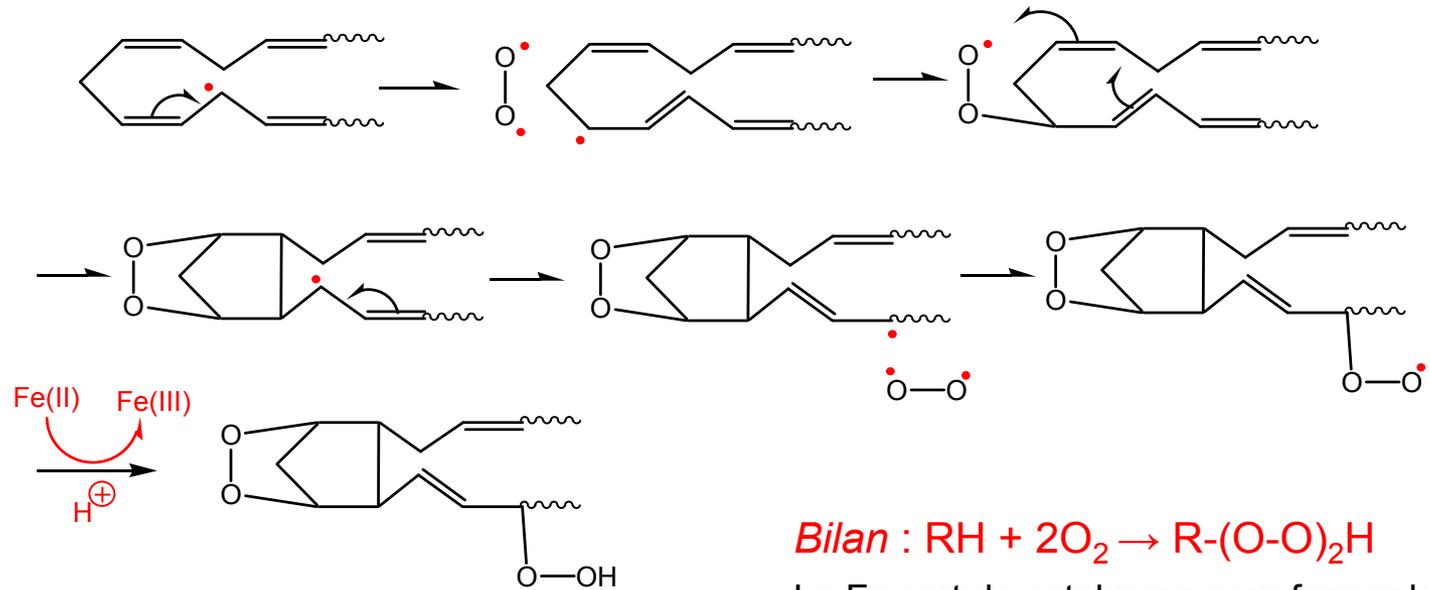
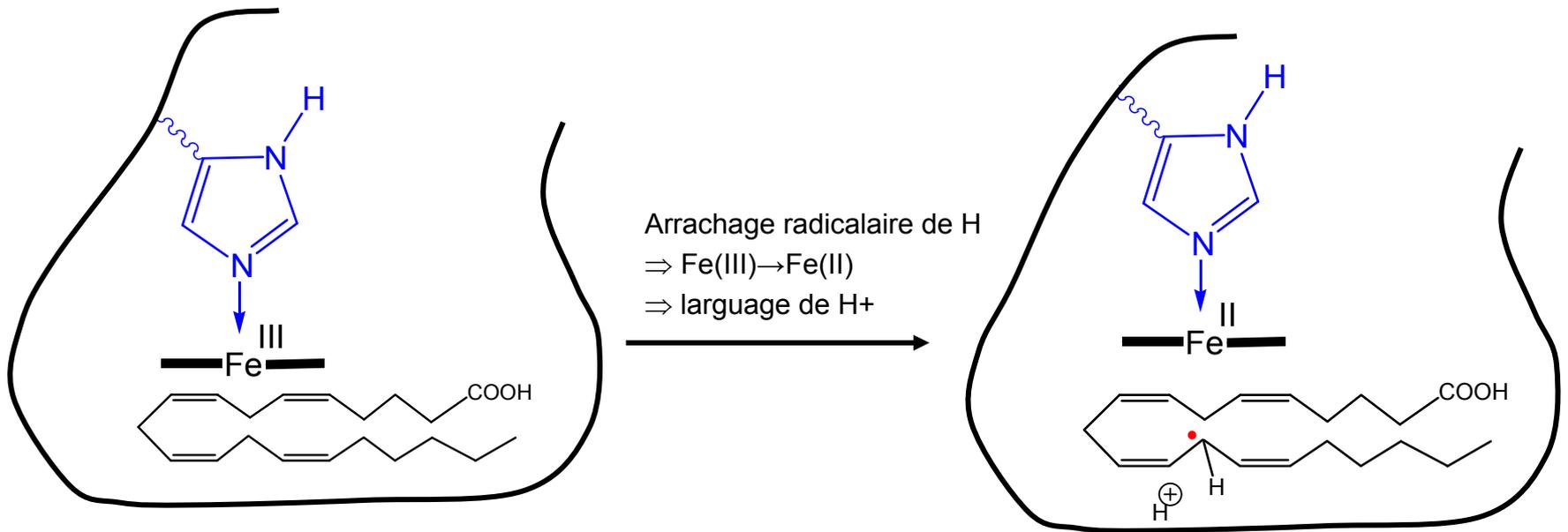
prostaglandines

**Protéine hémique :**  
**Porphyrine de Fe(III)**

*Positionnement dans le site de sorte que le bon proton soit arraché*



5 protons allyliques ⇒ 5 centres dont la stéréochimie doit être assurée par la reconnaissance du substrat sur la protéine



Le Fe sert de catalyseur pour former le radical puis autoxydation

# Cytochrome-P450, CYP

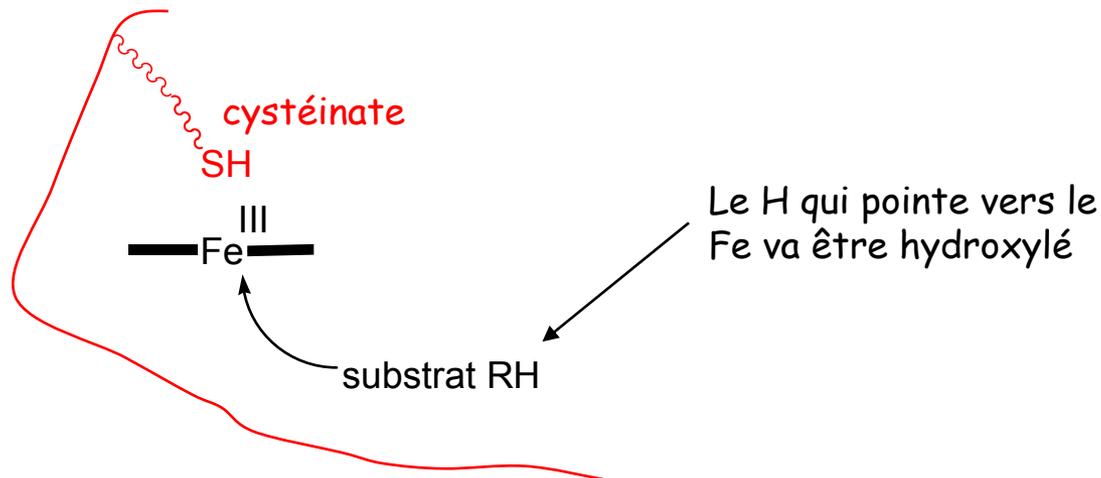
Vaste famille d'enzymes hémiques

Mono-oxygénase : 1 des O est inséré sur le substrat, l'autre est réduit en eau



Les mono-oxygénases peuvent oxyder même les alcanes.

Les composés oxydés peuvent se coupler avec des molécules hydrosolubles  $\Rightarrow$  élimination



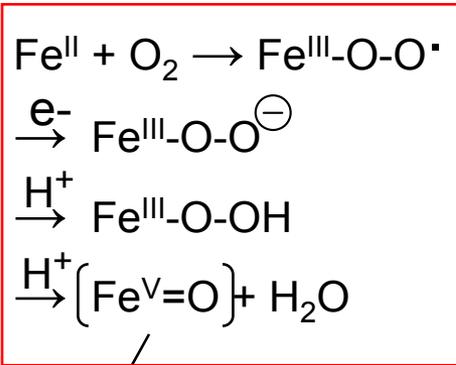
Rôle du métal : transformer la molécule d'O<sub>2</sub> en une espèce hautement réactive capable de réagir avec une grande variété de substances organiques.

L'enzyme native existe sous les 2 formes  $\lambda=420\text{ nm}$  (essentiellement BS)

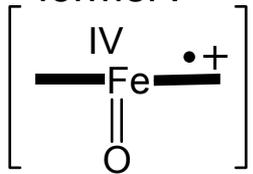
**Bas spin**

**Haut spin**

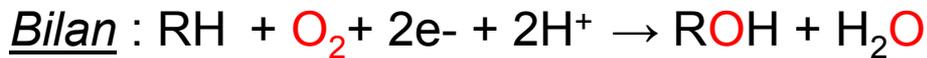
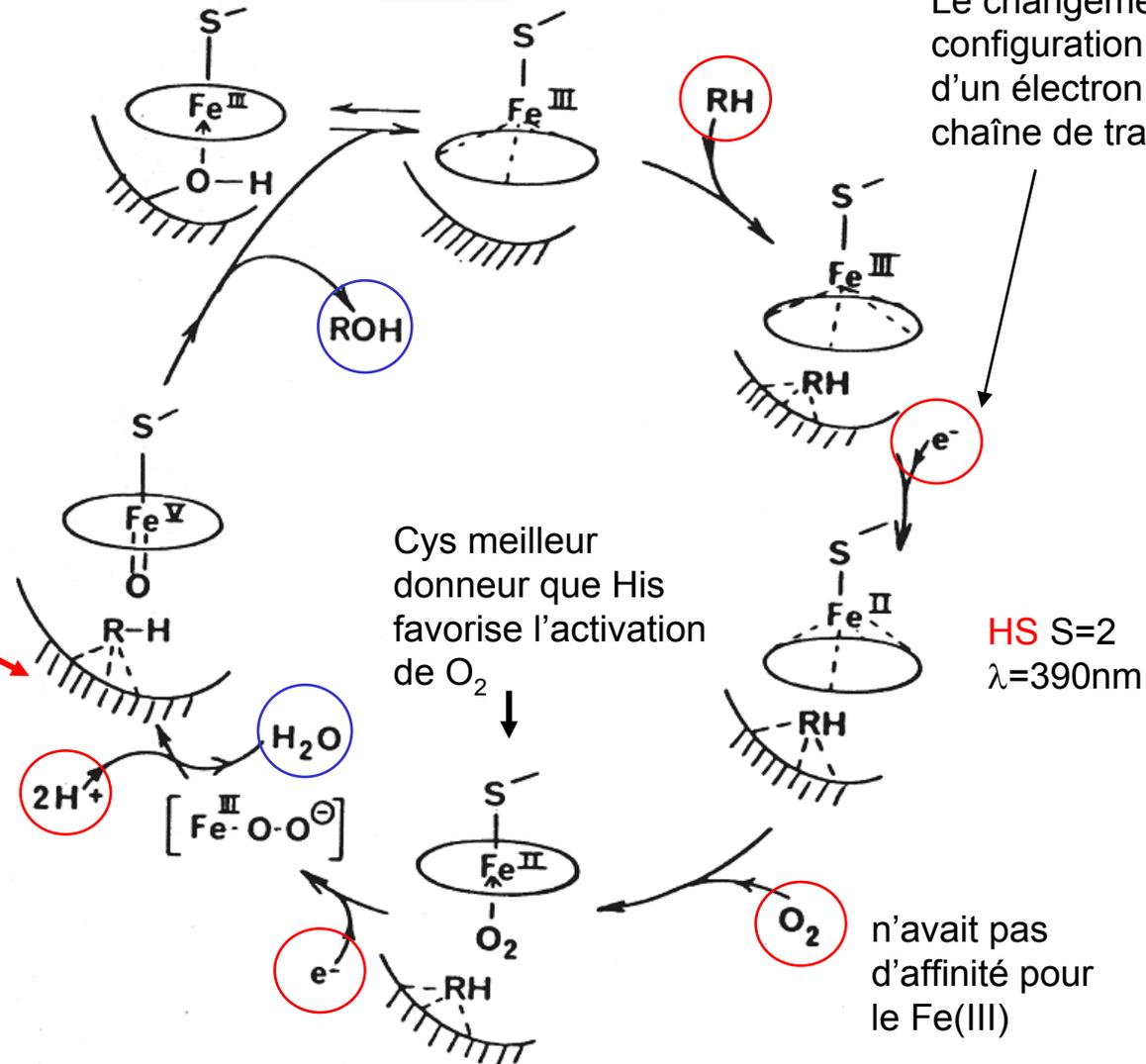
Le changement de configuration active l'arrivée d'un électron depuis une chaîne de transfert



formel :



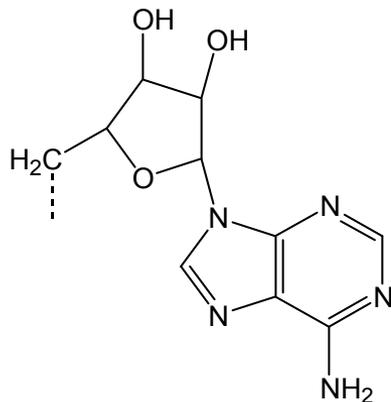
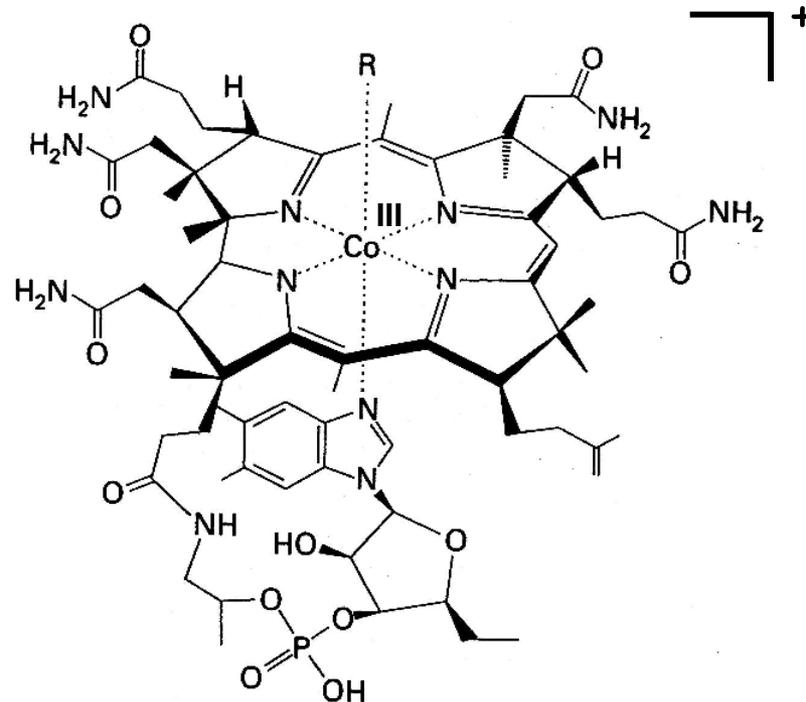
Composé I



## 2. D'autres systèmes redox

### 2.1 Cobalamine - Cycle Corrine

*Le seul organométallique naturel*



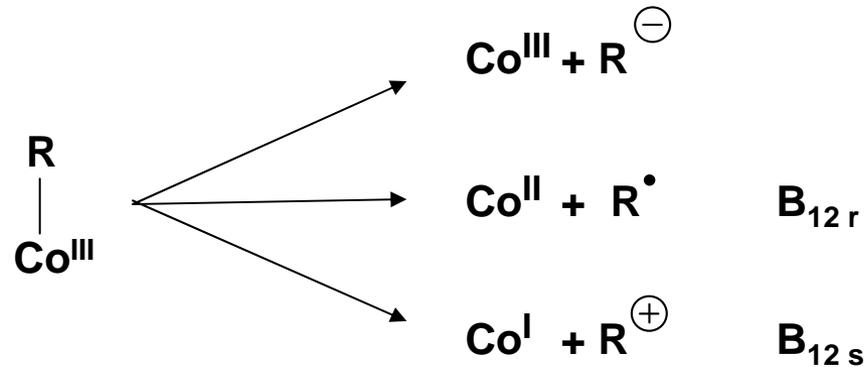
R = - CN Cyanocobalamine = Vitamine B12

R = - CH<sub>3</sub> Méthylcobalamine

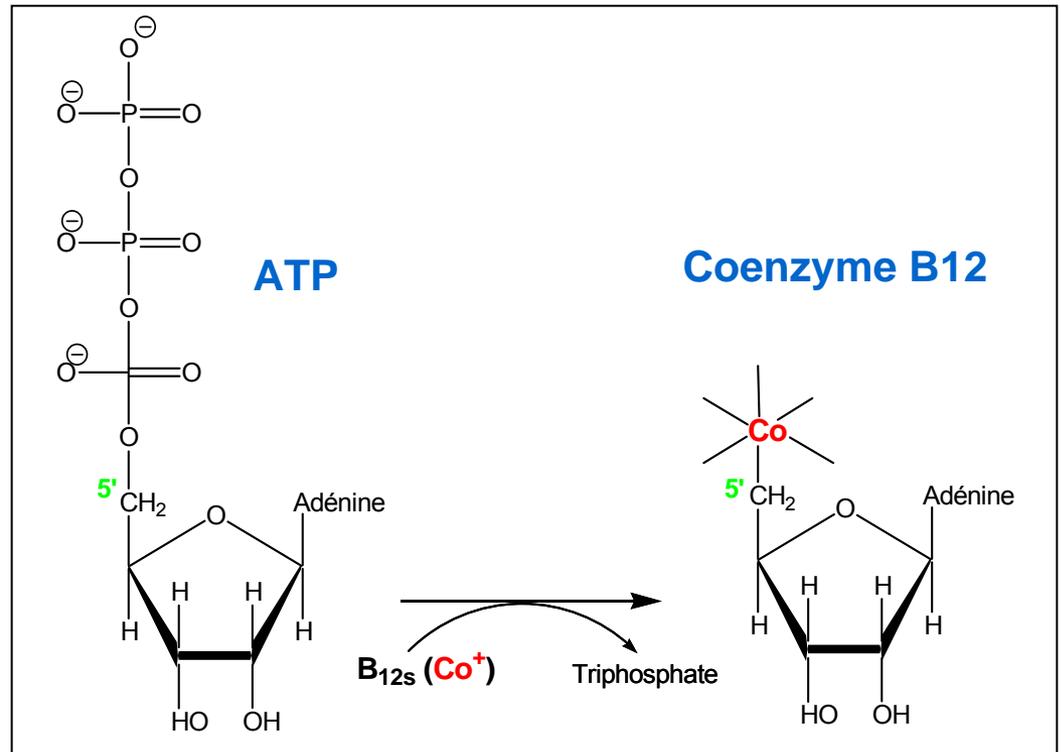
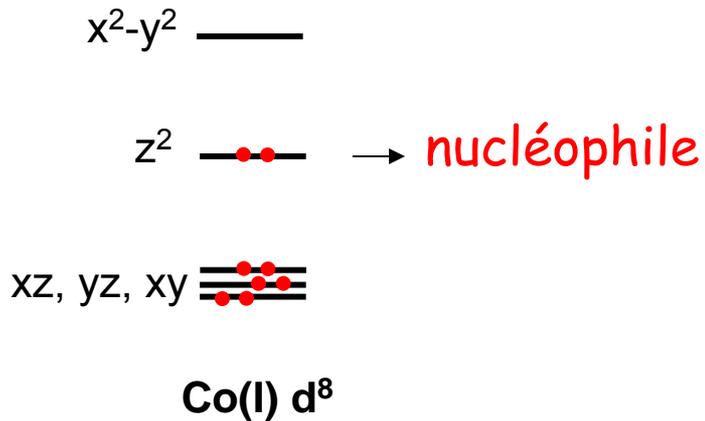
R = - OH Hydroxocobalamin

