

Mécanismes Enzymatiques R^e-dox

Prof. Frédéric AVENIER

Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay
Equipe de Chimie Bio-organique et Bio-inorganique

Master 2 - Chimie Organique - 2023-2024

Contact

Prof. Frédéric Avenier

frederic.avenier@universite-paris-saclay.fr

Laboratoire de Chimie Bio-organique et Bio-inorganique

Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO)

<http://www.icmmo.u-psud.fr/Labos/LCBB/cv/avenier.php>

Thèmes de Recherche: Chimie Bio-inorganique, Catalyse bio-inspirée et enzymes artificielles



Sommaire

- 1 Introduction Générale**
- 2 Enzymes à cofacteur nicotinamide (NADH ou NADPH)**
 - I) Alcool Déshydrogénase
 - II) Lactate Deshydrogénase
- 3 Enzyme à cofacteur flavine (Riboflavine, FMN ou FAD)**
 - I) Glutathion réductase
 - III) Flavine Monooxygénases
- 4 Enzymes à cofacteur biopterine**
 - I) Phenylalanine hydroxylase
- 5 Introduction Métaux en Biologie**
- 6 Enzymes à cofacteur héminique**
 - I) Cytochrome P450
 - II) Cytochrome c oxydase
- 7 Enzymes à clusters métalliques**
 - I) Photosystème II et Oxygen Evolving Complex
 - II) Hydrogénases à fer

1

1

Introduction

Enzymes Rédox

Les enzymes à activité rédox catalysent des réactions d'oxydation et/ou de réduction qui impliquent donc nécessairement des transferts d'électrons, mais aussi potentiellement la formation d'espèces radicalaires au cours de leur cycle catalytique.

Ces enzymes utilisent des **co-enzymes** (cofacteurs ou groupements prosthétiques) **redox** qui permettent de fournir ou de capter les électrons au sein du site actif et de baisser l'énergie d'activation nécessaire à la formation de l'état de transition de la réaction.

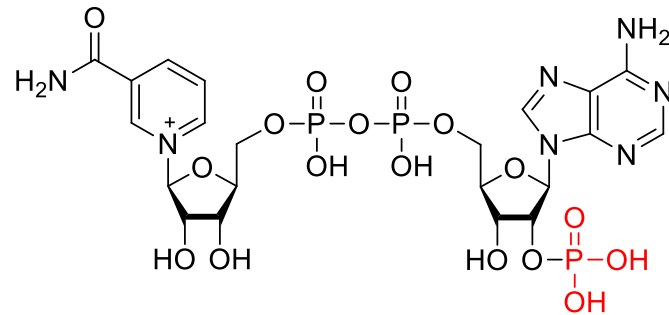
Les **co-enzymes rédox** peuvent donc servir de **catalyseurs**, mais aussi de simples **relais électroniques** dans les systèmes enzymatiques et peuvent être de différente nature.

- molécule purement organiques (NADH, FMN, etc...)
- molécule organique complexant un ion métallique (hèmes, cobalamine, etc...)
- ions métalliques (ions Fe^{2+} , Cu^{2+} , etc... ou sous forme de cluster $4\text{Fe}4\text{S}$ par ex...)

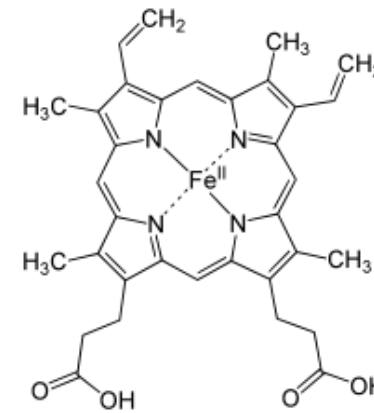
Ces co-enzymes sont, la plupart du temps, liés à l'enzyme par des interactions non covalentes

Co-enzymes rédox

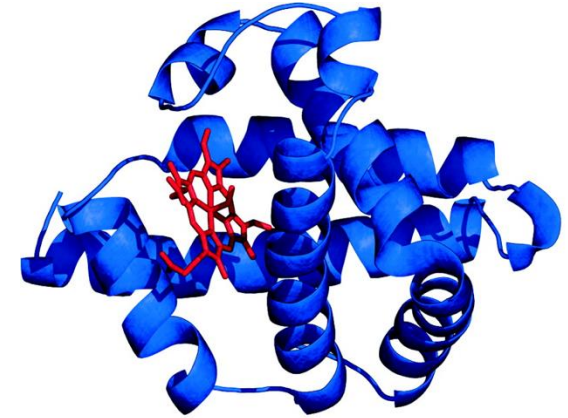
Molécules purement organiques

Ex: NAD(P)⁺

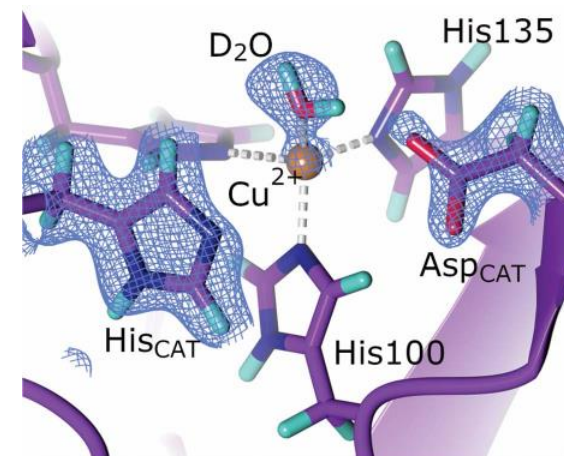
Molécules organiques complexant un ion métallique



Ex: Hème



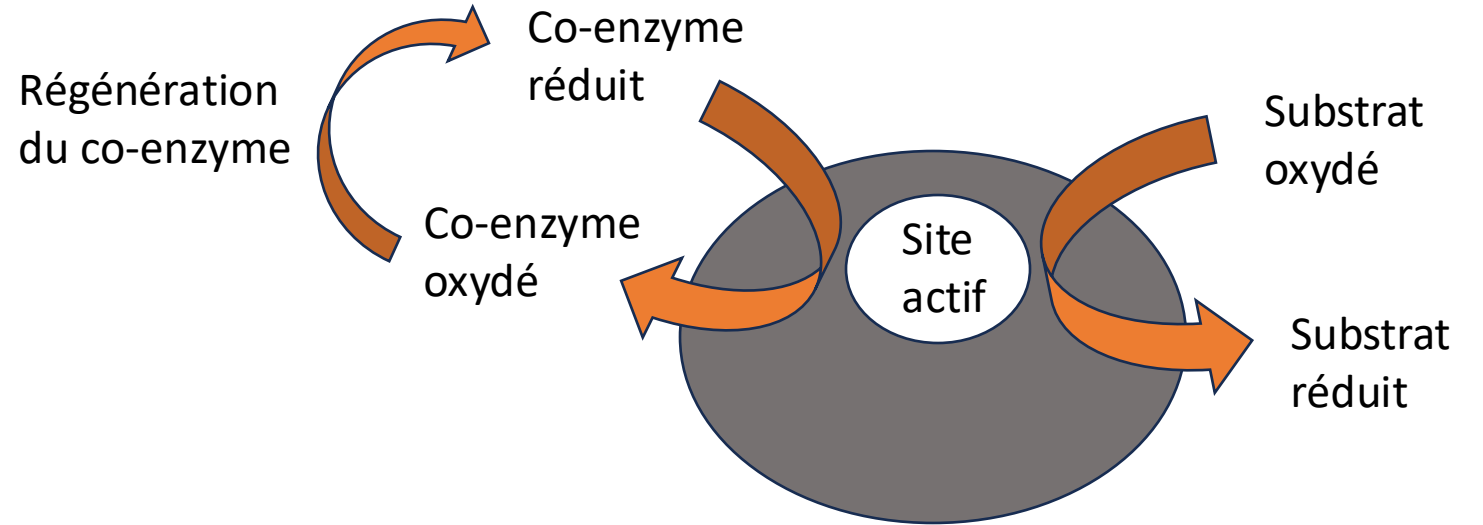
Ions métalliques complexés à la protéine

Ex: Cu²⁺

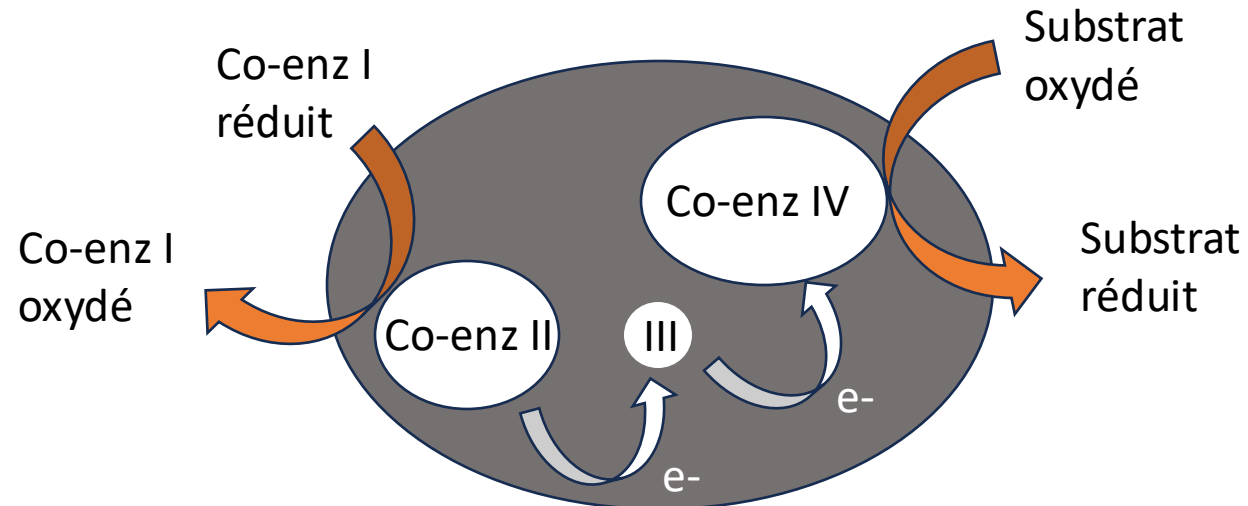
1

Introduction

Simple réaction rédox catalysée au site actif



Système redox impliquant 1)collecte 2)séparation 3)transport et 4)utilisation des électrons



2

Enzymes à
Cofacteur
NAD(P)H

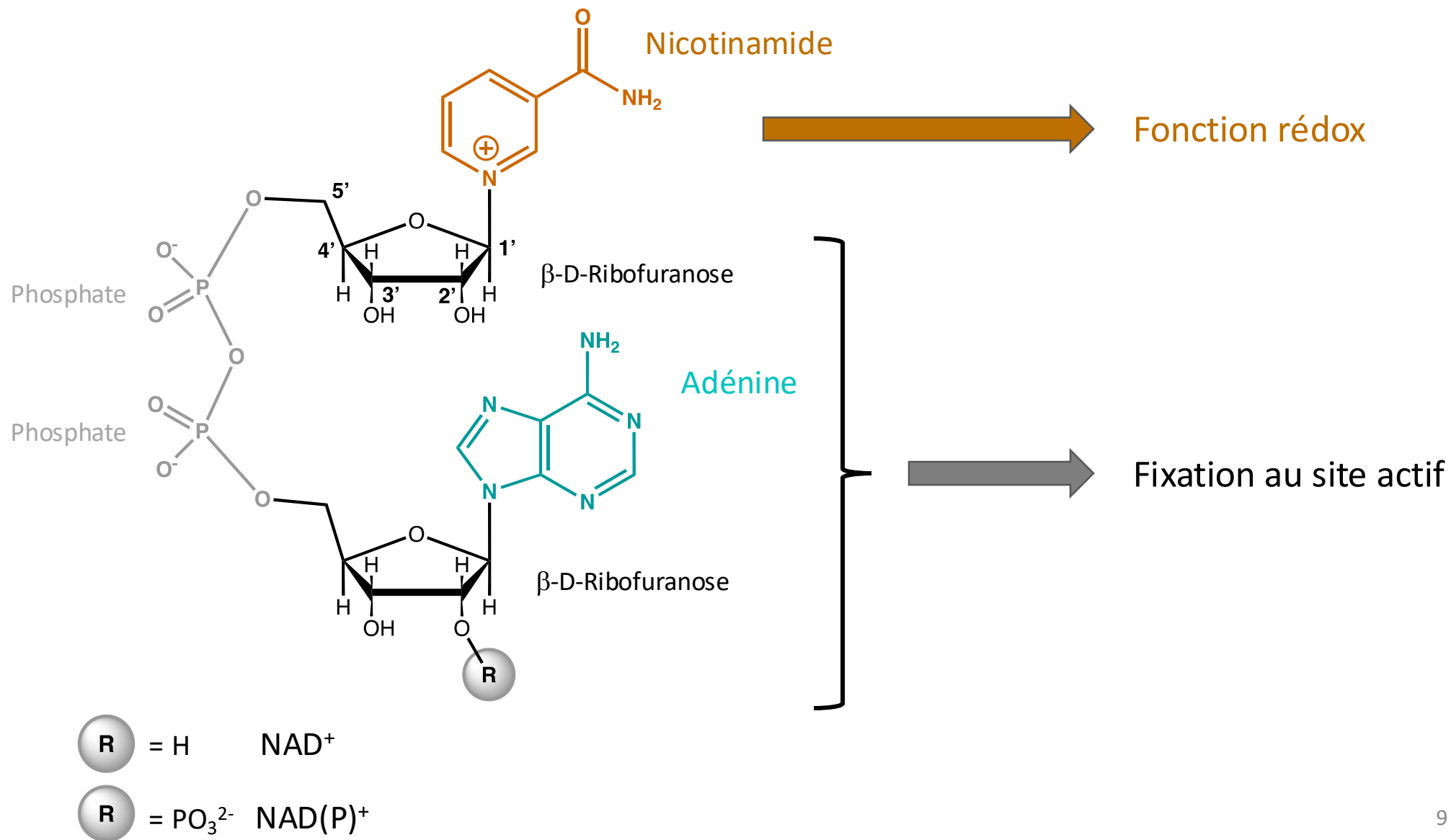
2

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

2

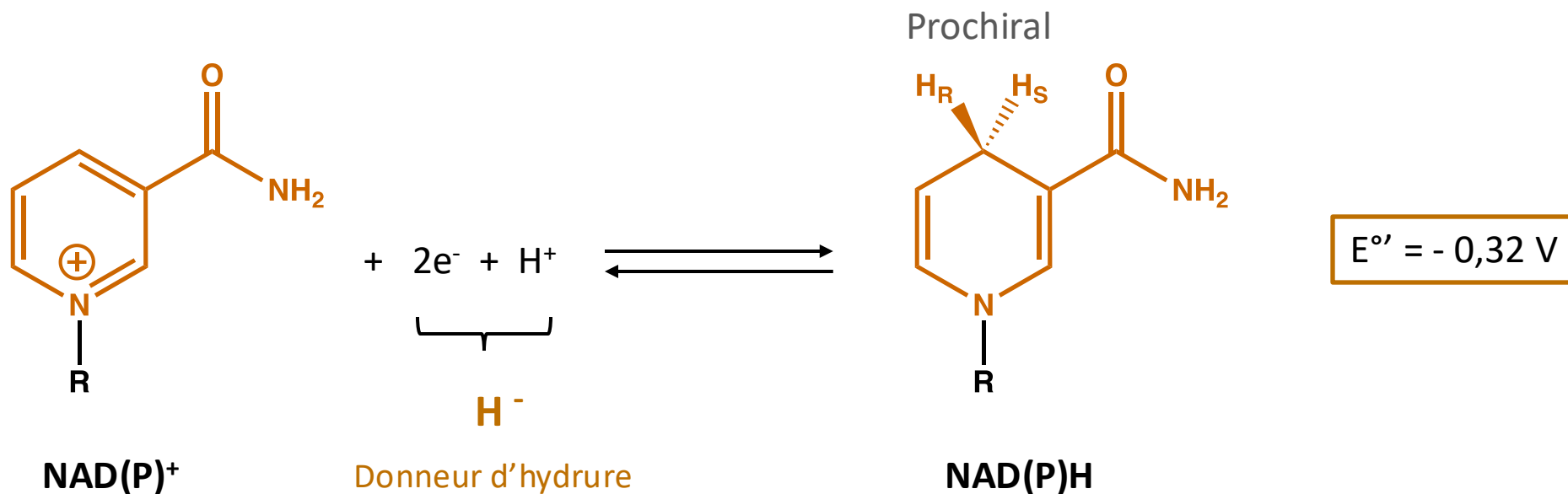
Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

NAD(P)⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate)



NAD(P)⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate)

Activité Rédox



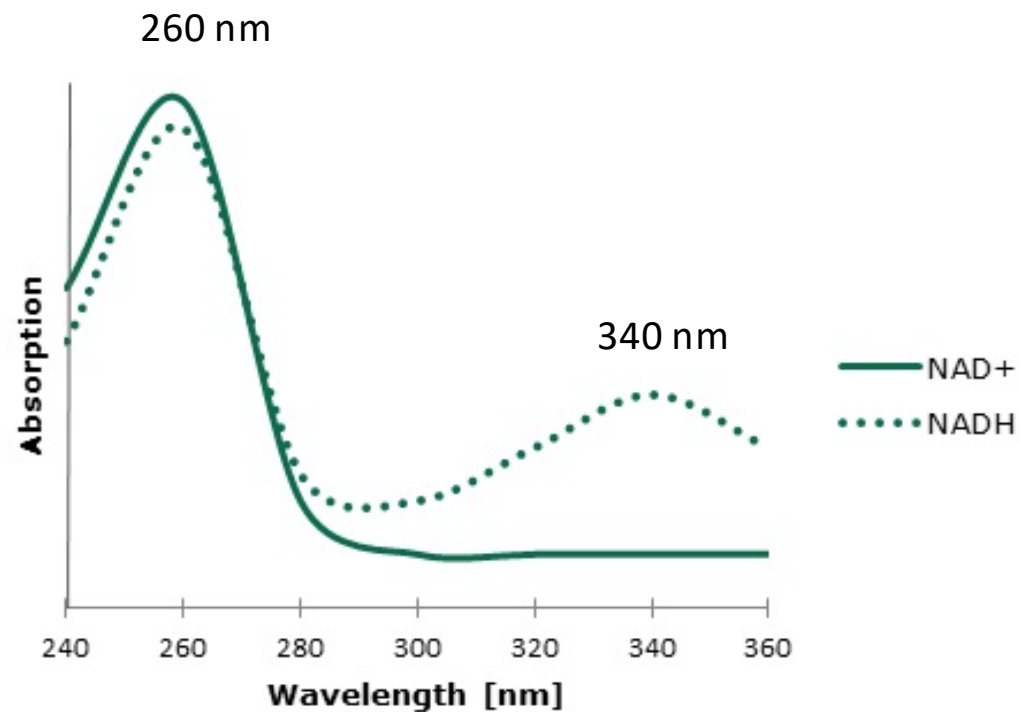
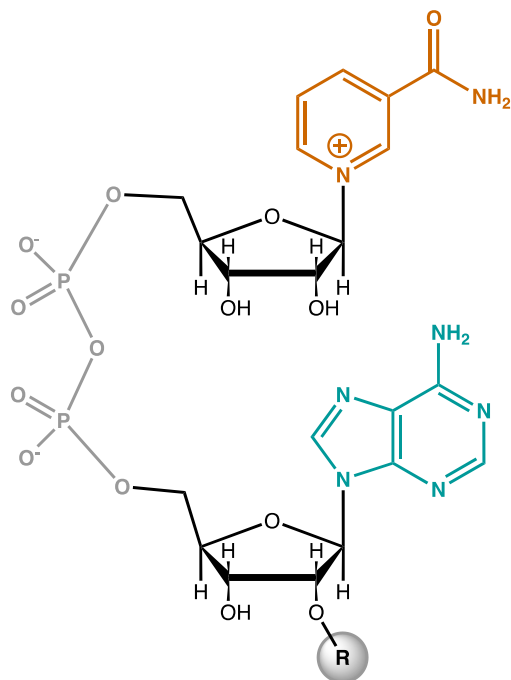
La réaction est réversible et ce cofacteur peut donc servir d'oxydant ou de réducteur en fonction de l'enzyme associée et/ou du sens de la réaction.

Le couple NAD(P)⁺/NAD(P)H échange des paires d'électrons.

2

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

NAD(P)⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate)

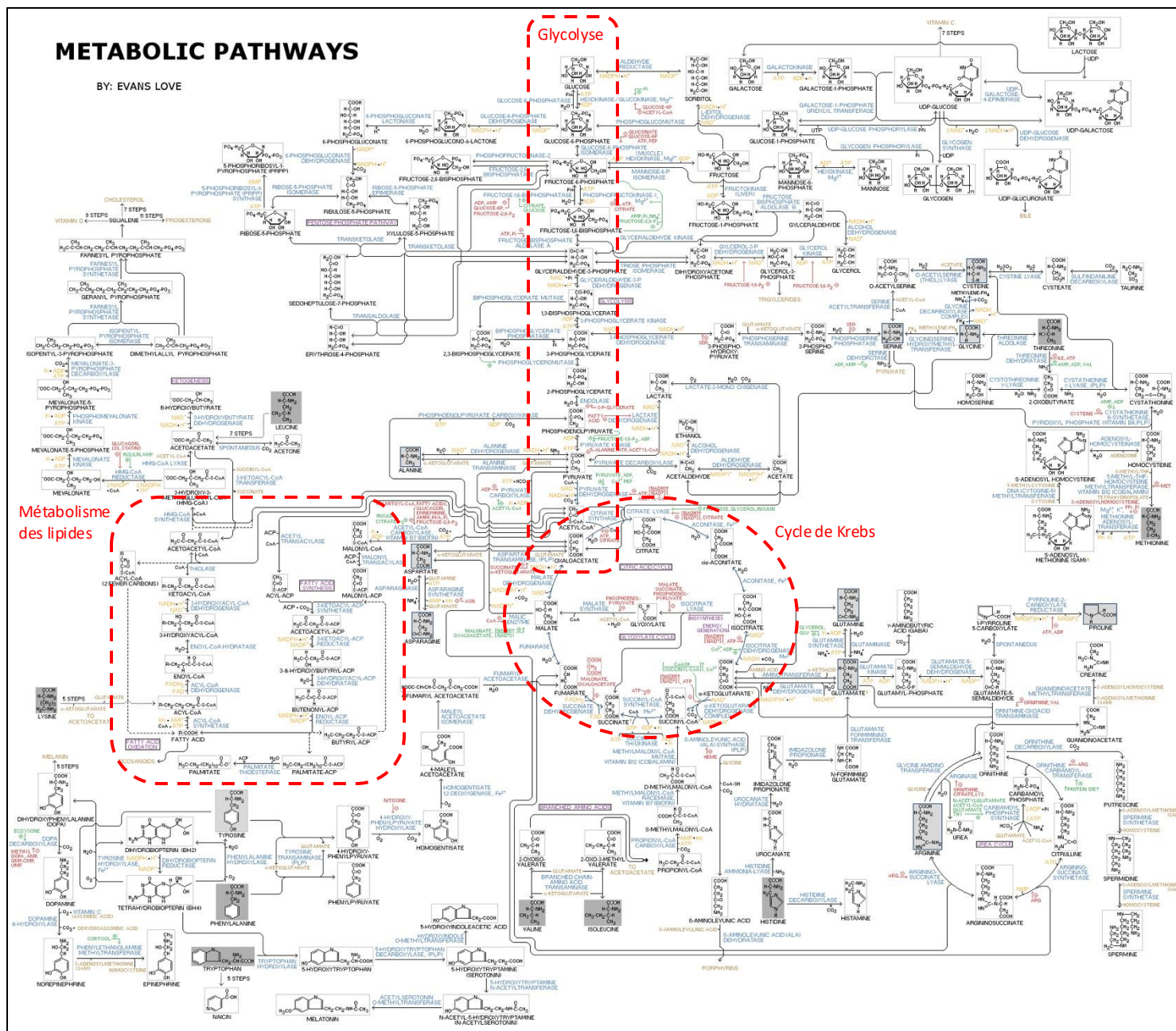


L'adénine absorbe fortement à 260 nm dans les deux cas.

Le **nicotinamide réduit** absorbe spécifiquement à 340 nm.

On peut ainsi facilement suivre
les réactions enzymatiques

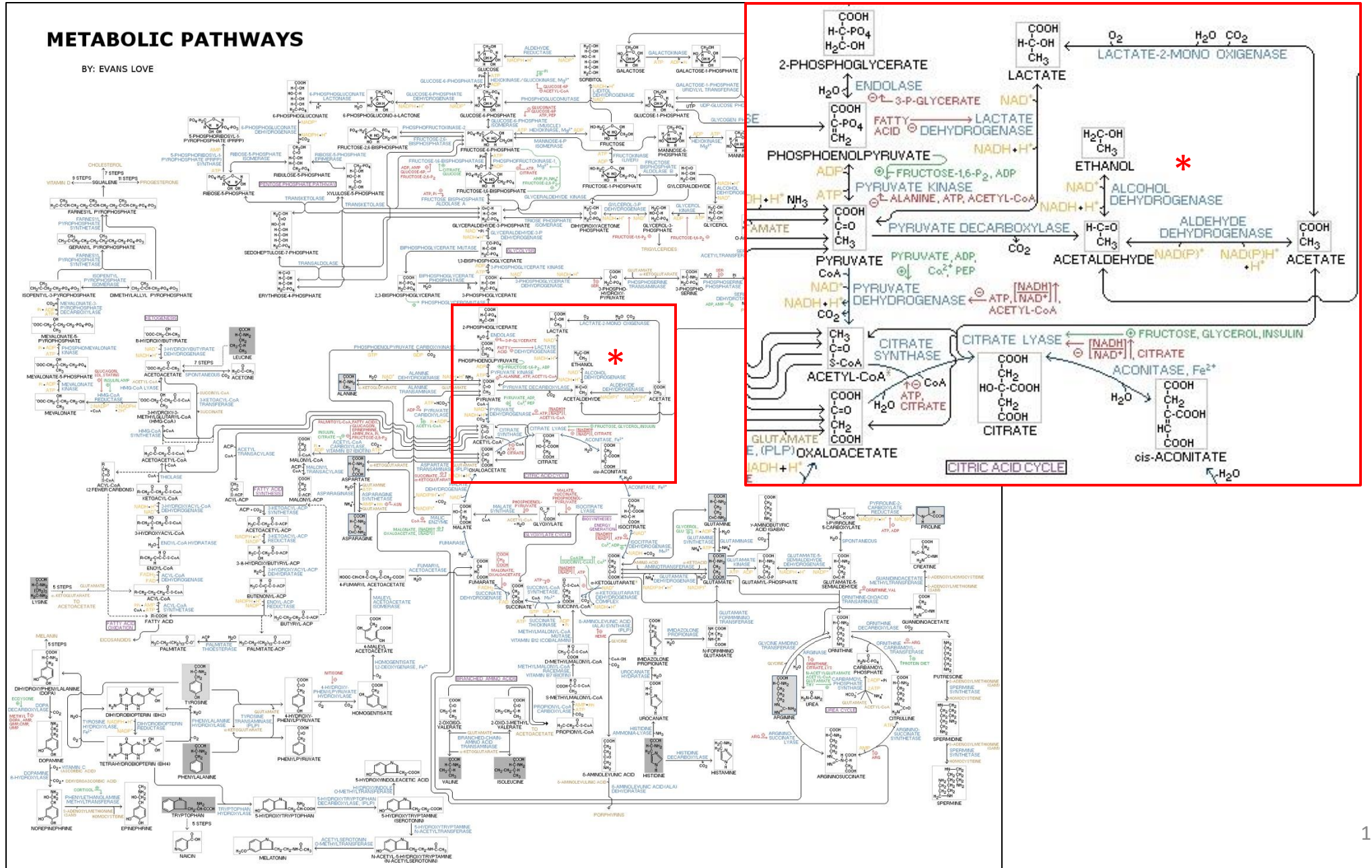
Enzymes à Cofacteur NAD(P)H



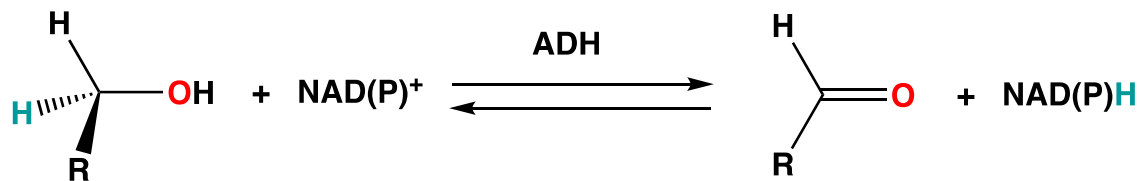
2

I) Alcool Déshydrogénase (ADH)

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H



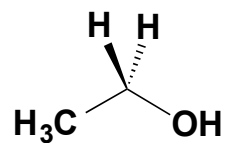
I) Alcool Déshydrogénase (ADH)



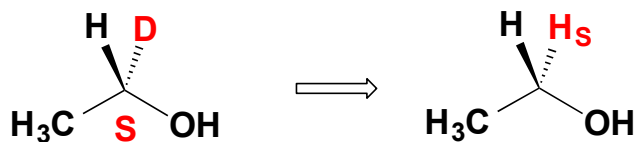
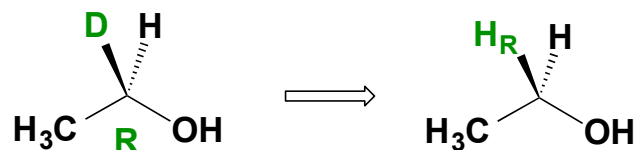
NAD⁺ est consommé stoechiométriquement et régénéré par le métabolisme.

Réaction stéréospécifique (\neq réduction par LiAlH₄)

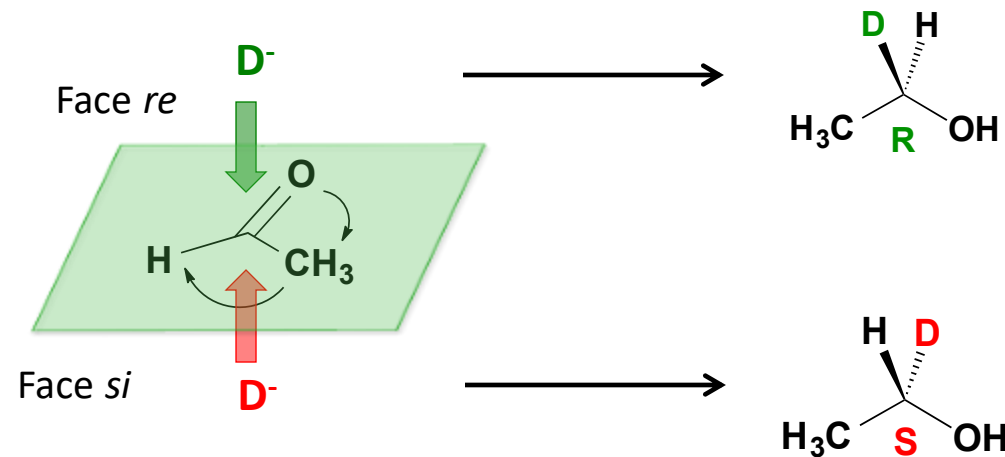
Prochiralité du substrat



Molécule non chirale
avec un C prochiral



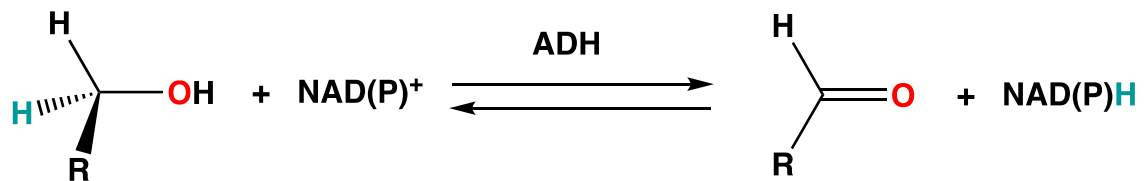
Concernant la réaction de réduction



2

Enzymes à
Cofacteur
NAD(P)H

I) Alcool Déshydrogénase (ADH)

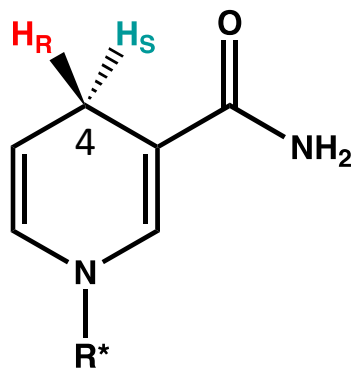


NAD⁺ est consommé stoechiométriquement et régénéré par le métabolisme.

