

Cinétique - Théorie du complexe activé

SESSION 2010

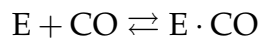
1 Grandeurs d'activations et mécanisme réactionnel (Lange R. et coll., *Biophys. J.*, 66, 89-98)

Le but de cette étude est de comprendre les facteurs influençant l'oxydation de certains substrats par les cytochromes P450. Il est généralement admis que l'étape cinétiquement déterminante est la fixation de O₂ par un hème (atome de fer coordiné à une porphyrine).

On va s'intéresser à l'adsorption de CO par ces différentes enzymes afin de modéliser cette étape. On utilise CO plutôt que O₂ car il peut se lier plus fortement à l'enzyme. La cinétique est suivie grâce à l'absorbance des bandes de Soret à deux longueurs d'ondes proches de 450 nm. On appellera l'enzyme E dans la suite du sujet.

1. Rappelez les 4 hypothèses liées à la théorie de l'état de transition en expliquant succinctement leur utilité.

On considère que l'étape cinétiquement déterminante a le bilan suivant :



2. Donnez la valeur de la constante de vitesse en fonction de constantes fondamentales, de la température et de la grandeur K^\ddagger dont vous donnerez le sens physique. Quelle est la différence entre K^\ddagger et la constante d'équilibre K associée à un équilibre thermodynamique classique ?
3. Proposez une méthode permettant d'accéder à la mesure de $\Delta^\ddagger S$ et $\Delta^\ddagger H$ en ayant accès à k à différentes températures.

Une série de mesures pour le cytochrome P450_{sc} à pression atmosphérique a donné les valeurs suivantes :

$T(^{\circ}\text{C})$	5	10	15	20	25	30	35
$k(10^4\text{s}^{-1})$	10,33	12,75	15,62	19,00	22,98	27,62	33,00

4. Donnez la valeur de l'entropie d'activation et de l'enthalpie d'activation pour cette enzyme. Commentez leurs valeurs respectives.
5. Exprimez la dérivée de $\ln(k)$ par rapport à la pression P en fonction du volume d'activation $\Delta^\ddagger V$ et de la température.

Une série de mesures pour l'hémoglobine qui n'est pas un cytochrome P450 mais est également une hémoprotéine à 25°C a donné les valeurs suivantes :

$P(\text{MPa})$	0.1	1	10	20	30	40	50	60	100
$k(\text{s}^{-1})$	60 000	60 452	65 260	71 017	77 314	84 142	91 580	99 673	139 945

6. Déterminez le volume d'activation, commentez son signe et sa valeur.

On a également fait varier les conditions expérimentales pour l'enzyme P450_{scc} :

Solvent dependence on the P-450_{scc} CO binding rate constant k_1 and on its activation volume ΔV^\ddagger

Experimental condition	k_1	ΔV^\ddagger	η/η_0
	$\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	ml mol^{-1}	
Aqueous MOPS buffer, pH 7			
at 25°C	2.1×10^5	2 ± 2	1
at 5°C		2 ± 2	1
Tris buffer, pH 8.2	2.0×10^5	1 ± 1	1
300 mM NaCl	2.3×10^5	0 ± 1	1.03
40% ethylene glycol	2.4×10^5	5 ± 4	2.8
50% glycerol	2.8×10^4	0 ± 2	6.0

On a changé le pH, la force ionique et la viscosité.

- À partir des données, que pouvez vous dire sur le rôle du solvant pour cette enzyme et l'étape cinétique considérée ?
- Une étude sur plusieurs hémoprotéine a montré que lorsque l'hème est lié à la protéine par une liaison de coordination faisant intervenir un azote, le volume d'activation était négatif alors que lorsque la liaison de coordination fait intervenir un soufre, le volume d'activation est très légèrement positif. Interprétez.

2 Principe de Curtin-Hammett (Landis C., Halpern J., *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 1746-1754)

On va chercher à expliquer la formation préférentielle de certains isomères en catalyse. Soient **A** et **B** deux conformères qui peuvent réagir pour former deux produits différents **P_A** et **P_B** respectivement via les complexes activés **A[‡]** et **B[‡]**.

Le système évolue à température et volume fixé. Soient $\Delta^\ddagger G_A$ et $\Delta^\ddagger G_B$ les grandeurs d'activations associées à chacune des deux réactions.