← = R Adénosylcobalamine = Coenzyme B12

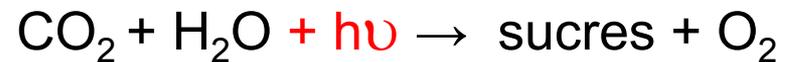
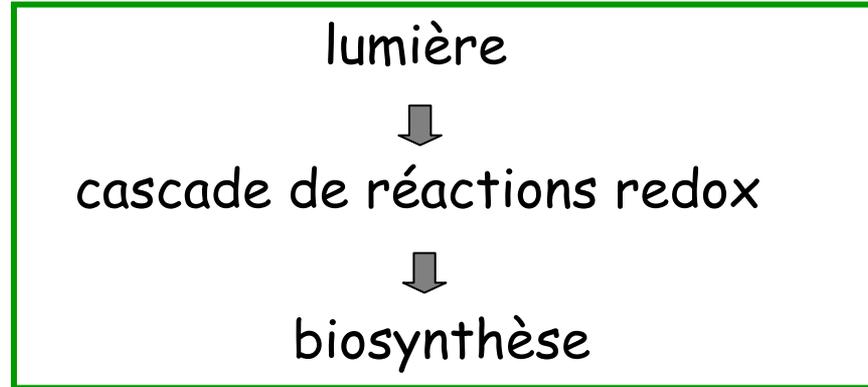
Le cobalt peut prendre 3 états d'oxydation :



$\text{B}_{12s}$  est un nucléophile puissant :



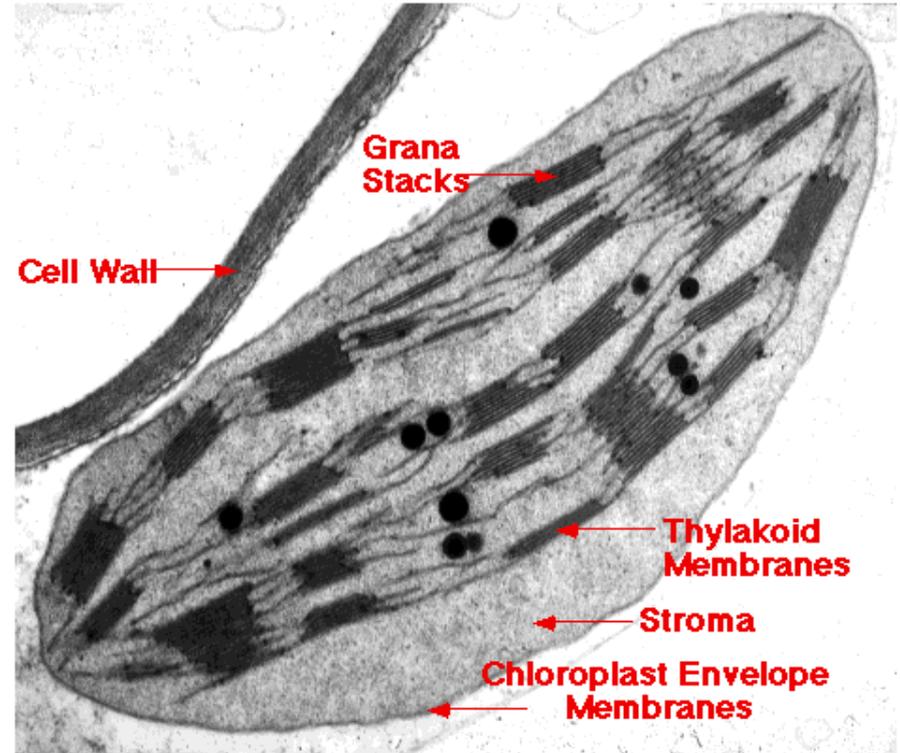
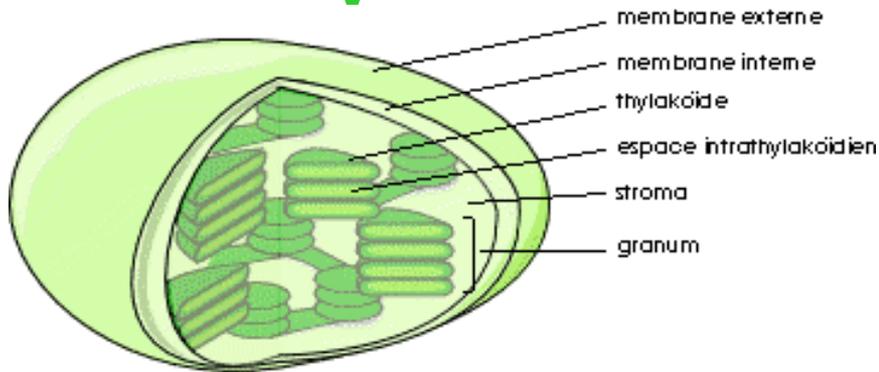
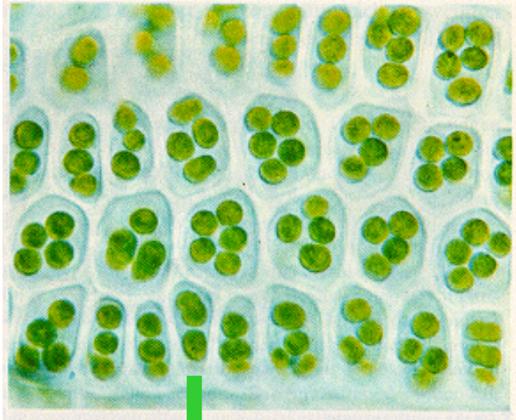
## 2.2 Photosynthèse



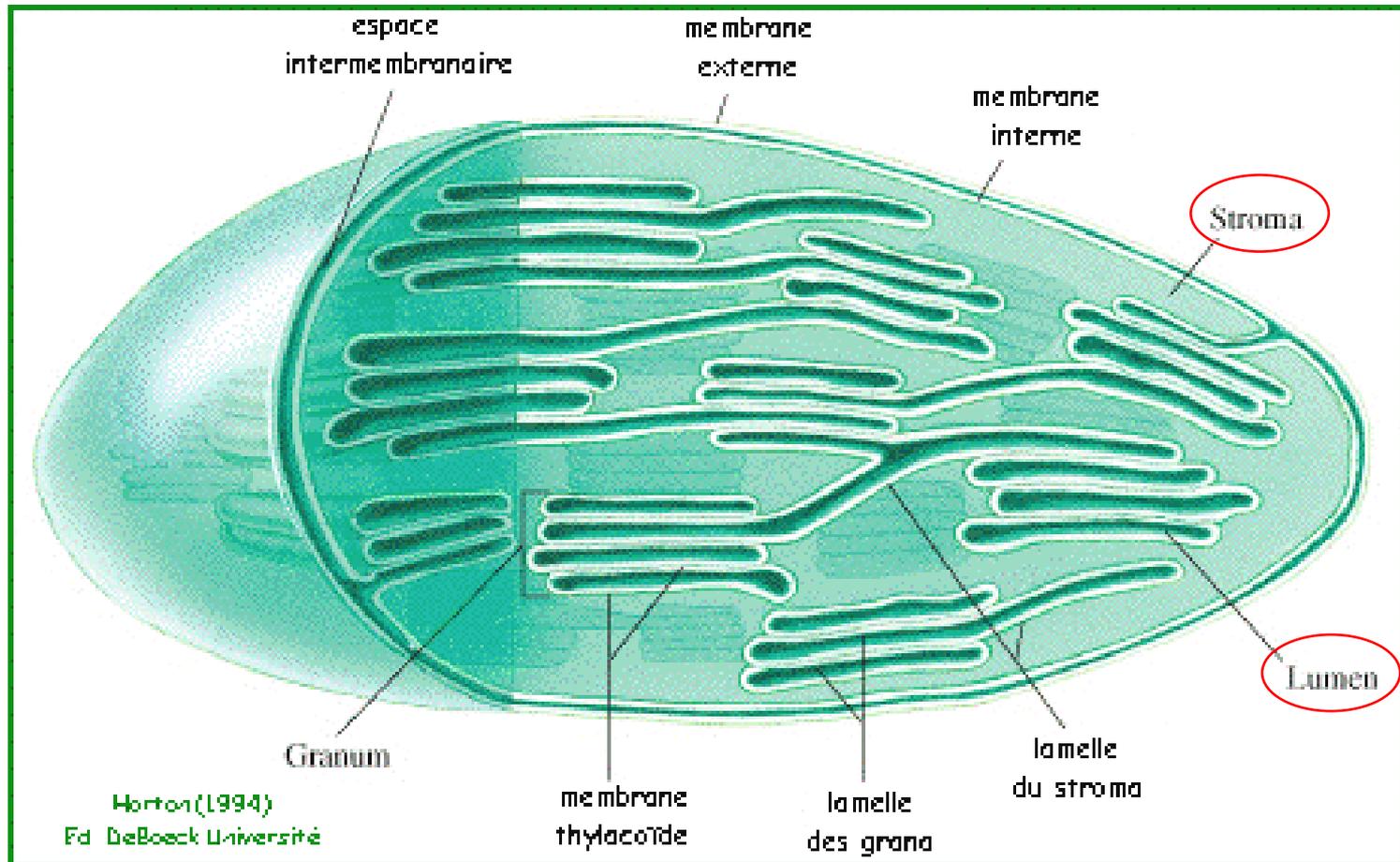
### Quelques chiffres :

- $5.4 \times 10^{21}$  kJ d'énergie solaire arrive sur terre par an, correspondant à l'énergie produite par une centrale nucléaire marchant 150 mille ans en continu
- 0.15% de l'énergie solaire est absorbée par les organismes photosynthétiques
- $10^{11}$  tonnes de  $\text{CO}_2$  sont fixées par an

# La photosynthèse a lieu dans les chloroplastes

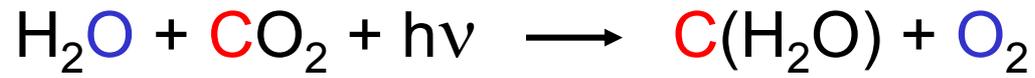


Les photoréactions ont lieu dans les membranes thylakoïdes, qui s'empilent pour former des grana.

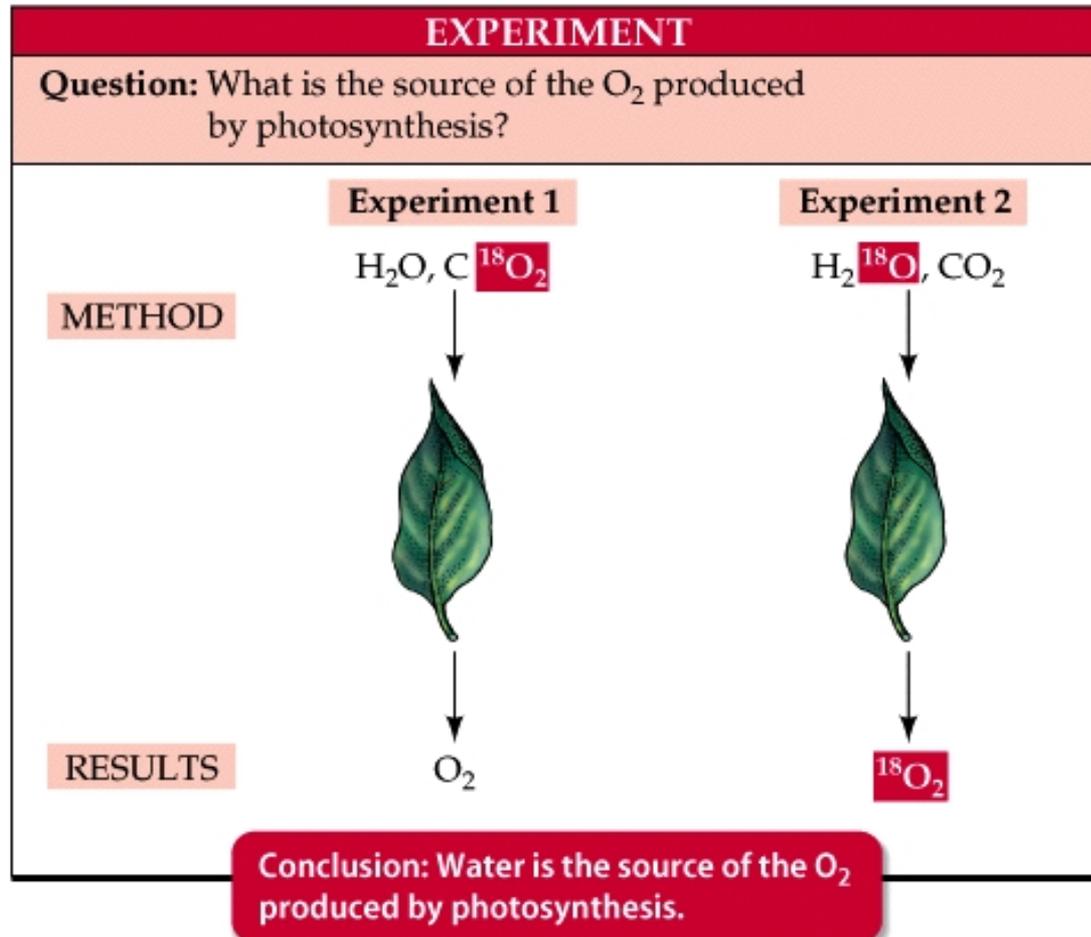


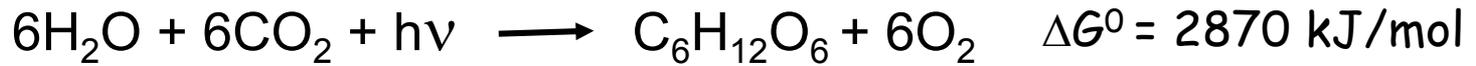
Deux membranes (interne et externe) bordent une zone aqueuse appelée stroma, siège de la réduction du  $\text{CO}_2$  en glucides  
 Le stroma contient la membrane thylacoïde, siège des réactions lumineuses

Bilan :



- Source de C :  $\text{CO}_2$  de l'air
- Source du  $\text{O}_2$  rejeté : l'eau





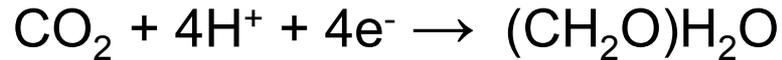
## Deux phases séparées :

Oxydation de l'eau

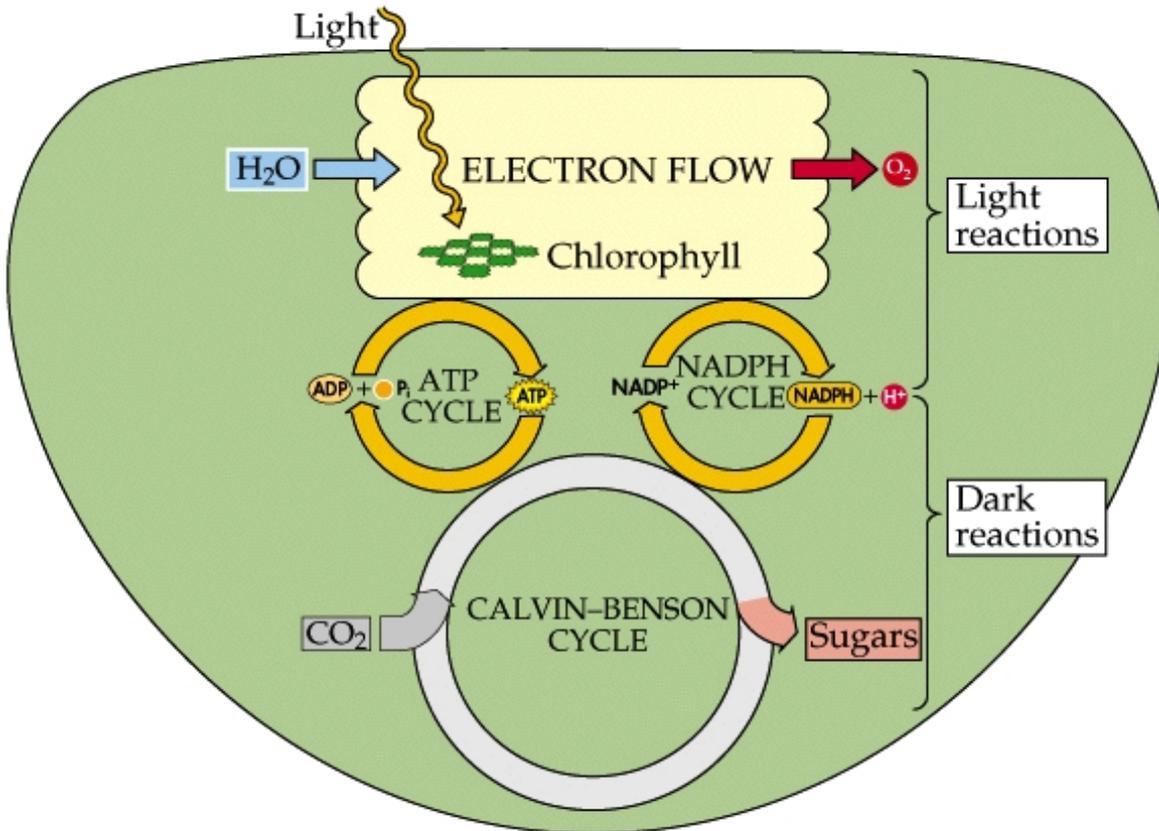


phase lumineuse

Réduction du carbone



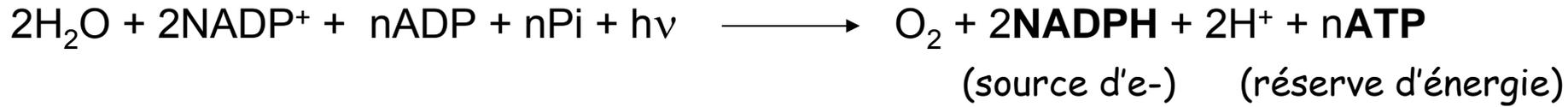
phase obscure



Les photoréactions produisent de l'ATP et de la NADPH

La biosynthèse des sucres ne nécessite pas de lumière, mais une catalyse enzymatique

# 1. Phase lumineuse

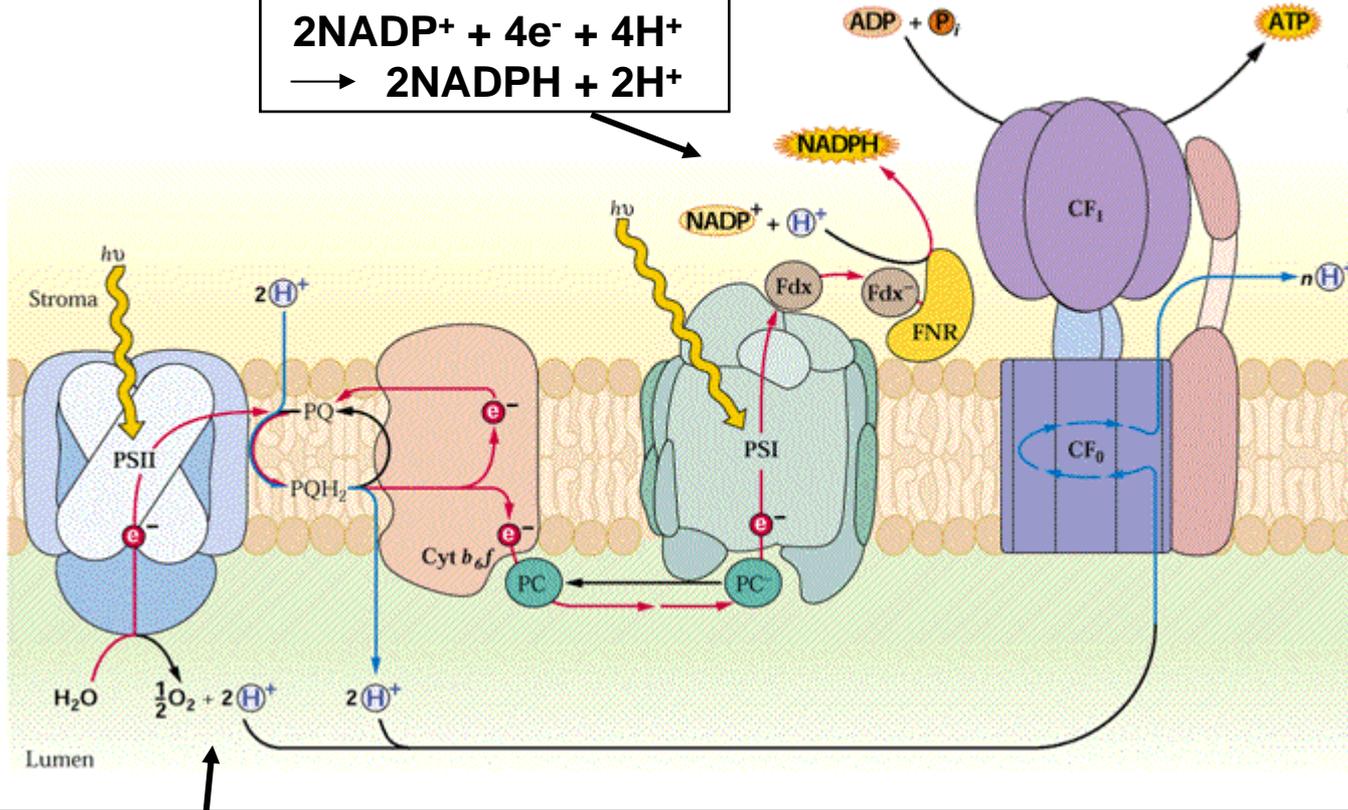


**Réduction de NADP<sup>+</sup> :**



Photophosphorylation :