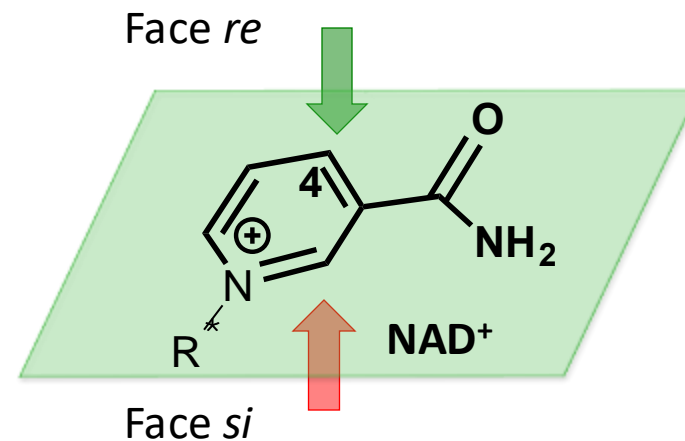
Réaction *stéréospécifique* (\neq réduction par LiAlH₄)

Prochiralité du co-enzyme

Le Carbone 4 de NADH est prochiral



NADH

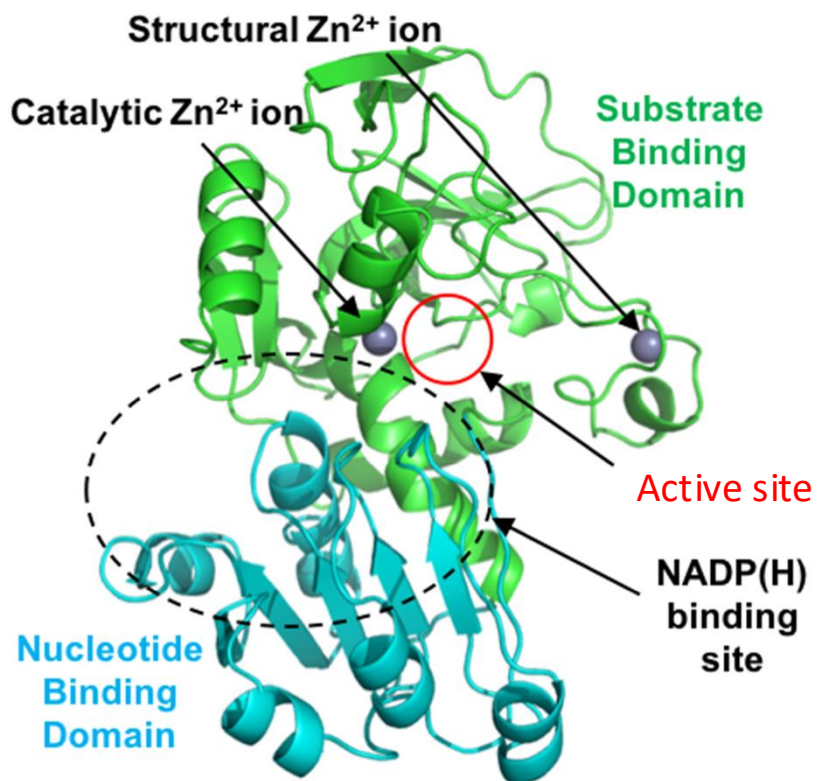
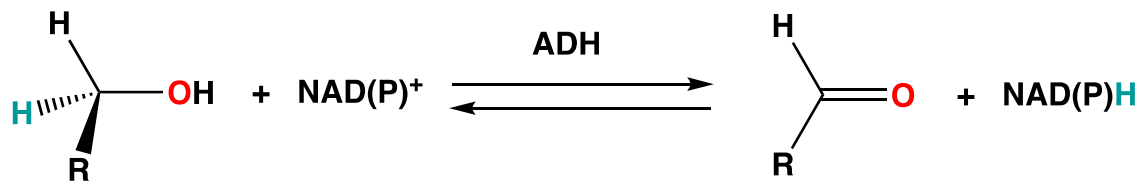


2

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

Environnement chiral

I) Alcool Déshydrogénase (ADH)



2

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

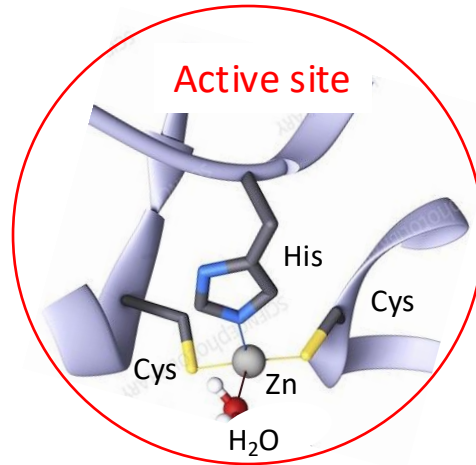
Environnement chiral

Site actif à Zn^{2+}
(non rédox car d^{10})

Interaction spécifique de NAD(P)H

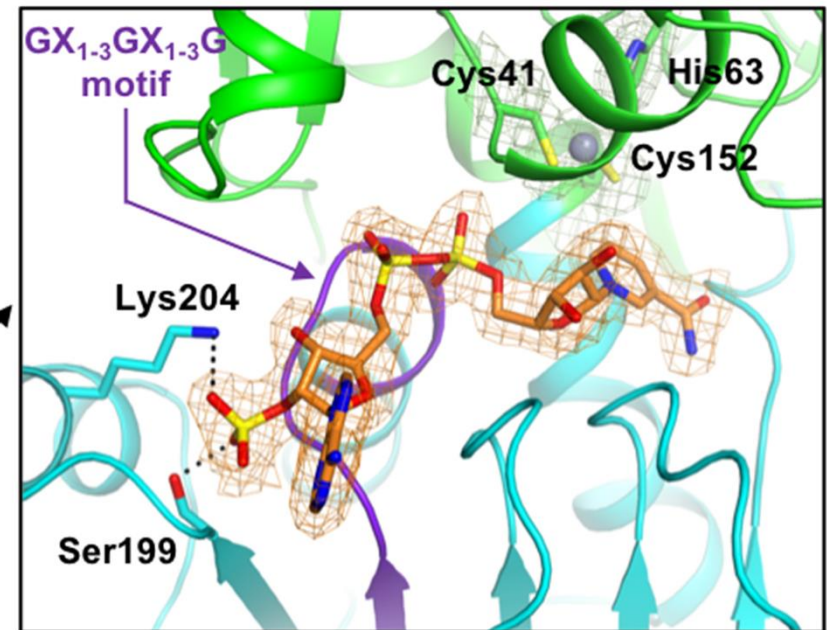
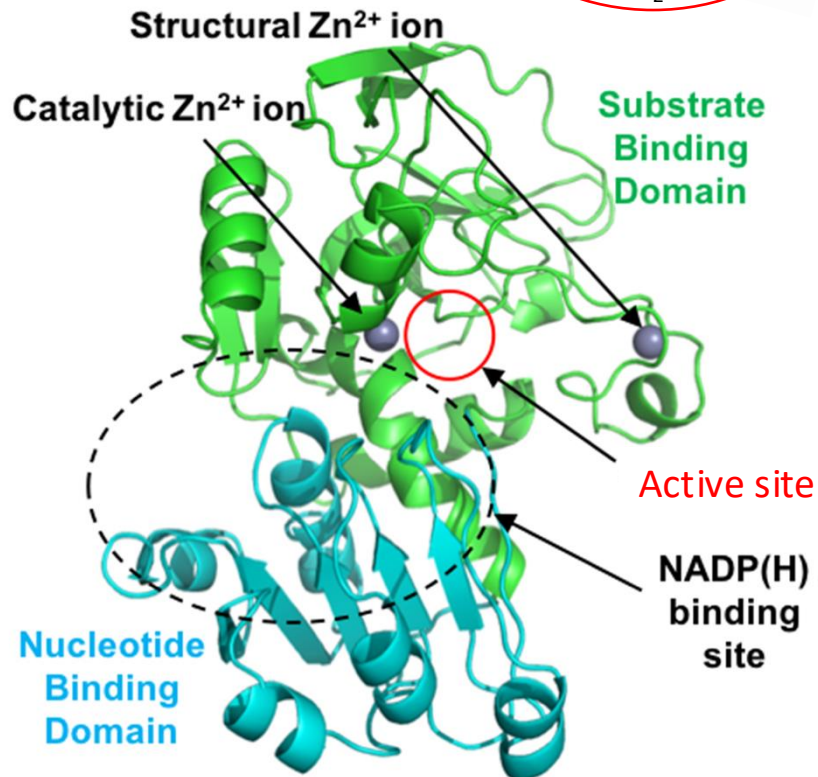
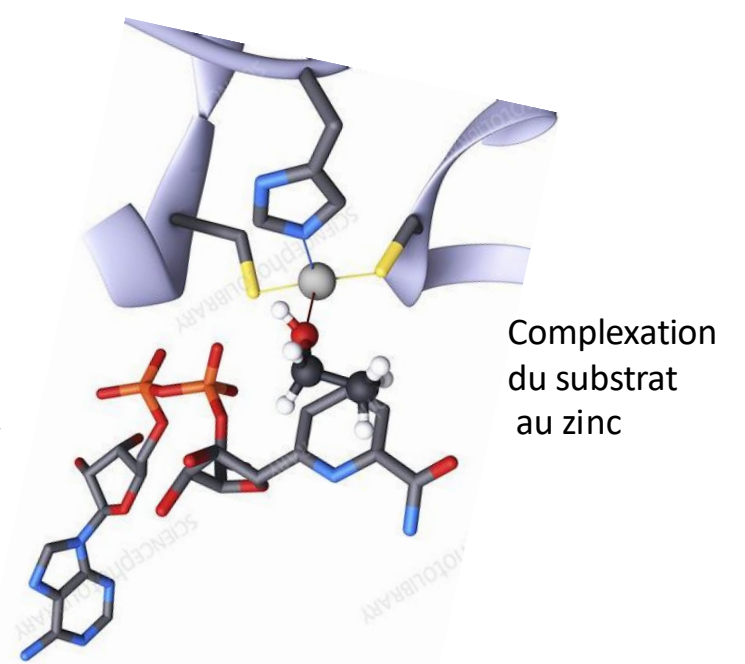
Orientation stéréospécifique par rapport au substrat

I) Alcool Déshydrogénase (ADH)



+ NADP(H)

+ CH₃CH₂OH

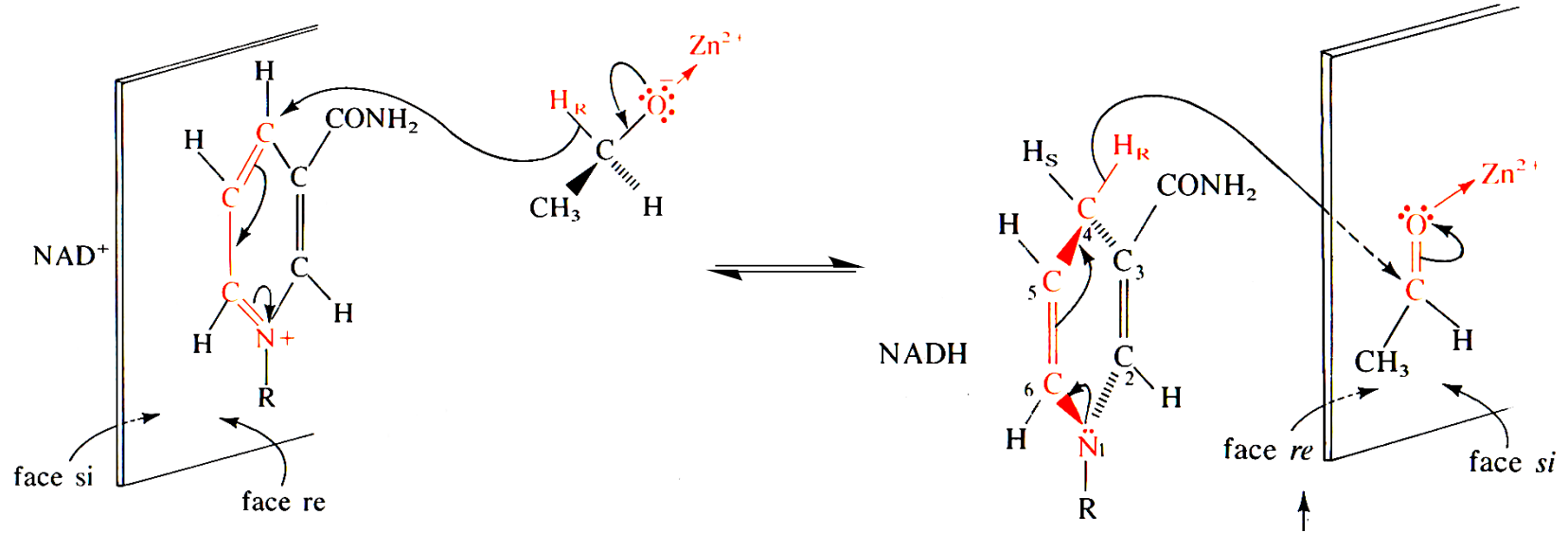


Interaction spécifique de NAD(P)H avec la protéine

2

Enzymes à
Cofacteur
NAD(P)H

I) Alcool Déshydrogénase (ADH)



Transfert du H_R de l'alcool sur
la face *re* de NAD^+

Transfert du H_R de $NADH$ sur
la face *re* de l'aldéhyde



Grande stéréospécificité : l'enzyme se trompe 1 fois/ 10^8

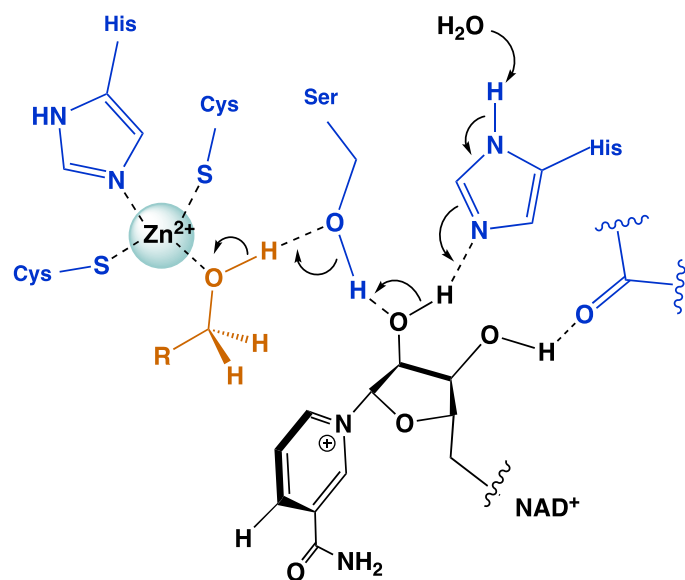


Grande utilité en synthèse stéréosélective

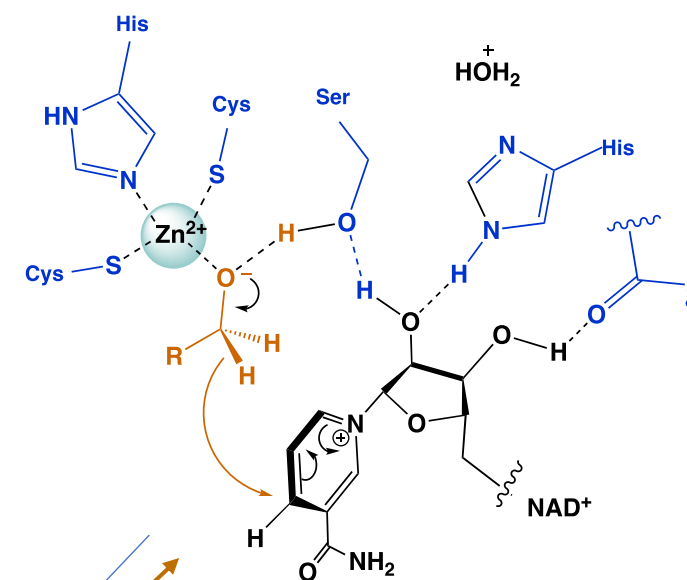
2

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

I) Alcool Déshydrogénase (ADH)

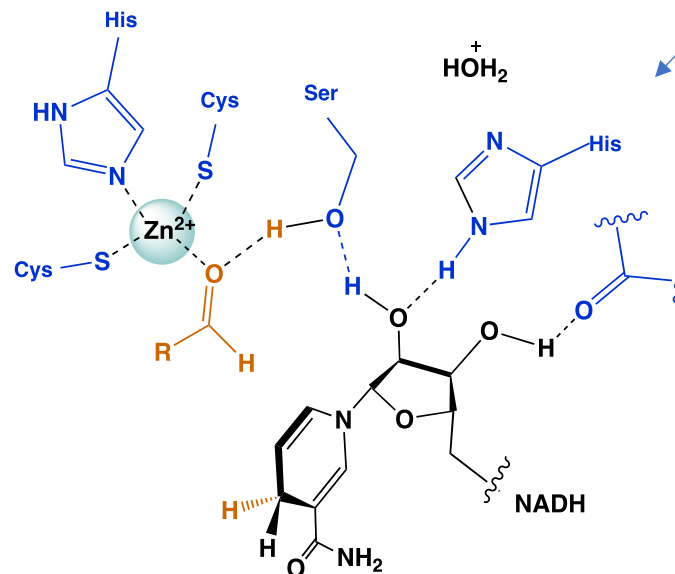


Mécanisme



L'ion Zn^{2+} « catalytique » sert d'acide de Lewis et permet de baisser le pKa de la fonction alcool du substrat.

En fonction des conditions métabolique (équilibre thermodynamique des couple $NAD^+/NADH$ et $EtOH/EtO$): la réaction est réversible



C'est une combinaison de facteurs qui permet cette oxydation de l'éthanol:

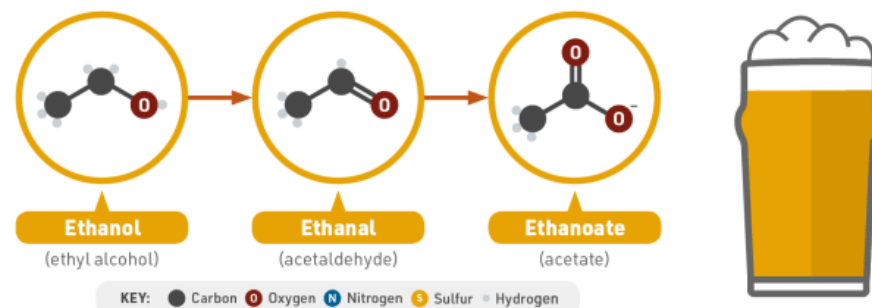
- Positionnement idéal du substrat face à l'oxydant doux
- Assistance la déprotonation par le métal et la liaison H

1) Alcool Déshydrogénase

The Chemistry of a Hangover



For most of us, a hangover is the price to pay for a night of drinking. However, we still don't know what exactly it is that causes them. In this graphic, we look at what happens to alcohol in your body, and some of the prime suspects for causing your hangover.



What happens to alcohol in your body?

In the liver, the alcohol dehydrogenase enzyme converts ethanol to acetaldehyde. The aldehyde dehydrogenase enzyme then converts acetaldehyde into acetate. Acetate is broken down into carbon dioxide and water, then eliminated from the body. On average, the liver breaks down alcohol at the rate of one unit (8 grams or 10 millilitres of pure alcohol) every hour.

1 Dehydration

Ethanol → **ADH** → **Urination**

During alcohol intoxication, release of the anti-diuretic hormone (ADH) vasopressin is decreased, increasing urination.

Alcohol has a diuretic effect on the body, increasing urine production. Alcohol-induced dehydration has been suggested as a cause for some hangover symptoms, but research suggests it isn't a major factor.

2 Acetaldehyde

Acetaldehyde is rapidly converted into acetate in the liver.

Acetaldehyde

Disulfiram (above), a drug to support treatment of alcoholism, works by inhibiting the breakdown of acetaldehyde, producing unpleasant, hangover-like symptoms.

Acetaldehyde, produced by the breakdown of alcohol, has toxic effects that could cause hangover symptoms. However, acetaldehyde concentration doesn't significantly correlate with hangover severity.

3 Congeners

Very small amounts of methanol are found in many alcoholic drinks.

Methanol (methyl alcohol) → **Methanal** (formaldehyde) → **Methanoic acid** (formic acid)

Congeners are compounds other than ethanol in drinks. These include alcohols such as methanol, which breaks down into toxic formaldehyde and formic acid. Congeners can increase hangover severity.

4 Immune system

Cytokines are small proteins released by cells which affect other cells. They play an important role in the immune system.

IL-10 **IL-12** **IFN-γ**

Cytokines increased by alcohol consumption

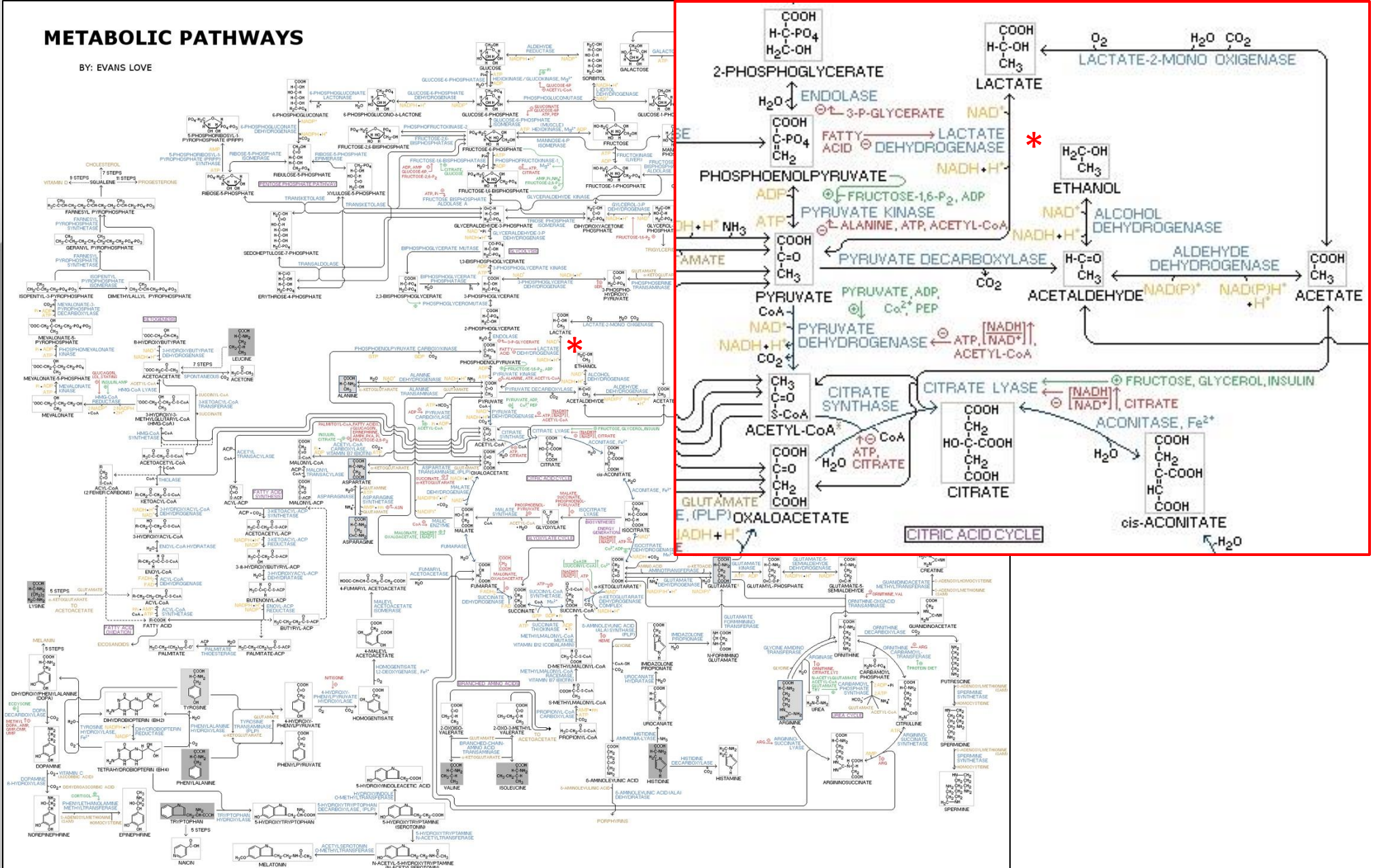
In particular, IL-12 & IFN-γ concentration changes show significant correlations with hangover severity.

Alcohol causes changes in cytokine concentrations in the immune system. Studies have shown the effects caused by some cytokines are very similar to those of a hangover, strongly supporting their role.

2

Autre exemple: II) Lactate Déshydrogénase (LDH)

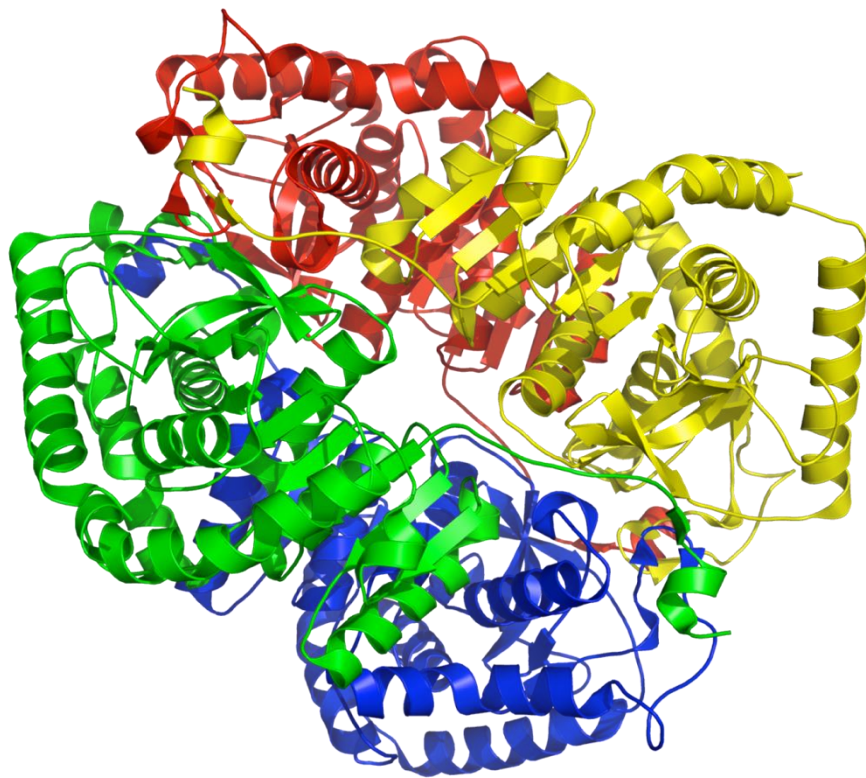
Enzymes à Cofacteur NAD(P)H



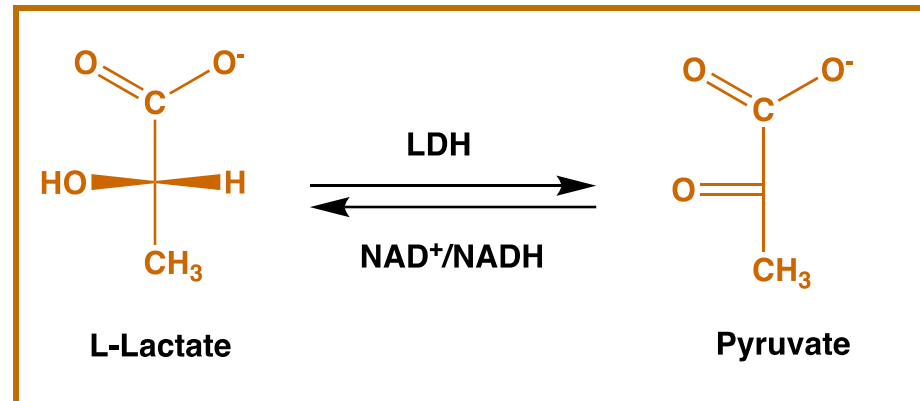
2

Enzymes à
Cofacteur
NAD(P)H

Autre exemple: II) Lactate Déshydrogénase (LDH)



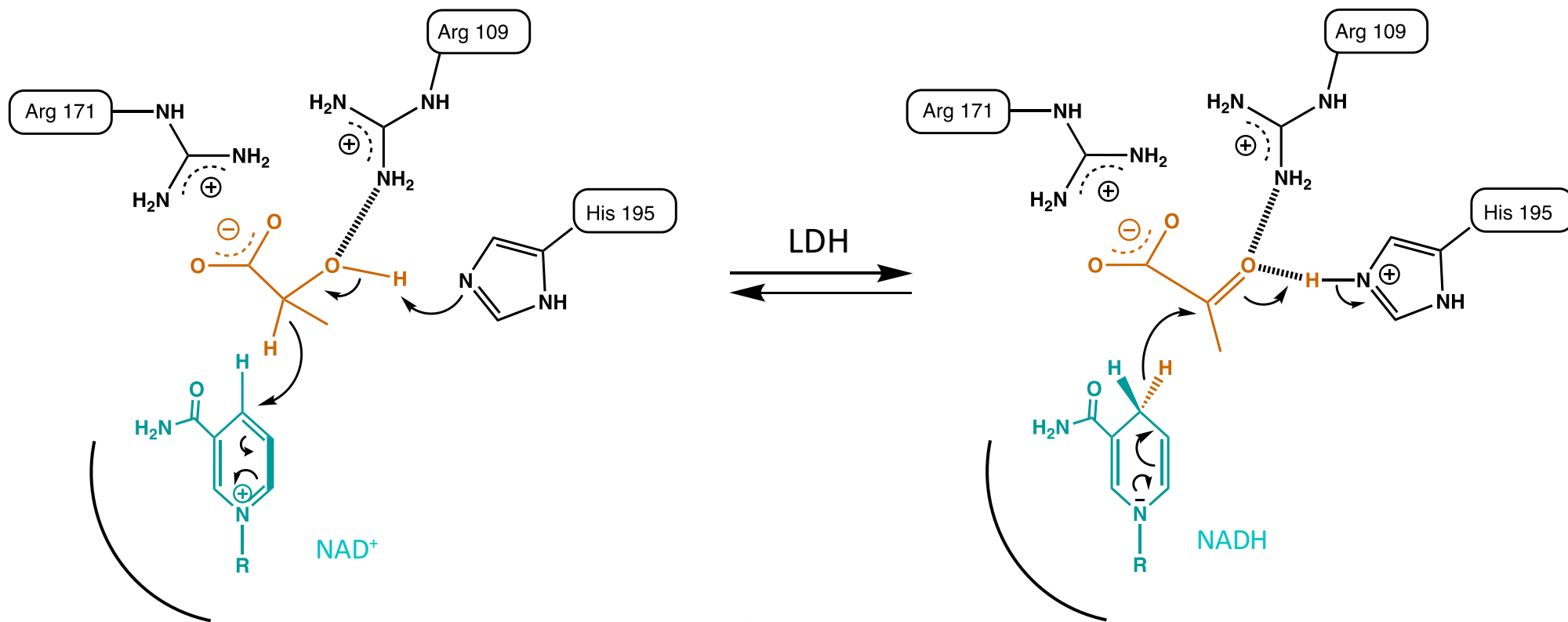
Structure tétramérique de la LDH
de muscle humain



2

Enzymes à Cofacteur NAD(P)H

Autre exemple: II) Lactate Déshydrogénase (LDH)