Les conformères **A** et **B** sont en équilibre et la grandeur de réaction associée est notée $\Delta_r G_E$



On suppose que l'équilibre entre **A** et **B** est toujours réalisé donc que le complexe activé **E[‡]** associé à cet équilibre est relativement bas en énergie $\Delta^\ddagger G_E \ll \Delta^\ddagger G_A, \Delta^\ddagger G_B$.

On choisit un cas tel que **A** soit le conformère majoritaire et pour lequel on a $\Delta^\ddagger G_A > \Delta^\ddagger G_B$

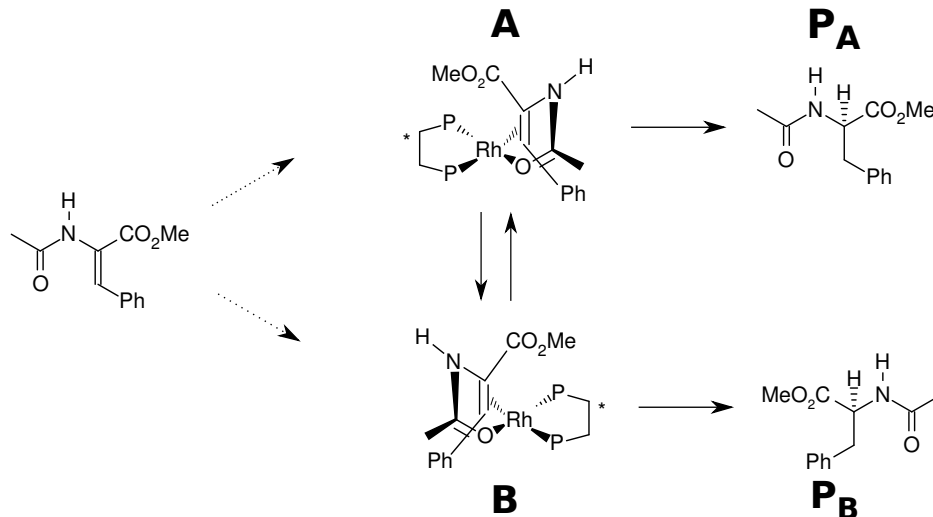
1. Sur un diagramme d'enthalpie libre, représenter la position énergétique relative de chacune des espèces **A**, **B**, **P_A**, **P_B**, **A[‡]**, **B[‡]** et **E[‡]**.

On est sous contrôle cinétique et la réaction est d'ordre 1 pour former les produits. Le rapport des quantité de produits **P_A** et **P_B** dépend donc directement du rapport des deux vitesses de réaction.

2. Donnez le rapport $\frac{[P_A]}{[P_B]}$ en fonction des deux grandeurs d'activations $\Delta^\ddagger G_A, \Delta^\ddagger G_B$ et du rapport $\frac{[A]}{[B]}$. Vous vous aiderez de l'expression de la constante de vitesse grâce à la théorie de l'état de transition.
3. Justifier le fait que le rapport $\frac{[A]}{[B]}$ est toujours égal à $\frac{1}{K_E}$.
4. Montrez que le rapport $\frac{[P_A]}{[P_B]}$ est en fait uniquement lié à l'écart d'enthalpie libre $G_{A^\ddagger} - G_{B^\ddagger}$ entre **A[‡]** et **B[‡]**. C'est le principe de Curtin-Hammett. Expliquez alors pourquoi le composé majoritaire obtenu provient du conformère minoritaire.

Ce principe est mis à profit lors de l'hydrogénation d'une oléfine prochirale, le méthyl-(Z)- α -acetamidocinnamate par un complexe chiral de rhuthénium.

La constante d'équilibre K_E entre les deux conformères possibles pour le complexe à 298K vaut 10,63 et la différence $\Delta^\ddagger G_A - \Delta^\ddagger G_B$ vaut 10,04 kJ.mol⁻¹.



5. Calculer l'excès énantiomérique maximal que l'on peut obtenir. Commentez et expliquez pourquoi en pratique l'excès énantiomérique est plus faible. On rappelle la formule de l'excès énantiomérique : $ee = \frac{[P_B] - [P_A]}{[P_B] + [P_A]}$

Données numériques :

- $R = \mathcal{N}_A \times k_B = 8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$
- $k_B = 1,38.10^{-23} \text{ m}^2.\text{kg.s}^{-2}.\text{K}^{-1}$
- $\mathcal{N}_A = 6,02.10^{23}$
- $h = 6,62.10^{-34} \text{ J.s}$