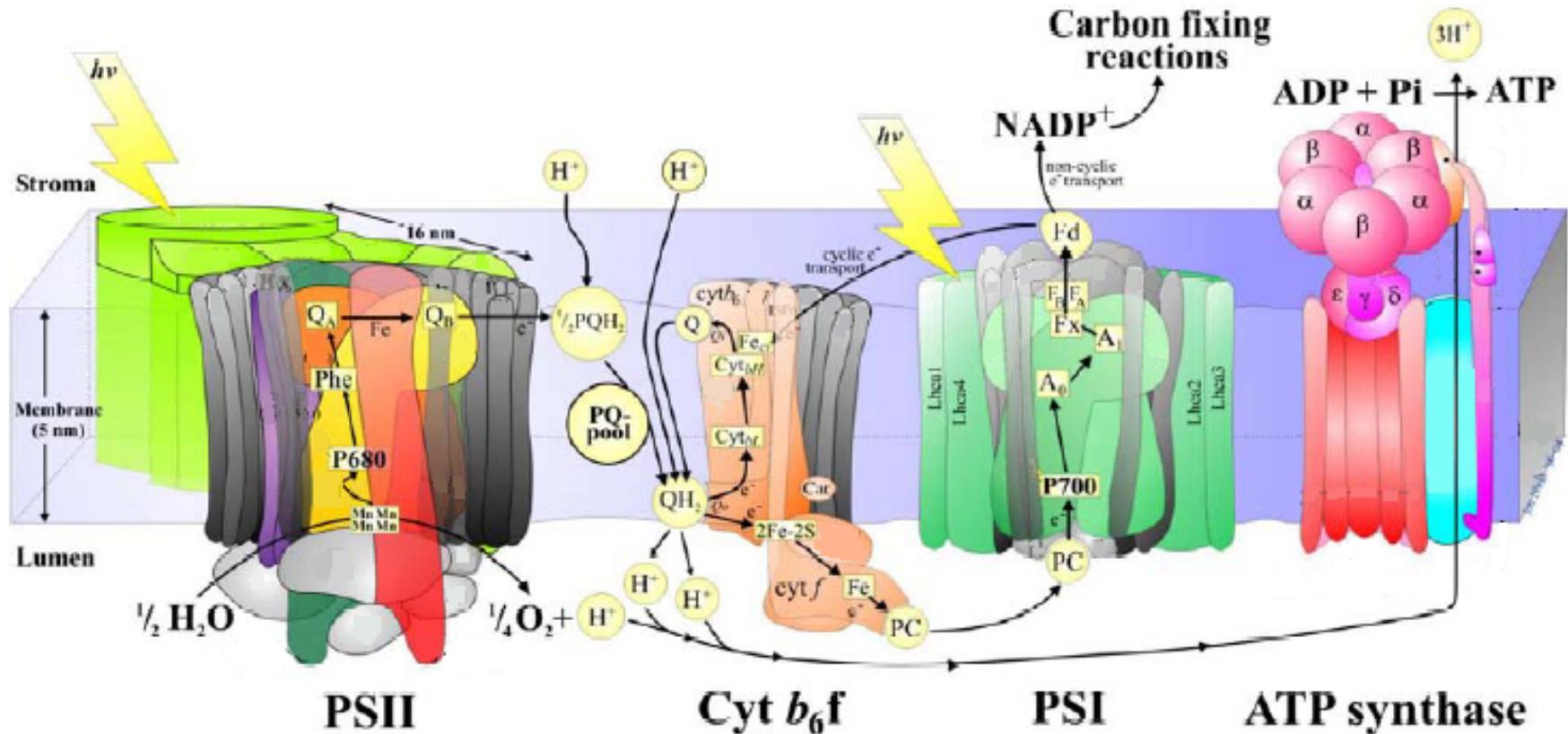
**Production d'ATP**  
en réponse au  
gradient de H<sup>+</sup>  
(ΔpH=3)



**Oxydation de l'eau** : production d'électrons qui après transfert réduiront NADP<sup>+</sup>



Les complexes de la phase lumineuse sont constitués par de nombreuses sous-unités constituées par des protéines de membrane



Responsables de la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique

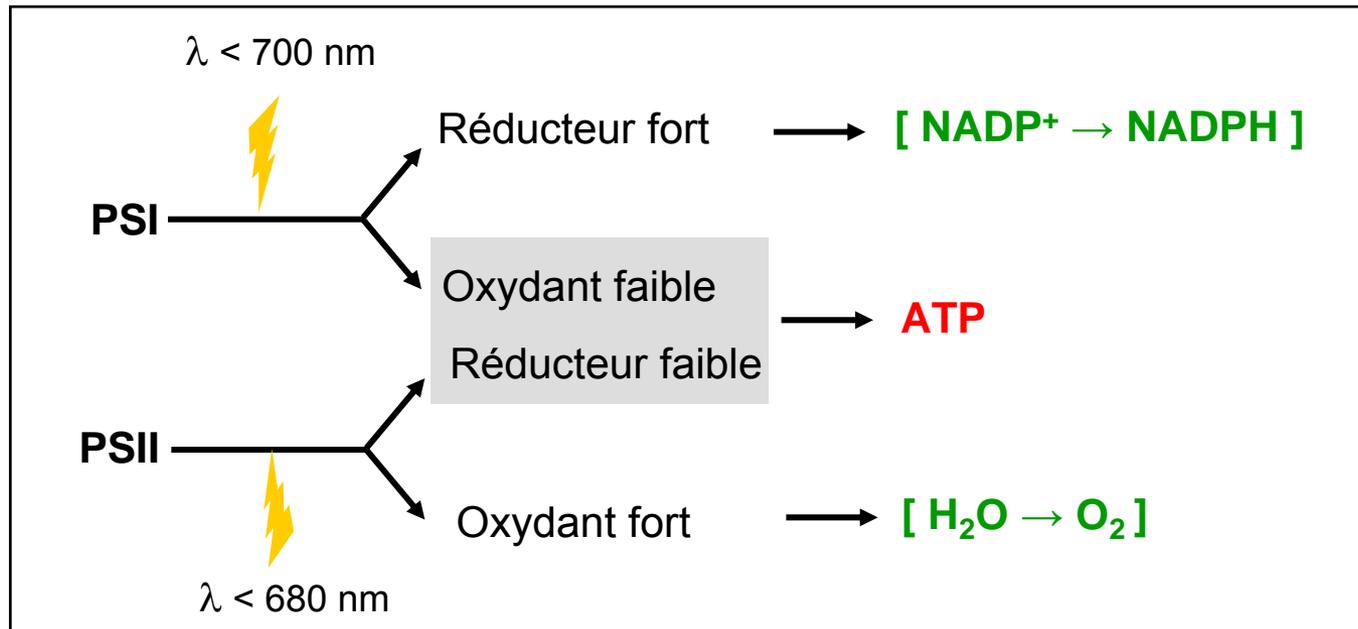
Participe à la chaîne du transport électronique et au transfert de protons dans le lumen.

Catalyse la synthèse de l'ATP à partir de l'ADP et  $P_i$  en utilisant le gradient protonique de membrane.

Deux complexes capturent la lumière :

- 1) Photosystème II (PS II) - Oxydation de l'eau en  $O_2$
- 2) Photosystème I (PS I) - Réduction de  $NADP^+$  en NADPH

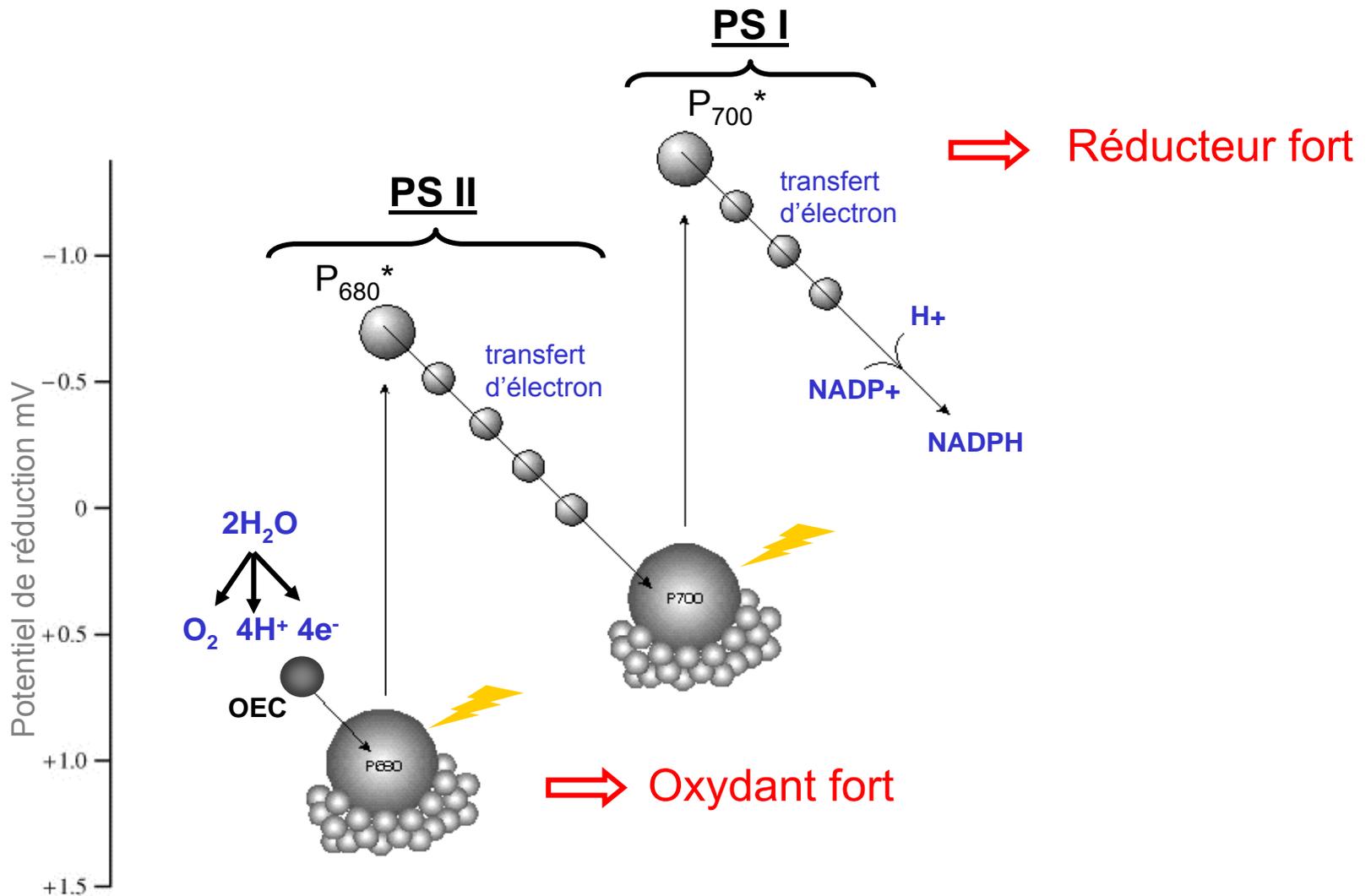
Les deux photosystèmes ont des rôles complémentaires :



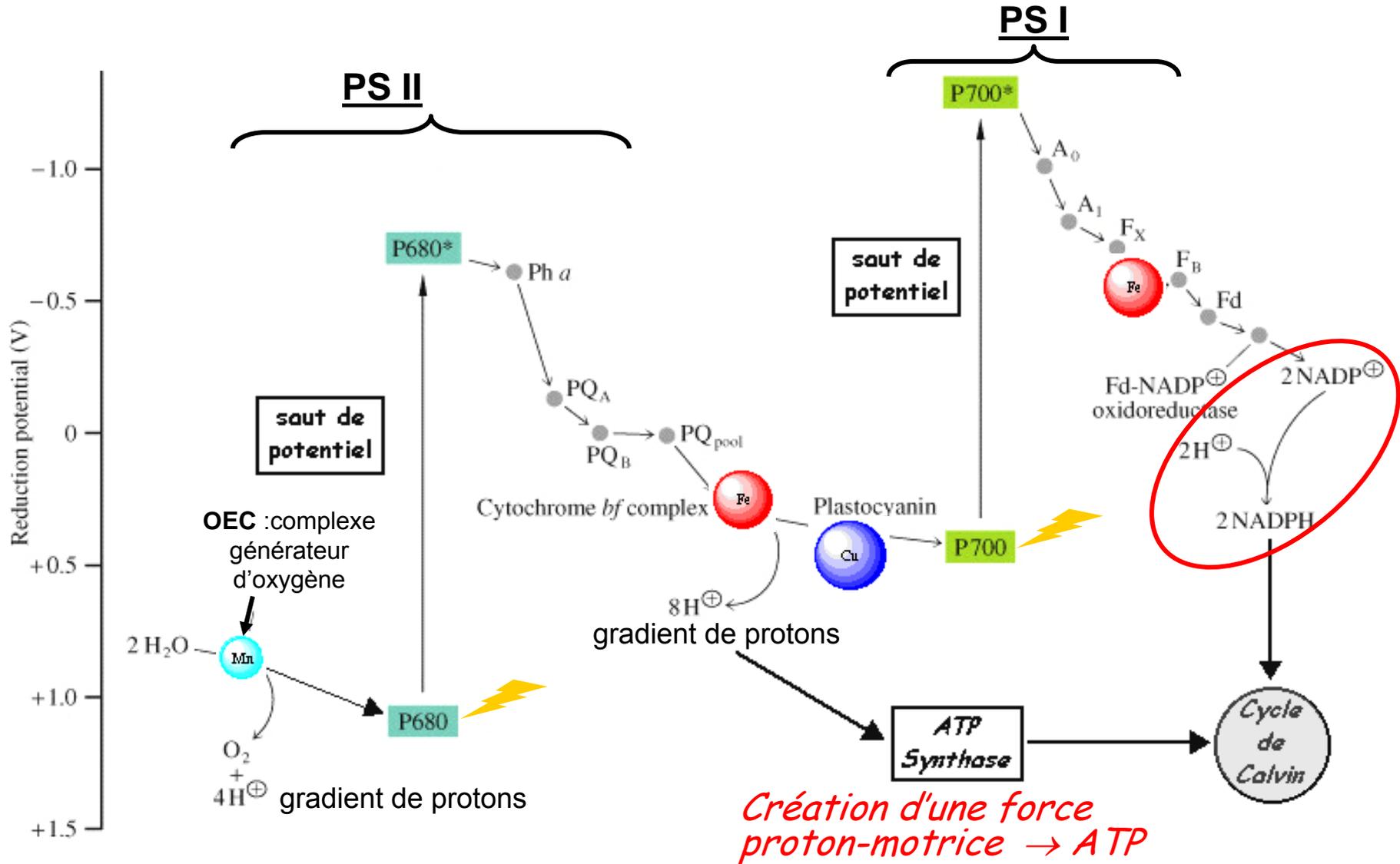
Le flux des électrons du PSII au PSI crée un gradient de protons transmembranaire qui active la formation d'ATP : c'est la **phosphorylation photosynthétique**

Les PS sont interdépendants : l'apport d'énergie lumineuse aux deux centres doit être réglé finement pour que cela fonctionne

# Schéma en Z de la photosynthèse



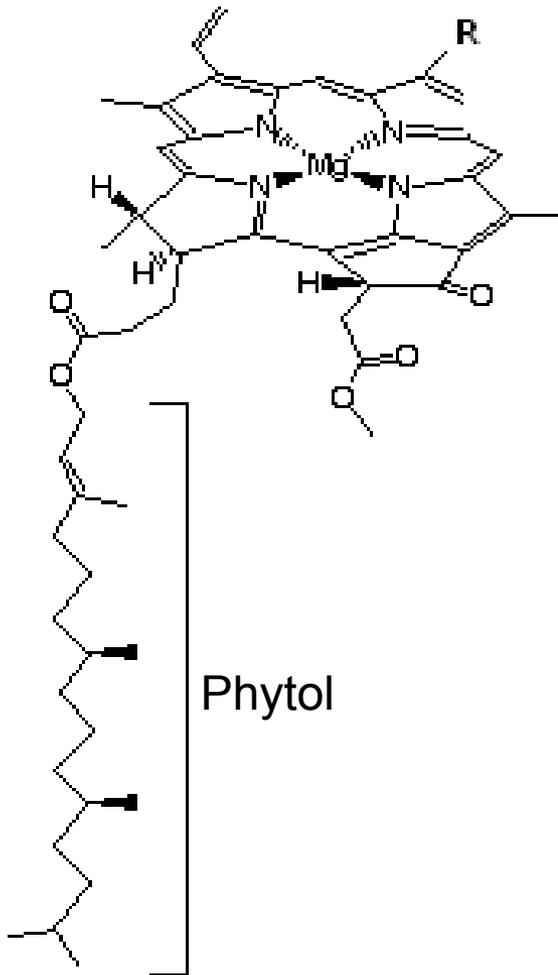
# Fluage des électrons dans la membrane depuis l'eau jusqu'à NADP+



Complexes métalliques : centres redox dont les potentiels et la vitesse de transfert sont ajustés par l'environnement protéique

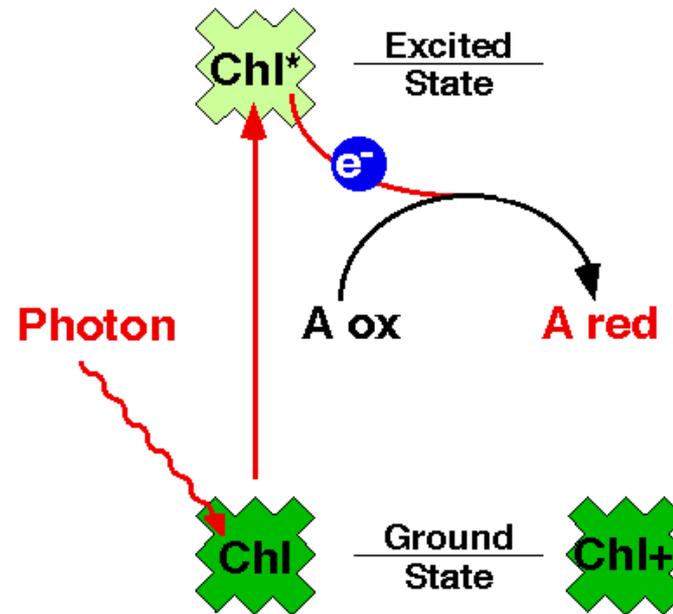
# Absorption de la lumière par les pigments photosynthétiques

## Chlorophylle = Porphyrine de Mg



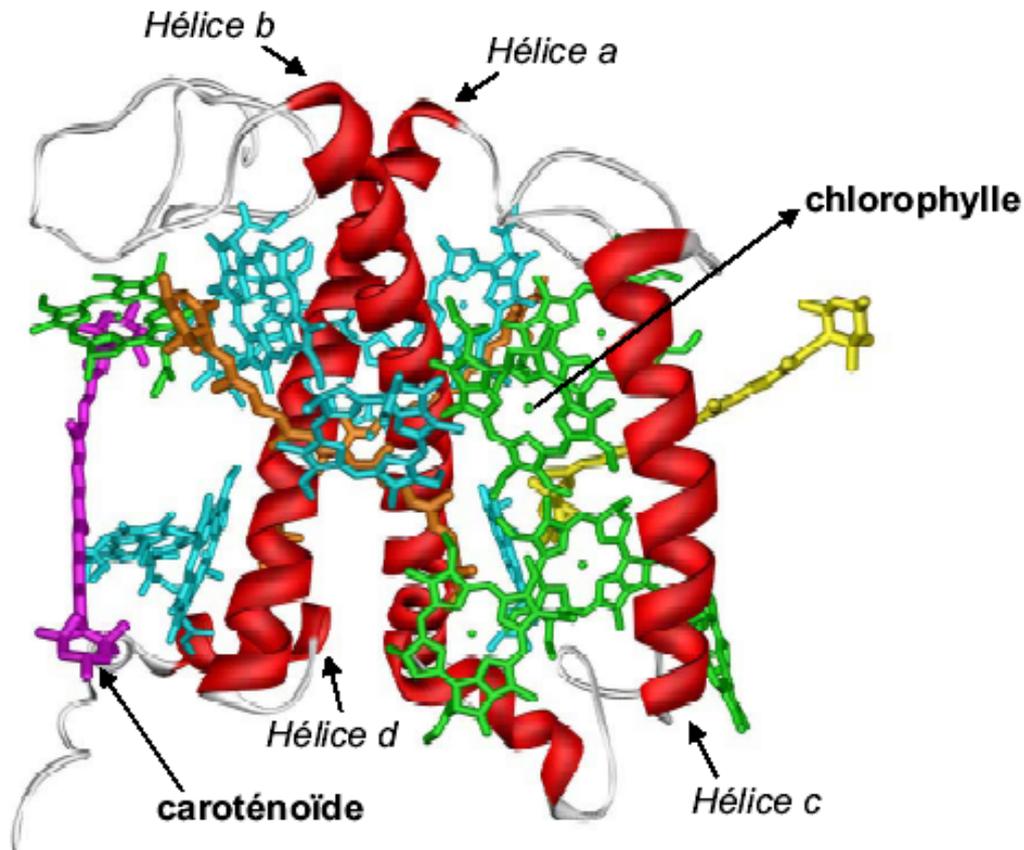
Chlorophylle a : R=CH<sub>3</sub>  
Chlorophylle b : R=CHO

Rigide → peu de pertes par vibrations. L'électron est rapidement évacué vers la chaîne de transfert.