Pas de métal
Mécanisme purement organique

3

Enzymes à
Cofacteur
Flavine

FMN
FAD

3

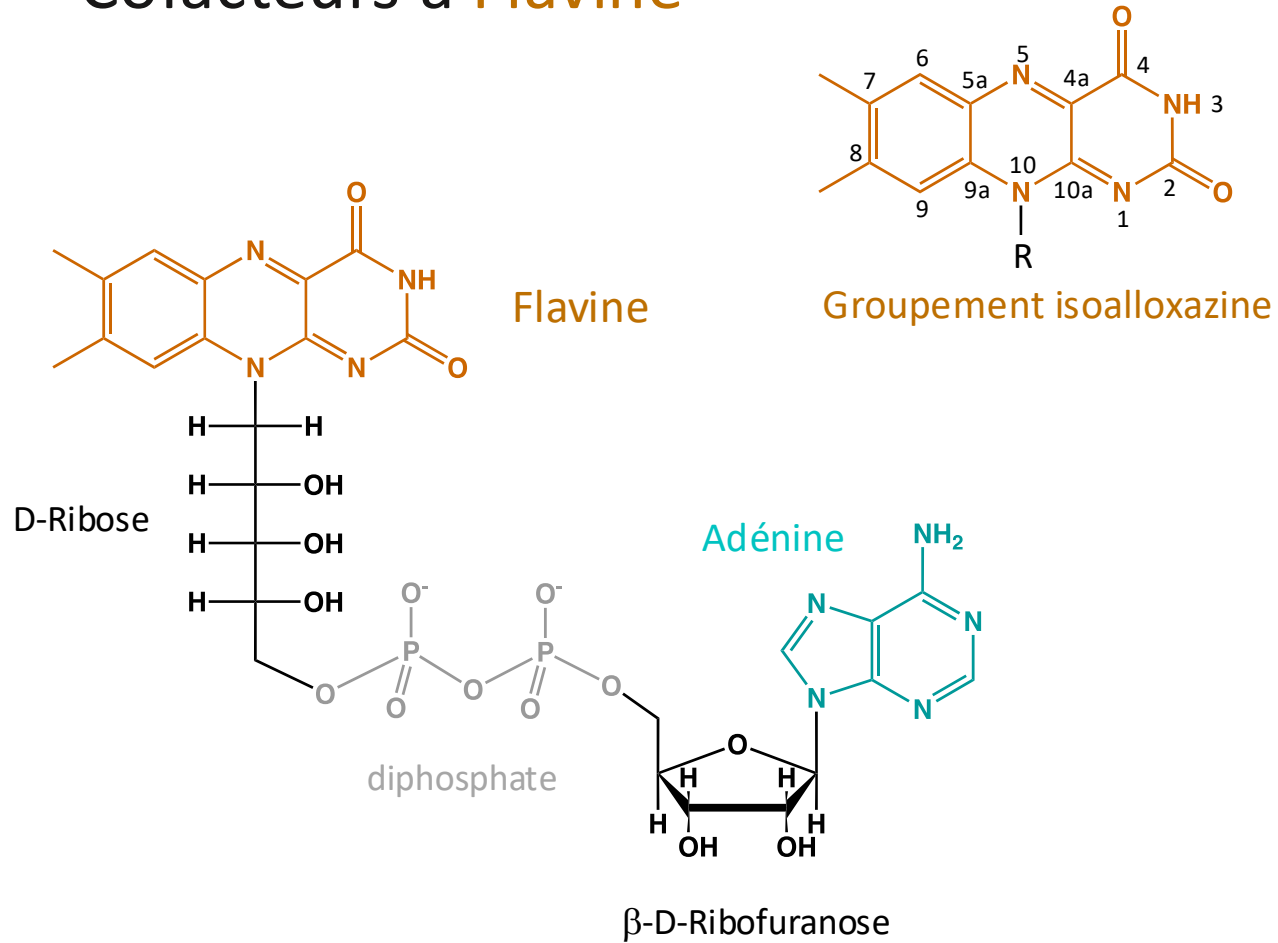
Enzymes à Cofacteur Flavine

3

Enzymes à Cofacteur Flavine

FMN
FAD

Cofacteurs à Flavine



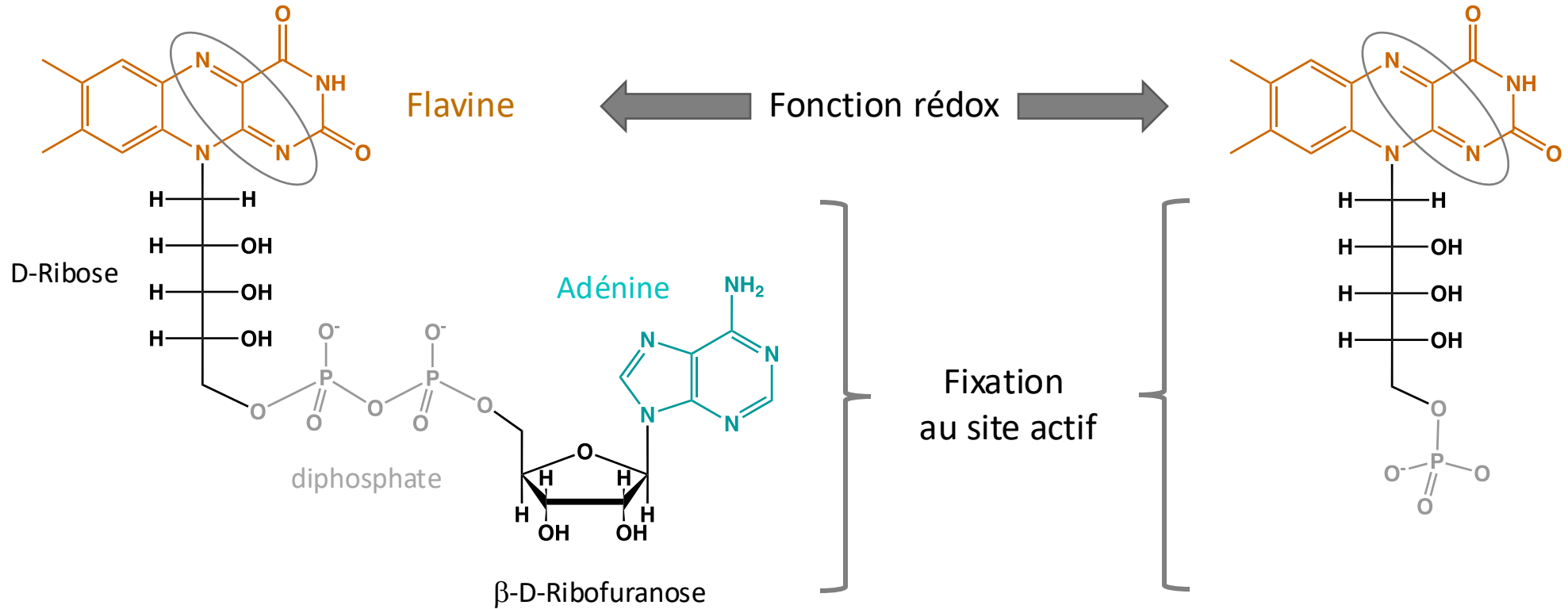
Flavine Adénine Dinucléotide (FAD)

3

Enzymes à Cofacteur Flavine

FMN
FAD

Cofacteurs à Flavine



Flavine Adénine Dinucléotide (FAD)

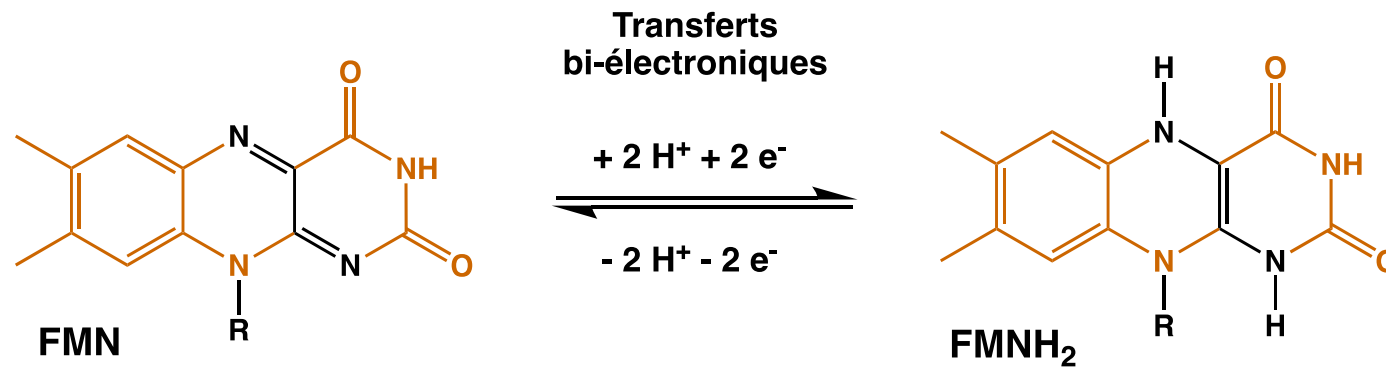
Flavine MonoNucléotide (FMN)

3

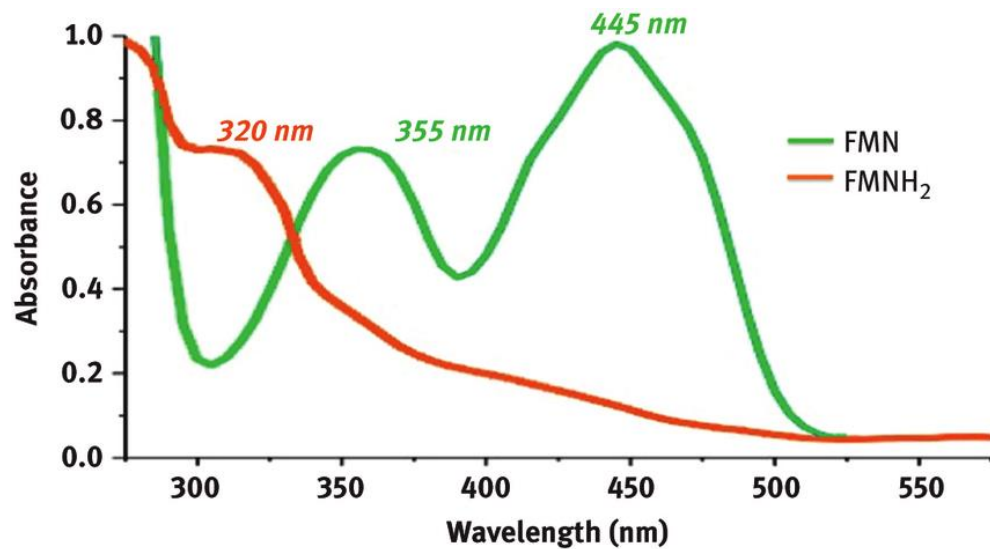
Enzymes à Cofacteur Flavine

FMN
FAD

Cofacteurs à Flavine



$$E^{\circ'} = -0,2 \text{ V}$$

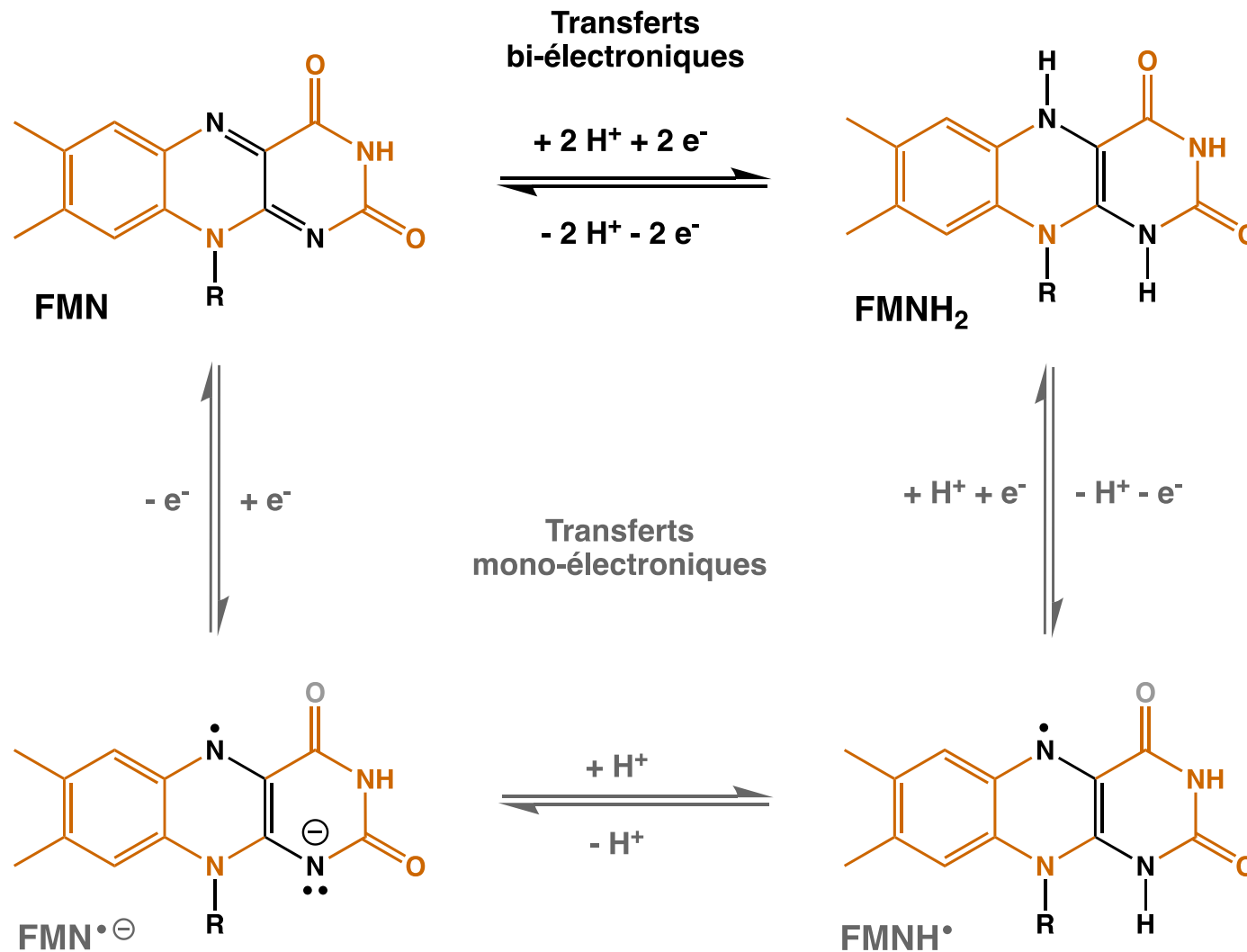


3

Enzymes à Cofacteur Flavine

FMN
FAD

Cofacteurs à Flavine



$$E^{\circ'} = -0,2 \text{ V}$$

Paramagnétiques:
Observable par RPE

3

Enzymes à
Cofacteur
FlavineFMN
FAD

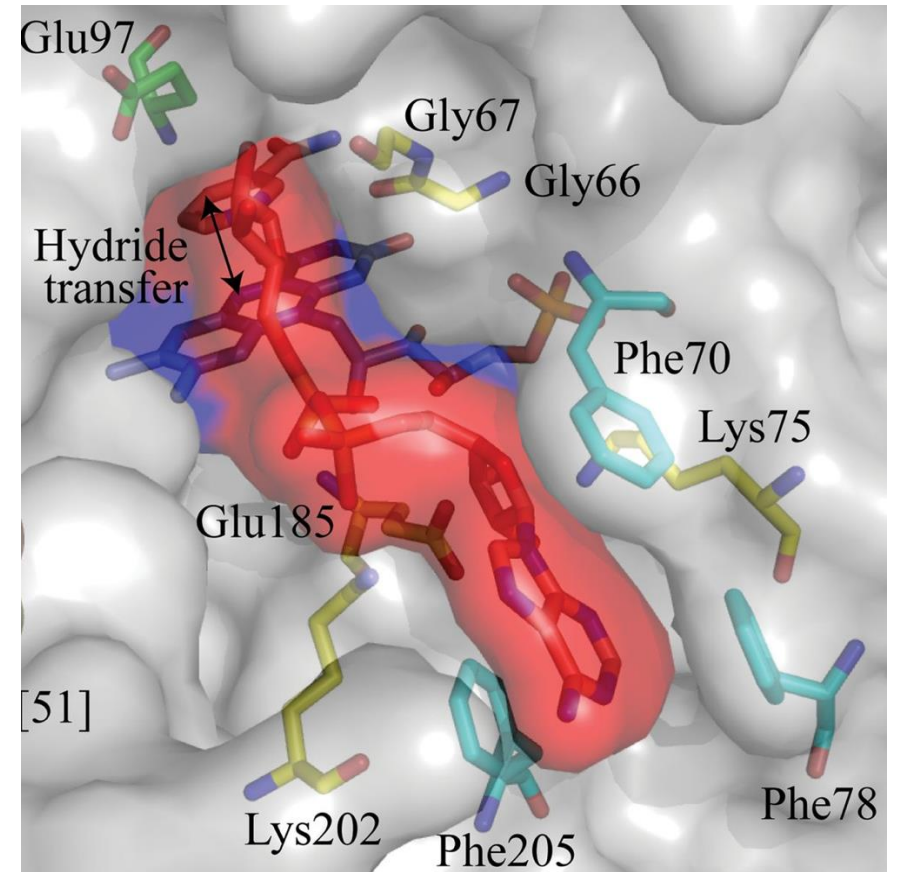
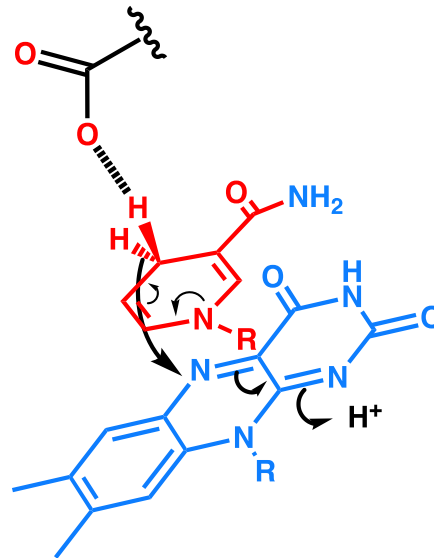
Cofacteurs à Flavine

A l'inverse de NADH, les co-enzymes flaviniques peuvent donc réaliser des **transferts mono-électroniques**.

Ce qui est très souvent le cas pour les **métalloenzymes** à activité rédox dont nous parlerons plus tard.

D'une façon générale, NADH est un cofacteur circulant qui permet de fournir ou de récupérer des paires d'électrons, alors que les flavines sont plutôt présentes dans l'enzyme, soit comme relais électronique (capable de séparer une paire d'électrons), soit comme catalyseur.

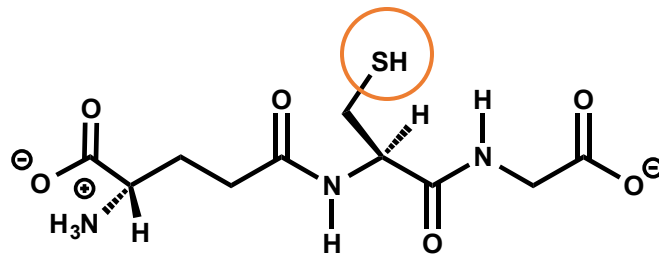
Exemple de réduction
de FAD par NADH



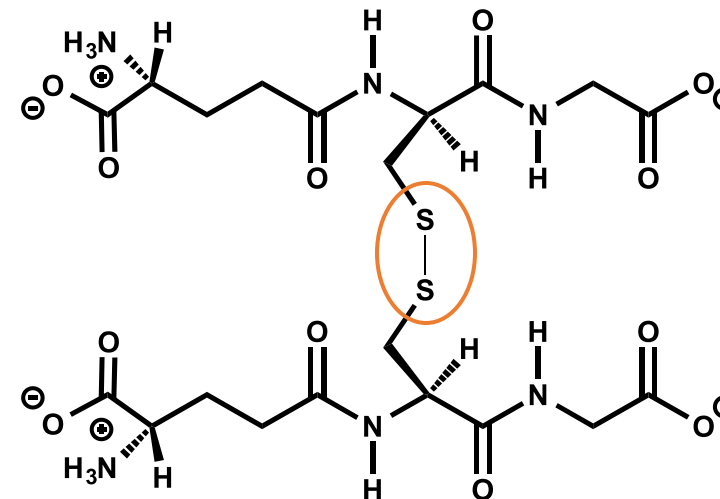
I) Glutathion Réductase

Qu'est-ce que le Glutathion ?

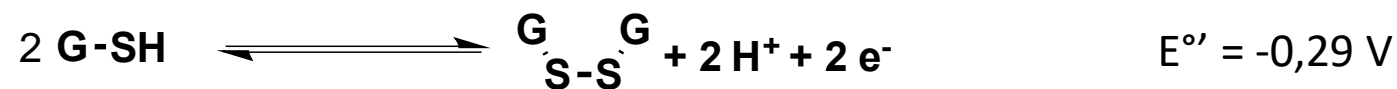
=> Pseudo tripeptide



Forme réduite (G-SH)



Forme oxydée (G-S-S-G)



=> A un rôle important dans la protection des cellules

=> Réduction des peroxydes cellulaires par la glutathion peroxydase **Gpx**

=> Il faut donc régénérer le "pool" de GSH

3

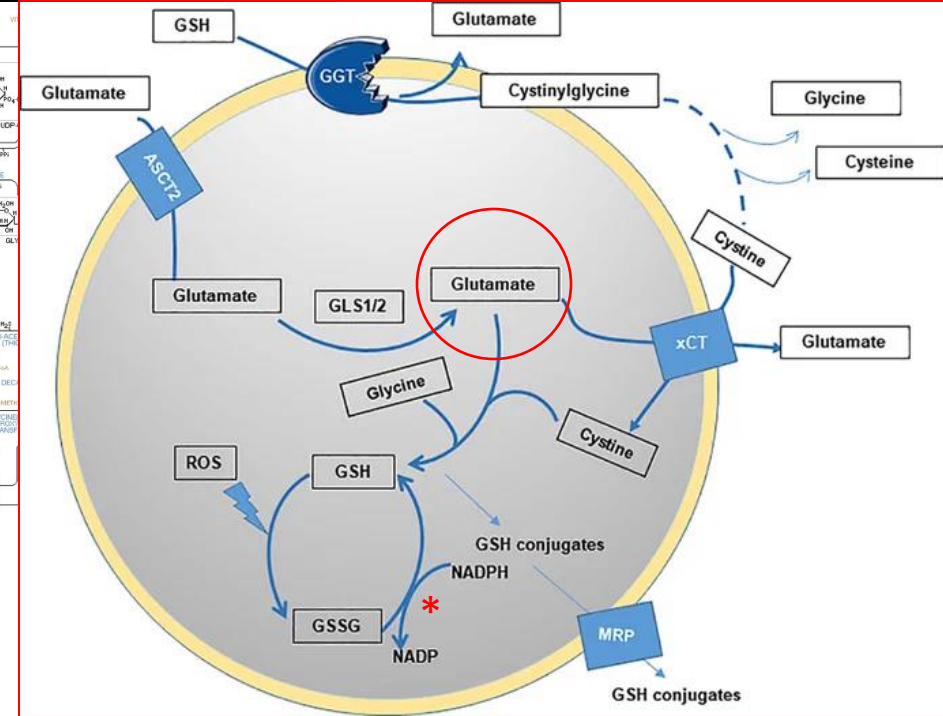
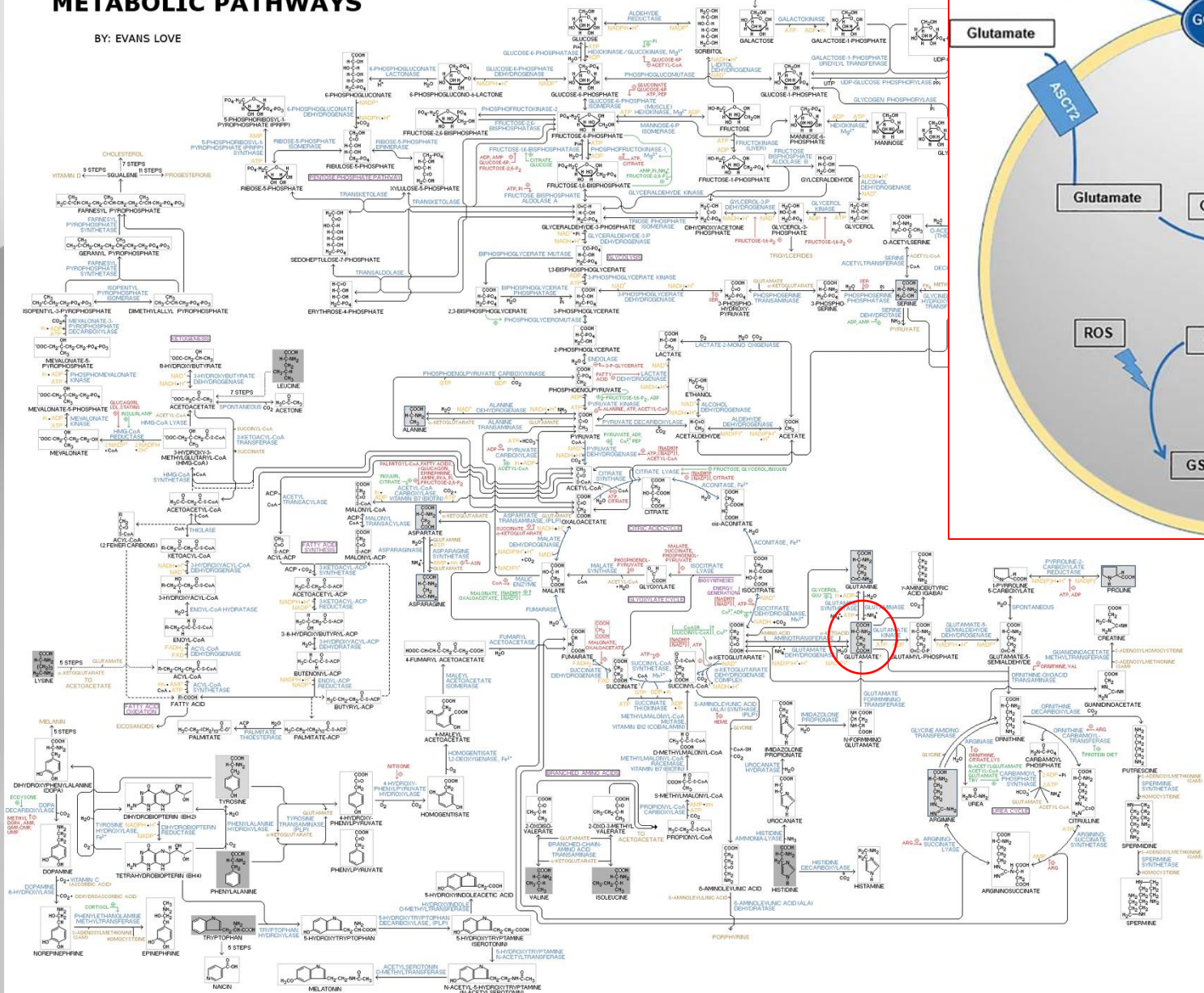
I) Glutathion Réductase