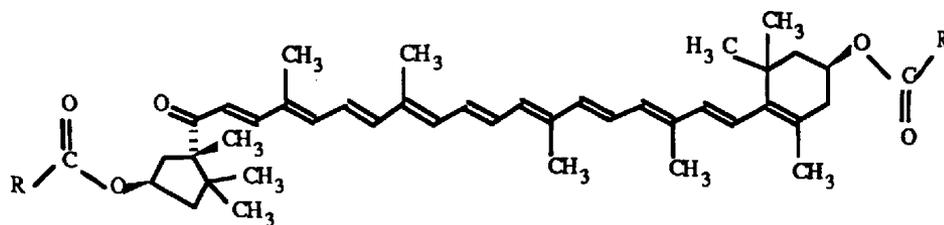
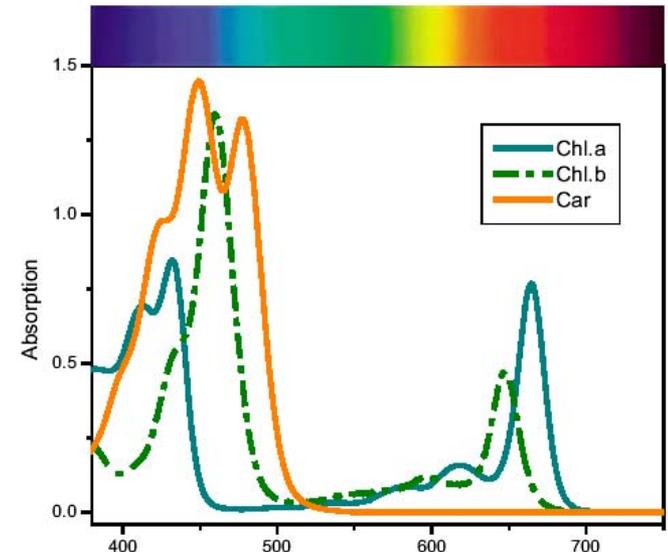
A l'état excité, la chlorophylle perd un électron, initiant une série de réactions rédox

# Protéines antennes LHC (Light Harvesting Complex) : lient les pigments

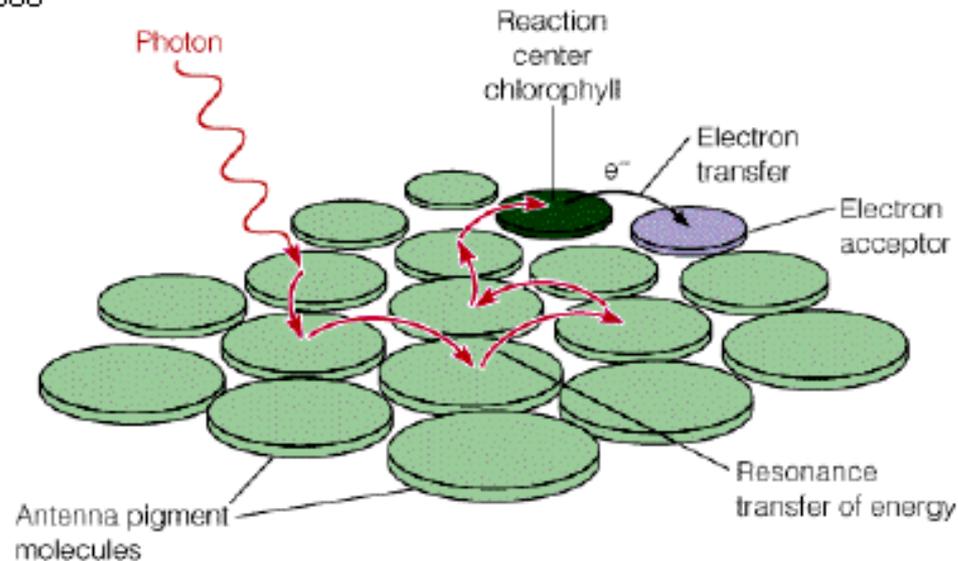
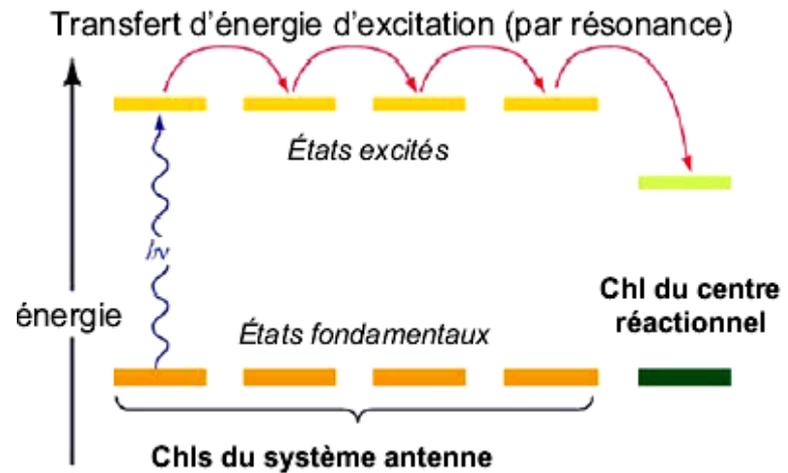
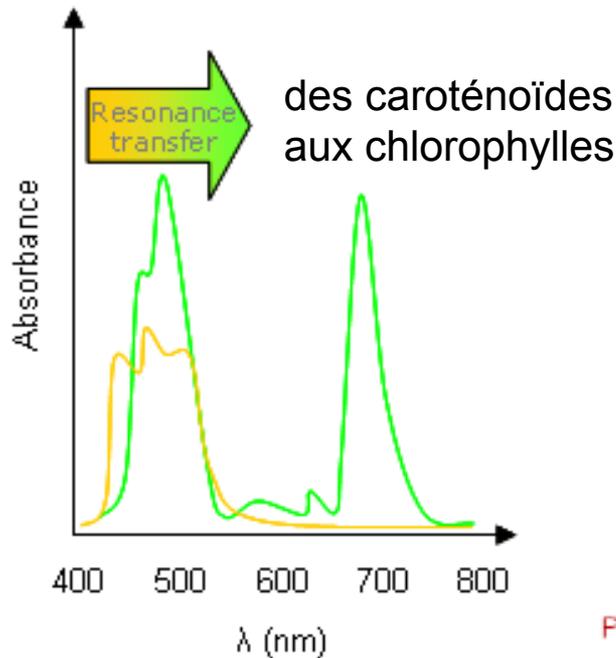


Ici 3 hélices transmembranaires  
14 Chlorophylles  
4 Caroténoïdes

Chlorophylle : Absorption intense  
 $\epsilon = 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$   
Transition  $\pi-\pi^*$  du macrocycle.

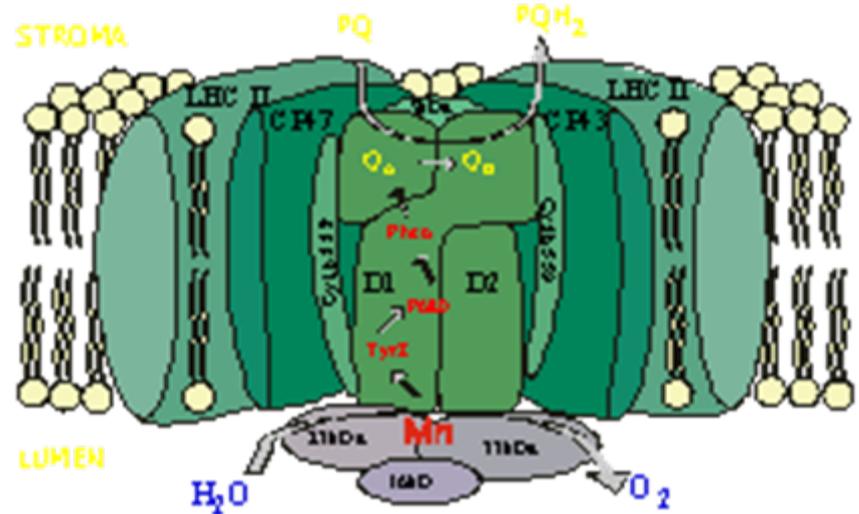


# Transfert d'énergie des antennes vers le centre réactionnel

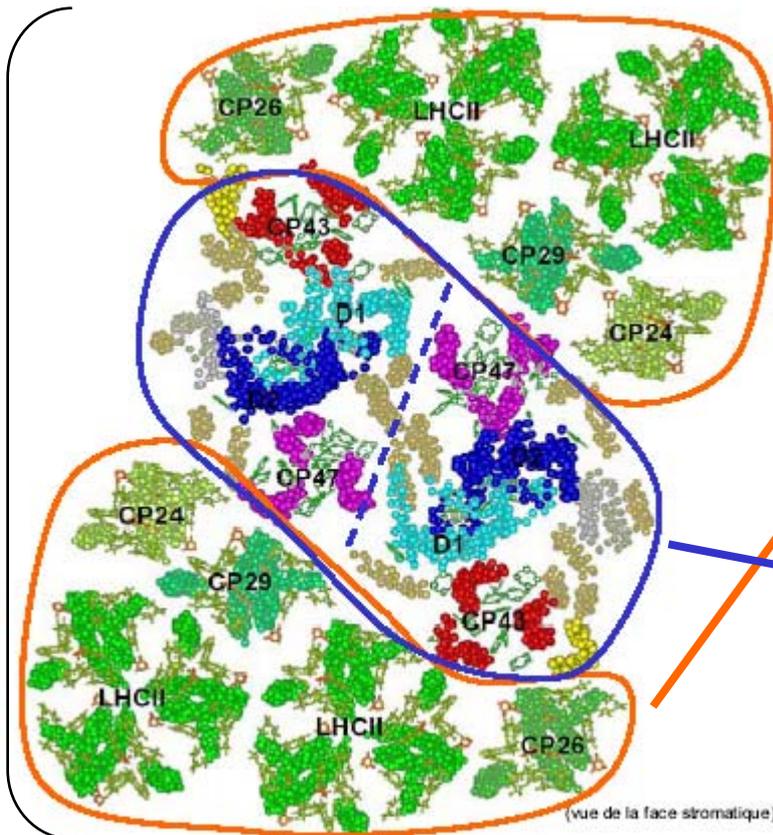


# Photosystème II : eau-plastoquinone oxydoréductase

Complexe dimérique transmembranaire :



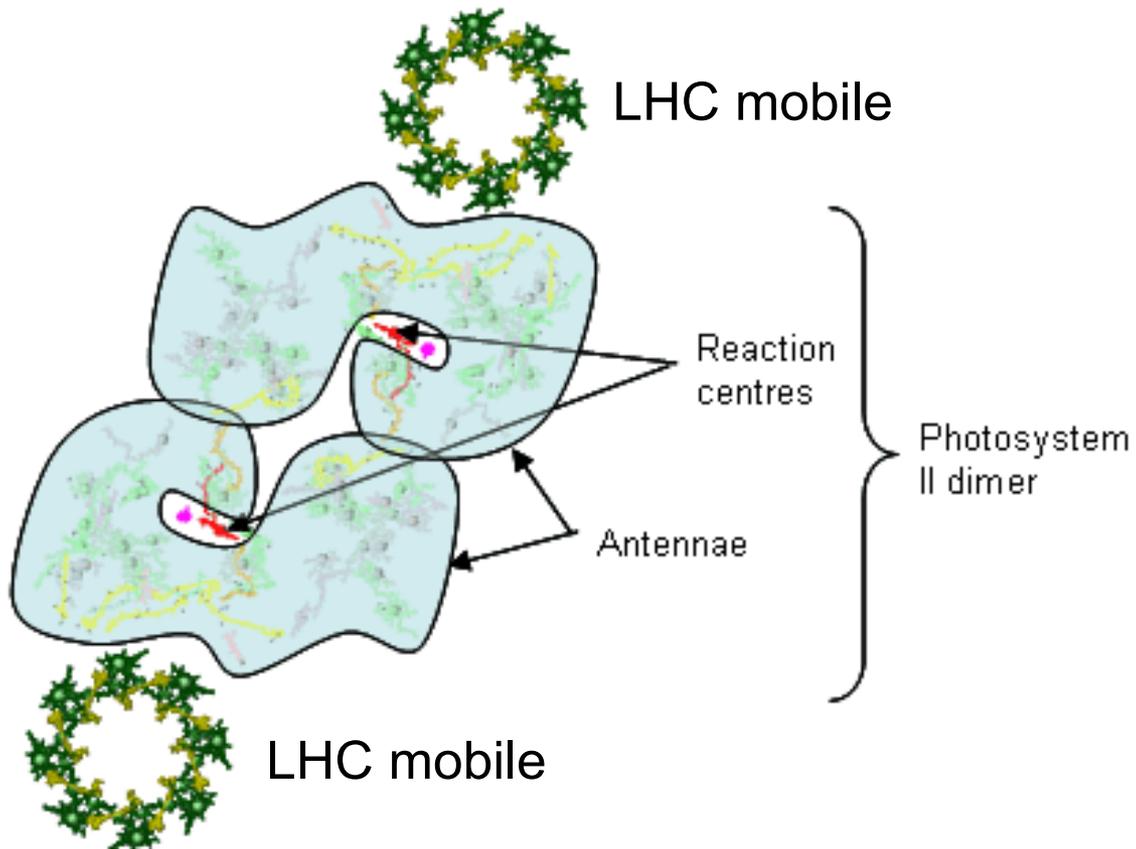
PSII



Antennes (~ 50 pigments chacune) : capturent la lumière et la transfèrent au cœur

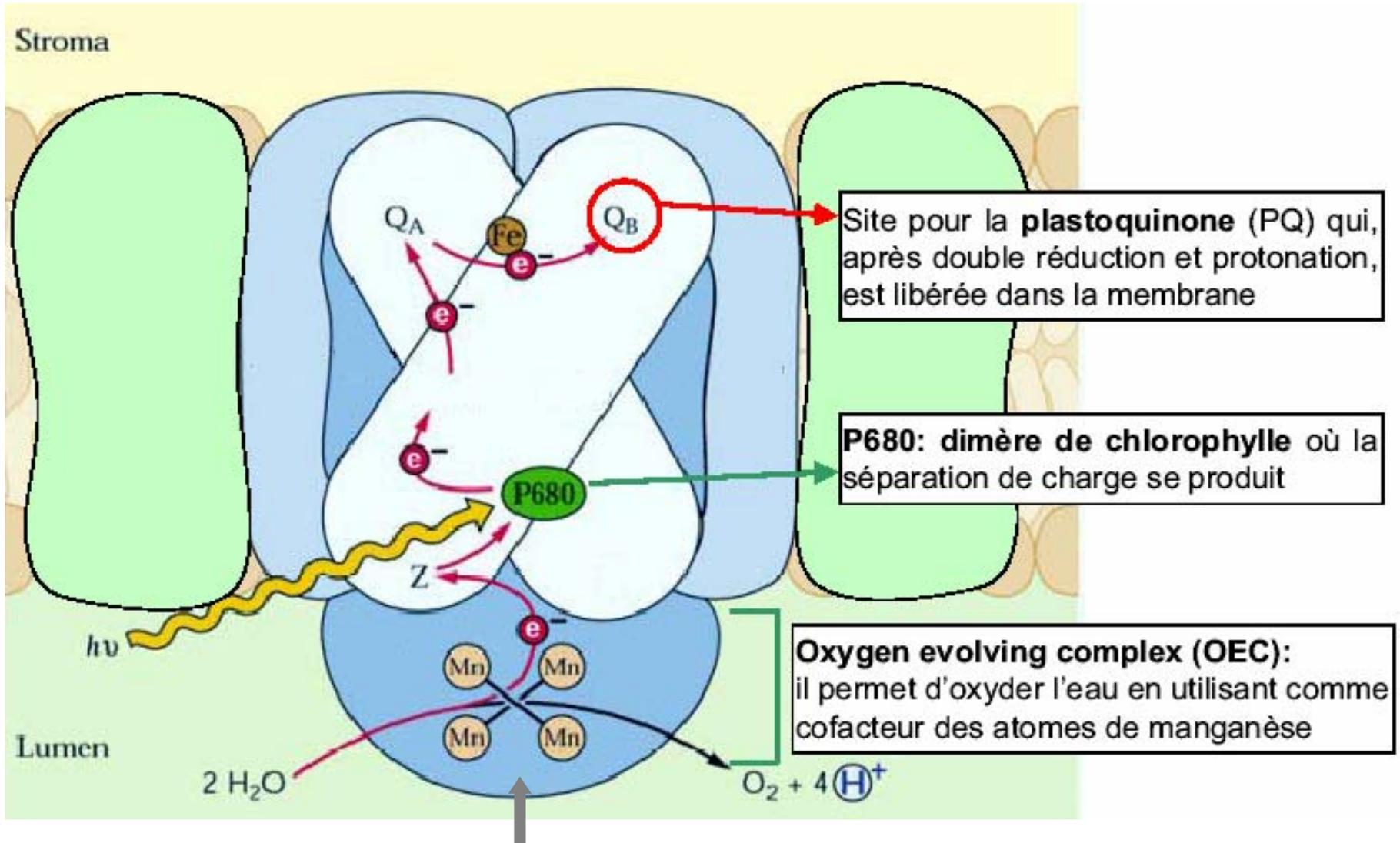
Complexe de cœur : contient le centre réactionnel qui permet la séparation de charge.

Le flux relatif d'énergie entre PSII et PSI est régulé par des LHC mobiles



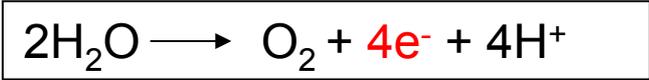
PSII ne doit pas recevoir trop de lumière pour éviter sa destruction oxydative (photoinhibition). En période très lumineuse, le LHC mobile se détache de PSII

# Complexe de cœur



Le manganèse joue un rôle clé dans l'extraction des électrons

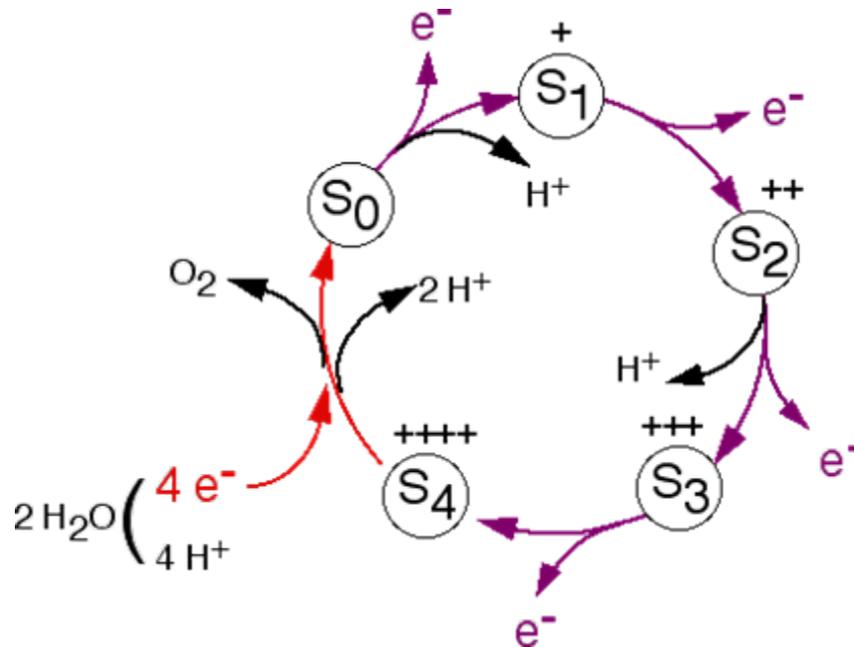
# Complexe de Mn (OEC)



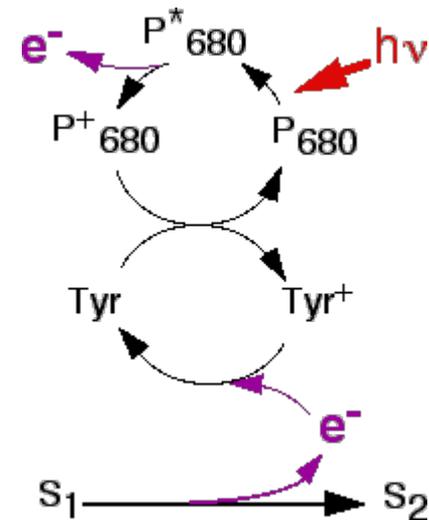
Le système d'oxydation de l'eau ou OEC catalyse une réaction d'oxydation purement chimique, dans laquelle l'énergie lumineuse n'intervient pas directement.