Enzymes à Cofacteur Flavine

FMN
FAD

METABOLIC PATHWAYS

BY: EVANS LOVE

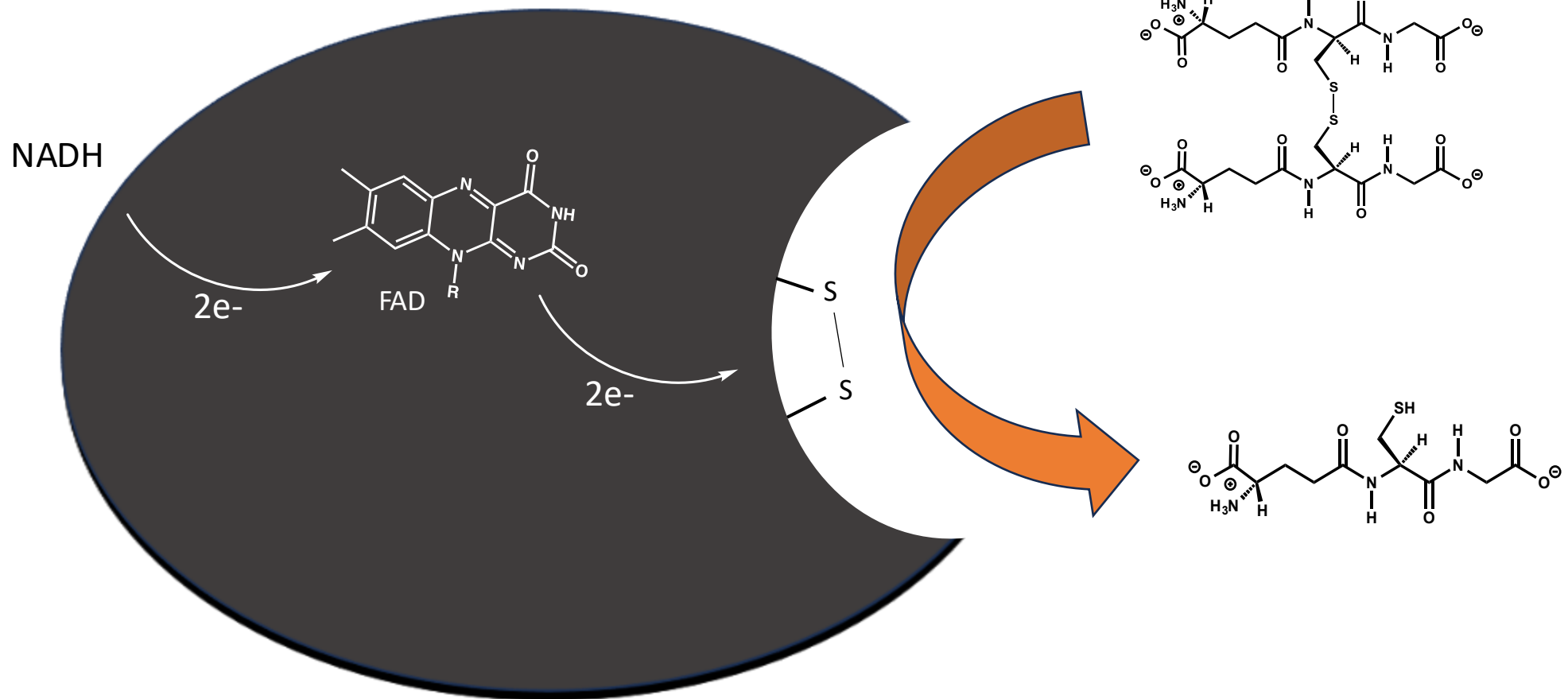


3

Enzymes à
Cofacteur
Flavine

FMN
FAD

I) Glutathion Réductase

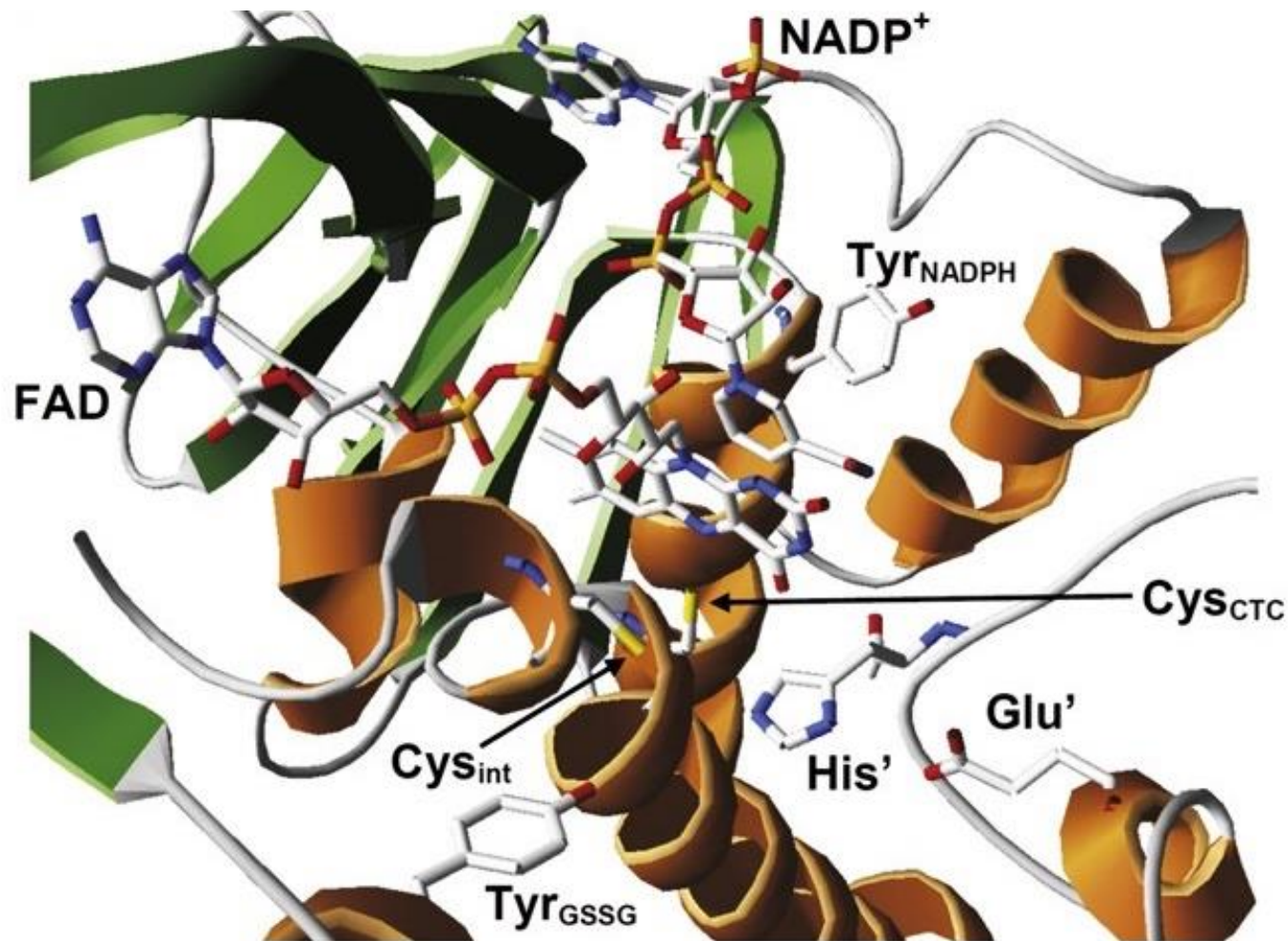


3

Enzymes à
Cofacteur
Flavine

FMN
FAD

I) Glutathion Réductase



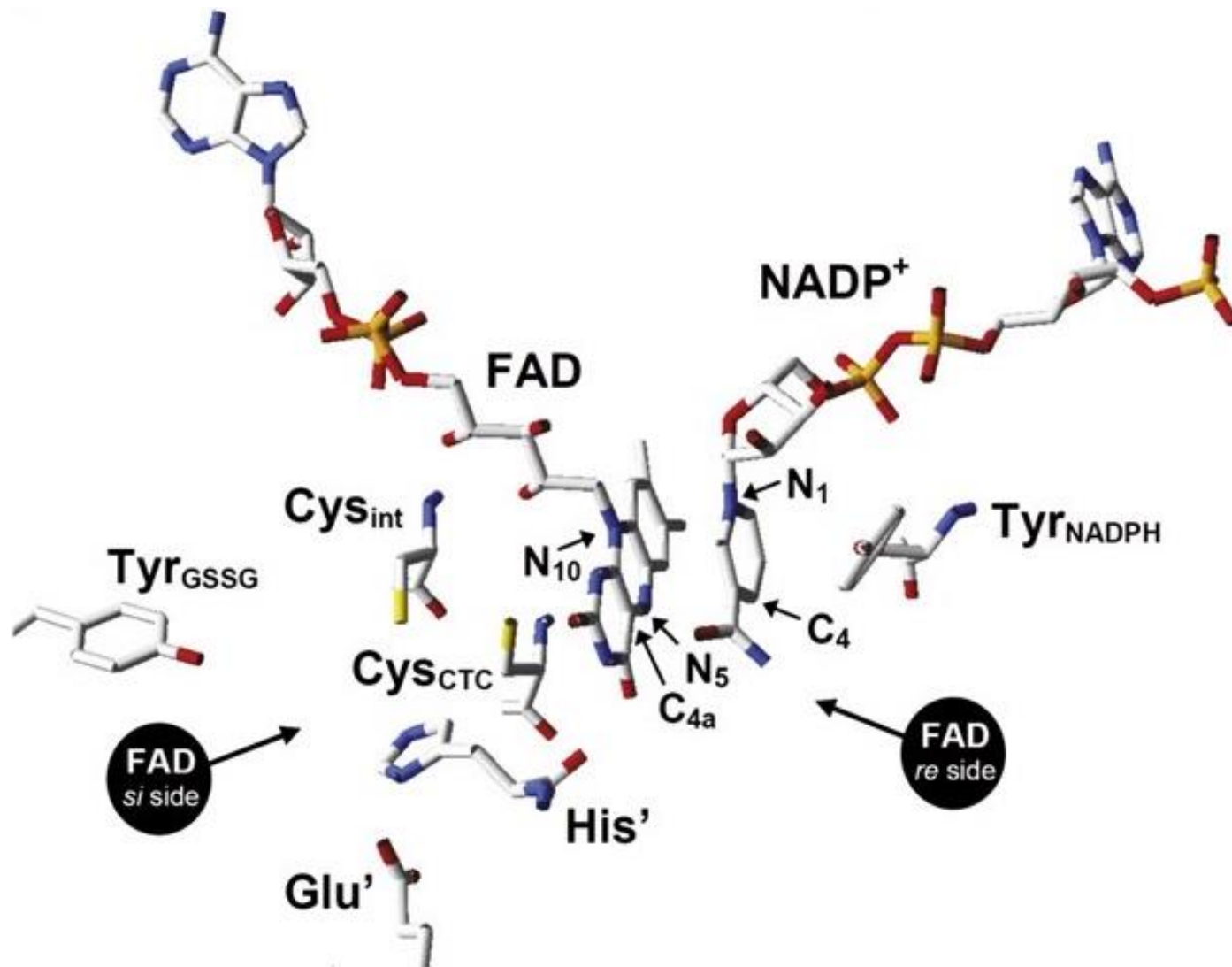
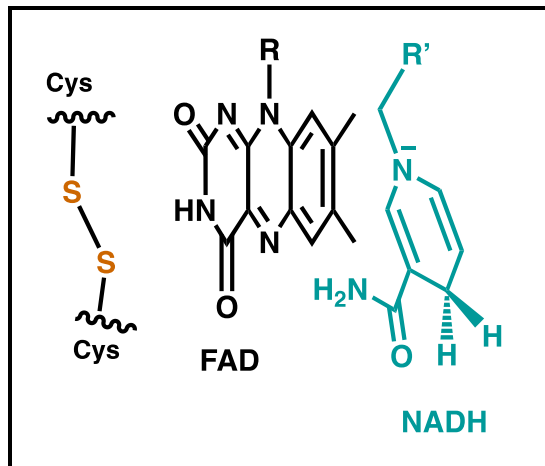
Interaction spécifique au sein de la protéine permettant le transfert d'hydrure entre le groupement isoalloxasine et nicotinamide

3

Enzymes à
Cofacteur
Flavine

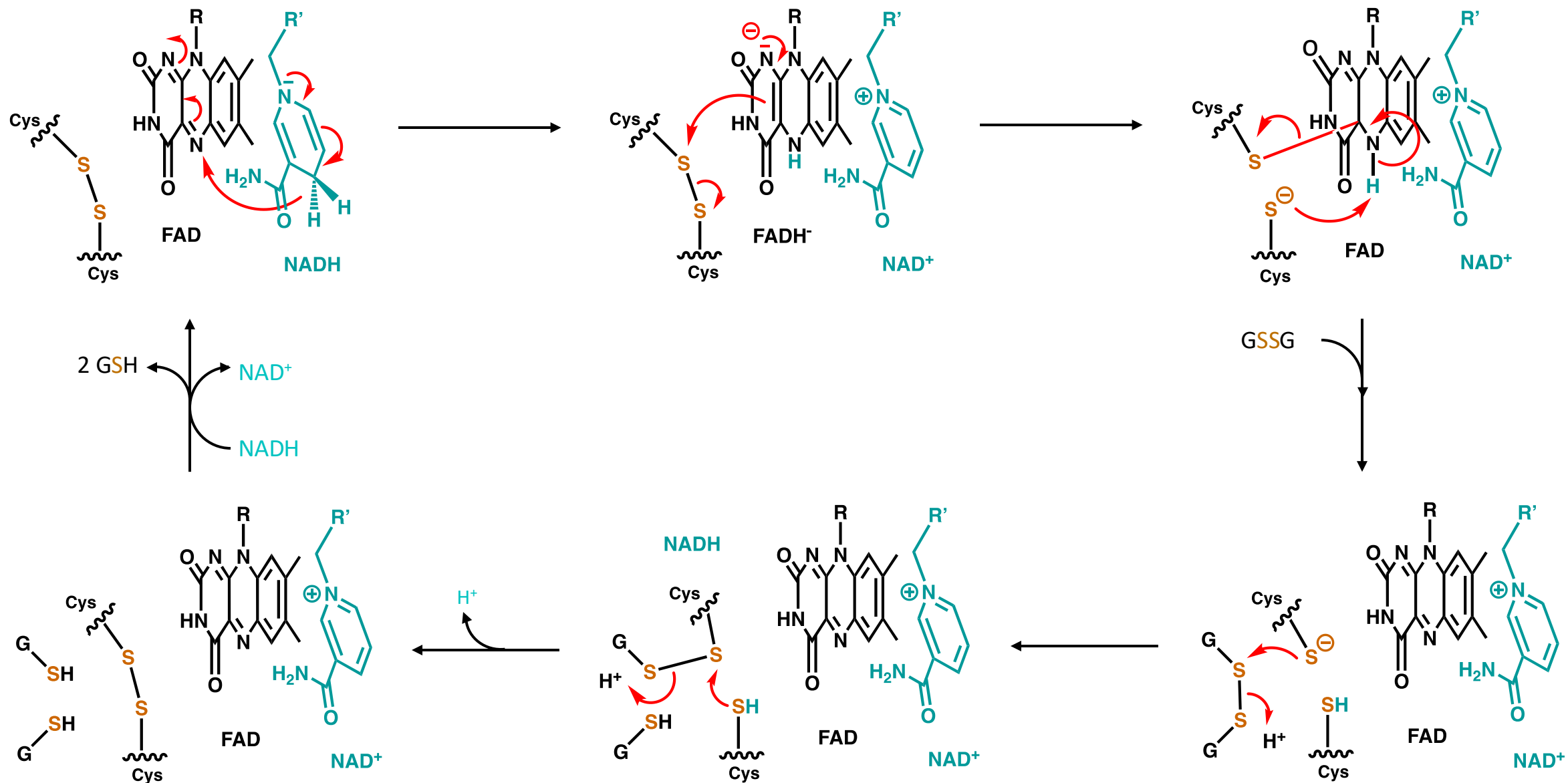
FMN
FAD

I) Glutathion Réductase



3

I) Glutathion Réductase



3

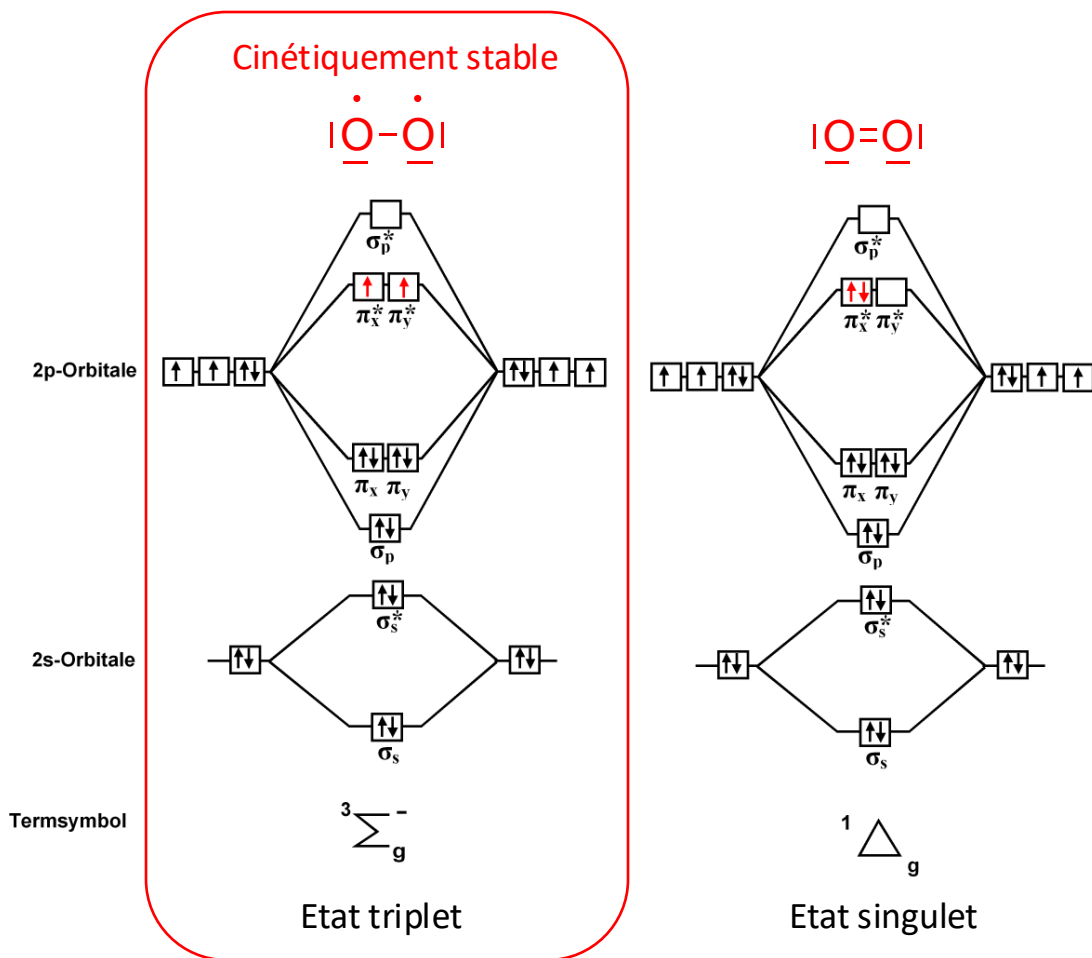
Enzymes à Cofacteur Flavine

FMN
FAD

III) Flavine Monooxygenases

- Hydroxylases
- Baeyer-Villiger Monooxygénases

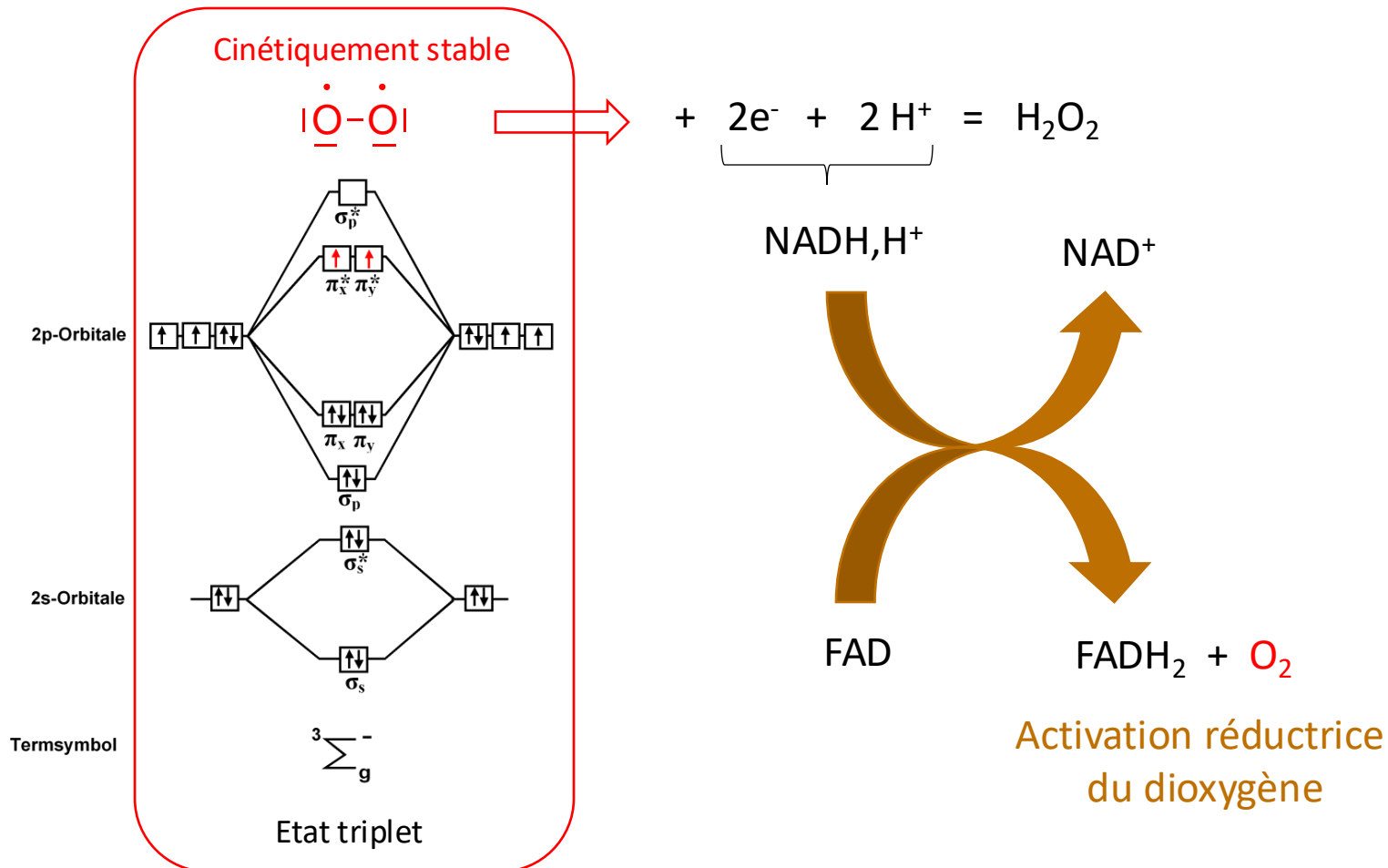
Fonctionnent par activation réductrice du dioxygène



III) Flavine Monooxygenases

- Hydroxylases
- Baeyer-Villiger Monooxygénases

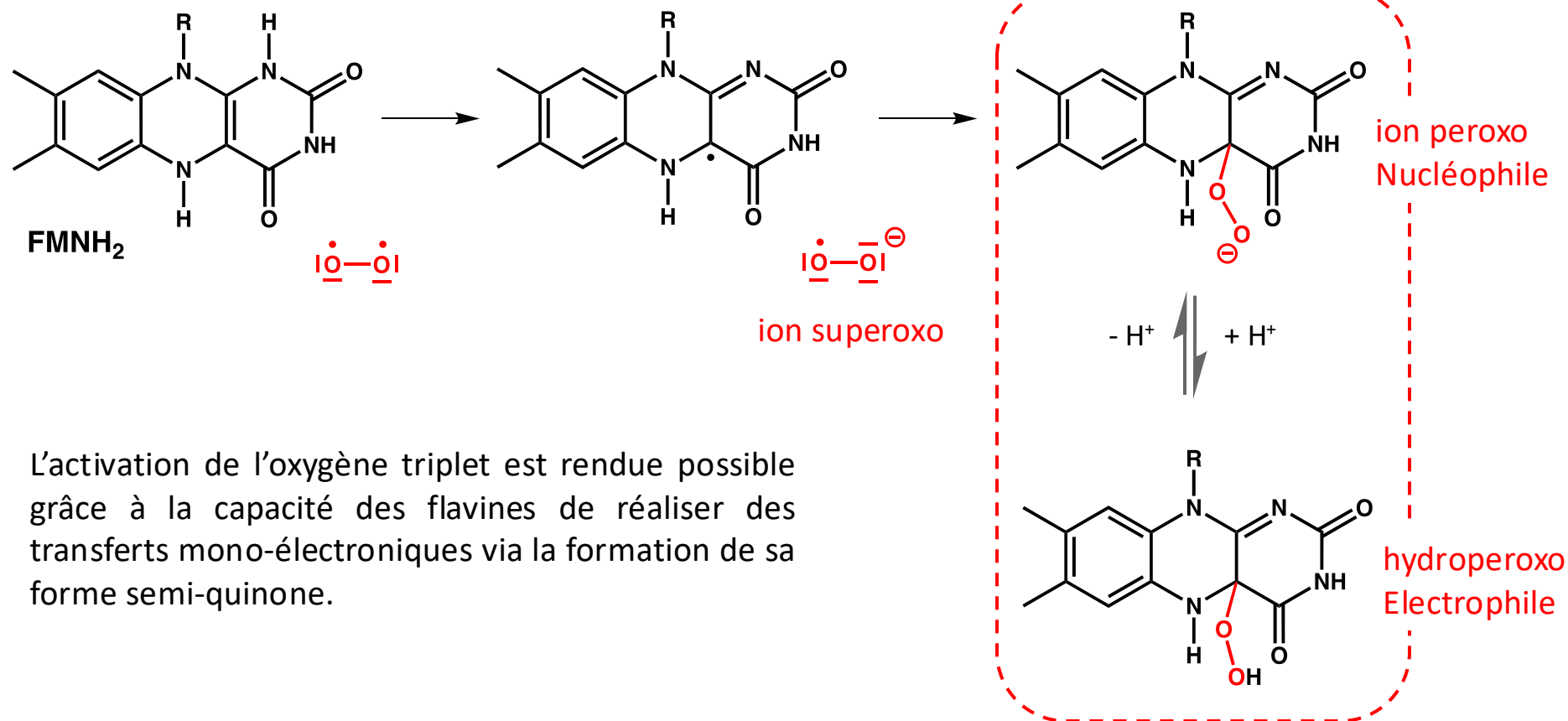
Fonctionnent par activation réductrice du dioxygène



III) Flavine Monooxygenases

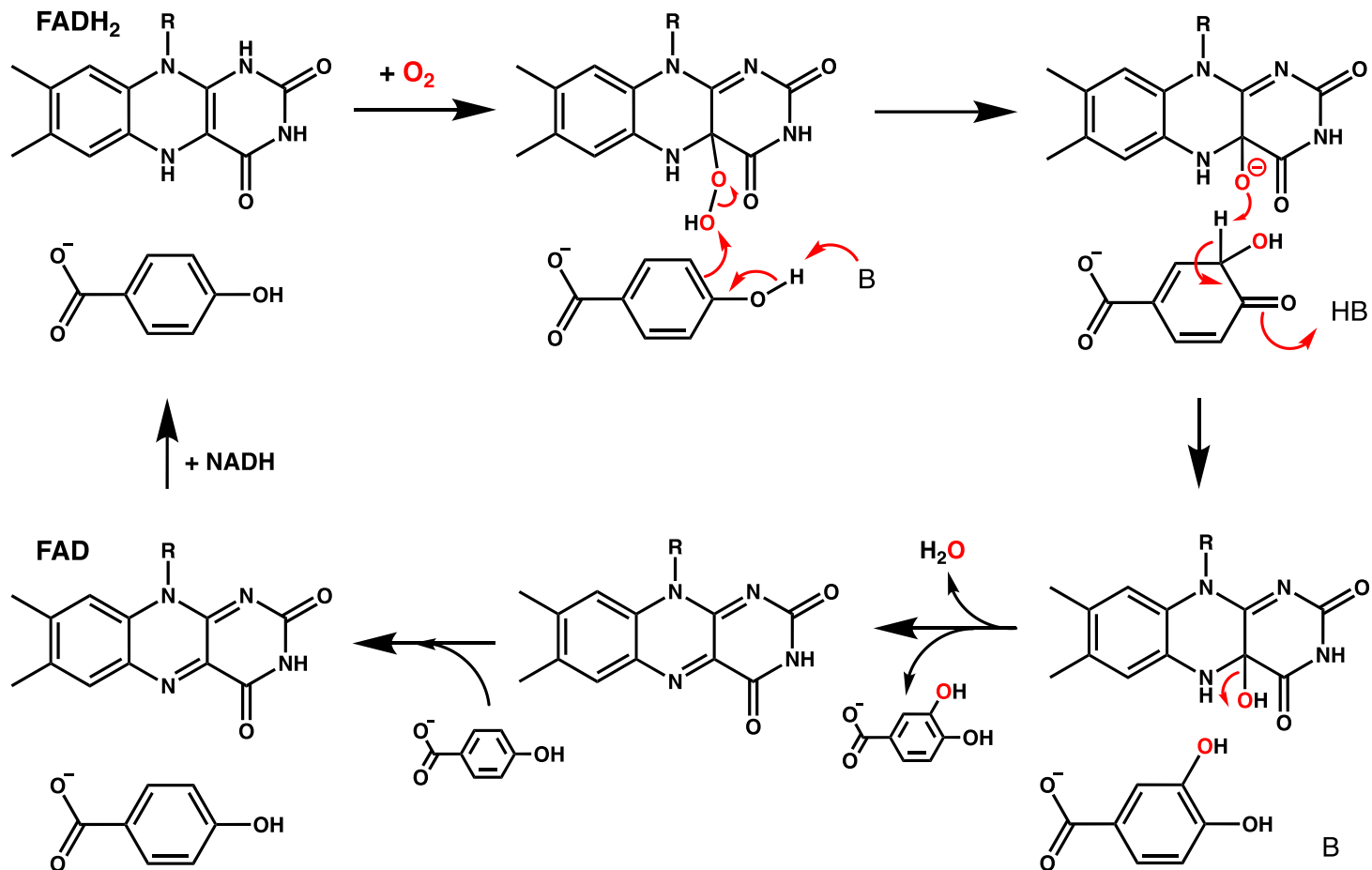
- Hydroxylases
- Baeyer-Villiger Monooxygénases

Activation réductrice du dioxygène



L'activation de l'oxygène triplet est rendue possible grâce à la capacité des flavines de réaliser des transferts mono-électroniques via la formation de sa forme semi-quinone.

III) Flavine Monooxygenases

- Hydroxylases (*p*-HydroxyBenzoïque Hydroxylase (*p*HBH))

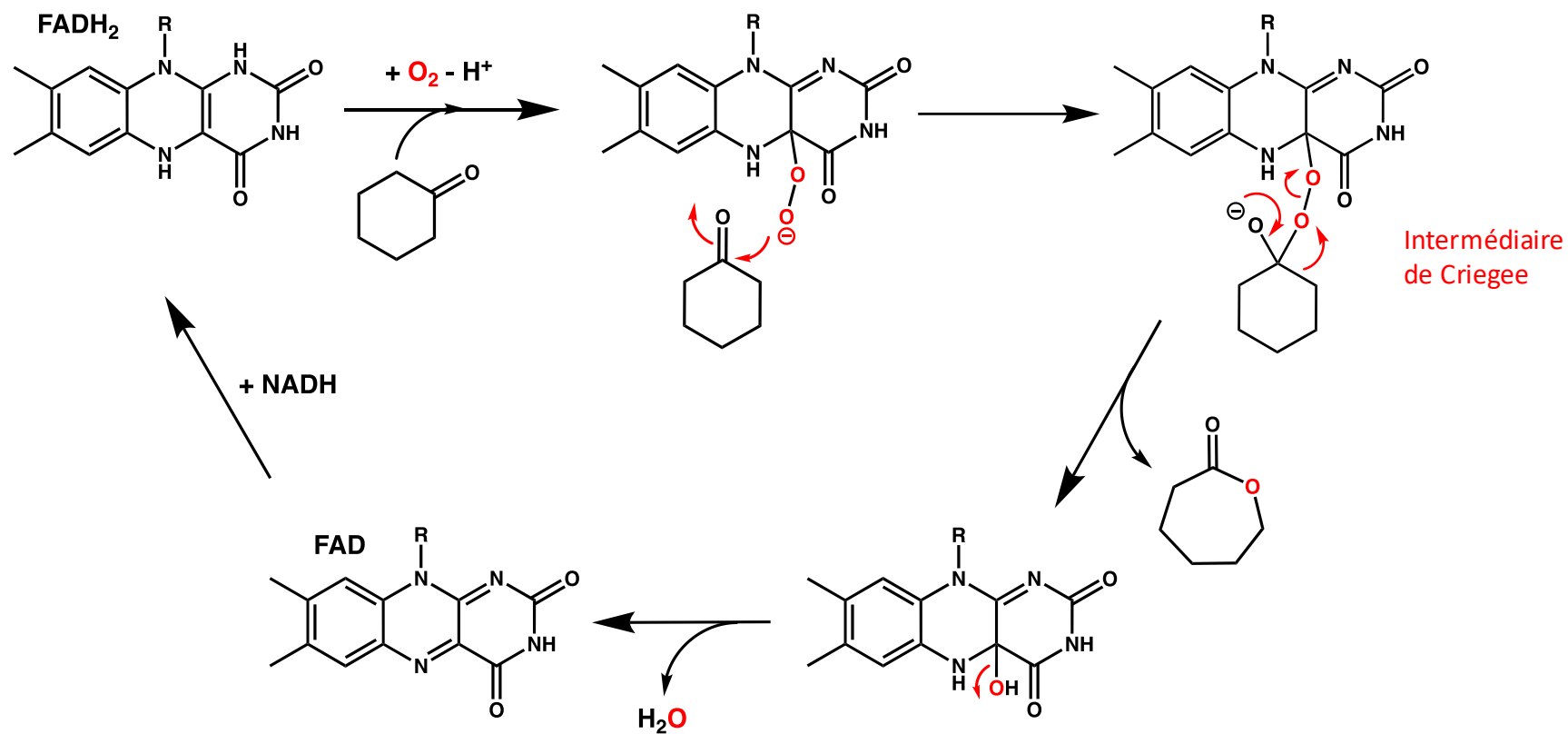
3

III) Flavine Monooxygenases

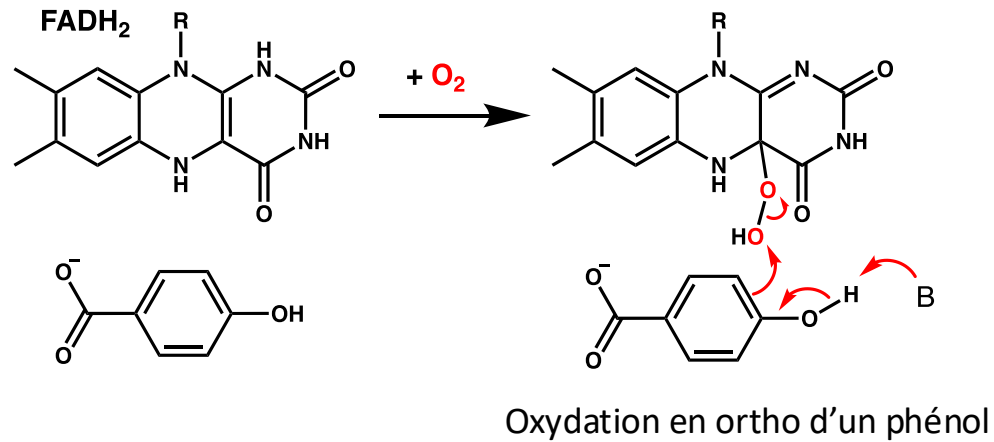
- Baeyer-Villiger Monooxygénases (**BVMO**)

Enzymes à
Cofacteur
Flavine

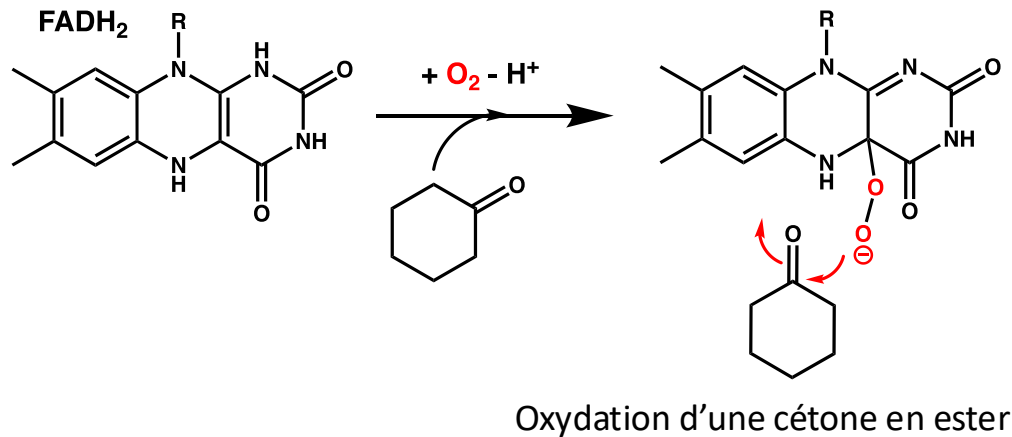
FMN
FAD



III) Flavine Monooxygenases

p-HydroxyBenzoïque Hydroxylase

Baeyer-Villiger Monooxygénase



Oxydation de deux espèces déjà « activées »

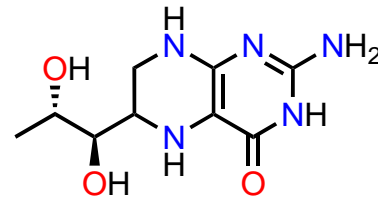
Quid des réactions plus difficiles ?
 Activation de liaisons C-H non activées?

4

Enzymes à
Cofacteur
Bioptérine

4

Enzymes à Cofacteur Bioptérine

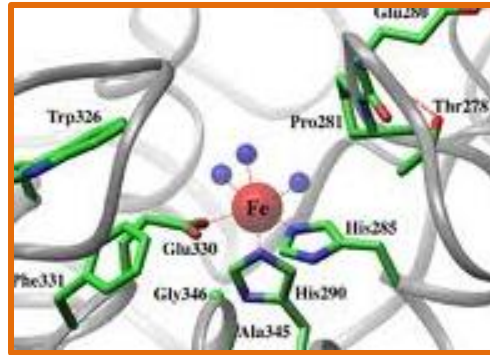


Tétrahydrobioptérine (BH₄)

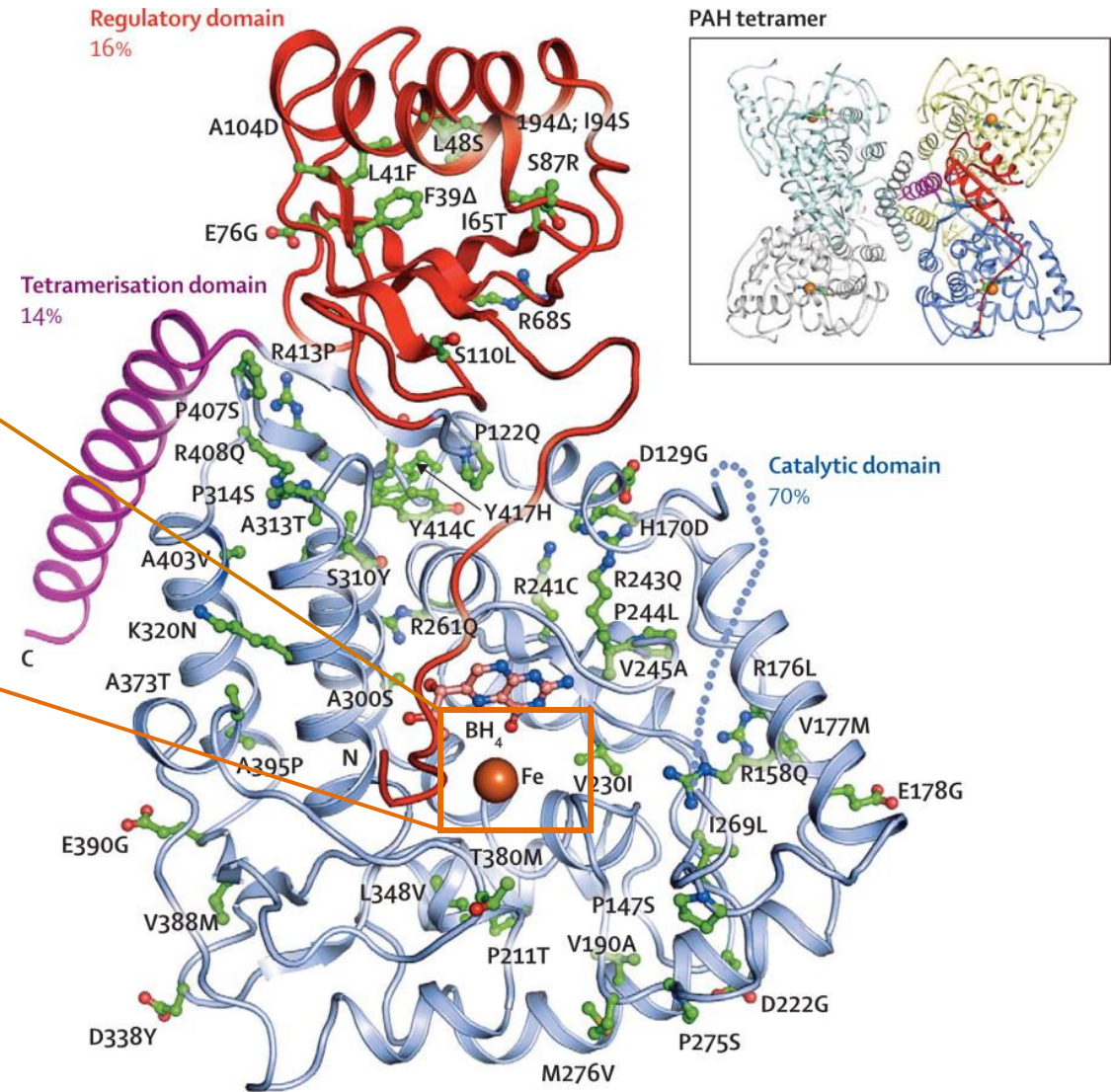
4

Enzymes à
Cofacteur
Bioptérine

Phenylalanine hydroxylase



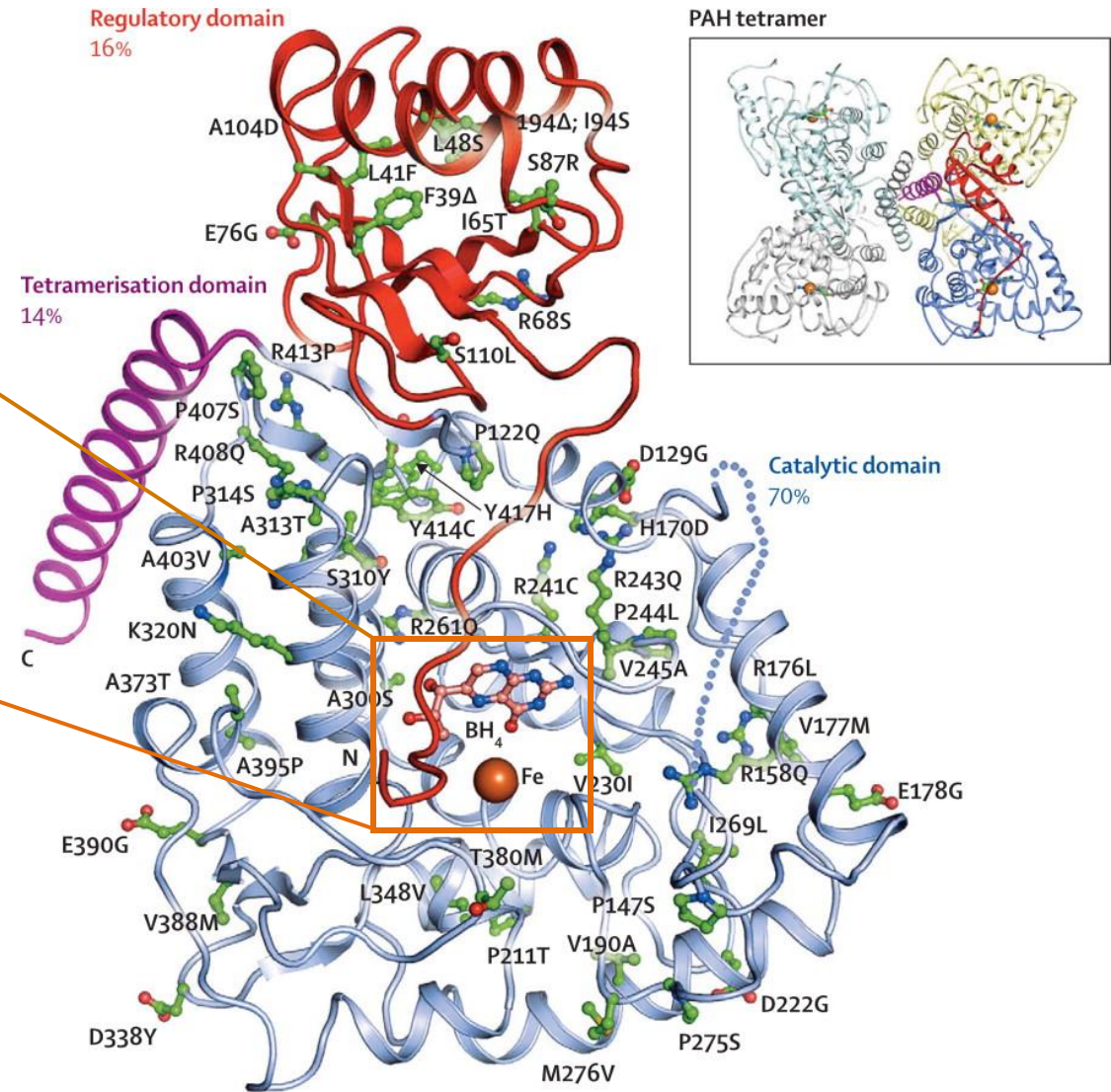
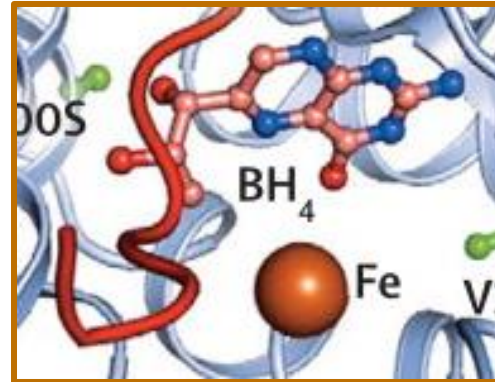
Triade catalytique: 2 His et 1 Glu liés au Fer



4

Enzymes à
Cofacteur
Bioptérine

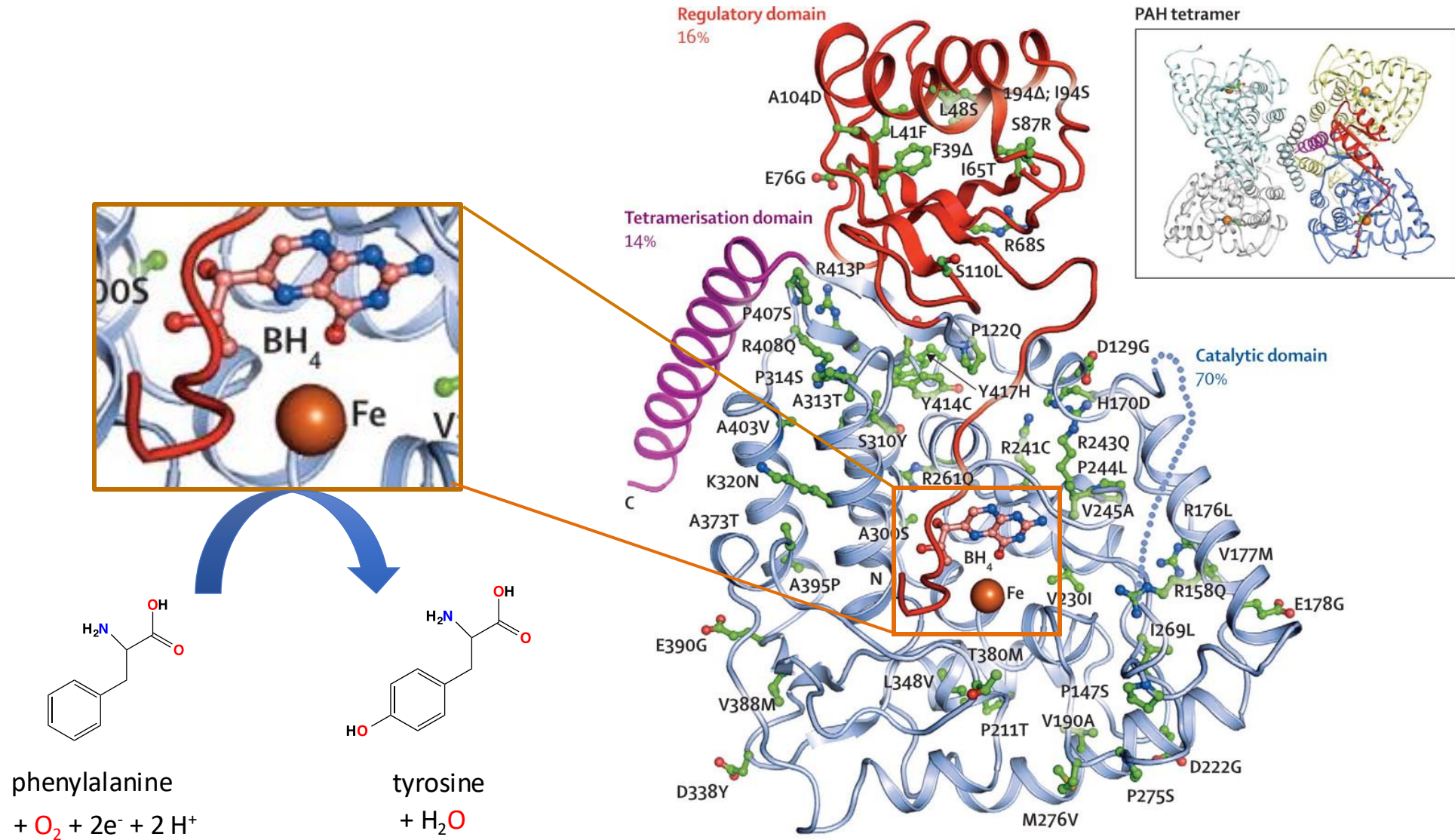
Phenylalanine hydroxylase



4

Enzymes à
Cofacteur
Bioptérine

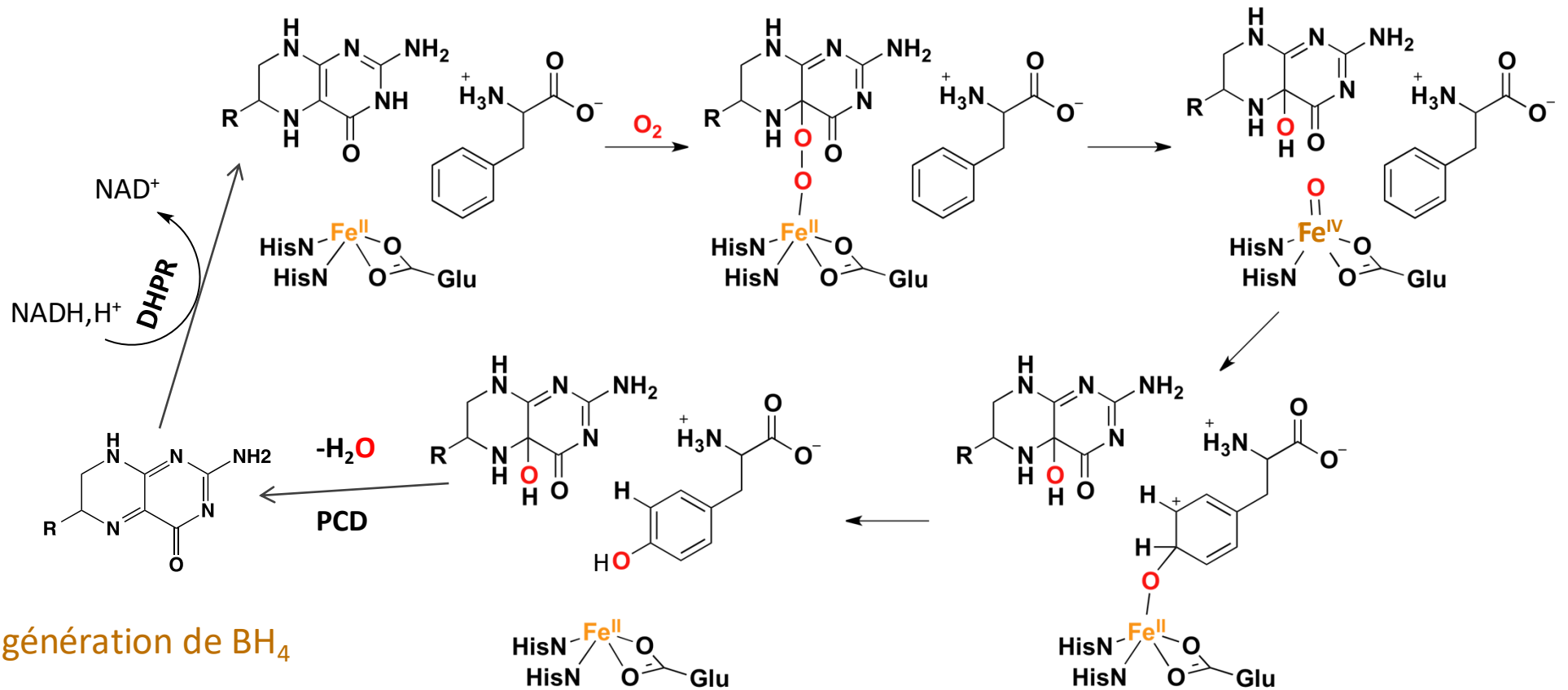
Phenylalanine hydroxylase



4

Enzymes à
Cofacteur
Bioptérine

Phenylalanine hydroxylase



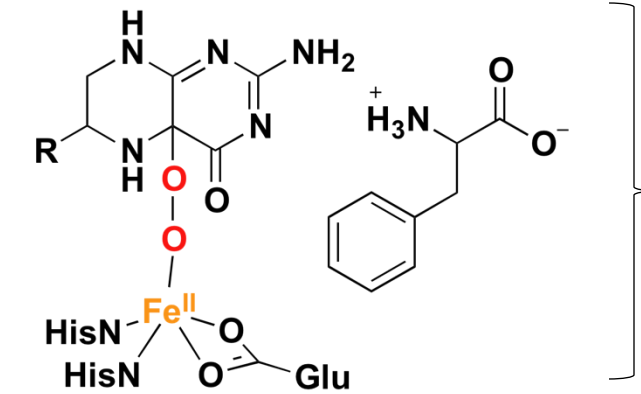
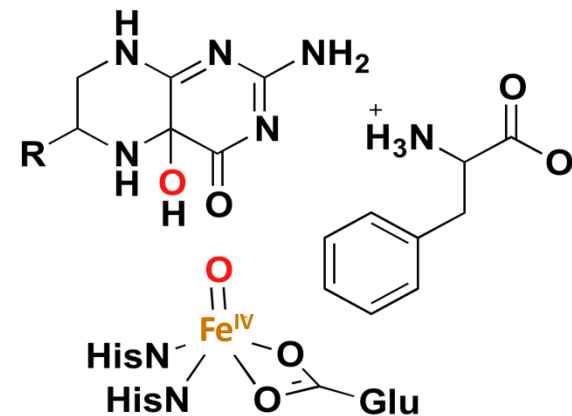
4

Enzymes à
Cofacteur
Bioptérine

Phenylalanine hydroxylase

Cofacteur organique rédox (BH₄)

Centre métallique à fer

Probable formation d'un
intermédiaire peroxo mixteLe Fe^{IV} est instable et a une forte
tendance à se réduire en Fe^{II}.Rendant l'oxygène de Fe^{IV}=O très
électrophile.



Enzymes à Cofacteur **métallique**

Métaux de transition :

Orbitales d incomplètes (sauf le zinc)

1 H Hydrogen																	2 He Helium																												
3 Li Lithium	4 Be Beryllium	Transition Metals																5 B Boron	6 C Carbon	7 N Nitrogen	8 O Oxygen	9 F Fluorine	10 Ne Neon																						
11 Na Sodium	12 Mg Magnesium																	13 Al Aluminium	14 Si Silicon	15 P Phosphorus	16 S Sulfur	17 Cl Chlorine	18 Ar Argon																						
19 K Potassium	20 Ca Calcium	21 Sc Scandium	22 Ti Titanium	23 V Vanadium	24 Cr Chromium	25 Mn Manganese	26 Fe Iron	27 Co Cobalt	28 Ni Nickel	29 Cu Copper	30 Zn Zinc	31 Ga Gallium	32 Ge Germanium	33 As Arsenic	34 Se Selenium	35 Br Bromine	36 Kr Krypton																												
37 Rb Rubidium	38 Sr Strontium	39 Y Yttrium	40 Zr Zirconium	41 Nb Niobium	42 Mo Molybdenum	43 Tc Technetium	44 Ru Ruthenium	45 Rh Rhodium	46 Pd Palladium	47 Ag Silver	48 Cd Cadmium	49 In Indium	50 Sn Tin	51 Sb Antimony	52 Te Tellurium	53 I Iodine	54 Xe Xenon																												
55 Cs Cesium	56 Ba Barium	57 La Lanthanum	72 Hf Hafnium	73 Ta Tantalum	74 W Tungsten	75 Re Rhenium	76 Os Osmium	77 Ir Iridium	78 Pt Platinum	79 Au Gold	80 Hg Mercury	81 Tl Thallium	82 Pb Lead	83 Bi Bismuth	84 Po Polonium	85 At Astatine	86 Rn Radon																												
87 Fr Francium	88 Ra Radium	89 Ac Actinium	104 Rf Rutherfordium	105 Db Dubnium	106 Sg Seaborgium	107 Bh Bohrium	108 Hs Hassium	109 Mt Meitnerium	110 Ds Darmstadtium	111 Rg Roentgenium	112 Cn Copernicium	113 Nh Nihonium	114 Fl Flerovium	115 Mc Moscovium	116 Lv Livermorium	117 Ts Tennessine	118 Og Oganesson																												
<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>58 Ce Cerium</td> <td>59 Pr Praseodymium</td> <td>60 Nd Neodymium</td> <td>61 Pm Promethium</td> <td>62 Sm Samarium</td> <td>63 Eu Europium</td> <td>64 Gd Gadolinium</td> <td>65 Tb Terbium</td> <td>66 Dy Dysprosium</td> <td>67 Ho Holmium</td> <td>68 Er Erbium</td> <td>69 Tm Thulium</td> <td>70 Yb Ytterbium</td> <td>71 Lu Lutetium</td> </tr> <tr> <td>90 Th Thorium</td> <td>91 Pa Protactinium</td> <td>92 U Uranium</td> <td>93 Np Neptunium</td> <td>94 Pu Plutonium</td> <td>95 Am Americium</td> <td>96 Cm Curium</td> <td>97 Bk Berkelium</td> <td>98 Cf Californium</td> <td>99 Es Einsteinium</td> <td>100 Fm Fermium</td> <td>101 Md Mendelevium</td> <td>102 No Nobelium</td> <td>103 Lr Lawrencium</td> </tr> </table>																		58 Ce Cerium	59 Pr Praseodymium	60 Nd Neodymium	61 Pm Promethium	62 Sm Samarium	63 Eu Europium	64 Gd Gadolinium	65 Tb Terbium	66 Dy Dysprosium	67 Ho Holmium	68 Er Erbium	69 Tm Thulium	70 Yb Ytterbium	71 Lu Lutetium	90 Th Thorium	91 Pa Protactinium	92 U Uranium	93 Np Neptunium	94 Pu Plutonium	95 Am Americium	96 Cm Curium	97 Bk Berkelium	98 Cf Californium	99 Es Einsteinium	100 Fm Fermium	101 Md Mendelevium	102 No Nobelium	103 Lr Lawrencium
58 Ce Cerium	59 Pr Praseodymium	60 Nd Neodymium	61 Pm Promethium	62 Sm Samarium	63 Eu Europium	64 Gd Gadolinium	65 Tb Terbium	66 Dy Dysprosium	67 Ho Holmium	68 Er Erbium	69 Tm Thulium	70 Yb Ytterbium	71 Lu Lutetium																																
90 Th Thorium	91 Pa Protactinium	92 U Uranium	93 Np Neptunium	94 Pu Plutonium	95 Am Americium	96 Cm Curium	97 Bk Berkelium	98 Cf Californium	99 Es Einsteinium	100 Fm Fermium	101 Md Mendelevium	102 No Nobelium	103 Lr Lawrencium																																

Introduction

Métaux en Biologie

Table 2 : Average elemental composition of a human body (adult, 70 kg)

element and symbol	mass (g)	year of discovery as an essential element	
oxygen	O	45500	
carbon	C	12600	
hydrogen	H	7000	
nitrogen	N	2100	
calcium	Ca	1050	
phosphorus	P	700	
sulfur	S	175	
potassium	K	140	
chlorine	Cl	105	
sodium	Na	105	
magnesium	Mg	35	
iron	Fe	4.2	17th century
zinc	Zn	2.3	1896
silicon	Si	1.4	1972
rubidium ^a	Rb	1.1	
fluorine	F	0.8	1931
zirconium ^a	Zr	0.3	
bromine ^b	Br	0.2	
strontium ^a	Sr	0.14	
copper	Cu	0.11	1925
aluminum ^a	Al	0.10	
lead ^b	Pb	0.08	
antimony ^a	Sb	0.07	
cadmium ^b	Cd	0.03	(1977)
tin ^b	Sn	0.03	(1970)
iodine	I	0.03	1820
manganese	Mn	0.02	1931
vanadium ^b	V	0.02	(1971)
selenium	Se	0.02	1957
barium ^a	Ba	0.02	
arsenic ^b	As	0.01	1975
boron ^b	B	0.01	
nickel ^b	Ni	0.01	(1971)
chromium	Cr	0.005	1959
cobalt	Co	0.003	1935
molybdenum	Mo	< 0.005	1953
lithium ^b	Li	0.002	

99 %

^a Not essential. ^b Essentiality uncertain.

Les métaux sont présents en faibles proportions mais indispensables à la vie...

Diseases	Metals (deficit vs. excess)
Osteoporosis	Ca
Anemia	Fe, Co, Cu, Mo
Lung diseases	Si, Ni, Cr
Psychiatric	Mn
Heart failure	Co
Convulsion	Mg
Wilson's disease	Cu
Menkes syndrome	Cu
Inhibited growth	Si, V, Ni, Zn, As*, Mo, Mn

* Highly toxic element, but As occurs as non-toxic $\text{Me}_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ in fish and lobsters

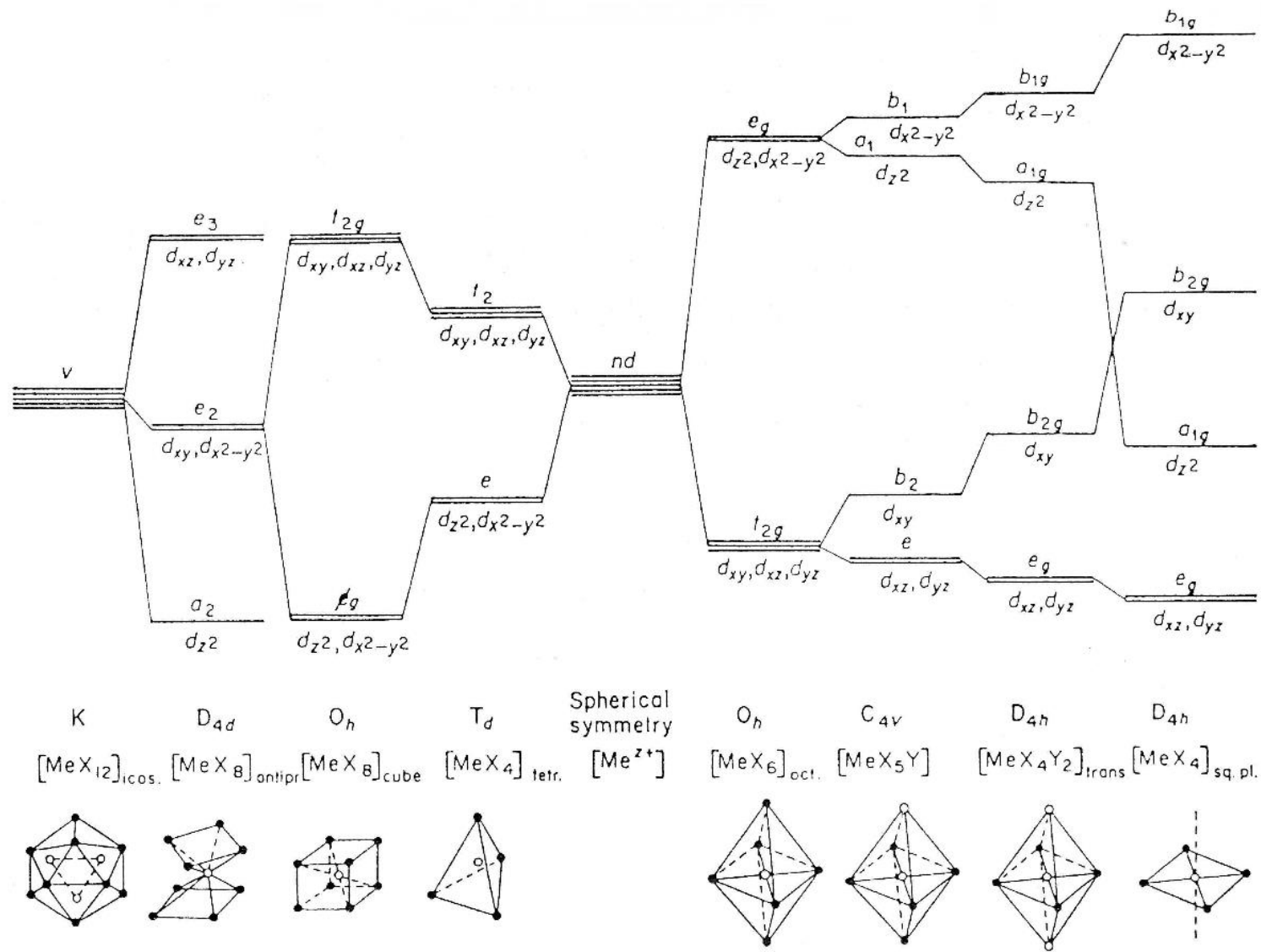
Les métaux existent à différents degrés d'oxydation

			<u>+7</u>				
		<u>+6</u>	+6	+6			
	<u>+5</u>	+5	+5	+5	+5		
<u>+4</u>	+4	+4	<u>+4</u>	+4	+4	+4	
<u>+3</u>	<u>+3</u>	<u>+3</u>	+3	<u>+3</u>	<u>+3</u>	+3	+3
+2	+2	+2	<u>+2</u>	<u>+2</u>	<u>+2</u>	<u>+2</u>	<u>+2</u>
							<u>+1</u>
Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
[Ar]	[Ar]	[Ar]	[Ar]	[Ar]	[Ar]	[Ar]	[Ar]
3d ² 4s ²	3d ³ 4s ²	3d ⁵ 4s ¹	3d ⁵ 4s ²	3d ⁶ 4s ²	3d ⁷ 4s ²	3d ⁸ 4s ²	3d ¹⁰ 4s ¹

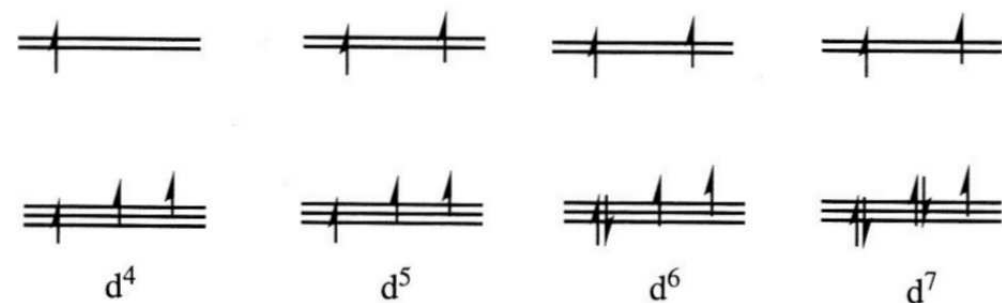
The above table shows the oxidation states of the first transition series.