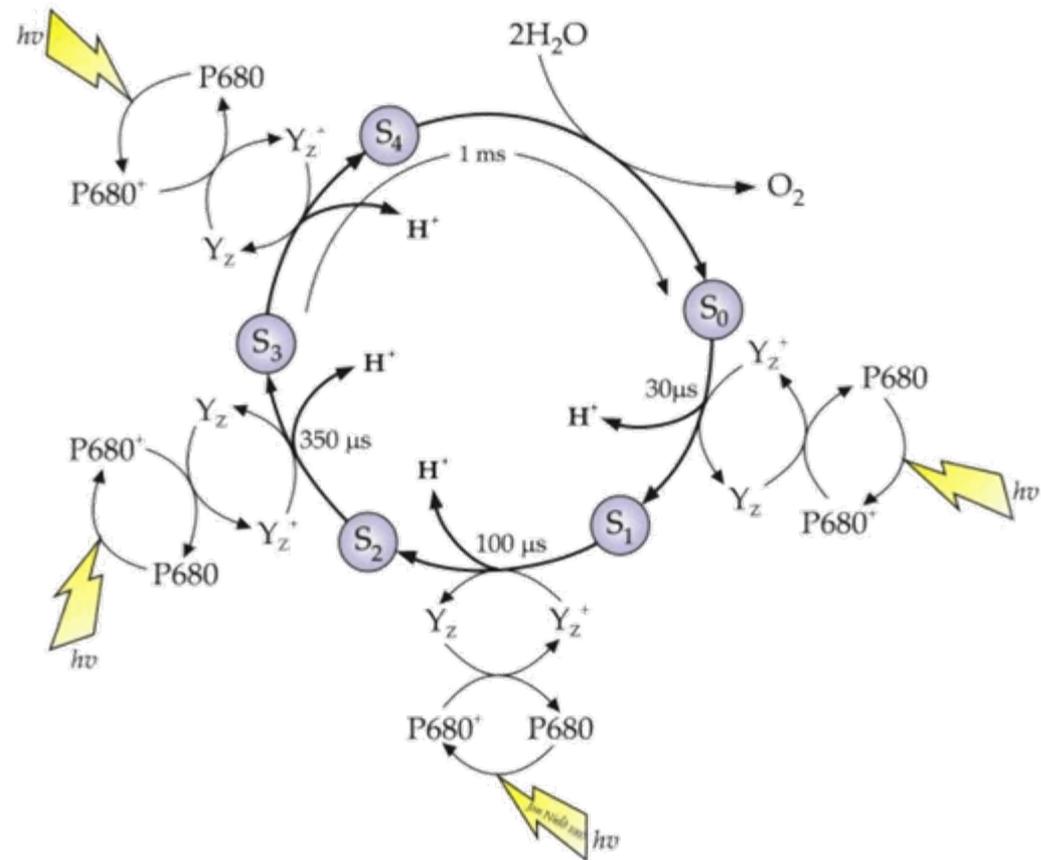
L'émission d'une molécule de  $\text{O}_2$  demande l'oxydation de 2 molécules de  $\text{H}_2\text{O}$ , il y a 4 électrons transférés. Il faut donc un corps  $\text{S}_0$  susceptible récupérer 4 électrons à la fois, qui les délivre successivement à 4  $\text{P}^+_{680}$  apparues consécutivement à l'absorption de 4 photons.

### Les 5 états du complexe S

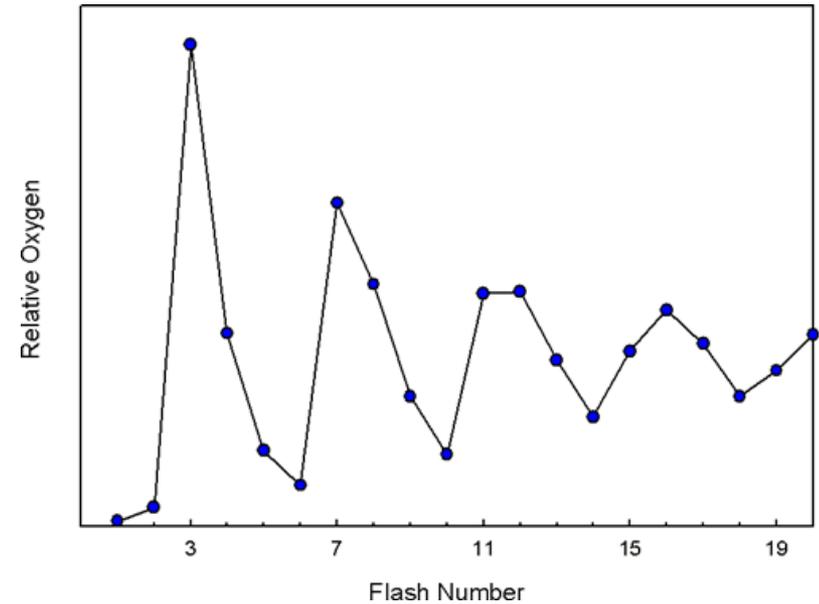


### Régénération du P680





## Expérience de Joliot, 1969

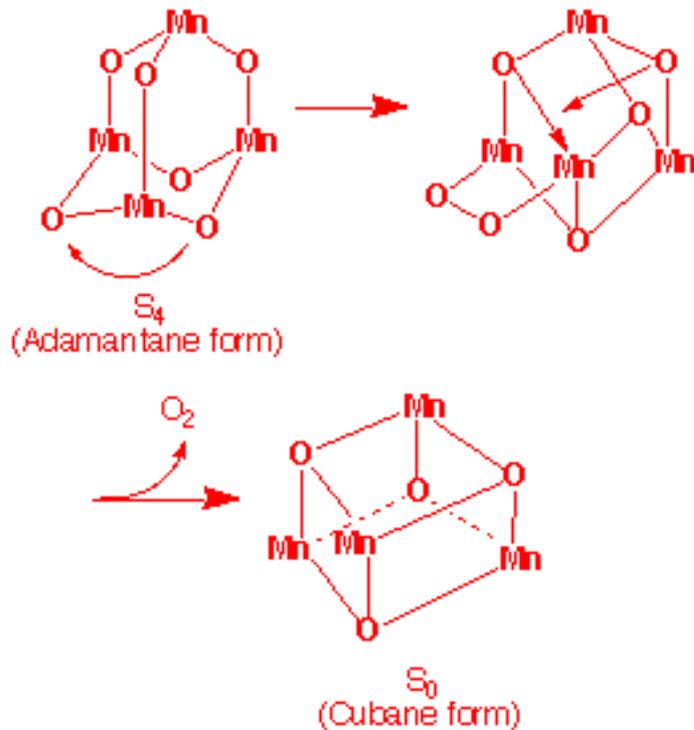


RPE du site de dégagement dans l'état S<sub>2</sub>

Suspension d'algues soumise à l'action d'éclairs brefs saturants. La production d'oxygène est enregistrée à l'aide d'une électrode rapide à oxygène

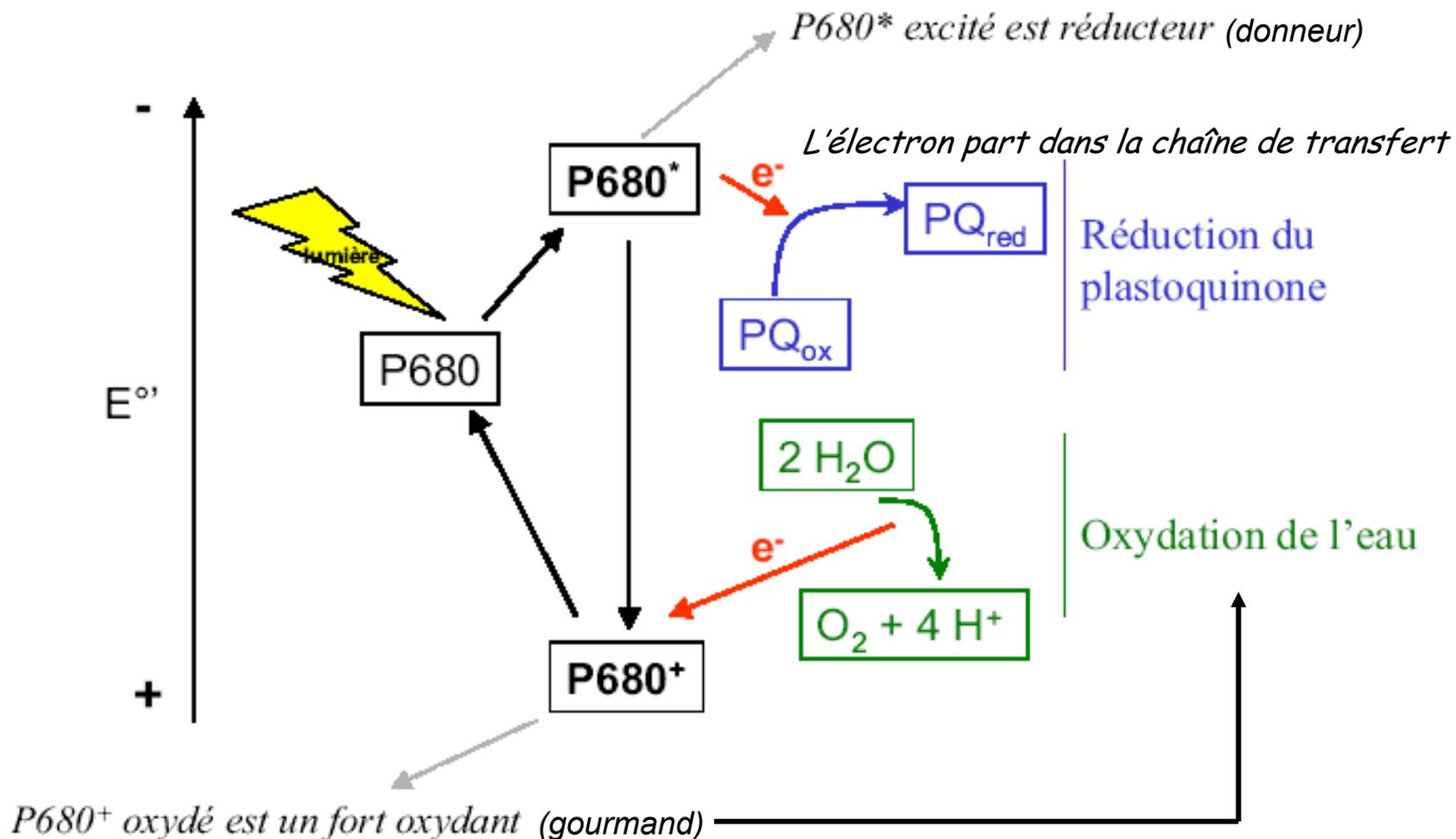
➔ La quantité d'oxygène produit est maximum tous les quatre éclairs

Le complexe OEC cycle à travers une séquence de 5 états d'oxydation. Le manganèse existe sous plusieurs degrés d'oxydation.

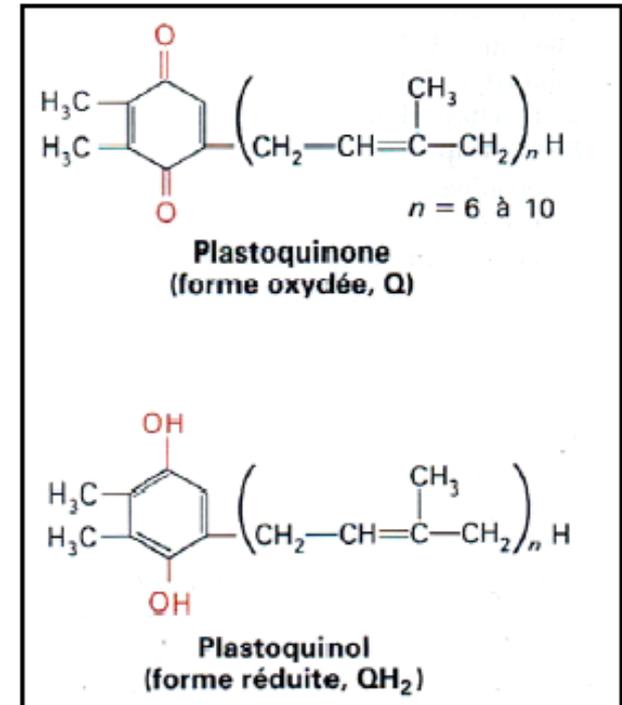
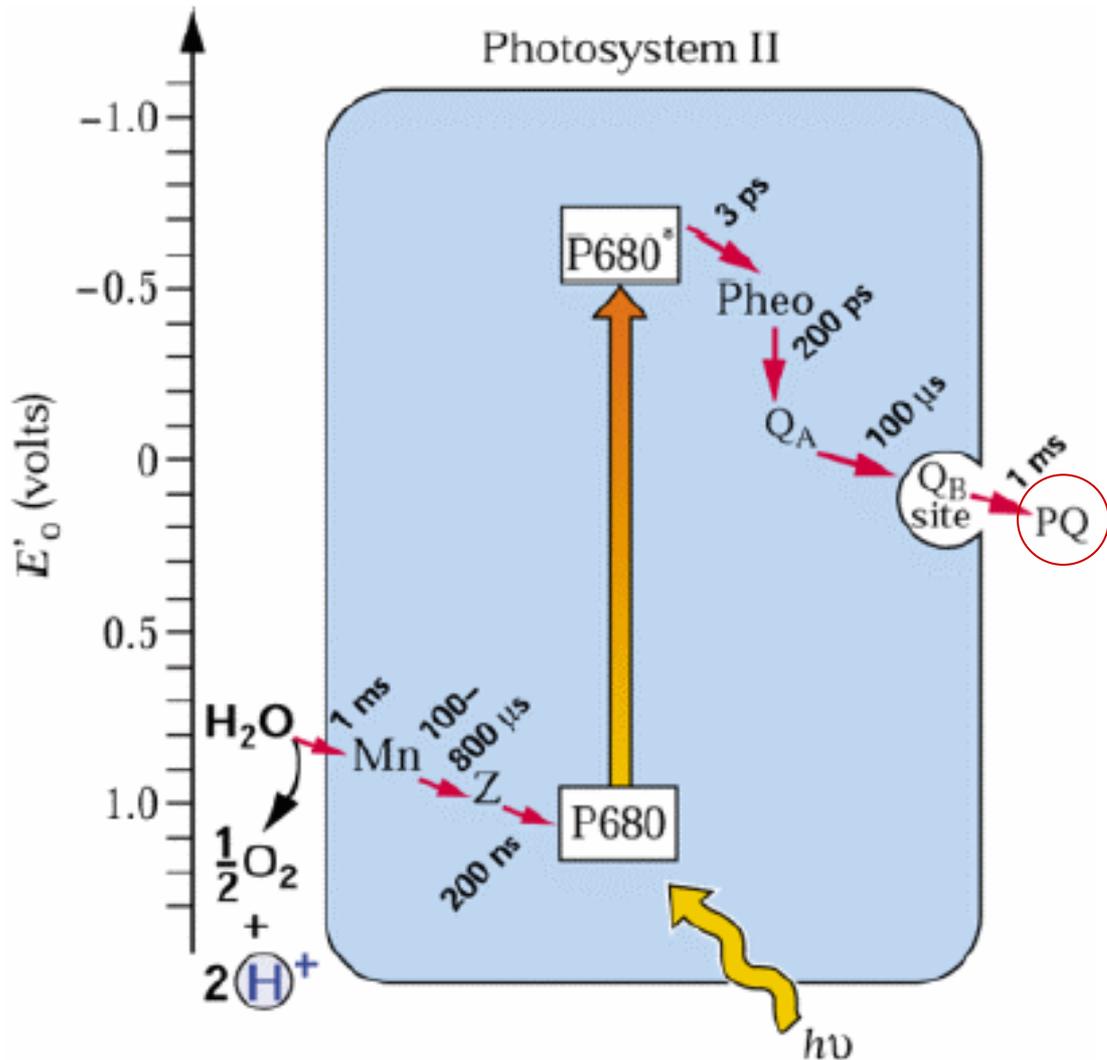


➔ *Sert d'accumulateur qui permet à  $O_2$  d'être formé sans création d'intermédiaires potentiellement dangereux*

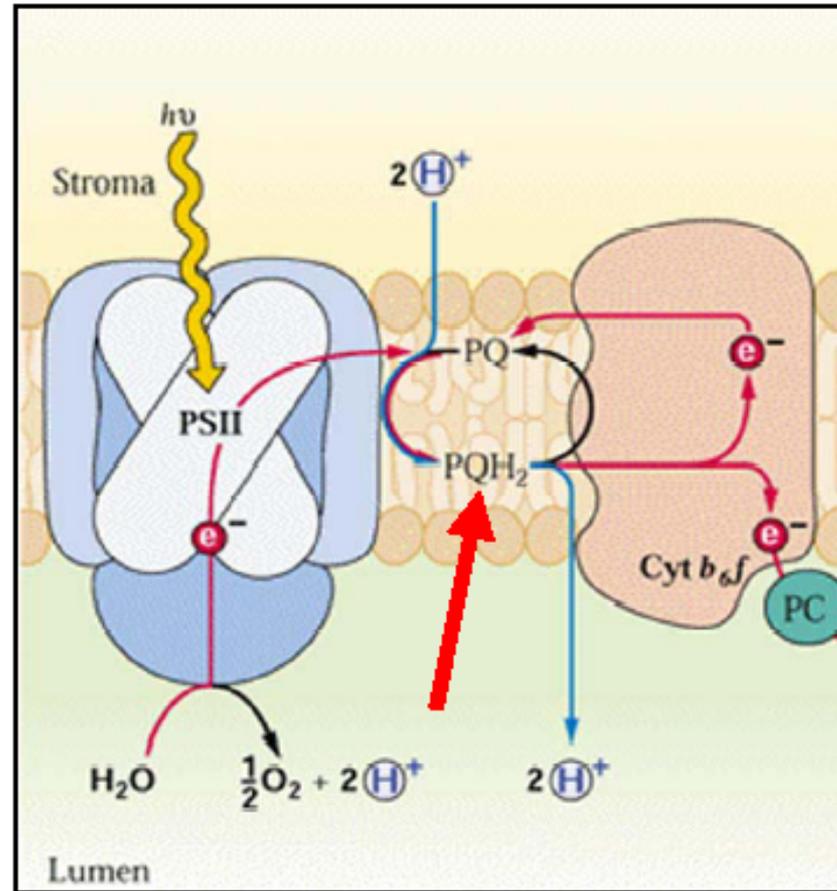
# Séparation de charge



Le PSII transfère les électrons très rapidement de l'eau à la plastoquinone PQ



# Création d'un gradient de protons transmembranaire

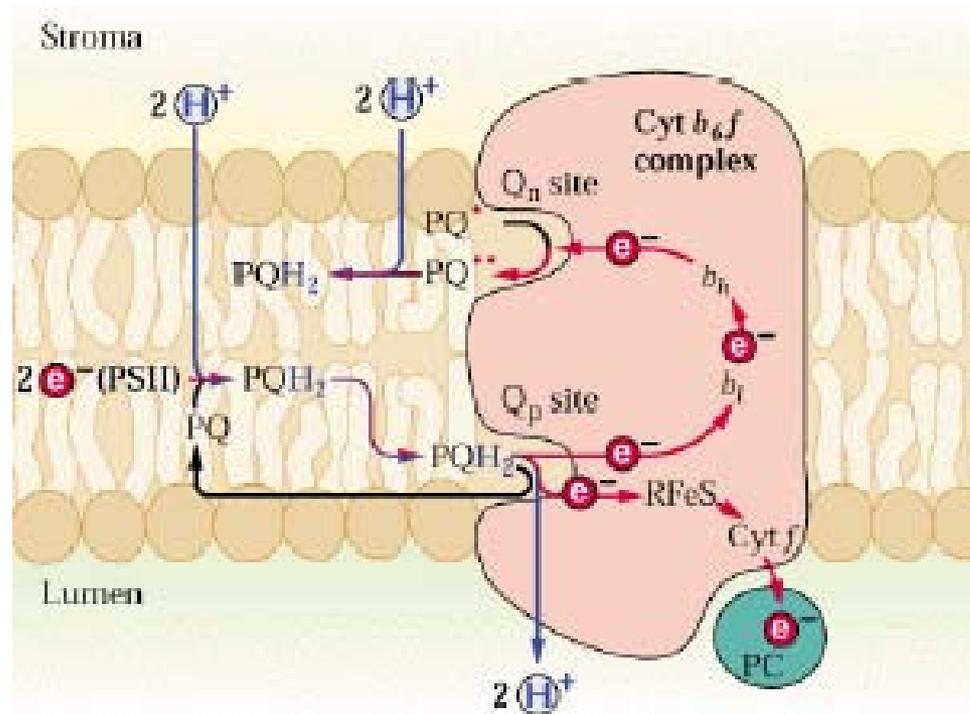


La plastoquinone PQ est réduite par le PSII, prend  $2 H^+$  du stroma, ce qui produit PQH<sub>2</sub> dans la membrane, qui va réduire le cytochrome  $b_6f$  et libérer les  $H^+$  dans le lumen

# Le cycle des quinones

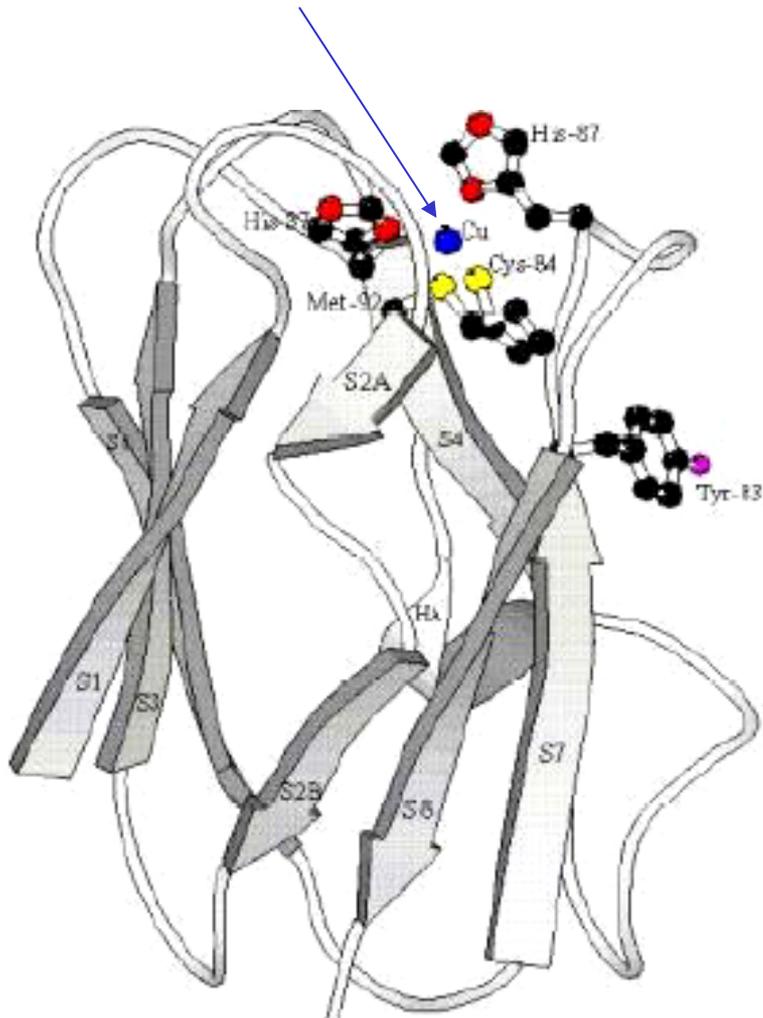
Le passage des électrons du plastoquinol (transporteur à 2  $e^-$ ) à la plastocyanine PC (transporteur à 1 électron) permet de recycler un électron pour faire un cycle qui augmente le transport de protons dans le lumen.

Ce cycle est catalysé par le cytochrome  $b_6f$ .

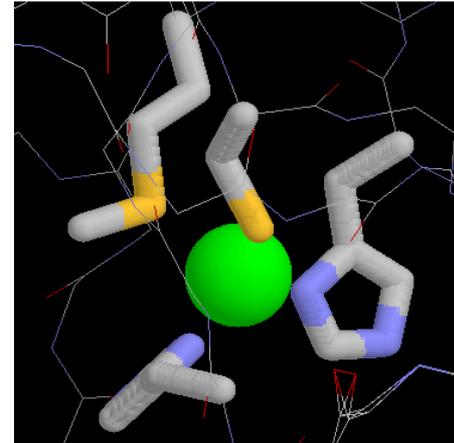




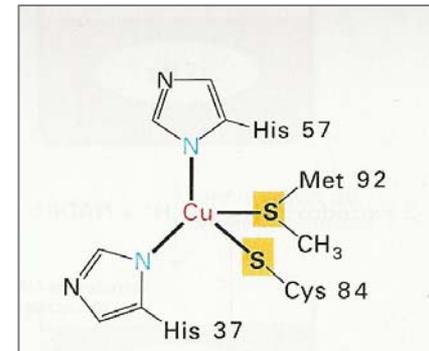
## Cu dans la plastocyanine PC



## Transfert de charge cystéine-Cu<sup>II</sup>

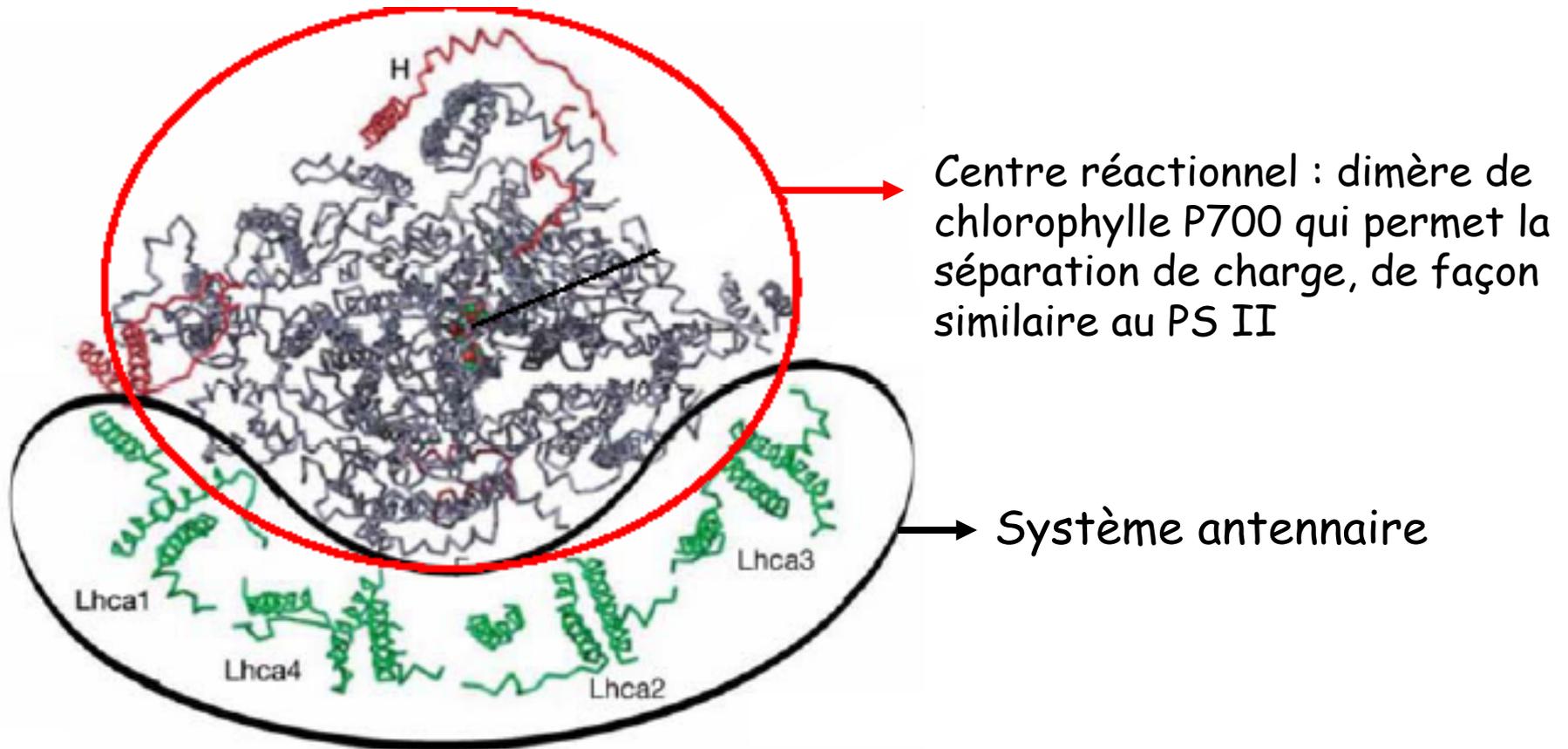


Cu(II) maintenu par la protéine en coordination tétraédrique (état entatique)

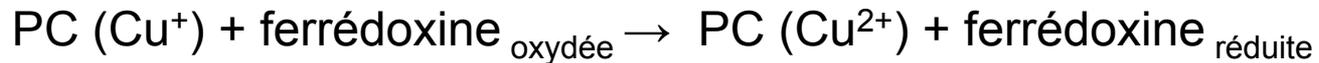


*Les 4 ligands déforment la géométrie de la coordination, qui est normalement plane dans les complexes de Cu<sup>2+</sup>. La tension localisée au niveau de l'atome de cuivre facilite le transfert d'électrons lorsque Cu<sup>+</sup> → Cu<sup>2+</sup>*

# Le photosystème I (PSI) : plastocyanine/ferrédoxine oxydoréductase

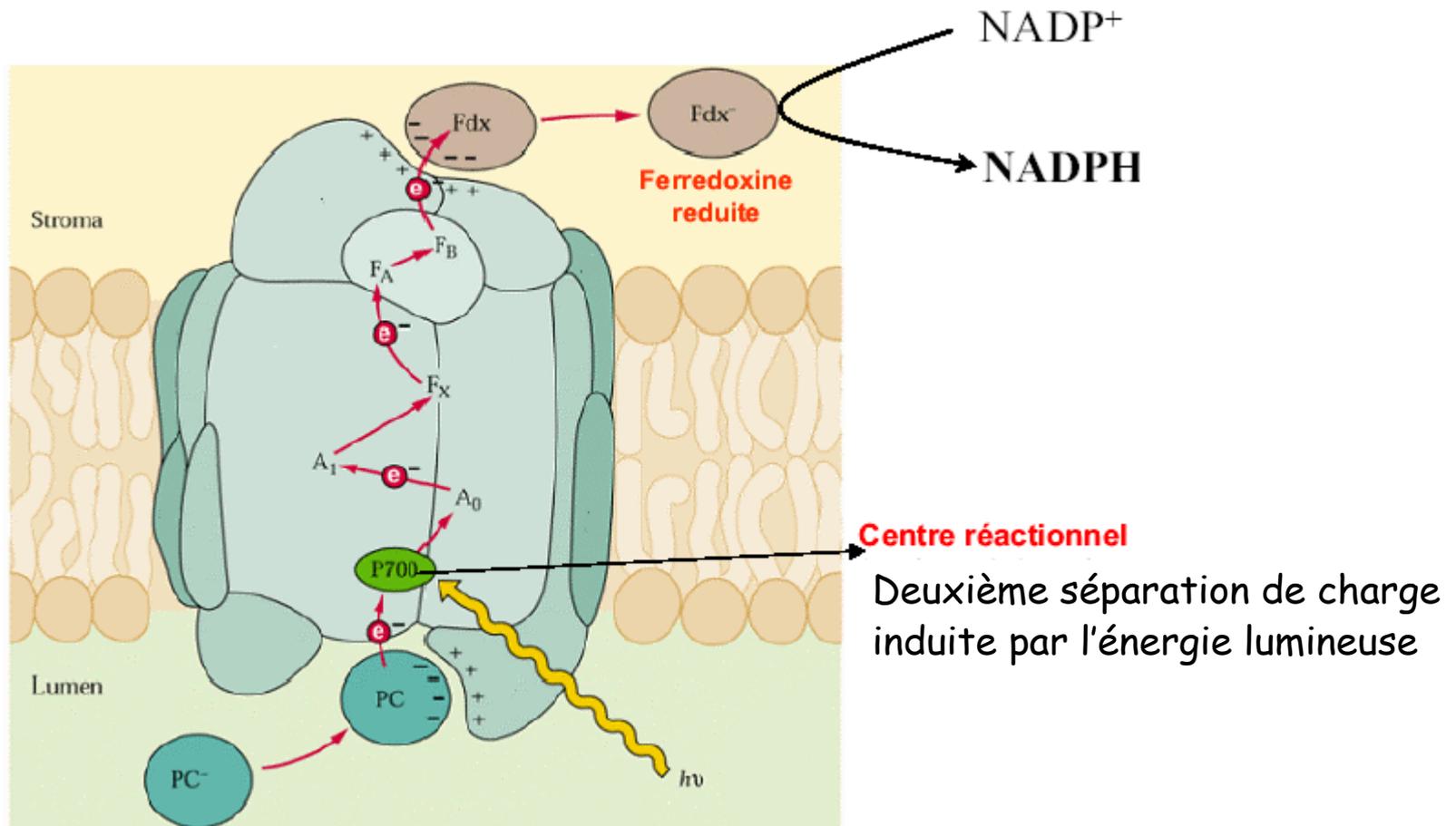


## Réaction globale catalysée par le PSI :



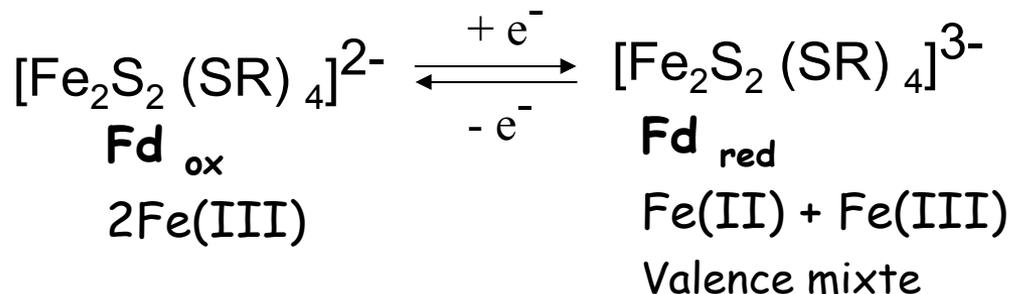
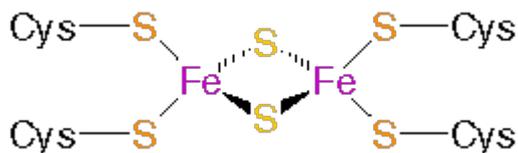
En utilisant l'énergie lumineuse, PSI oxyde la Plastocyanine et réduit la ferrédoxine

La ferrédoxine réduite, réducteur fort, permet finalement la réduction du NADP<sup>+</sup> en NADPH

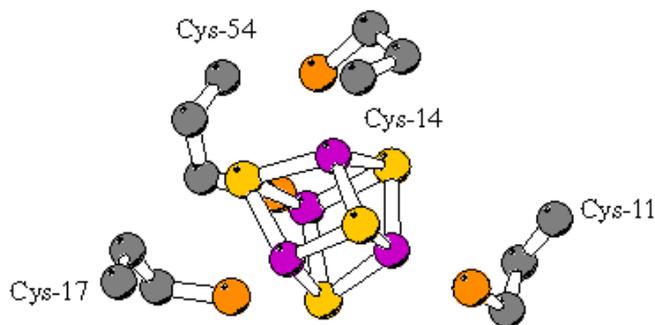


# Ferrédoxine : Protéine Fe-S

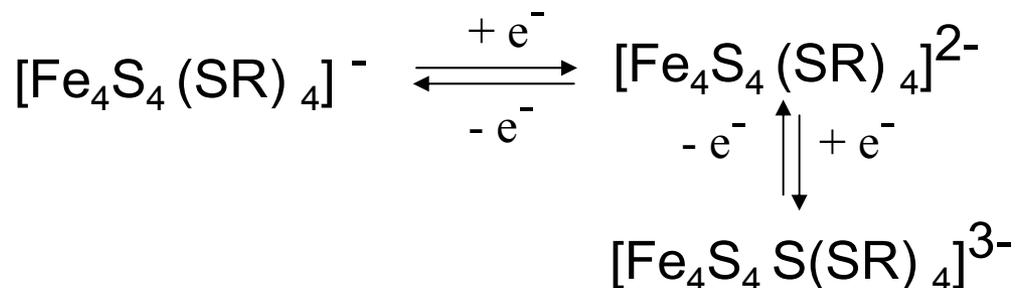
## Clusters [2Fe-2S]



## Clusters [4Fe-4S]

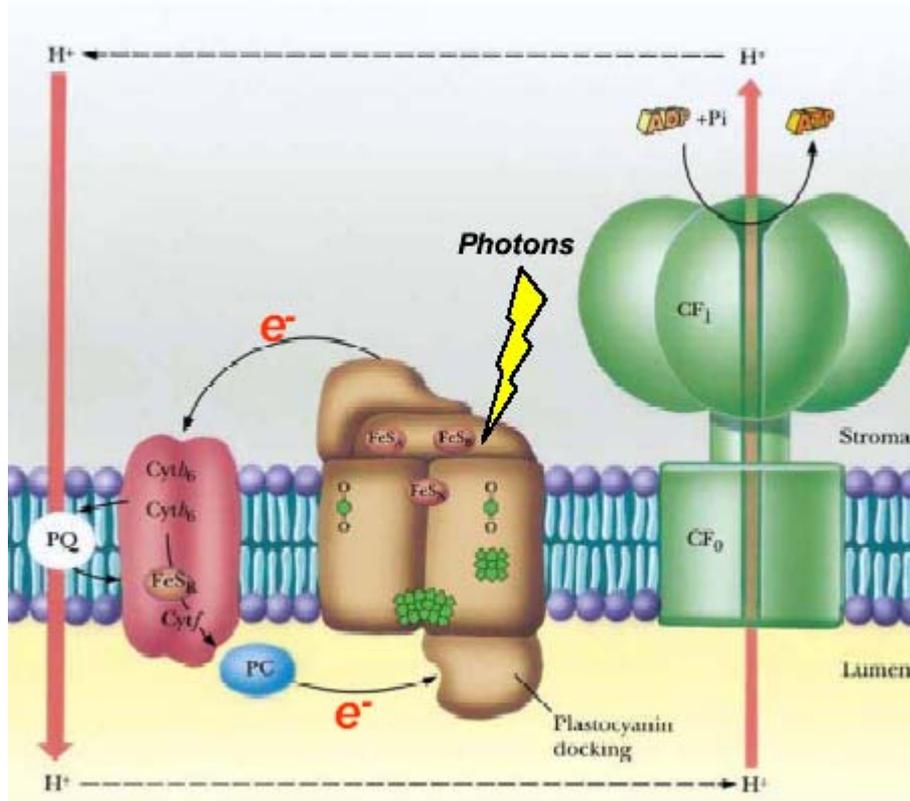


3 états d'oxydation



Complexe	Coordination, type	E <sub>0</sub> Fe <sup>2+</sup> /Fe <sup>3+</sup> (mV)
Fe(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> <sup>3+</sup>	6, complexe aquo	770
Cytochrome a <sub>3</sub>	6, hème	390
HIPIP	4, Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> (SR) <sub>4</sub> <sup>-</sup>	350
Cytochrome c	6, hème	250
Rubredoxine	4, Fe(SR) <sub>4</sub>	-60
Ferrédoxine	4, Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> (SR) <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-400