The most common oxidation states are bolded and underline.

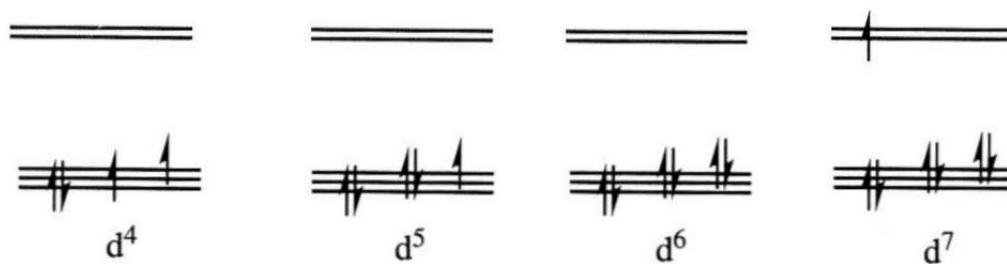
Les métaux peuvent adopter différentes géométries



Les métaux peuvent aussi adopter deux états de spin



High Spin



Low Spin

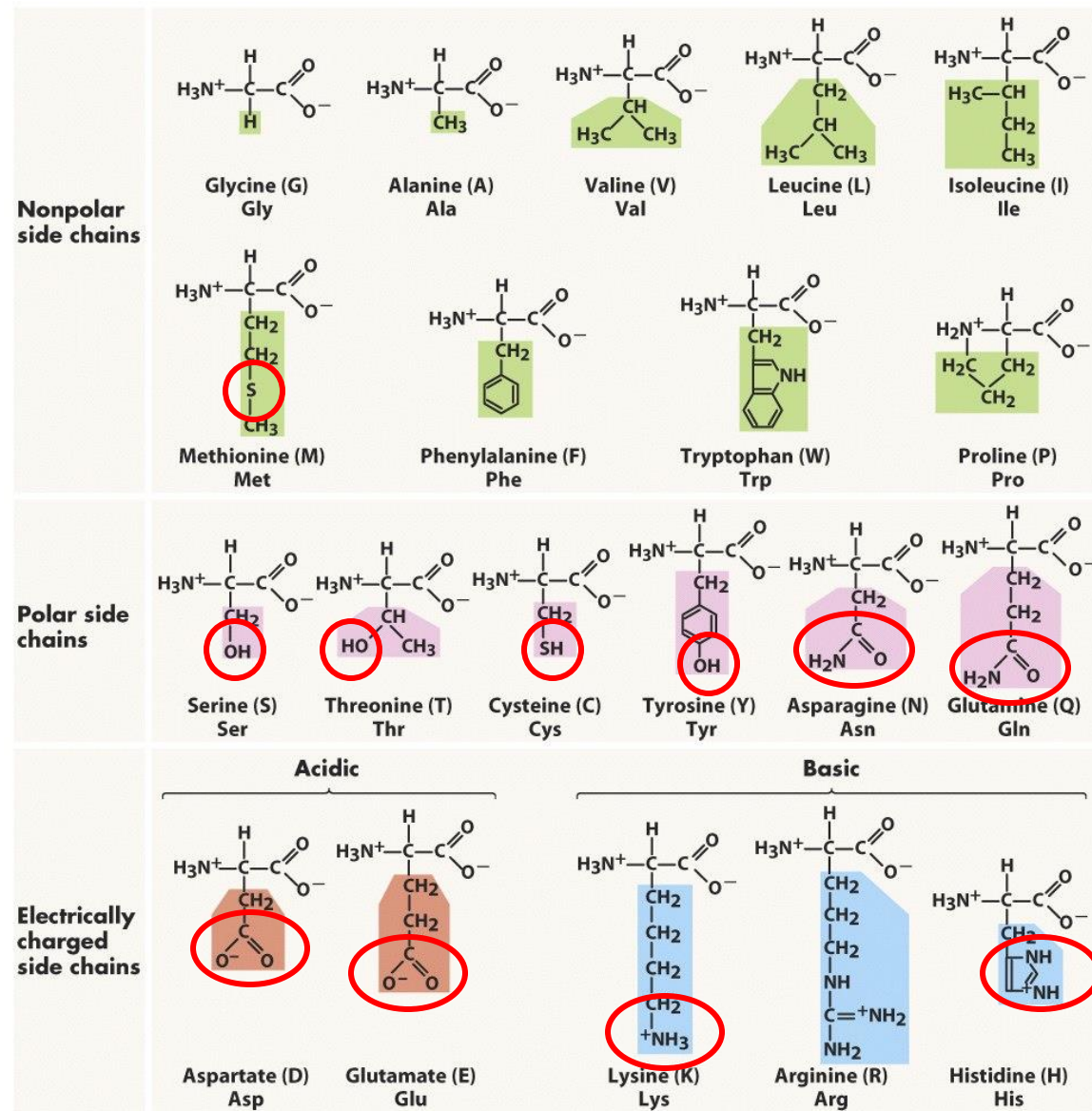
High-spin and low-spin d -electron configurations for the octahedral field.

Avec un champ de ligand faible

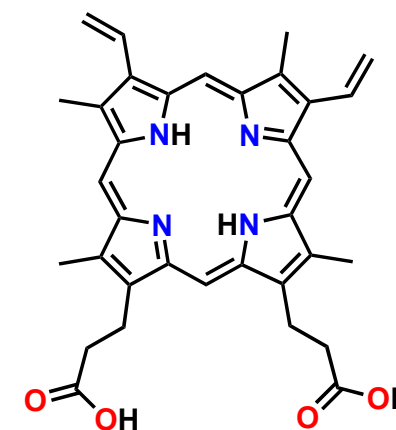
Avec un champ de ligands fort

Insertion des métaux dans les protéines

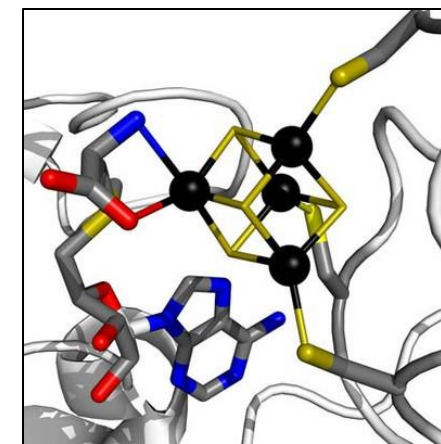
Liaison aux chaînes latérales d'acides-aminés



Liaison à un ligand organique



Insertion d'un cluster métallique



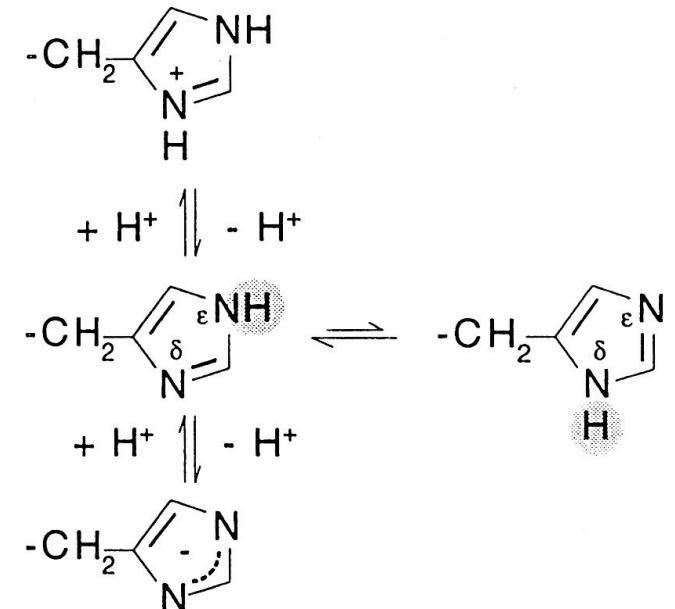
Insertion des métaux dans les protéines

La liaison des ions métalliques aux chaînes latérales dépend de la disponibilité des doublets non liants et donc du pKa

	$-\text{COOH}_{(\alpha)}$ (pK _{a1})	$-\text{NH}_3^+_{(\alpha)}$ (pK _{a2})	R (residue)
glycine	2.34	9.60	-
arginine	2.17	9.04	12.48
lysine	2.18	8.95	10.53
tyrosine	2.20	9.10	10.10
cysteine	1.80	10.80	8.30
histidine	1.82	9.17	6.00
glutamic acid	2.19	9.67	4.25
aspartic acid	1.88	9.60	3.65

pK_a ≈ 6.5

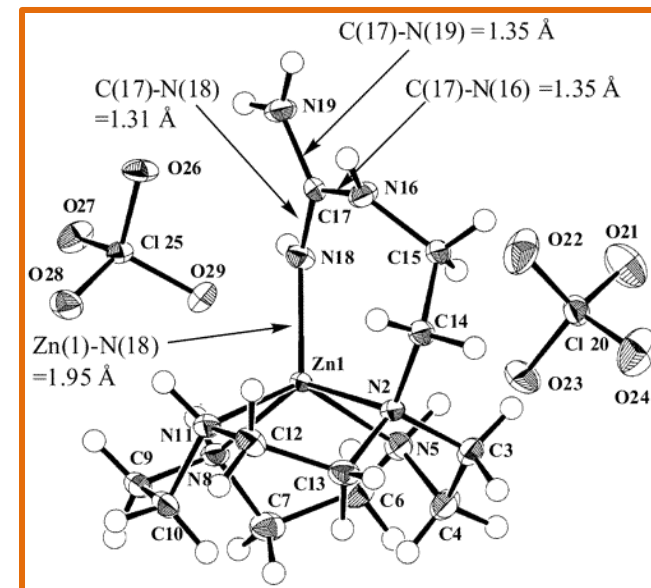
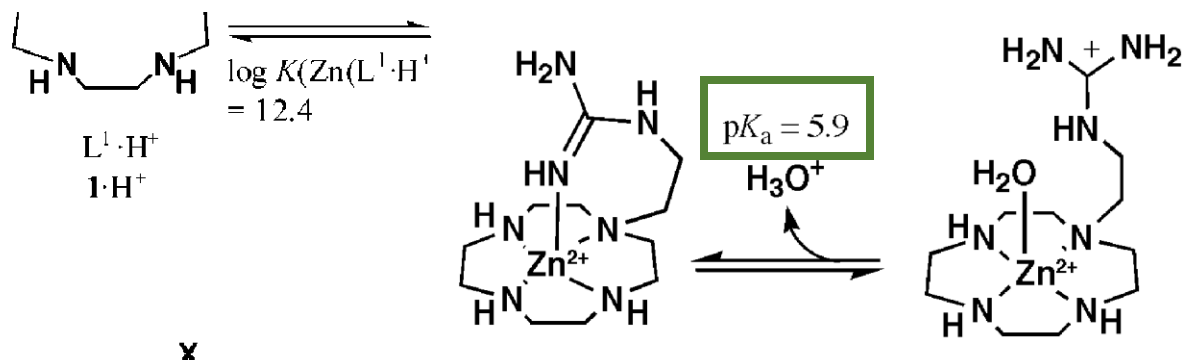
pK_a ≈ 14



Le pKa d'une espèce peut être très différent dans l'environnement protéique...

Insertion des métaux dans les protéines

	$-\text{COOH}_{(\alpha)}$ (pK_{a1})	$-\text{NH}_3^+_{(\alpha)}$ (pK_{a2})	R (residue)
glycine	2.34	9.60	–
arginine	2.17	9.04	12.48

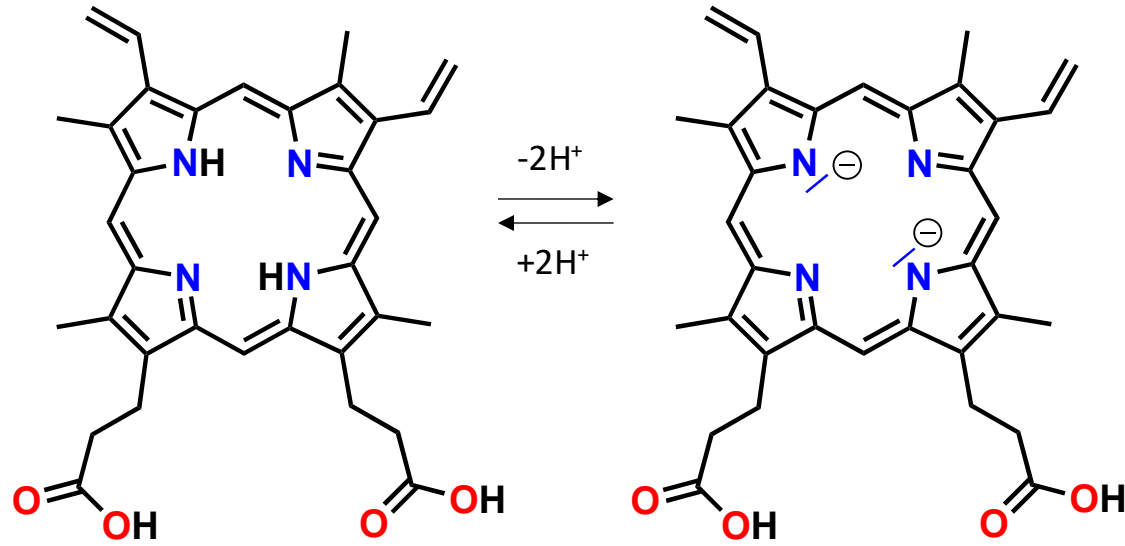


Le pK_a de la chaîne latérale peut également être fortement influencé par la présence d'un ion métallique à proximité...

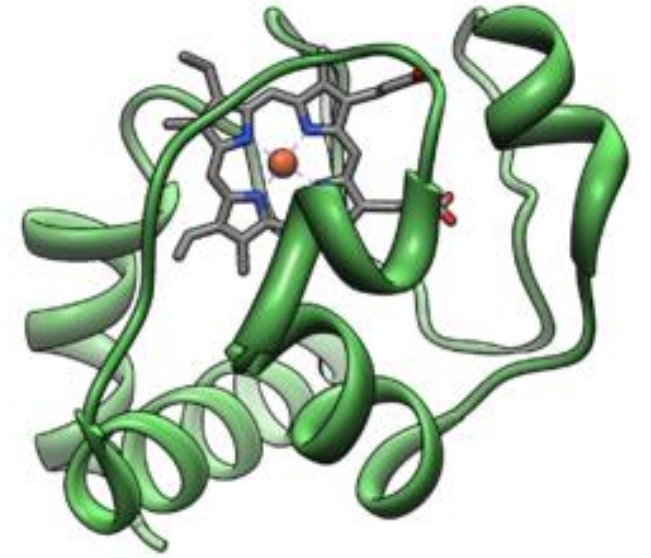
6

Enzymes à Cofacteur Héminique

I) Cofacteur héminique



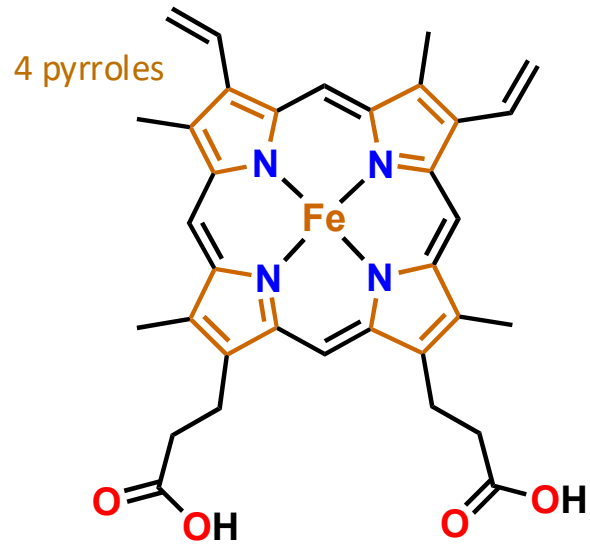
Hème b
(protoporphyrine IX)



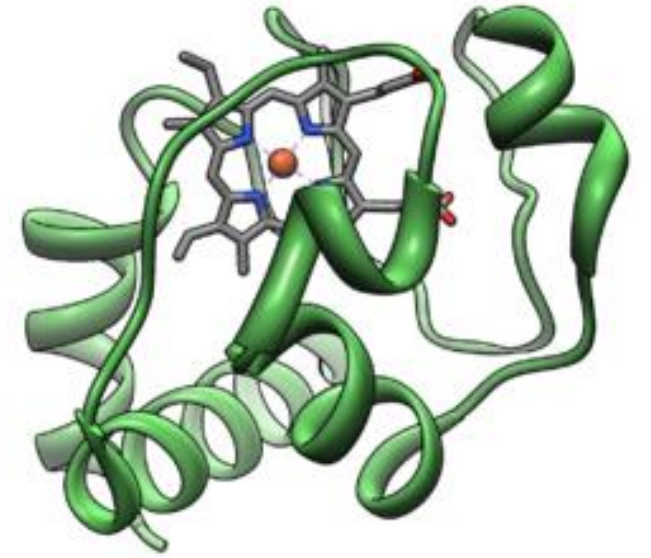
6

Enzymes à Cofacteur Héminique

I) Cofacteur héminique



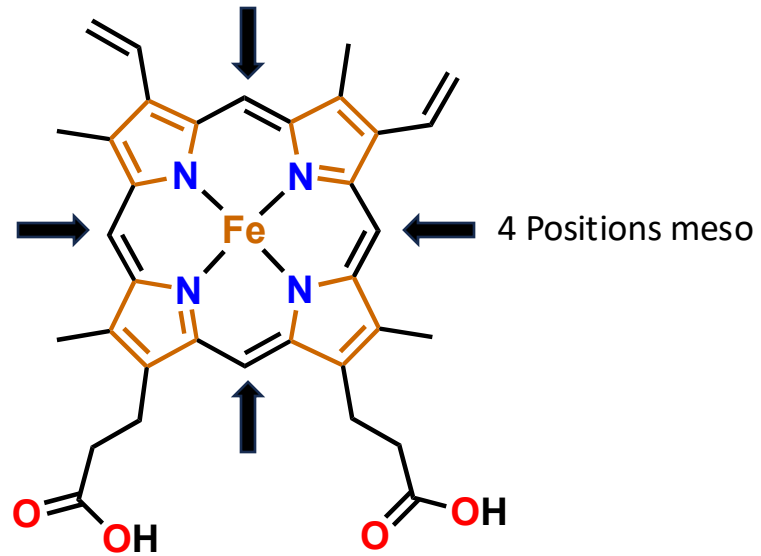
Hème b
(protoporphyrine IX de fer)



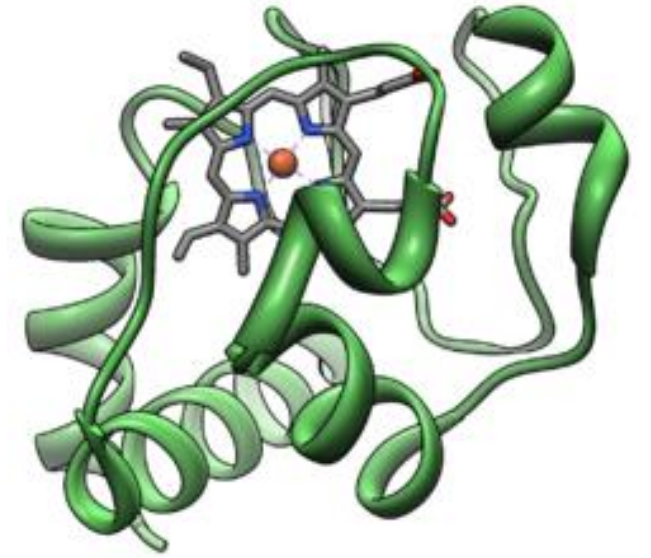
6

Enzymes à Cofacteur Héminique

I) Cofacteur héminique



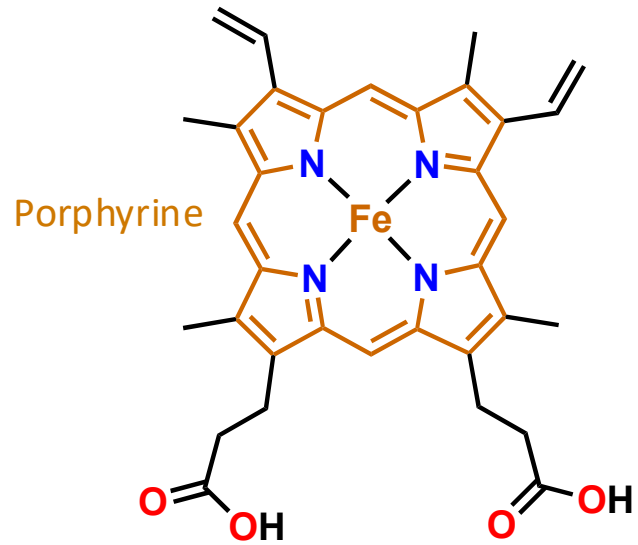
Hème b
(protoporphyrine IX de fer)



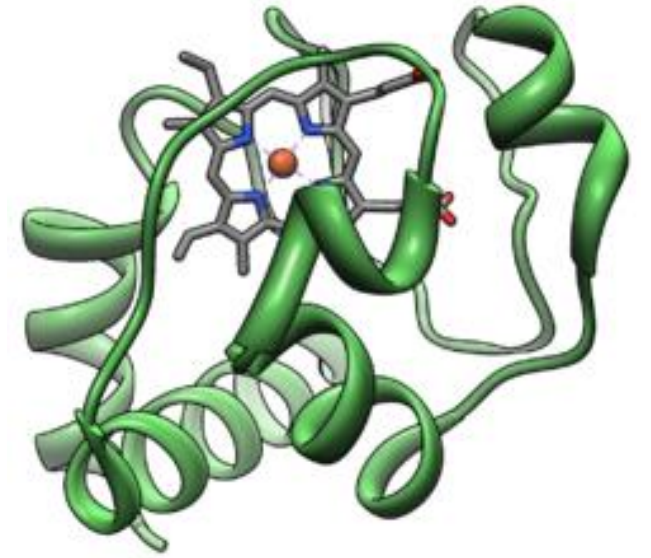
6

Enzymes à Cofacteur Héminique

I) Cofacteur héminique



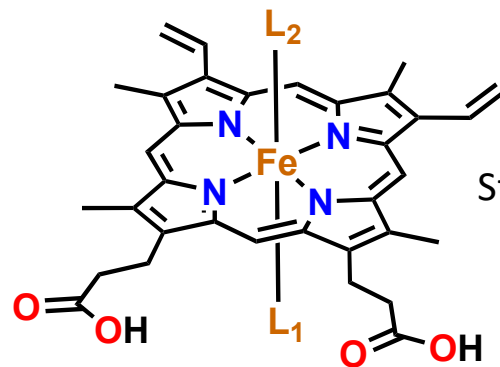
Hème b
(protoporphyrine IX de fer)



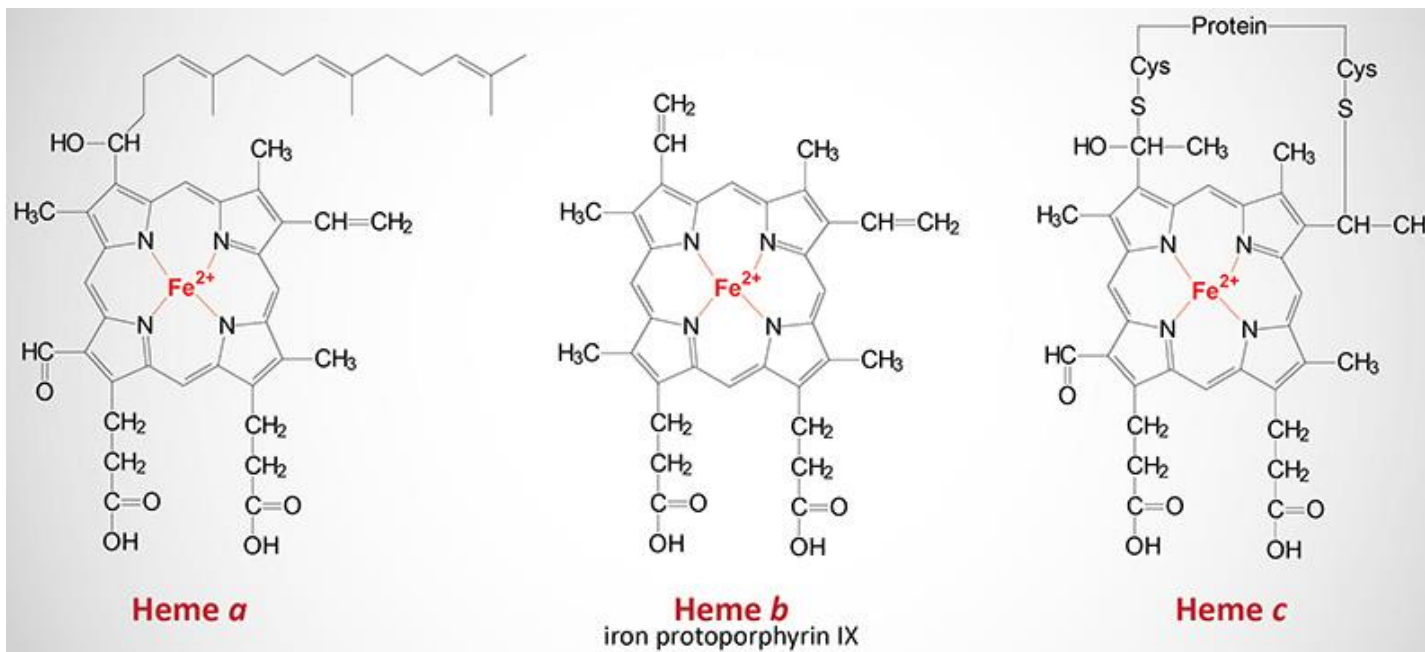
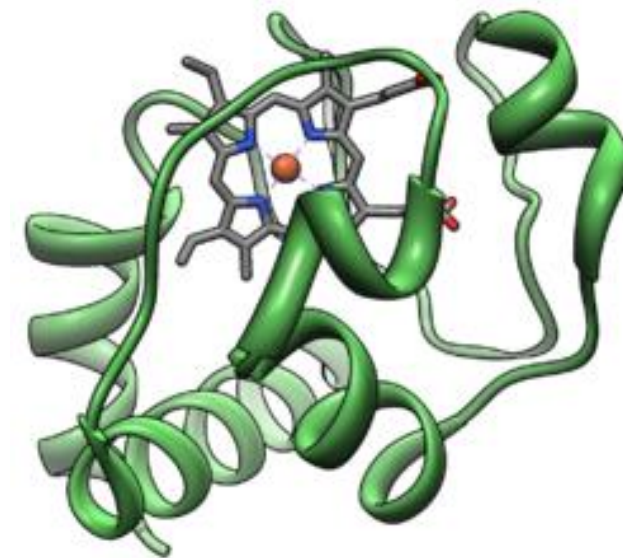
6

Enzymes à Cofacteur Héminique

I) Cofacteur héminique



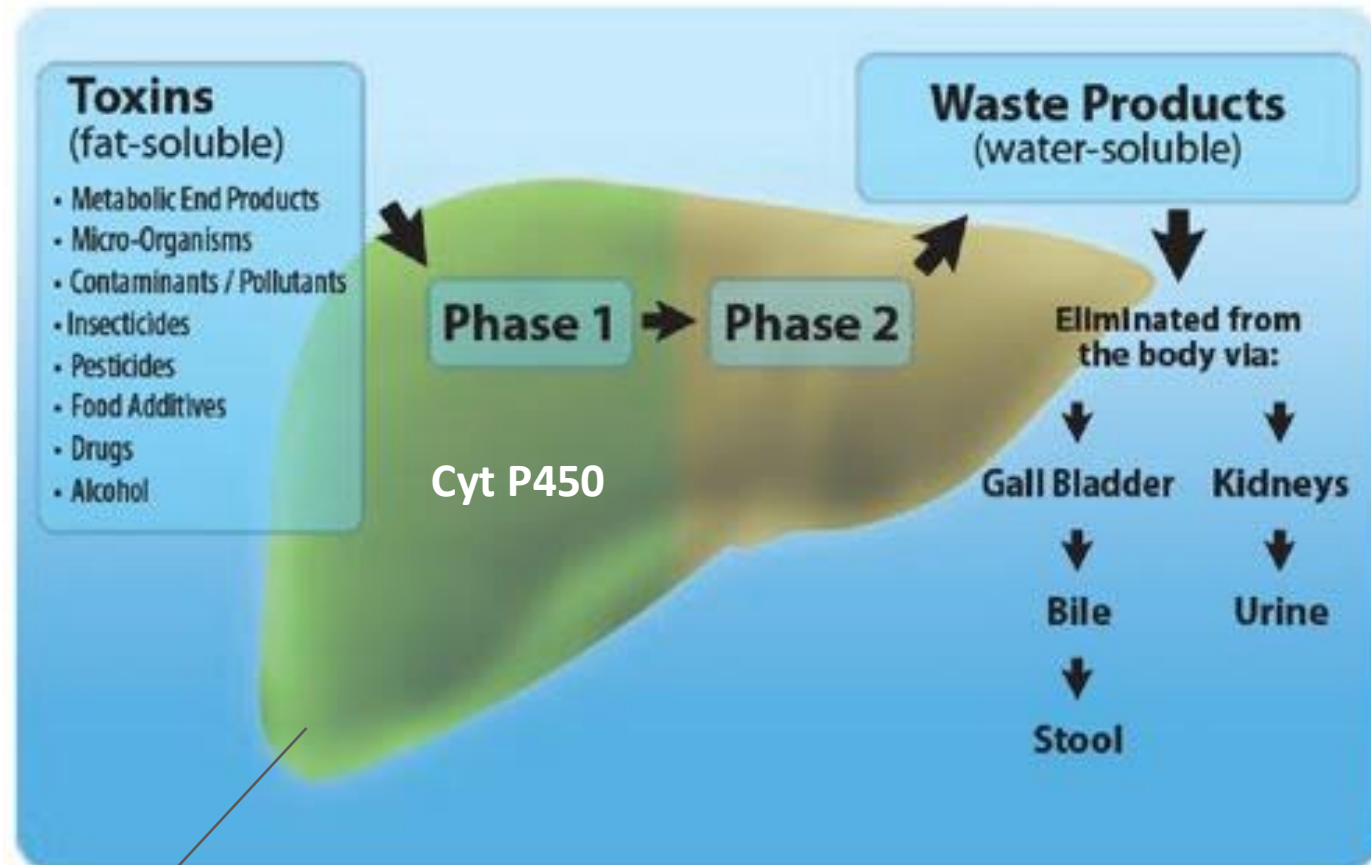
Structure aromatique plane



II) Cytochromes P450

Les cytochrome P450 sont des **enzymes de détoxification** présentes dans le foie