Le transport cyclique des électrons est fait par réduction du PQ/Cytb<sub>6</sub>f par la ferrédoxine. Ça comporte le « recyclage » des électrons avec comme seul résultat la formation du gradient de protons transmembranaire (pas de production de NADPH)

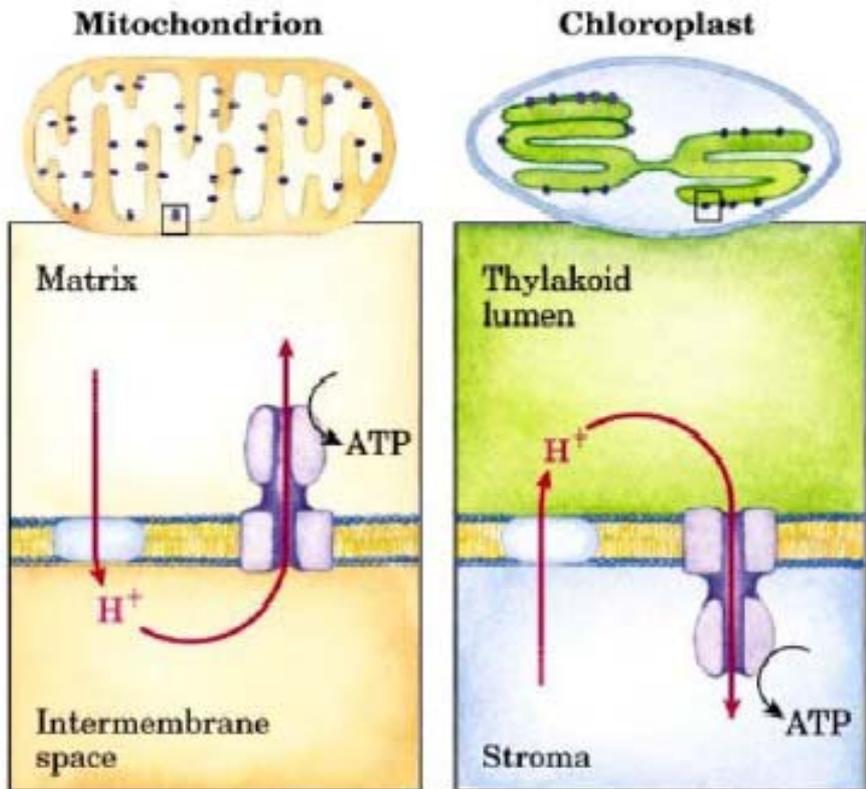


ATP synthase : complexe activé par le gradient de protons, qui catalyse la phosphorylation de l'ADP

C'est le gradient électrochimique qui permet la production de l'ATP

Transfert d'électrons et synthèse d'ATP très semblables dans les chloroplastes et les mitochondries : oxydation/réduction séquentielles entre transporteurs redox sur protéines membranaires

- Mêmes transporteurs, Cytochromes, protéines Fe-S, de Cu
- L'énergie libérée pendant les réactions redox crée un gradient de protons
- Ce gradient à travers l'ATPsynthase permet la synthèse d'ATP



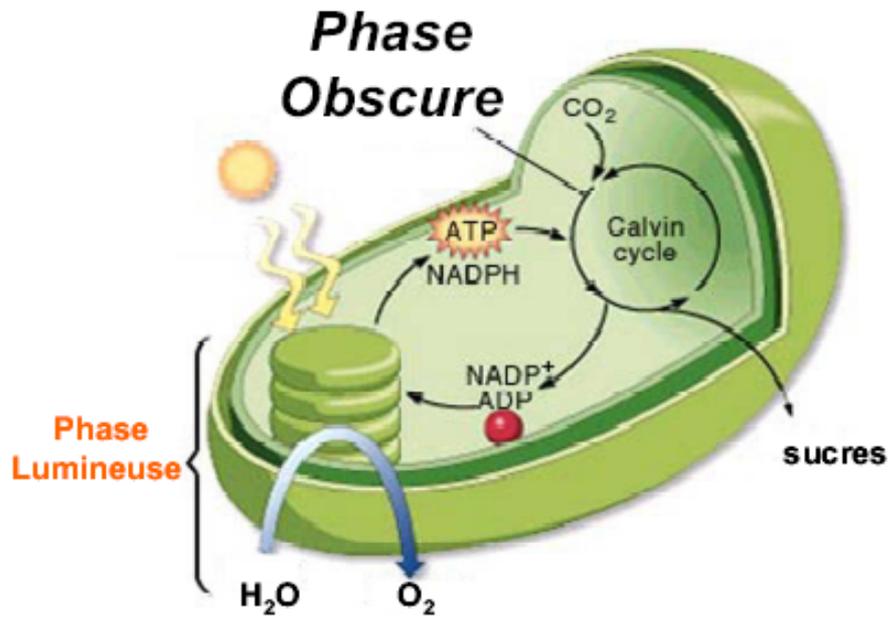
Mais :

photosynthèse	respiration
- Produit $O_2$	- Consomme $O_2$
- NADPH produit	- NADH utilisé
- 2 entrées d'énergie	

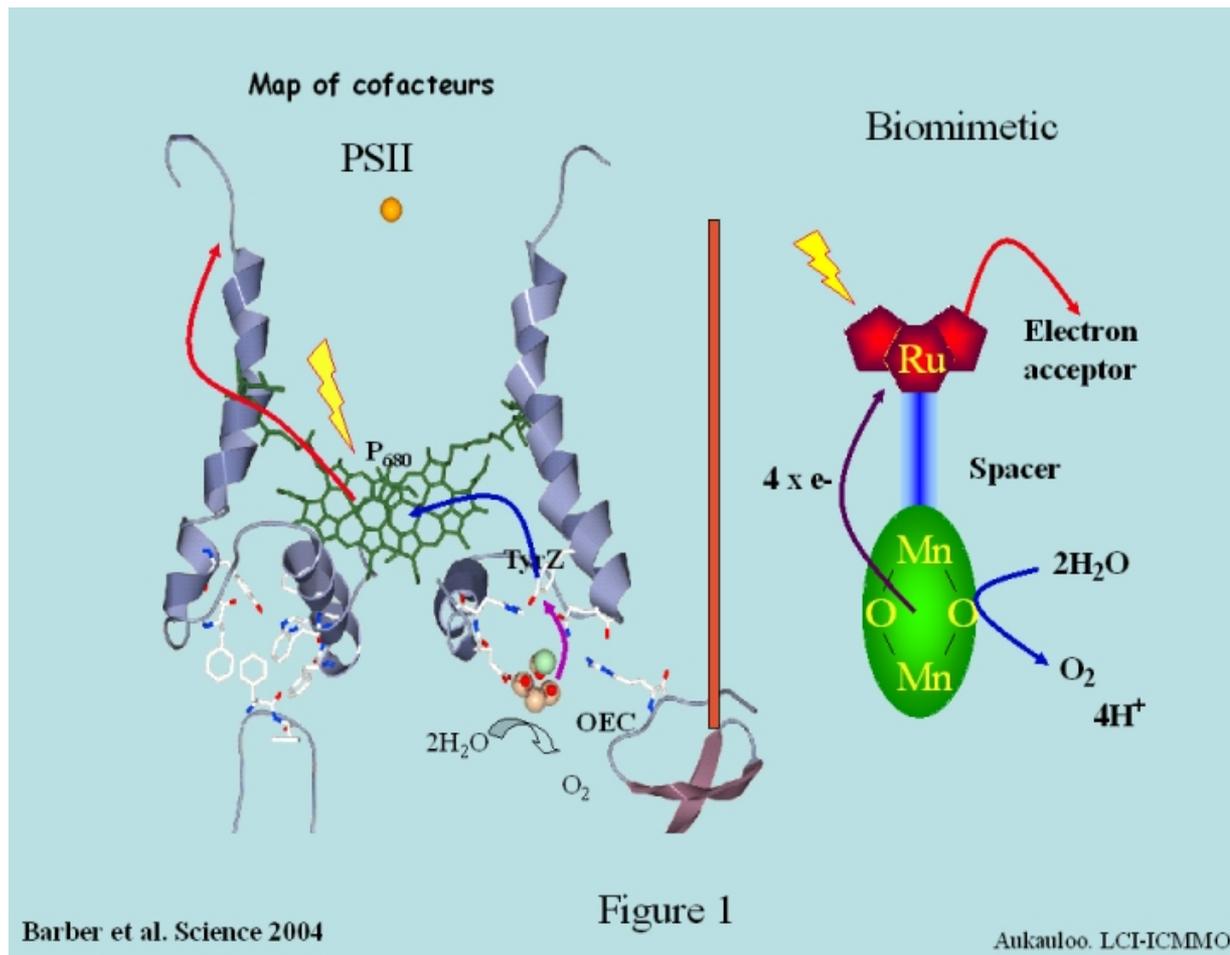
## 2. Phase obscure

### La fixation du carbone

Cette deuxième partie de la photosynthèse se déroule dans le stroma du chloroplaste et demande l'énergie sous forme d'ATP et NADPH créés pendant la phase lumineuse

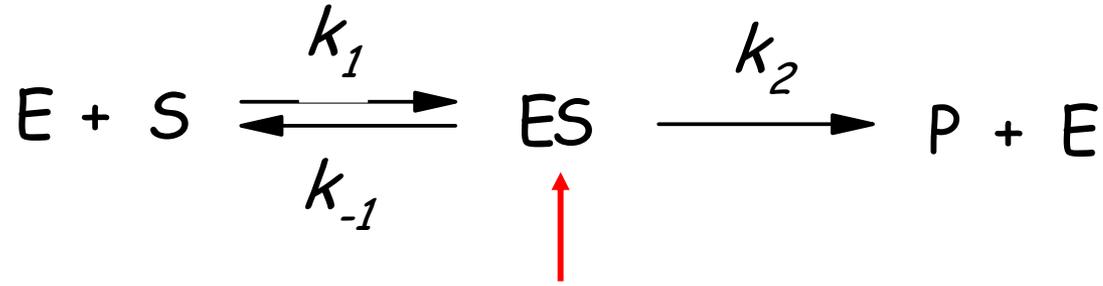


## Vers la photosynthèse artificielle



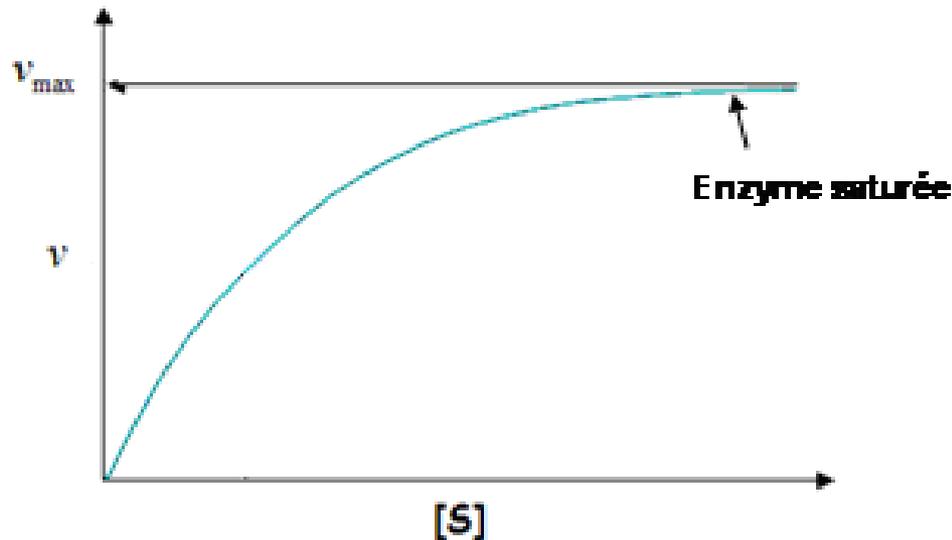
Artificial systems related to light driven electron transfer processes in PSII" Ch. Herrero, Lassalle-Kaiser Benedikt, W. Leibl, A. W. Rutherford, *Aukauloo Ally*, *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 456-468

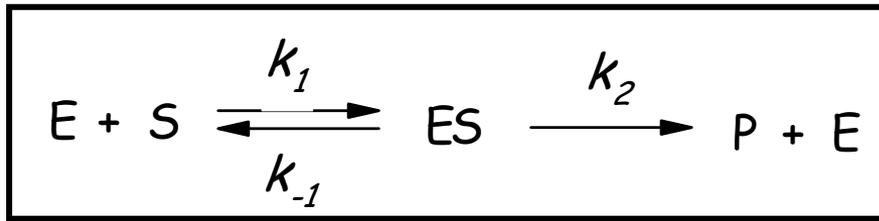
# V. Catalyse enzymatique



↑  
Complexe de Michaelis

Selon ce modèle, lorsque  $[S]$  devient suffisamment grand pour capter toute l'enzyme sous forme  $ES$ , la deuxième étape devient limitante et la réaction insensible à l'augmentation de substrat.





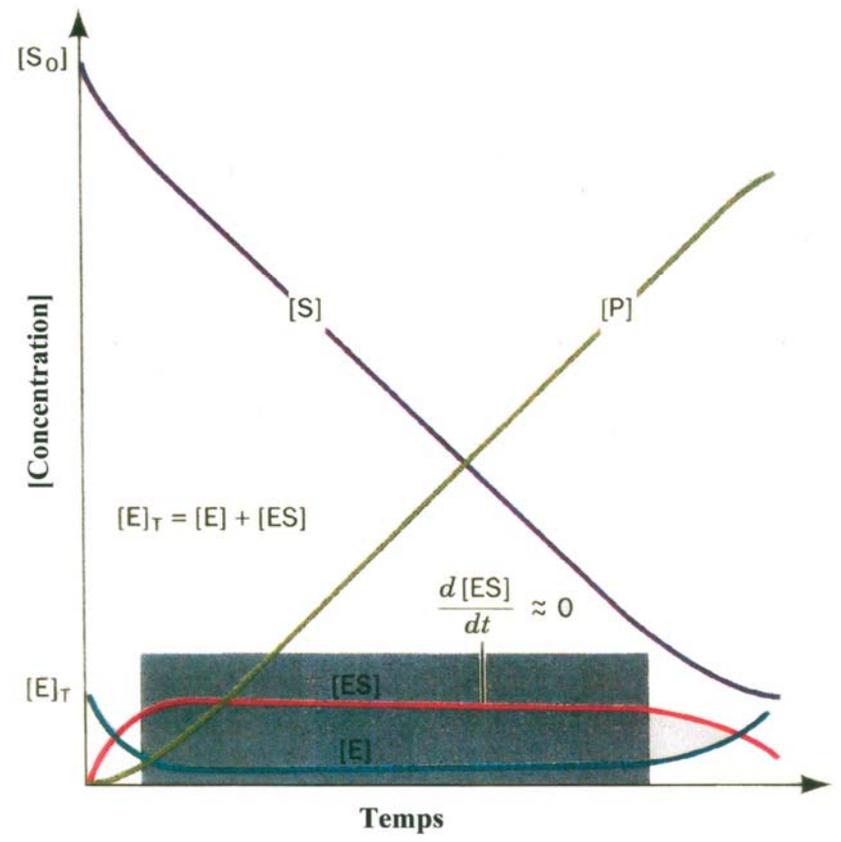
Vitesse globale de la réaction :  $v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]$

Vitesse de production de ES :  $\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES]$

Mesurable :  $[E]_{tot} = [E] + [ES]$

Approximation de l'état stationnaire :

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0$$



$$\text{d'où } [ES] = \frac{k_1[E]_{tot}[S]}{(k_{-1} + k_2) + k_1[S]}$$

$$\Rightarrow v = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_{tot}[S]}{K_M + [S]}$$

$$\text{avec } K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

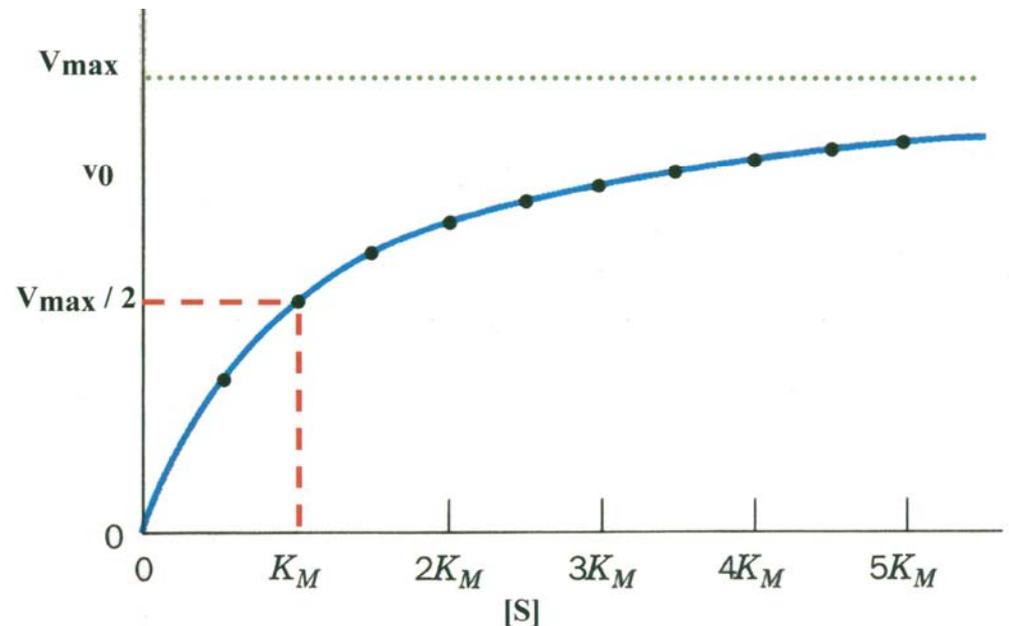
constante de Michaelis-Menten (mol.L<sup>-1</sup>)

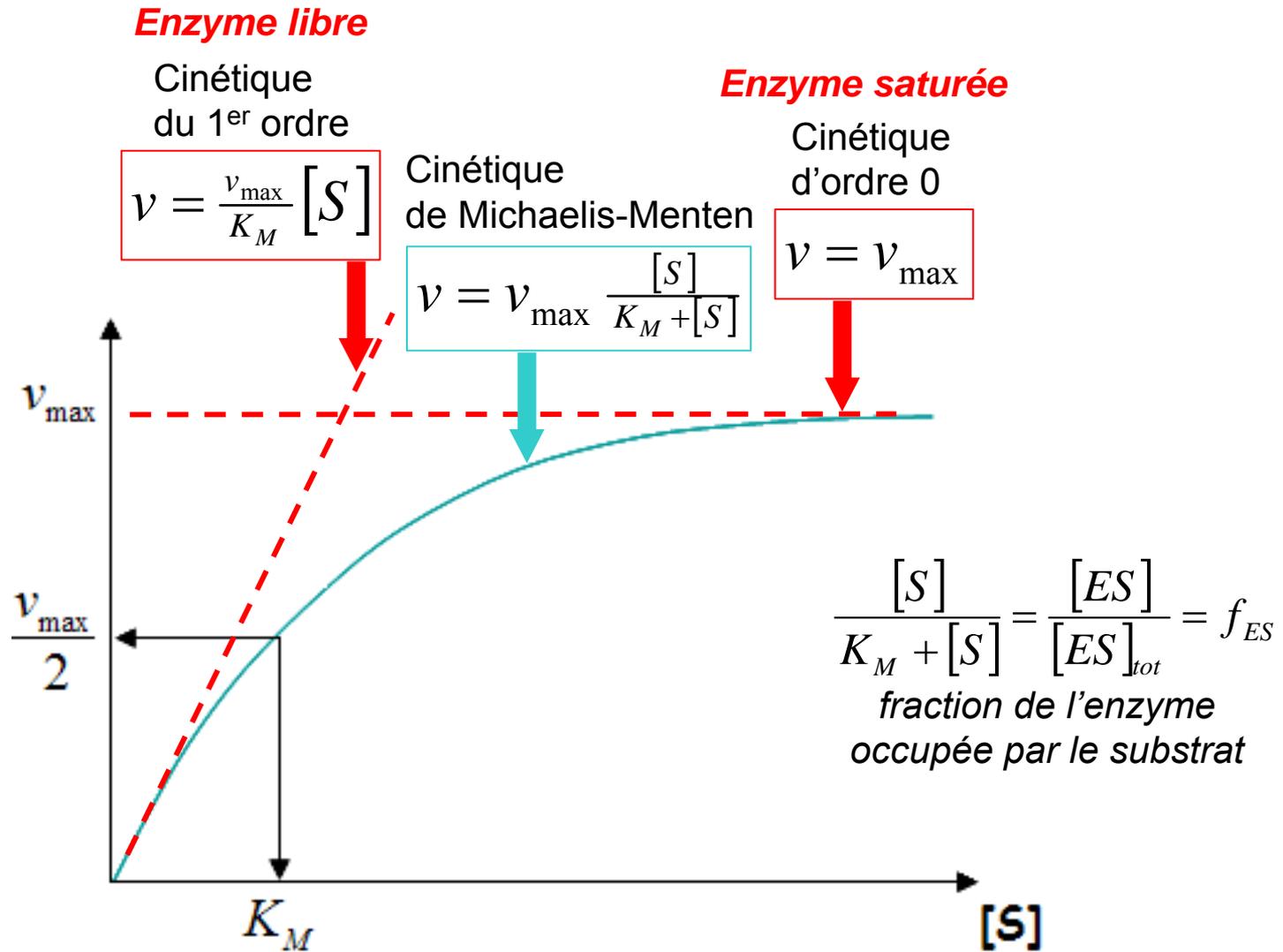
Taux de catalyse maximal : lorsque tous les sites sont saturés :  $[E]_{tot} = [ES]$

$$\Rightarrow v_{max} = k_2[ES] = k_2[E]_{tot}$$

$$\Rightarrow v = v_{max} \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Equation de Michaelis-Menten





$K_M$  petit : forte affinité de l'enzyme pour le substrat

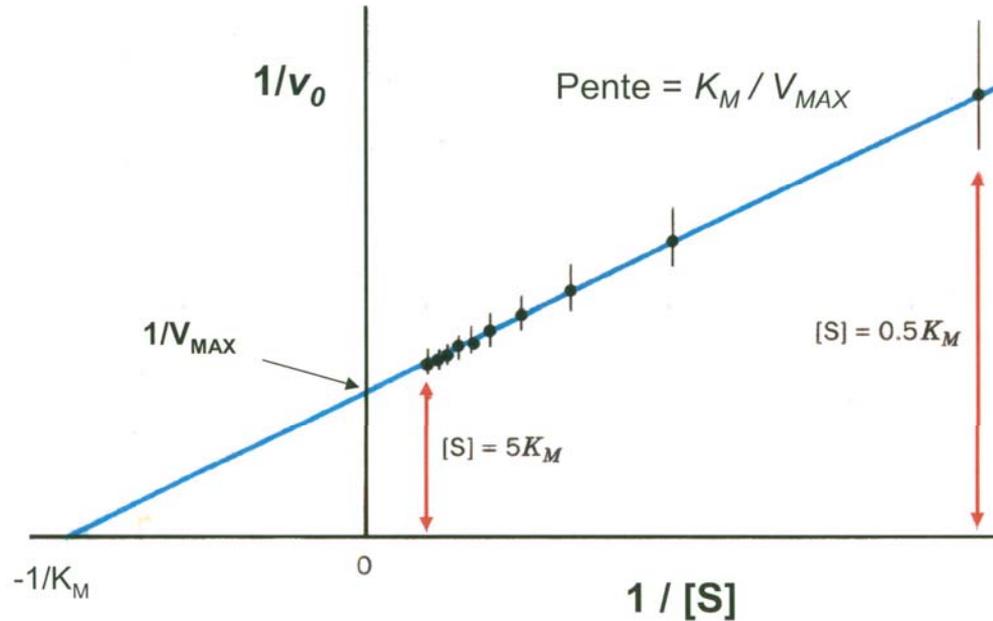
# Représentation en double réciproque

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

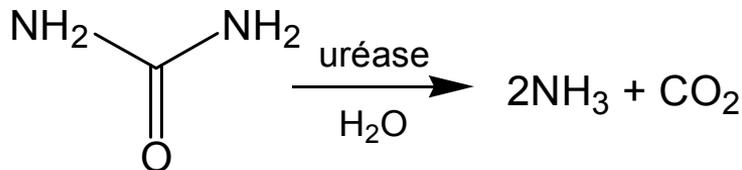
⇒

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

(Lineweaver-Burk)



**Exercice** : Déterminer les paramètres de Michaelis-Menten  $v_{max}$  et  $K_M$  pour la décomposition de l'urée par l'uréase :



$[S](\text{mol.L}^{-1})$	0.2	0.02	0.01	0.005	0.002
$V(\text{mol.L}^{-1}\text{s}^{-1})$	1.08	0.55	0.38	0.2	0.09

# Efficacité catalytique

$$v_{max} = k_2 [E]_{tot} = k_{cat} [E]_{tot} \Rightarrow k_{cat} = \frac{v_{max}}{[E]_{tot}} \quad (s^{-1})$$

$k_{cat}$  = turnover = nombre de rotations = nombre de molécules de substrat converties en produit par unité de temps par site actif, quand l'enzyme est saturée

L'efficacité enzymatique  $\varepsilon$  est calculée quand l'enzyme n'est pas saturée :  $[S] \ll K_M$

$$\Rightarrow v = v_{max} \frac{[S]}{K_M} = \frac{k_{cat} [E]_{tot} [S]}{K_M} \approx \frac{k_{cat}}{K_M} [E][S]$$

pseudo-constante bimoléculaire

$\varepsilon$  = efficacité catalytique = spécificité ( $M^{-1}.s^{-1}$ )

Y a-t-il une limite ?  $\varepsilon = \frac{k_{cat}}{K_M} = \frac{k_2}{K_M} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}$

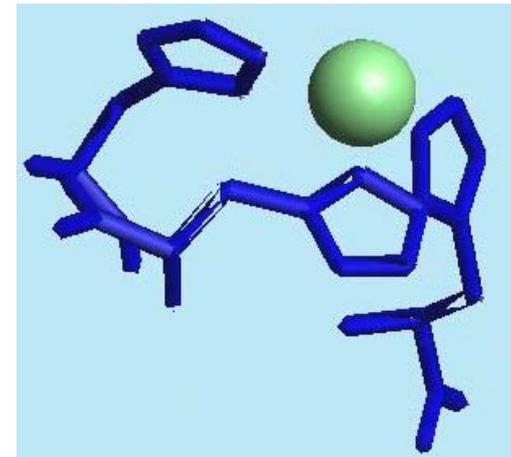
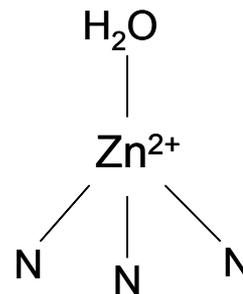
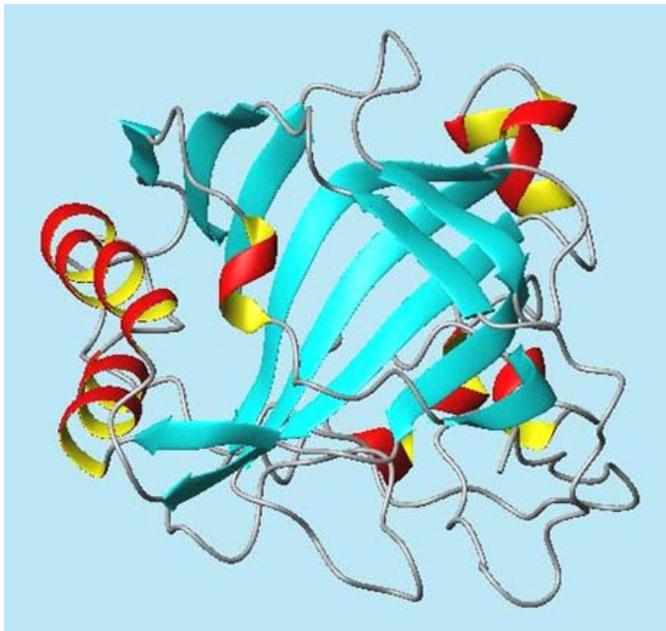
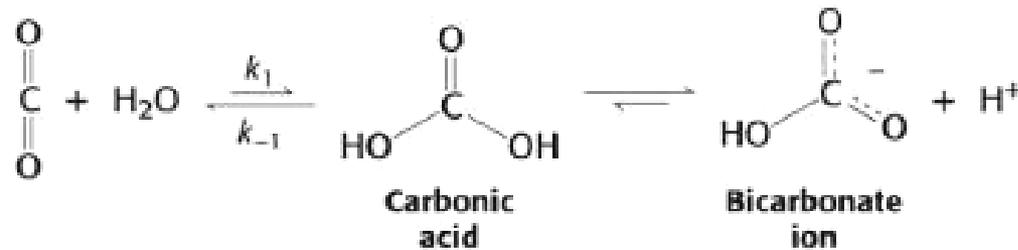
max quand  $k_2 \gg k_{-1}$  (formation de P très rapide vs décomposition de ES)  $\Rightarrow \varepsilon_{max} = k_1$

$\Rightarrow$  Efficacité limitée par la vitesse de diffusion avec laquelle le substrat rencontre l'enzyme  
 $10^8$ - $10^9 M^{-1}s^{-1} \Rightarrow$  "perfection" catalytique (catalase)

**Exercice** : Déterminer l'efficacité catalytique de l'anhydrase carbonique.

$[CO_2](\text{mmol.L}^{-1})$	1.25	2.5	5	20
$V(\text{mol.L}^{-1}\text{s}^{-1})$	$2.78 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$8.33 \cdot 10^{-5}$	$1.67 \cdot 10^{-4}$

Données pour une concentration en enzyme de 2.3 nmol/L.

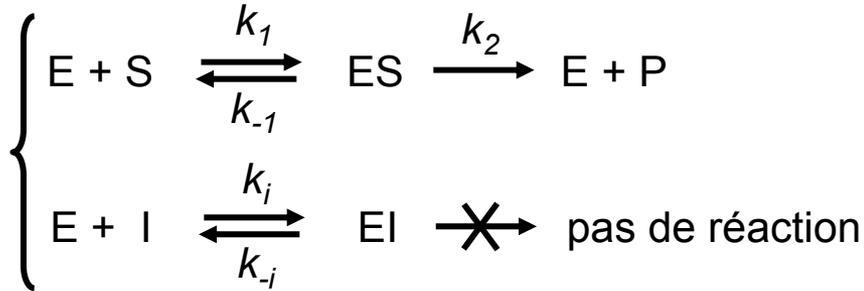


7 hélices  $\alpha$  et 3 feuillets  $\beta$ , 259 AA

# Inhibition de l'activité enzymatique

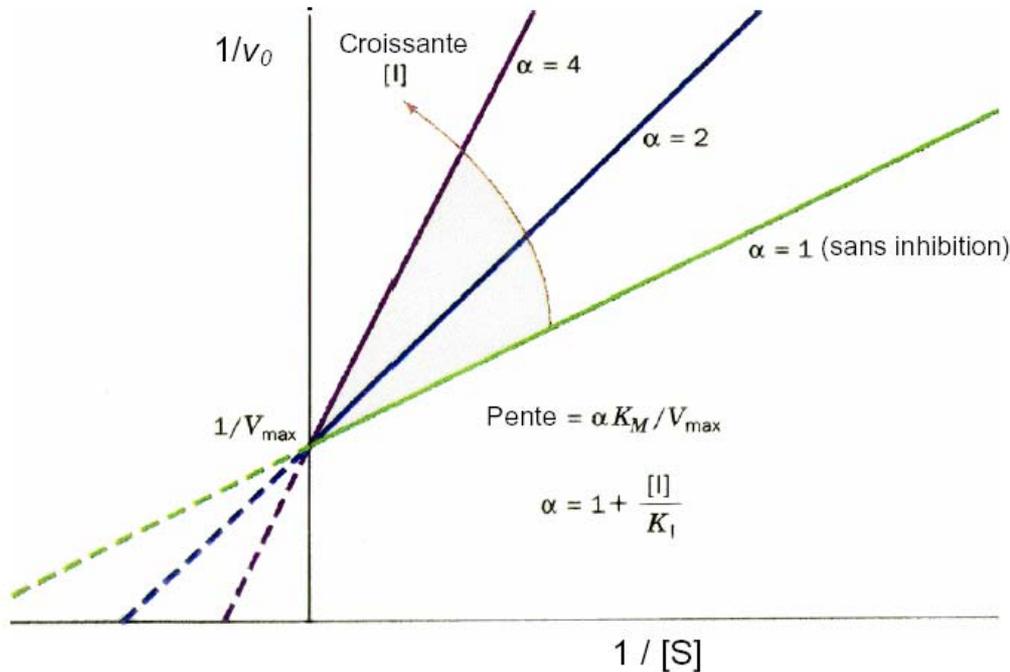
## 1. Inhibition compétitive

L'inhibiteur et le substrat ont la même affinité pour le site catalytique



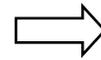
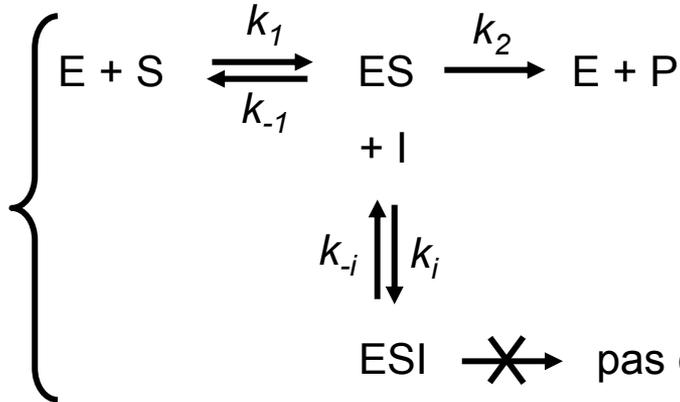
$$v = \frac{v_{\max} [S]}{[S] + K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

$$K_i = \frac{k_{-i}}{k_i} \quad \text{cte d'inhibition}$$



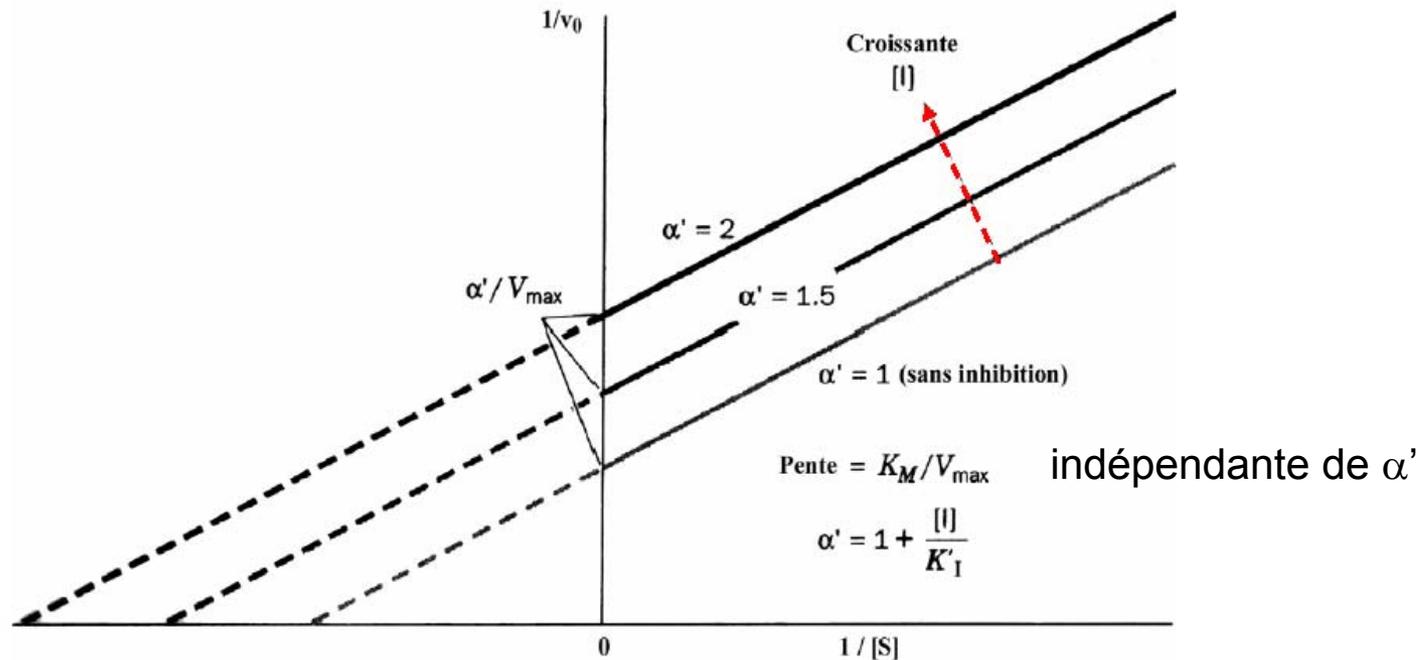
## 2. Inhibition incompétitive

L'inhibiteur se lie au complexe ES pour former un complexe ESI



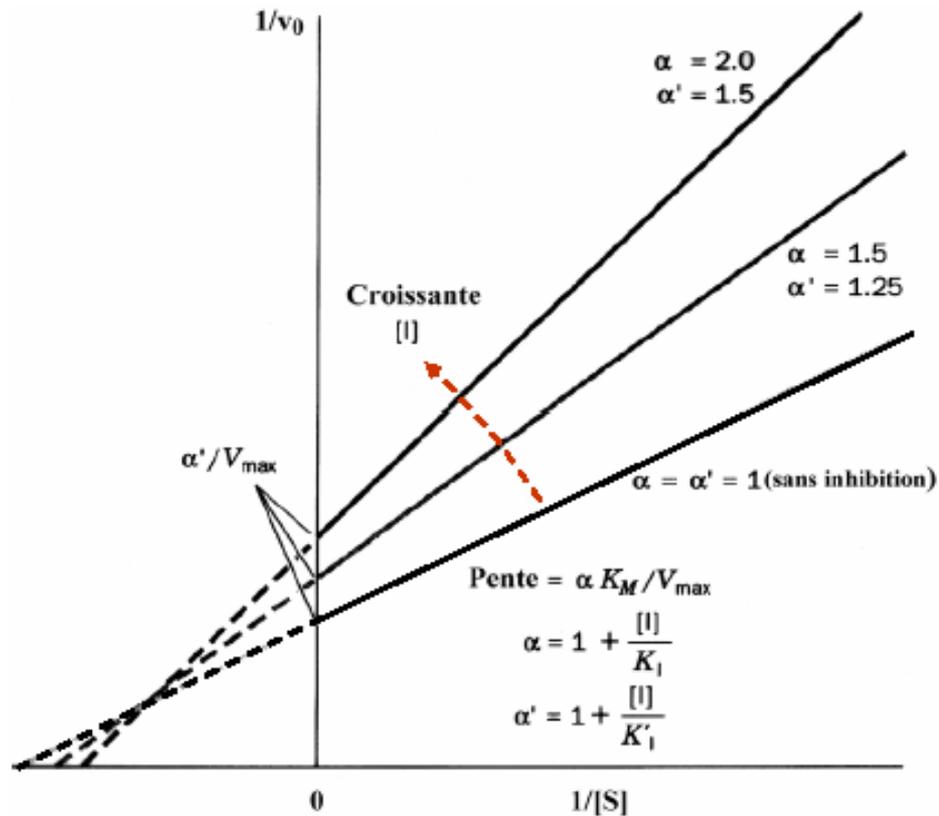
$$v = \frac{v_{max} [S]}{K_M + (1 + \frac{[I]}{K'_i}) [S]}$$

$$K'_i = \frac{k_{-i}}{k_i} \quad \text{cte de dissociation de ESI}$$



### 3. Inhibition mixte

Type d'inhibition	$V_{\max}$ , apparent	$K_M$ , apparent
Aucune	$V_{\max}$	$K_M$
Compétitive	$V_{\max}$	$\alpha K_M$
Incompétitive	$V_{\max} / \alpha'$	$K_M / \alpha'$
Mixte	$V_{\max} / \alpha'$	$\alpha K_M / \alpha'$



Représentation double réciproque d'une enzyme michaelienne simple en présence d'un inhibiteur mixte

**Exercice** : Les résultats suivants ont été obtenus au cours d'une réaction enzymatique, (1) en l'absence d'inhibiteur, (2) et (3) en présence de 2 inhibiteurs différents à la concentration 5mM.  $[E]_t$  est le même dans chaque expérience.

[S] (mM)	(1) $V(\mu\text{mol/mL/s})$	(2) $V(\mu\text{mol/mL/s})$	(3) $V(\mu\text{mol/mL/s})$
1	12	4.3	5.5
2	20	8	9
4	29	14	13
8	35	21	16
12	40	26	18

a. Déterminer  $V_{\max}$  et  $K_m$  de l'enzyme.

b. Déterminer le type d'inhibition et le  $K_i$  pour chaque inhibiteur.