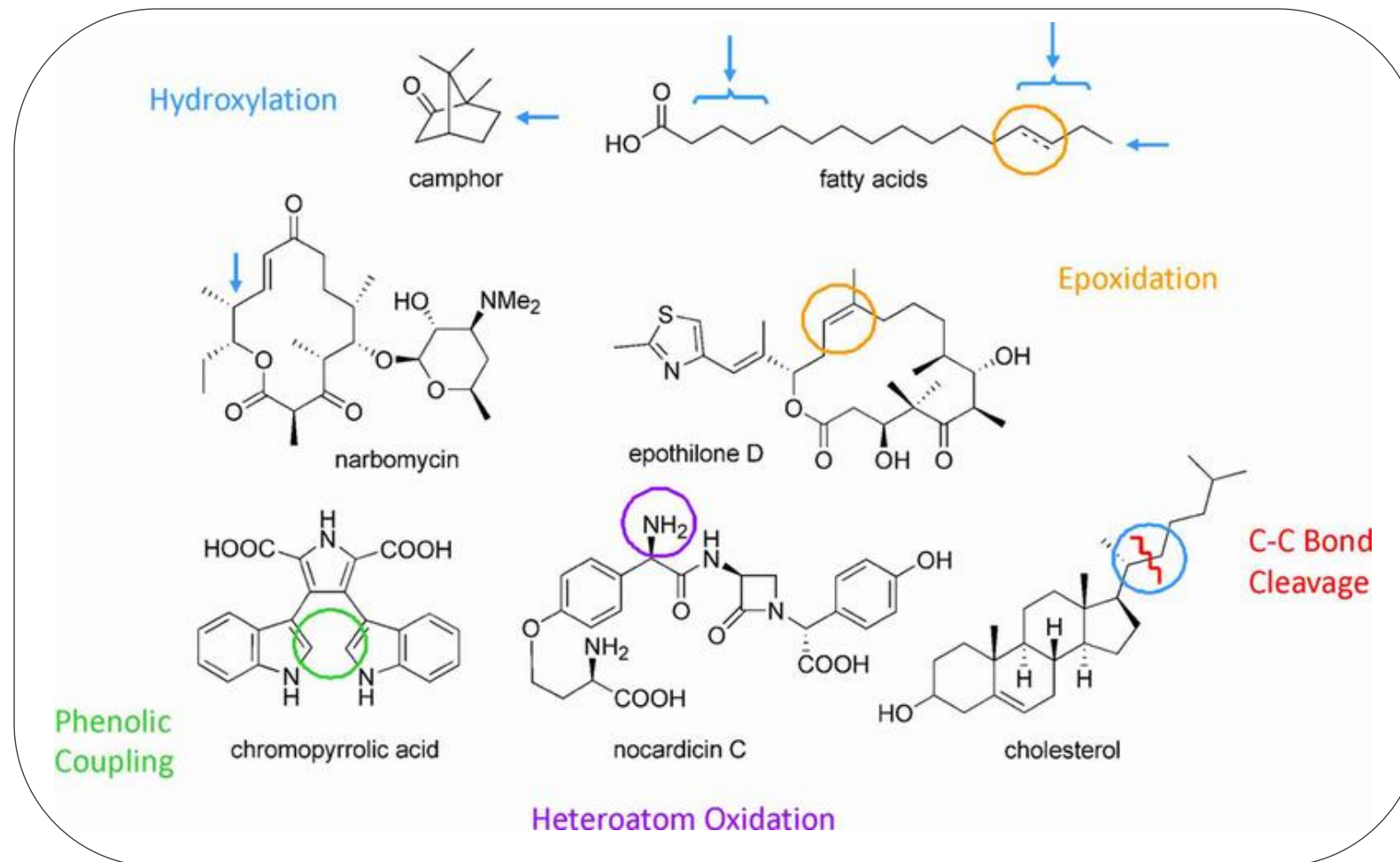
Figure 1 - Detoxification (Biotransformation) Pathways



foie

II) Cytochromes P450

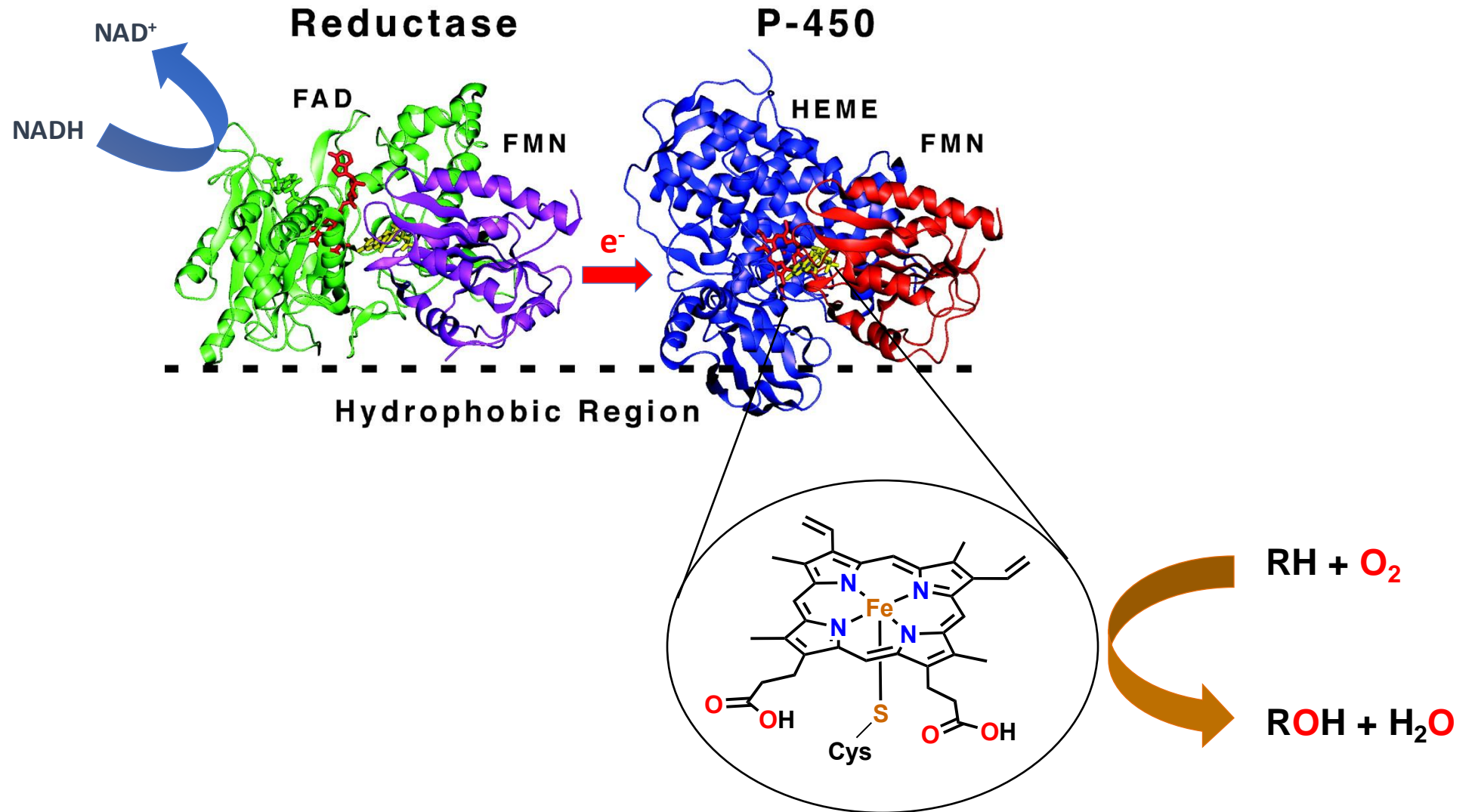
Les cytochrome P450 catalysent différents types de **réactions d'oxydation**.



6

Enzymes à Cofacteur Héminique

II) Cytochromes P450

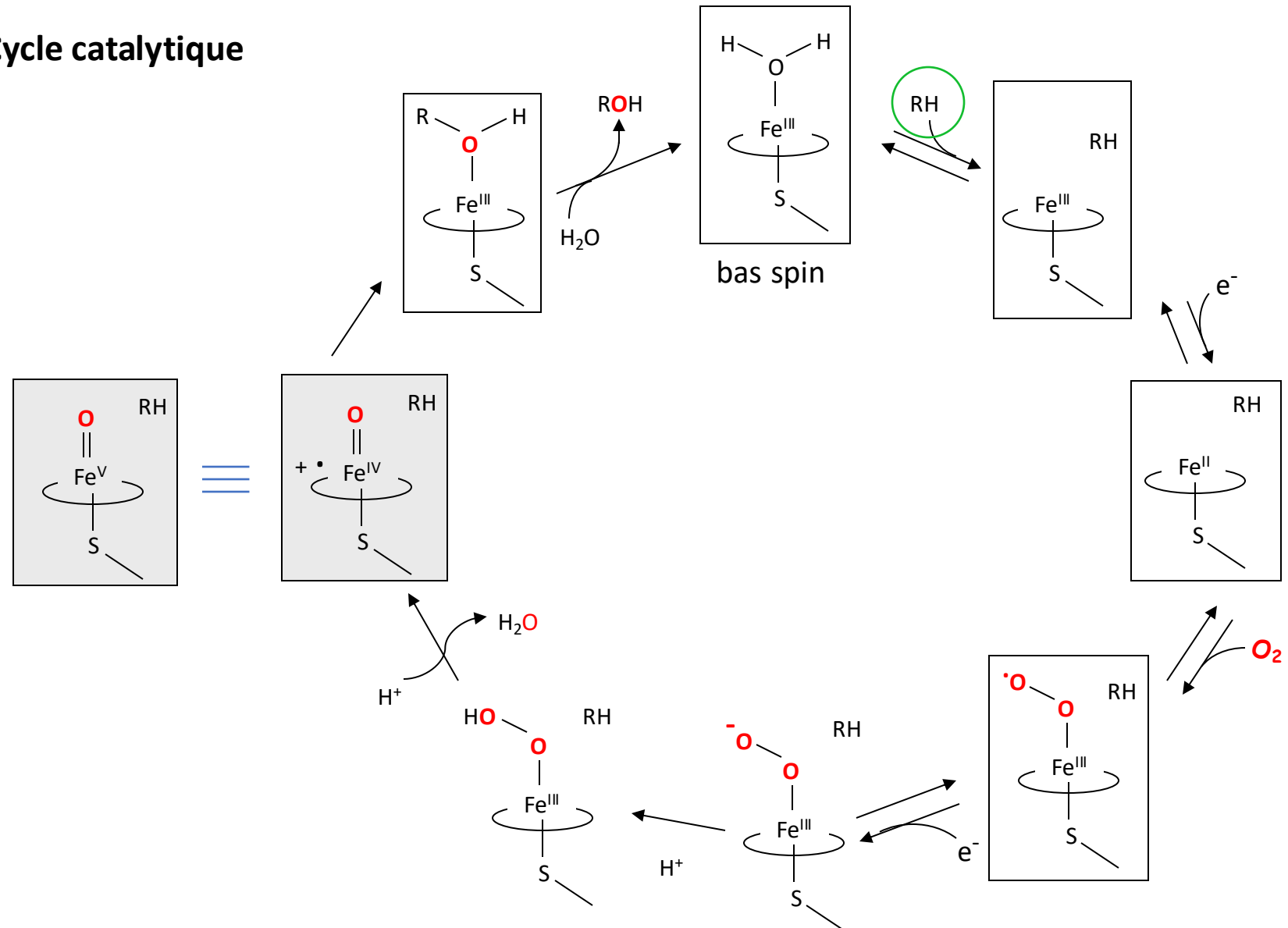


6

Enzymes à
Cofacteur
Héminique

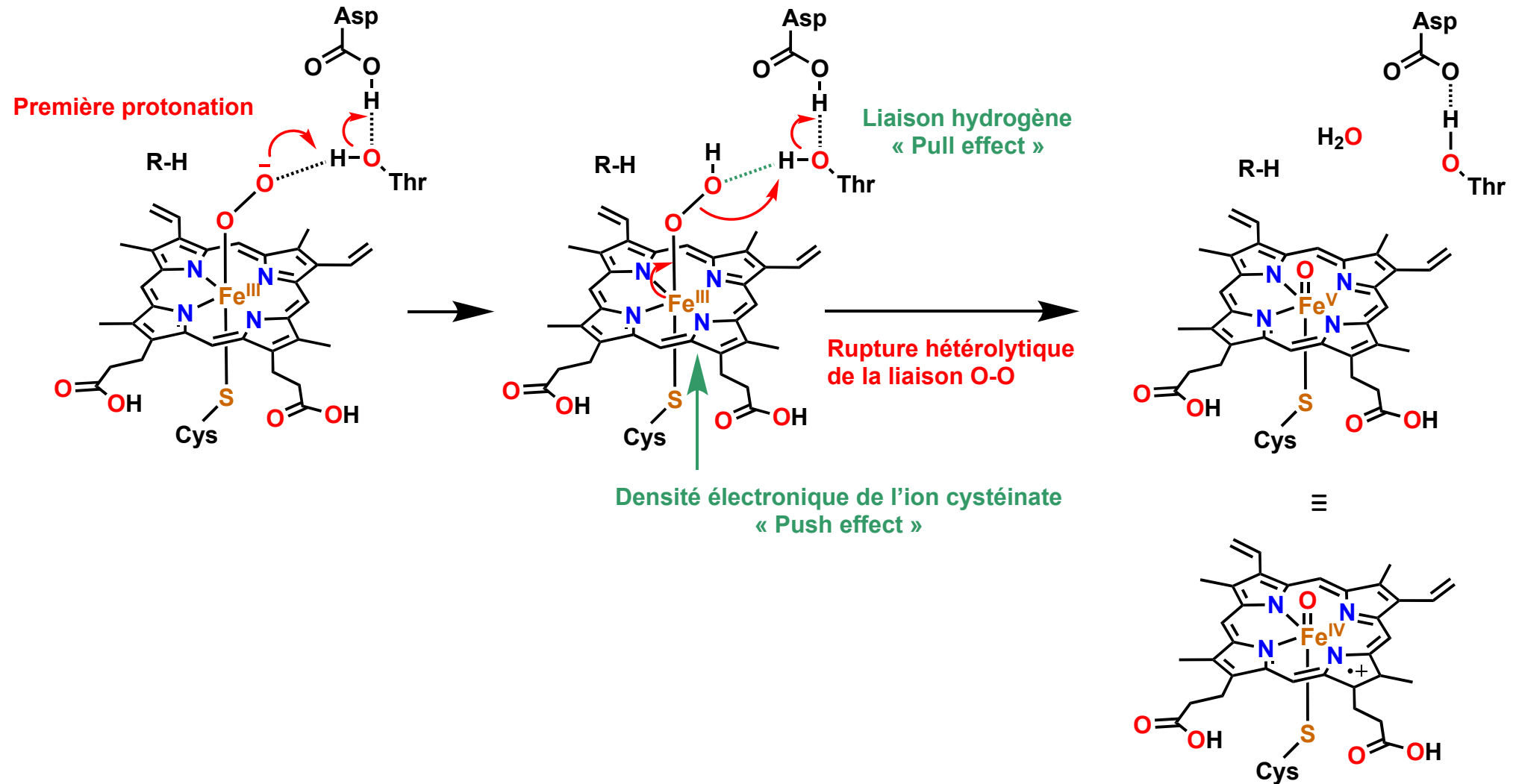
II) Cytochromes P450

Cycle catalytique



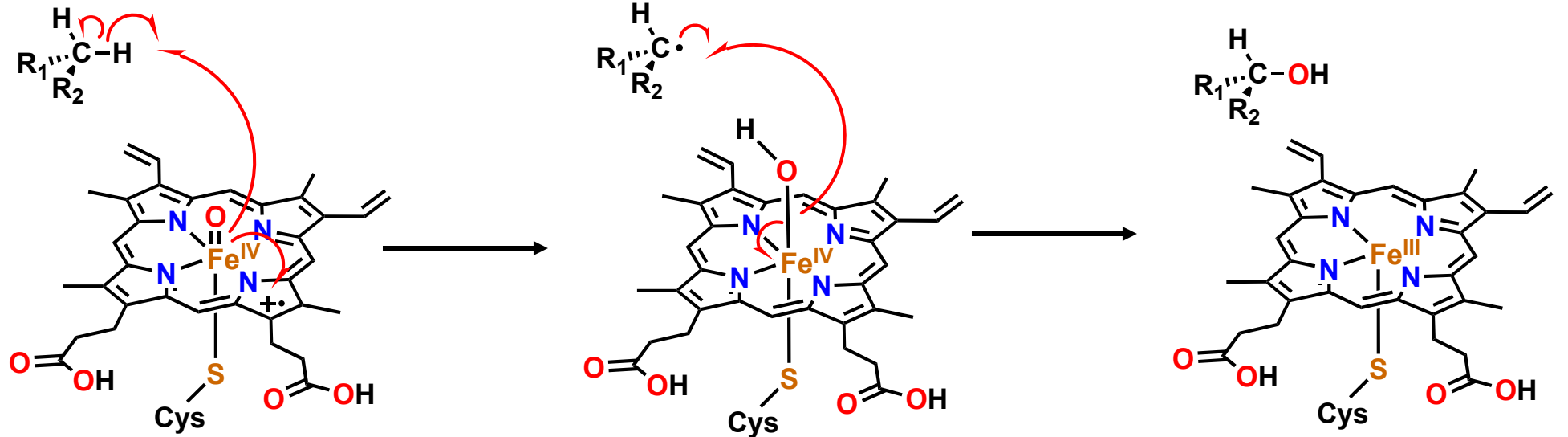
II) Cytochromes P450

Activation du dioxygène



II) Cytochromes P450

Réaction d'hydroxylation d'alcane

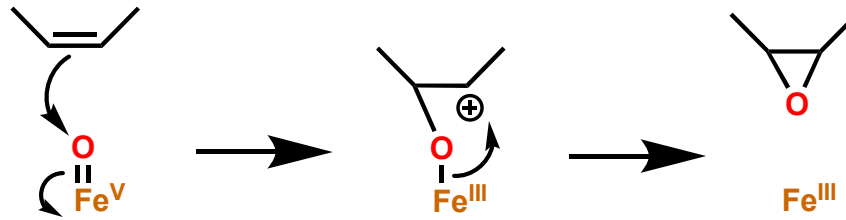


Abstraction de l'hydrogène
Par le Fe^{IV} radical/cation

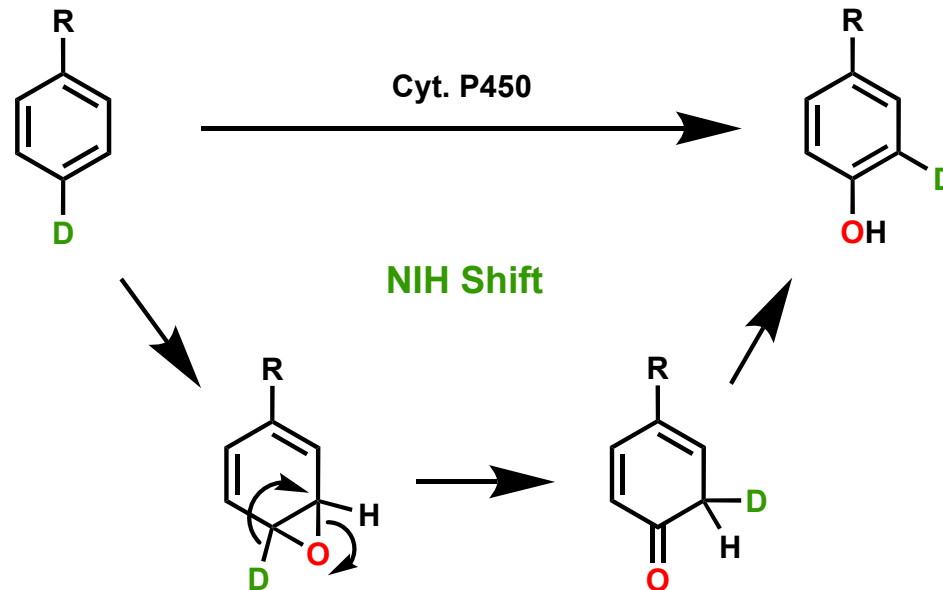
Mécanisme de type
« Oxygen rebound »

II) Cytochromes P450

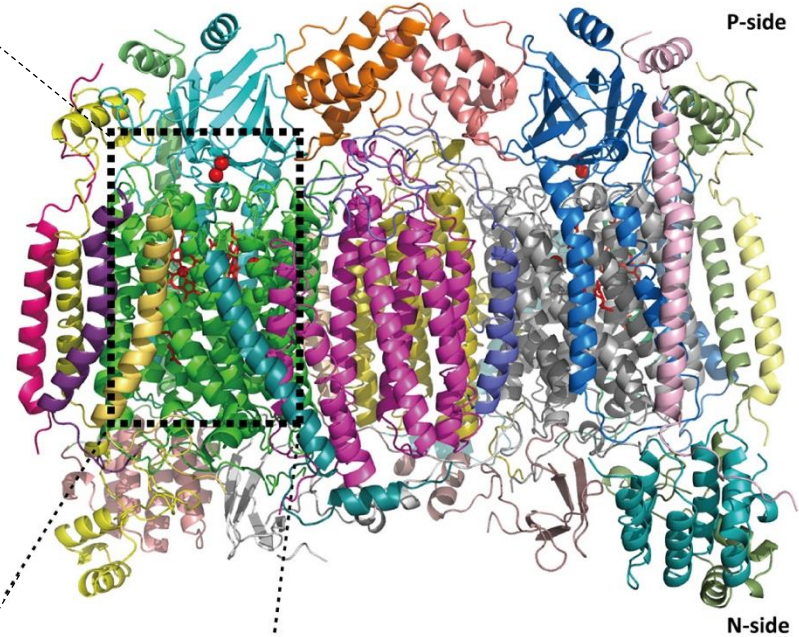
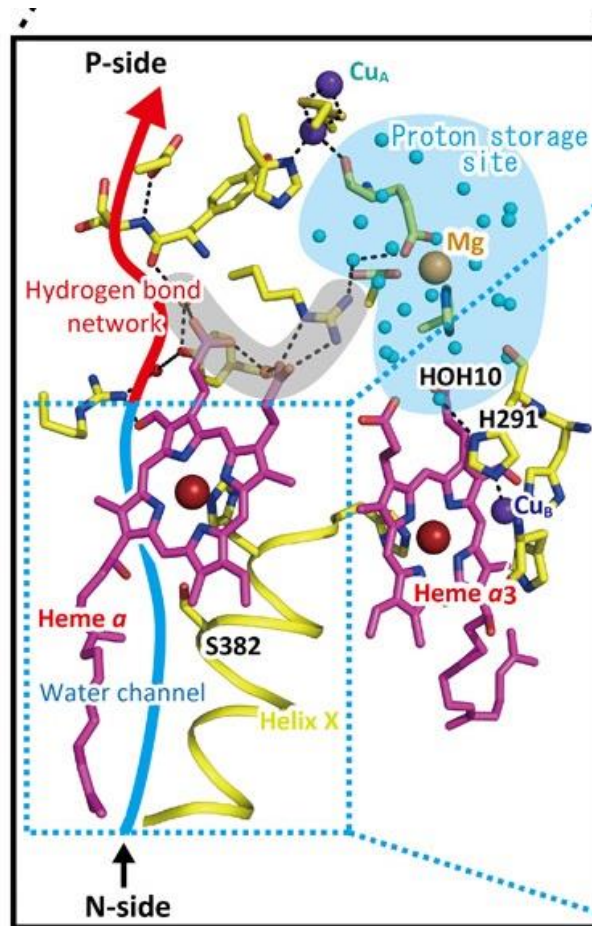
Réaction d'époxydation



Réaction d'hydroxylation d'aromatique



III) Cytochromes c oxydase

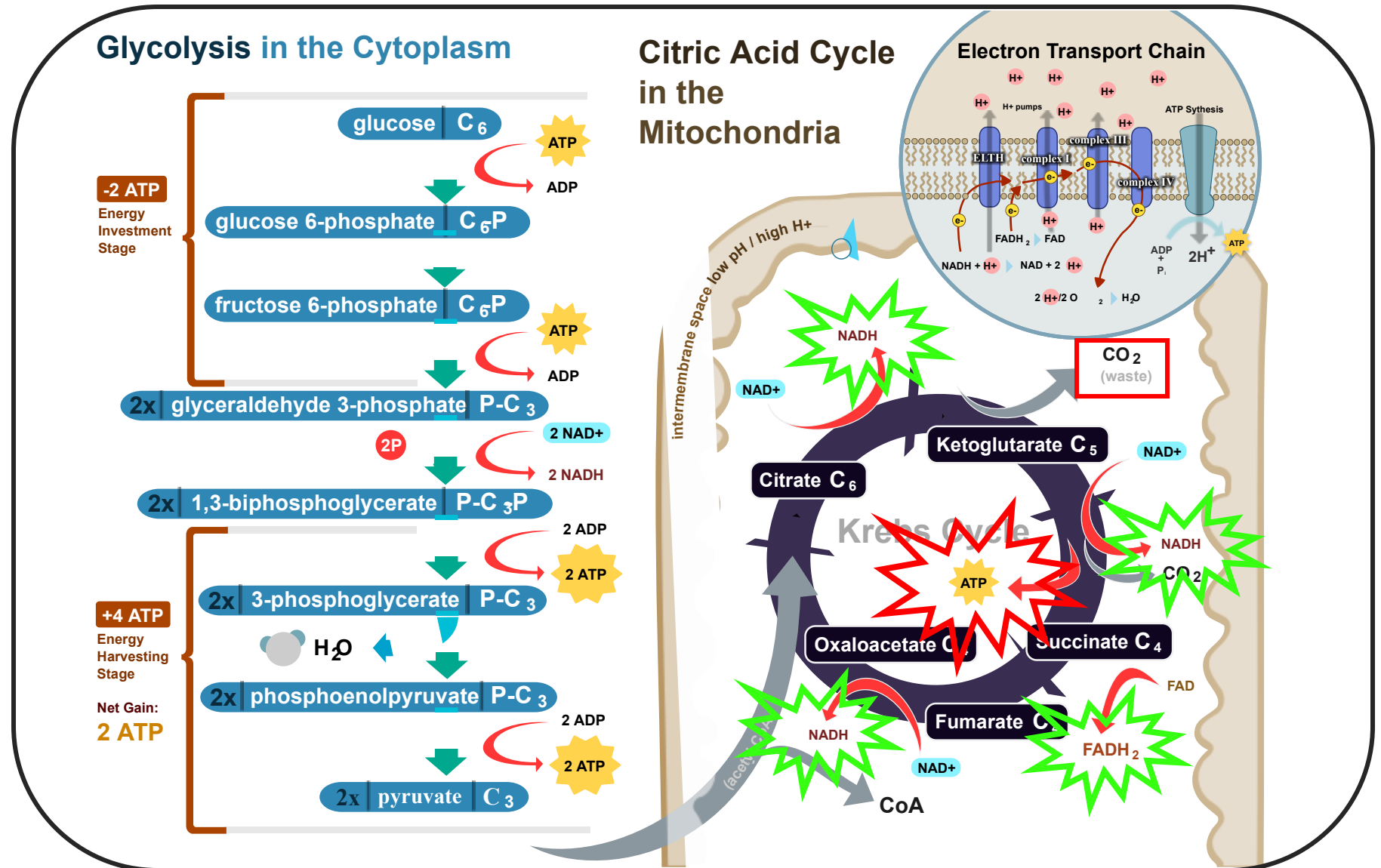


Cytochrome C oxydase

Protéine membranaire de la chaîne respiratoire

- 1 site binucléaire à cuivre Cu_A
- 1 site héminique (hème a)
- 1 site hétéro-binucléaire (hème a3 et Cu_B)

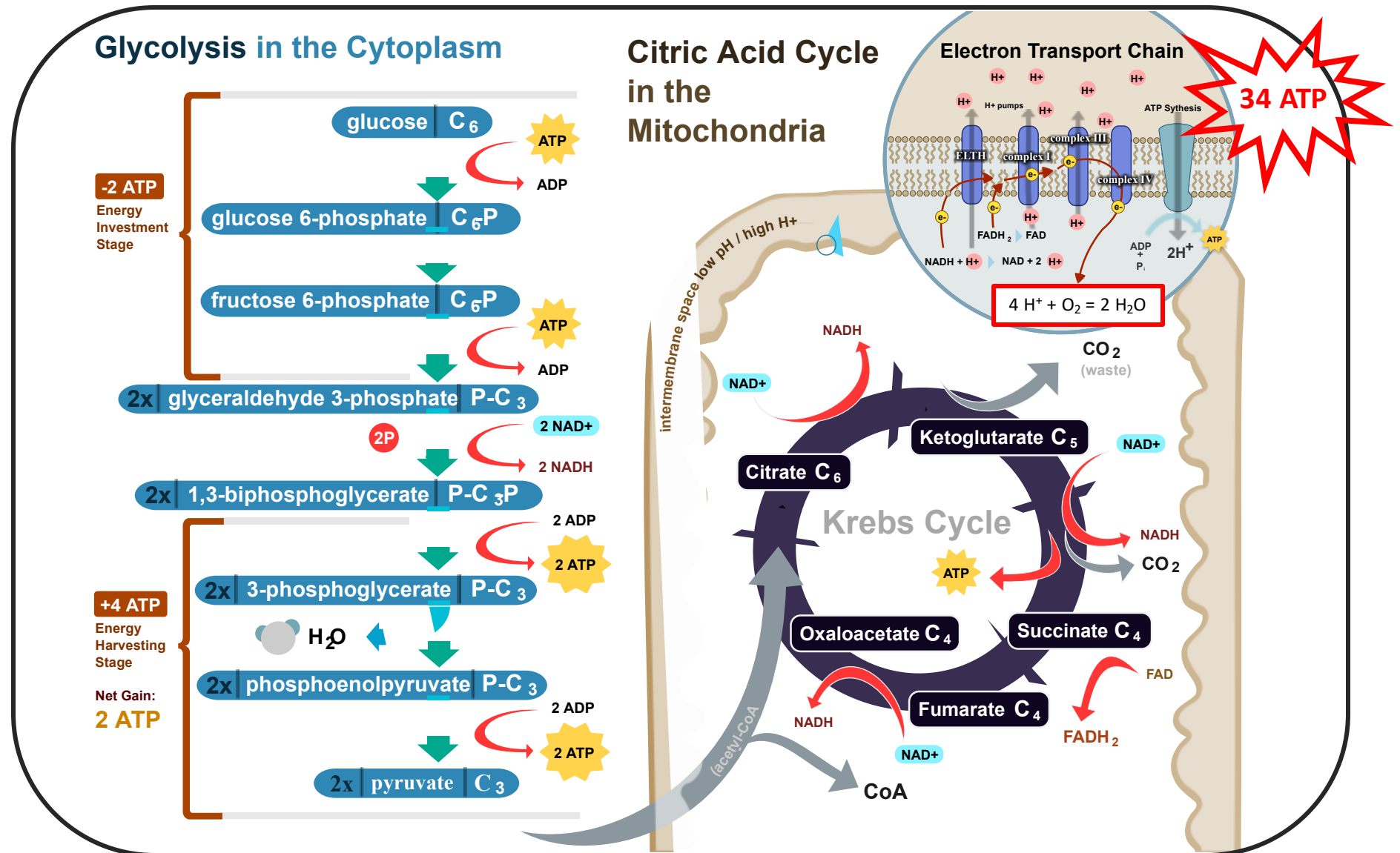
III) Cytochromes c oxydase



6

Enzymes à Cofacteur Héminique

III) Cytochromes c oxydase



III) Cytochromes c oxydase

Mitochondria Structural Features

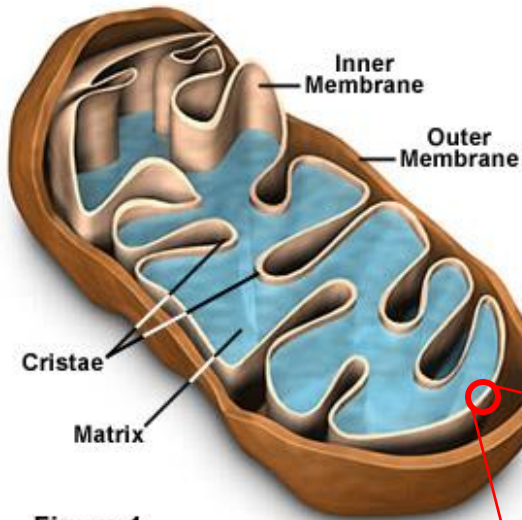
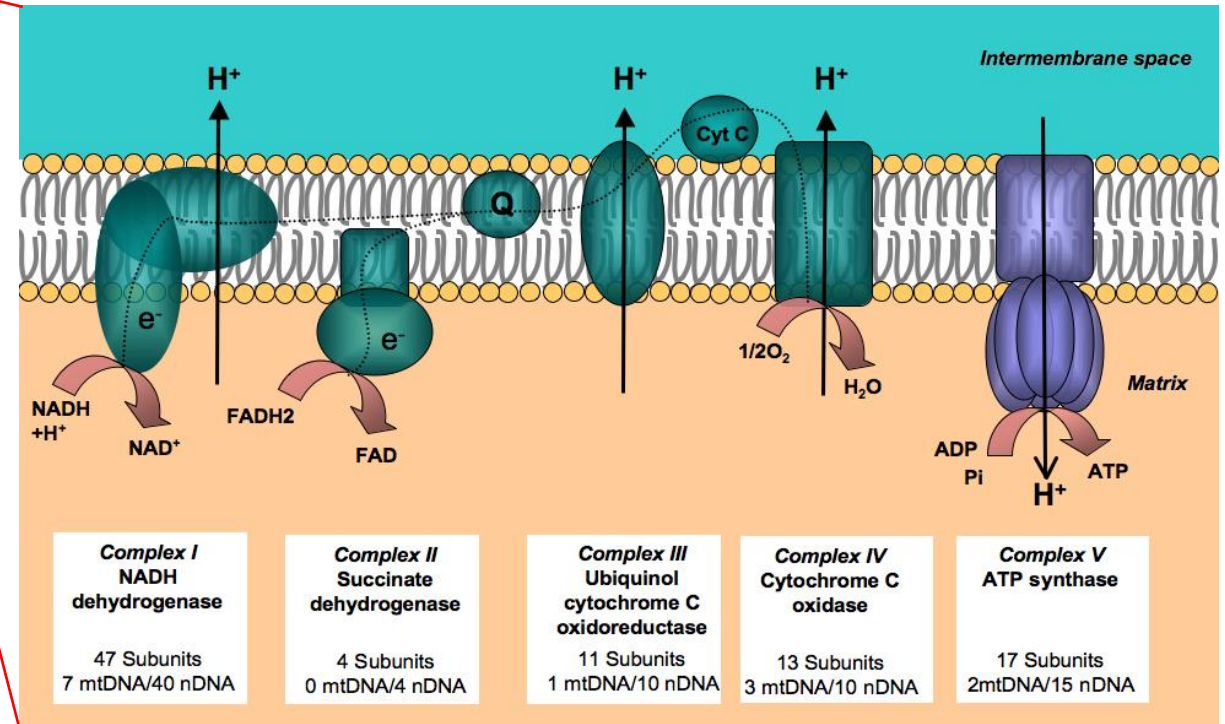


Figure 1

NADH, H⁺ et FADH₂ produits par le cycle de Krebs apportent les e⁻ et H⁺ aux complexes I et II

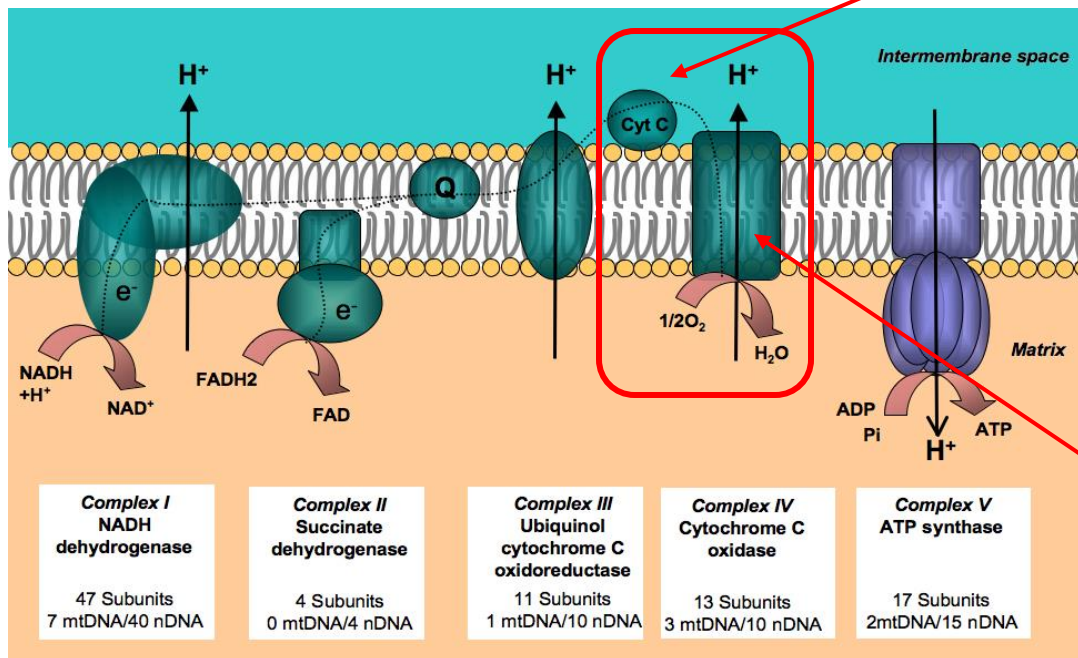
H⁺ injectés vers l'espace intermembranaire pour générer un gradient de protons qui servira de force motrice à la synthèse d'ATP par le complexe IV

e⁻ acheminés jusqu'à O₂ qui est **l'accepteur final d'e⁻ pour former H₂O**

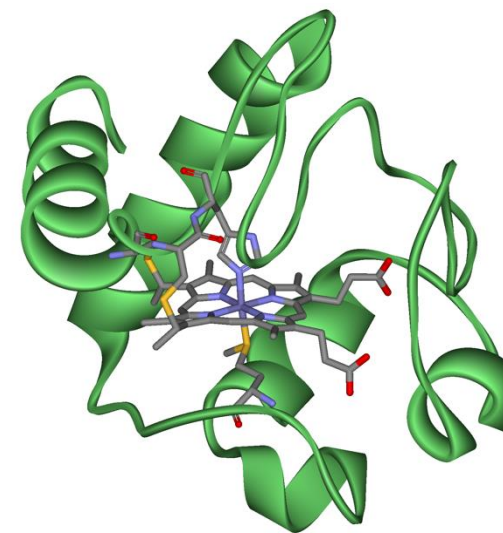


Enzymes à Cofacteur Héminique

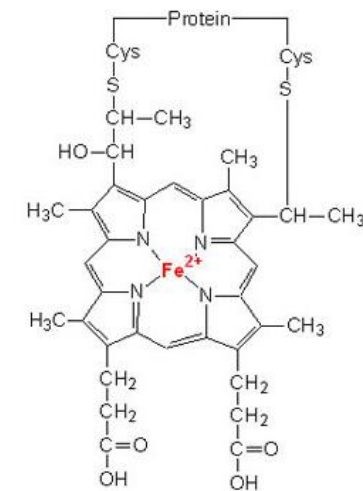
III) Cytochromes c oxydase



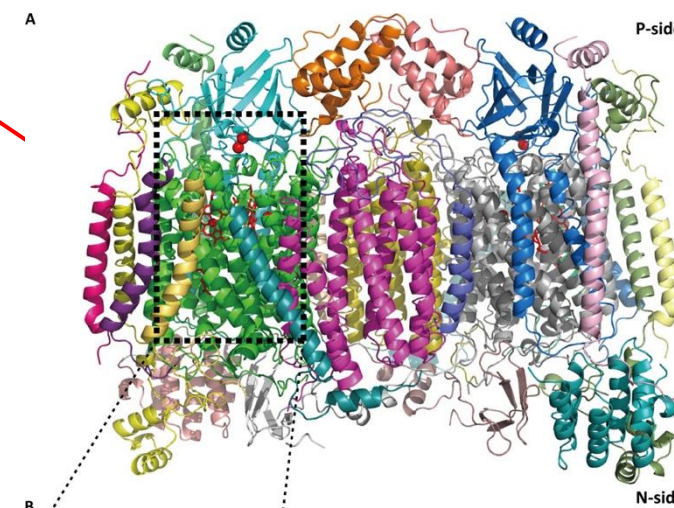
Le cytochrome C transporte 1 électron du complexe III vers la cytochrome c oxydase (complexe IV) pour réduire O₂ en H₂O.



Cytochrome C



Heme c

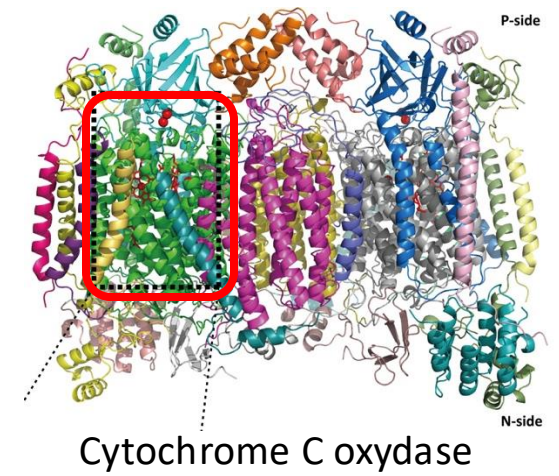
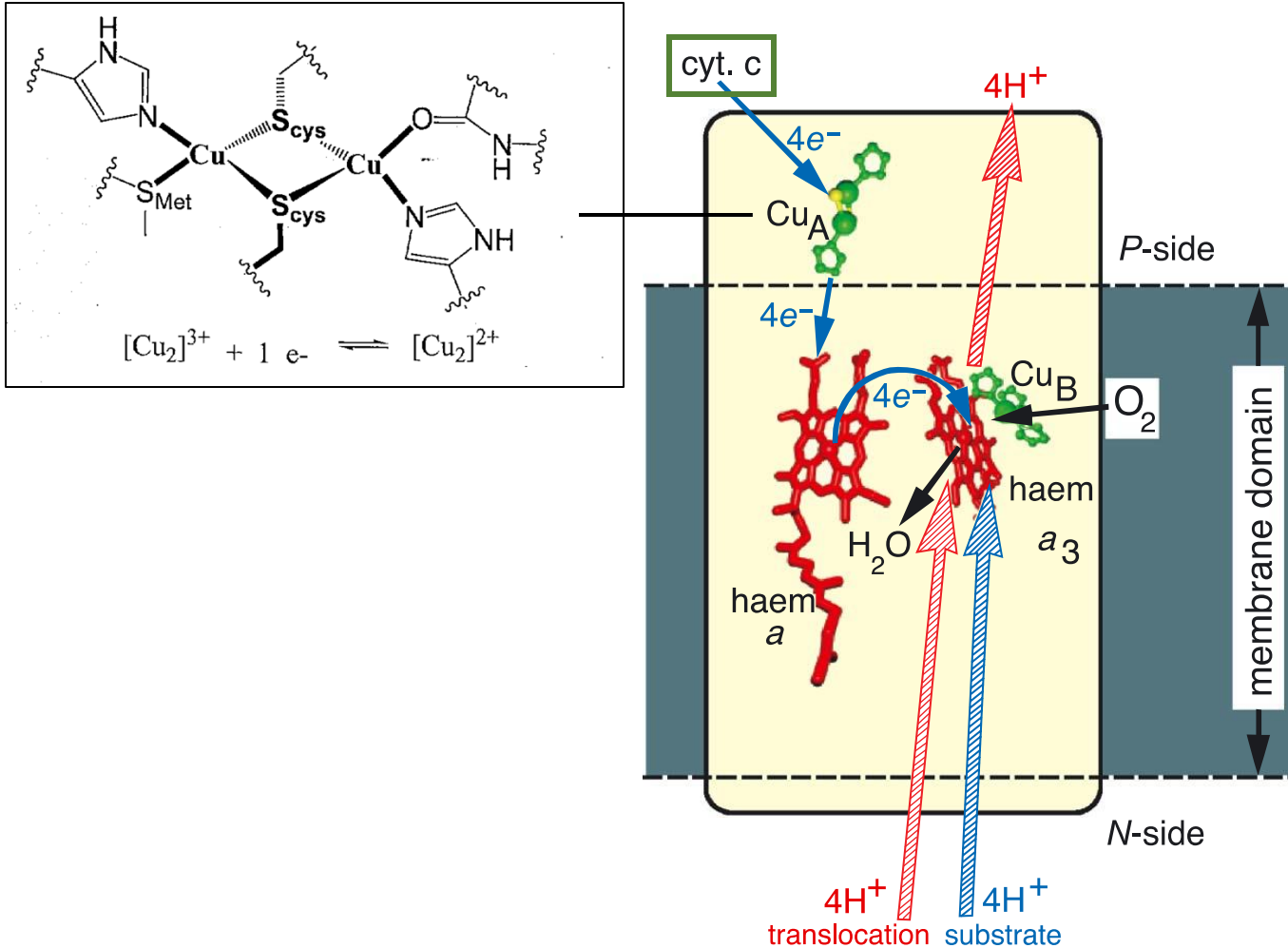


Cytochrome C oxydase

6

Enzymes à Cofacteur Héminique

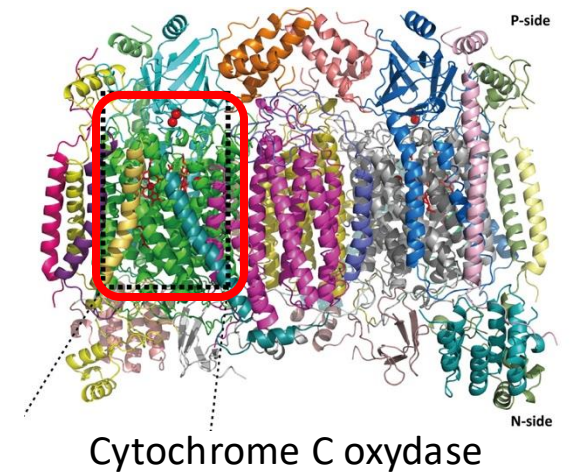
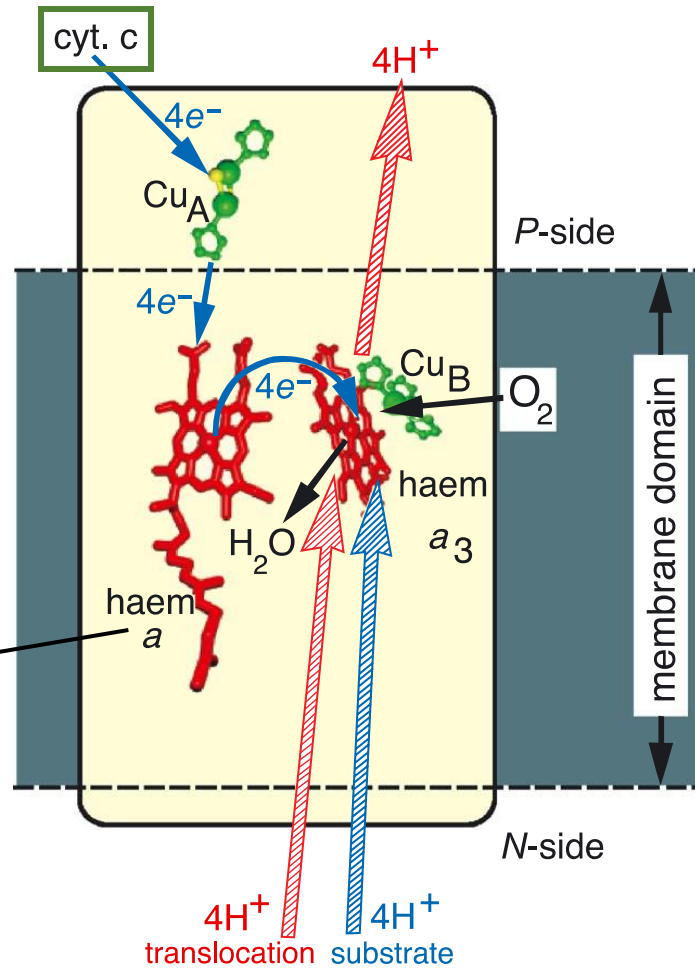
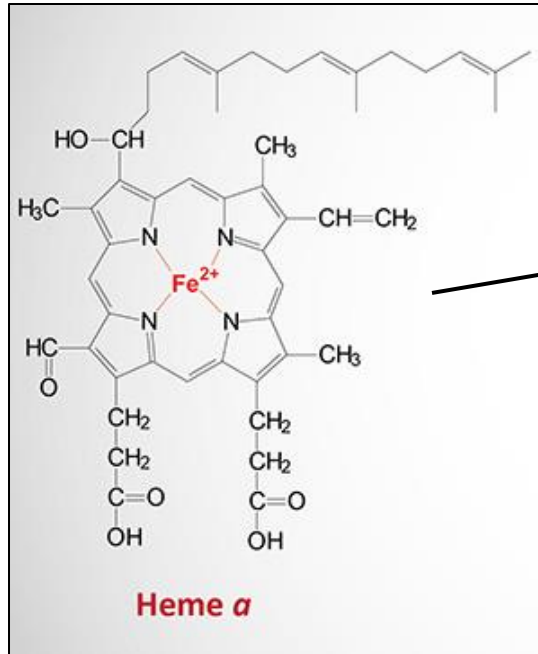
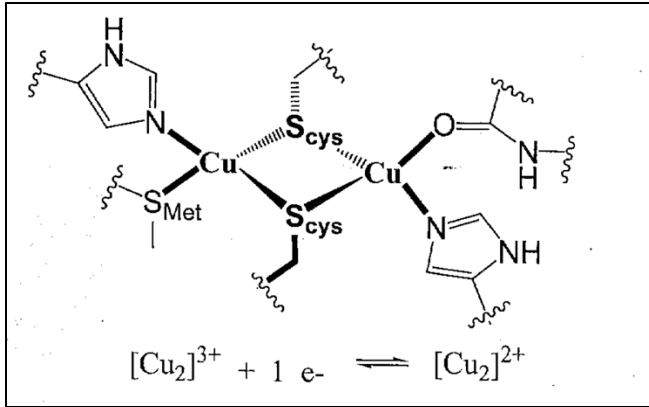
III) Cytochromes c oxydase



Le cytochrome c transfère $1 e^-$ vers le premier site à cuivre (CuA) de la cytochrome c oxydase. Il faudra donc **4 cycles** pour réduire O_2 en $2 \text{H}_2\text{O}$

Enzymes à Cofacteur Héminique

III) Cytochromes c oxydase

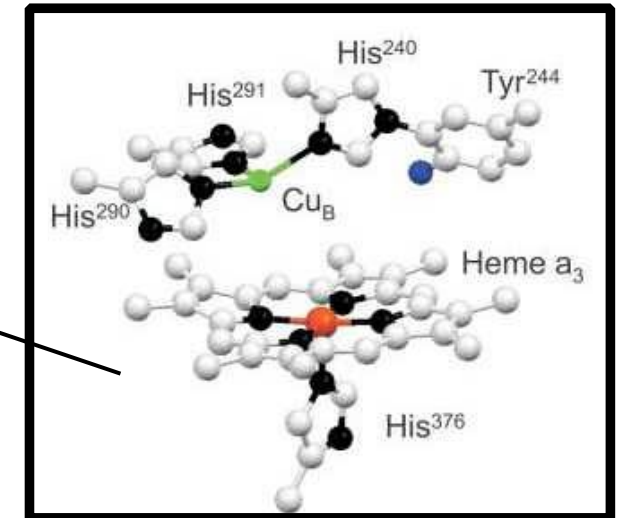
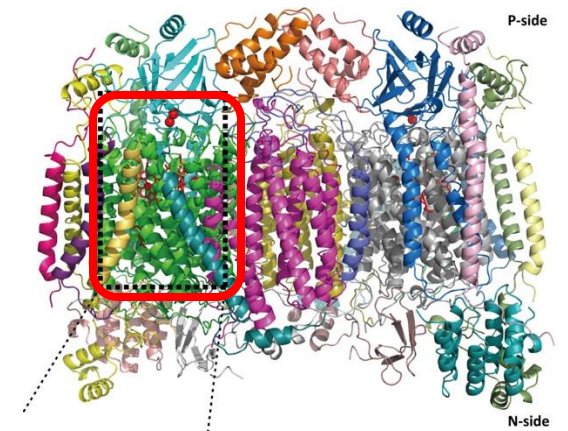
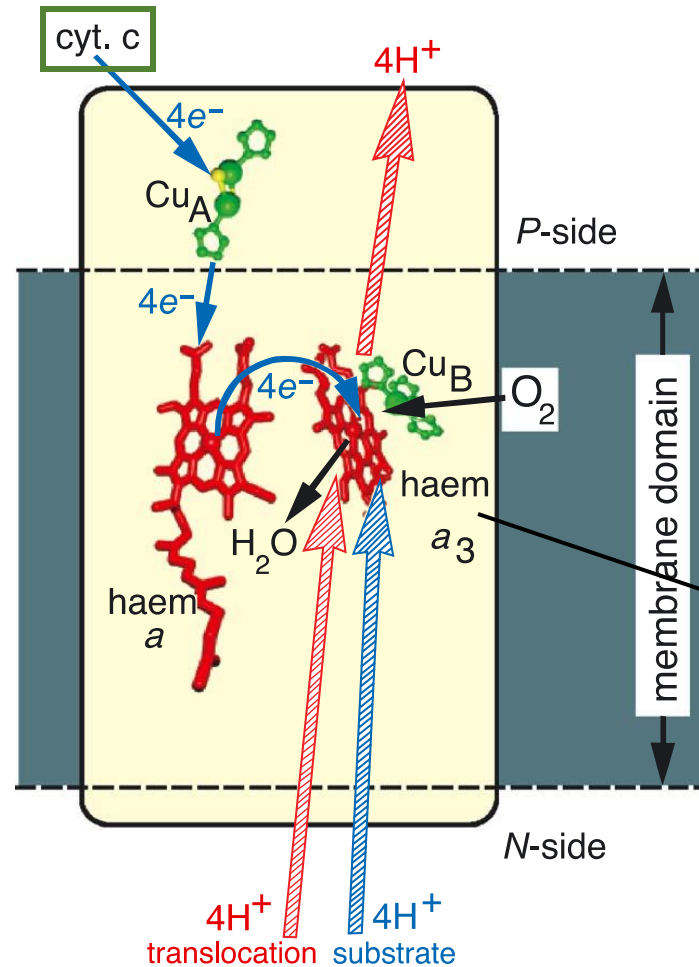
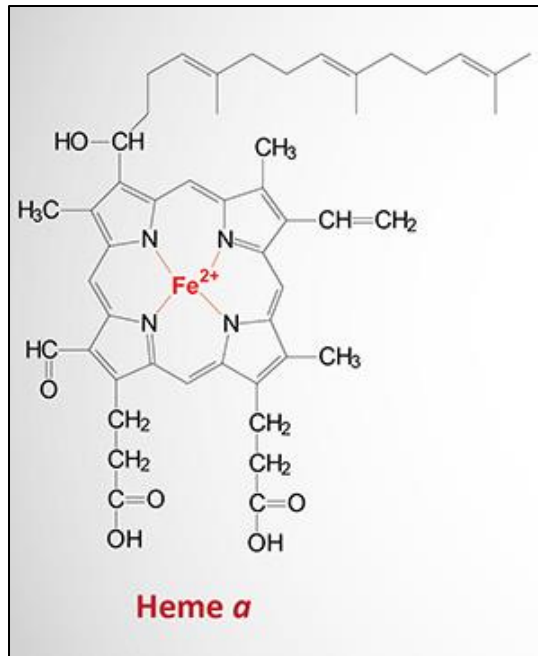
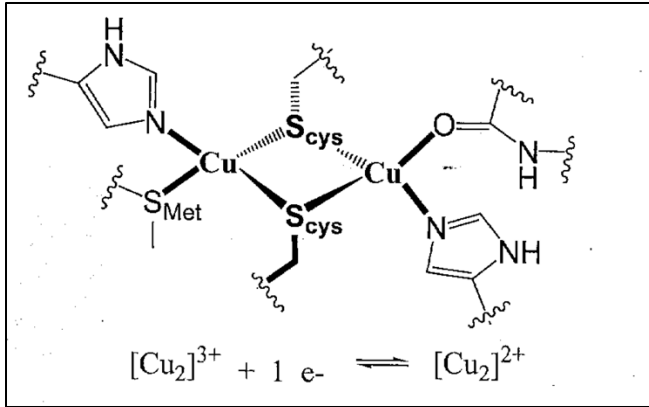


Puis l'électron passe du premier site Cu_A à l'hème a

6

Enzymes à Cofacteur Héminique

III) Cytochromes c oxydase

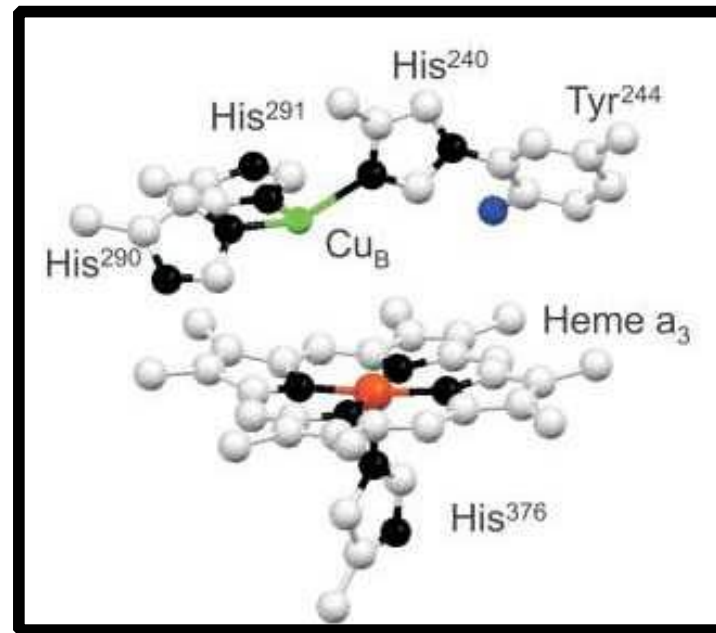


Puis de l'hème a vers le site hétéro-binucléaire de l'hème a₃ et du cuivre (Cu_B) qui est le site de réduction de O₂

III) Cytochromes c oxydase

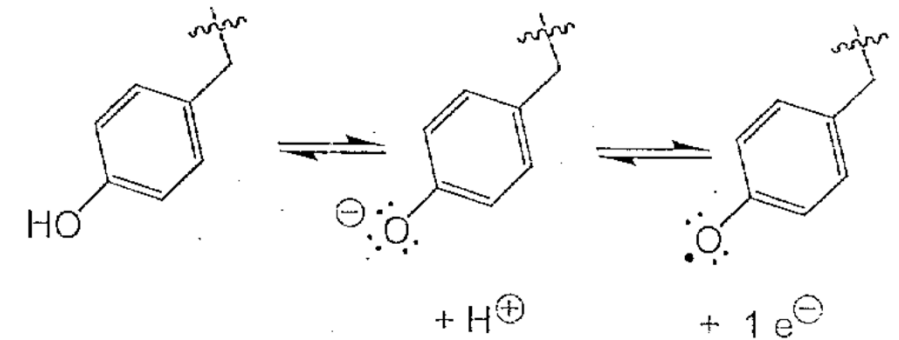
La liaison His-Tyr est une modification post-traductionnelle.

Rôle fonctionnel ?

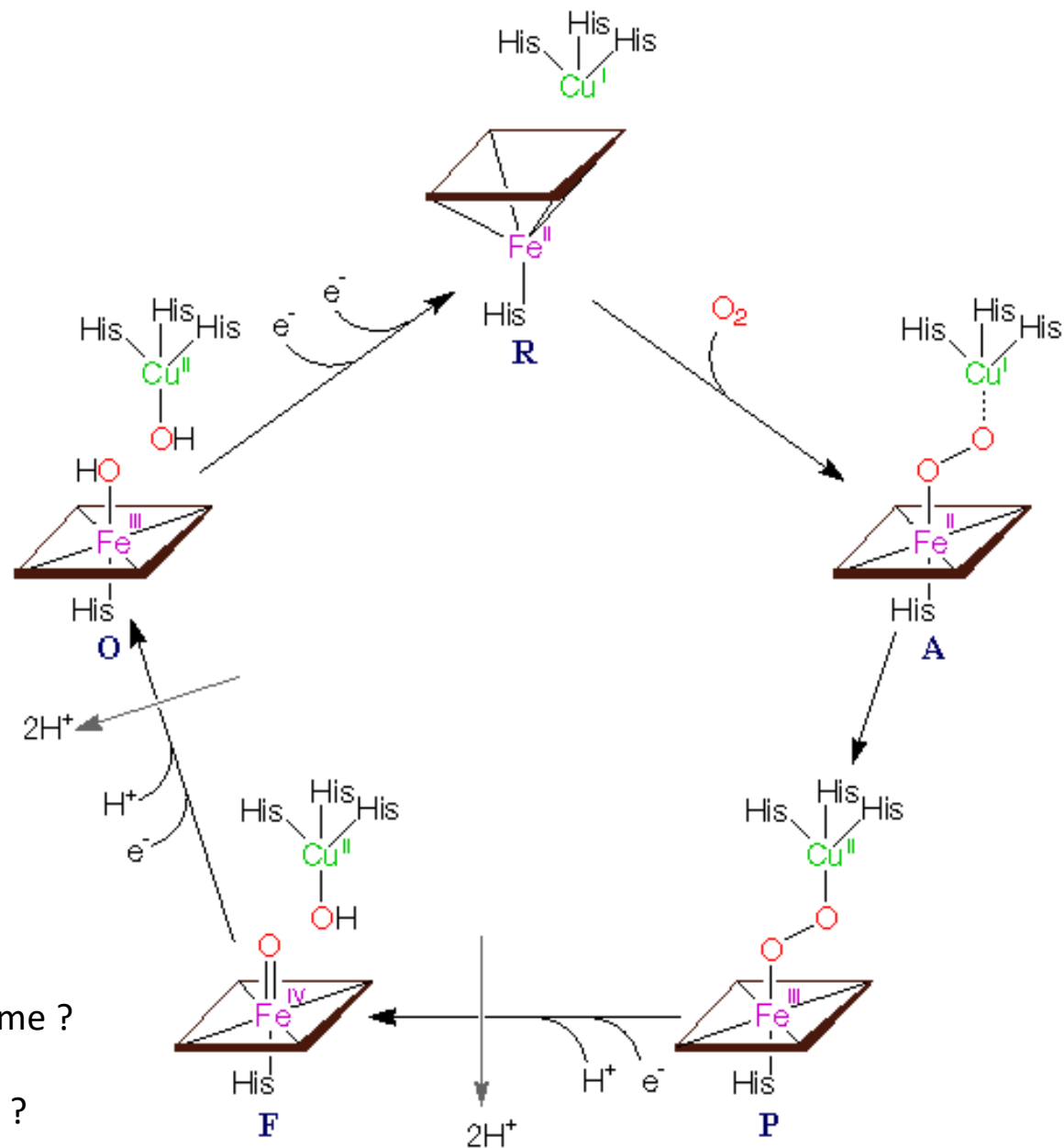
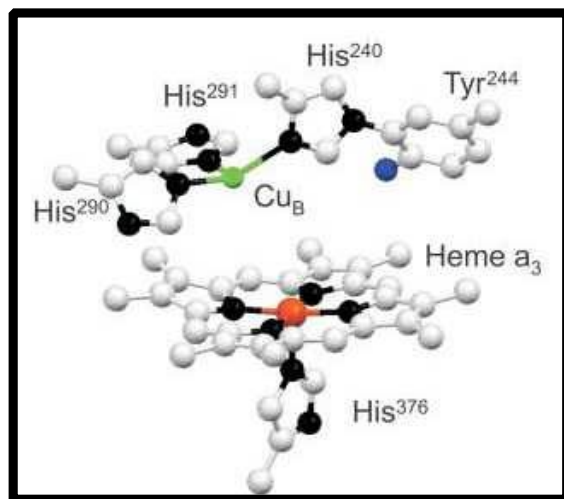


La tyrosine Y244 pourrait avoir 2 rôles:

- relais électronique
- relais à proton



III) Cytochromes c oxydase



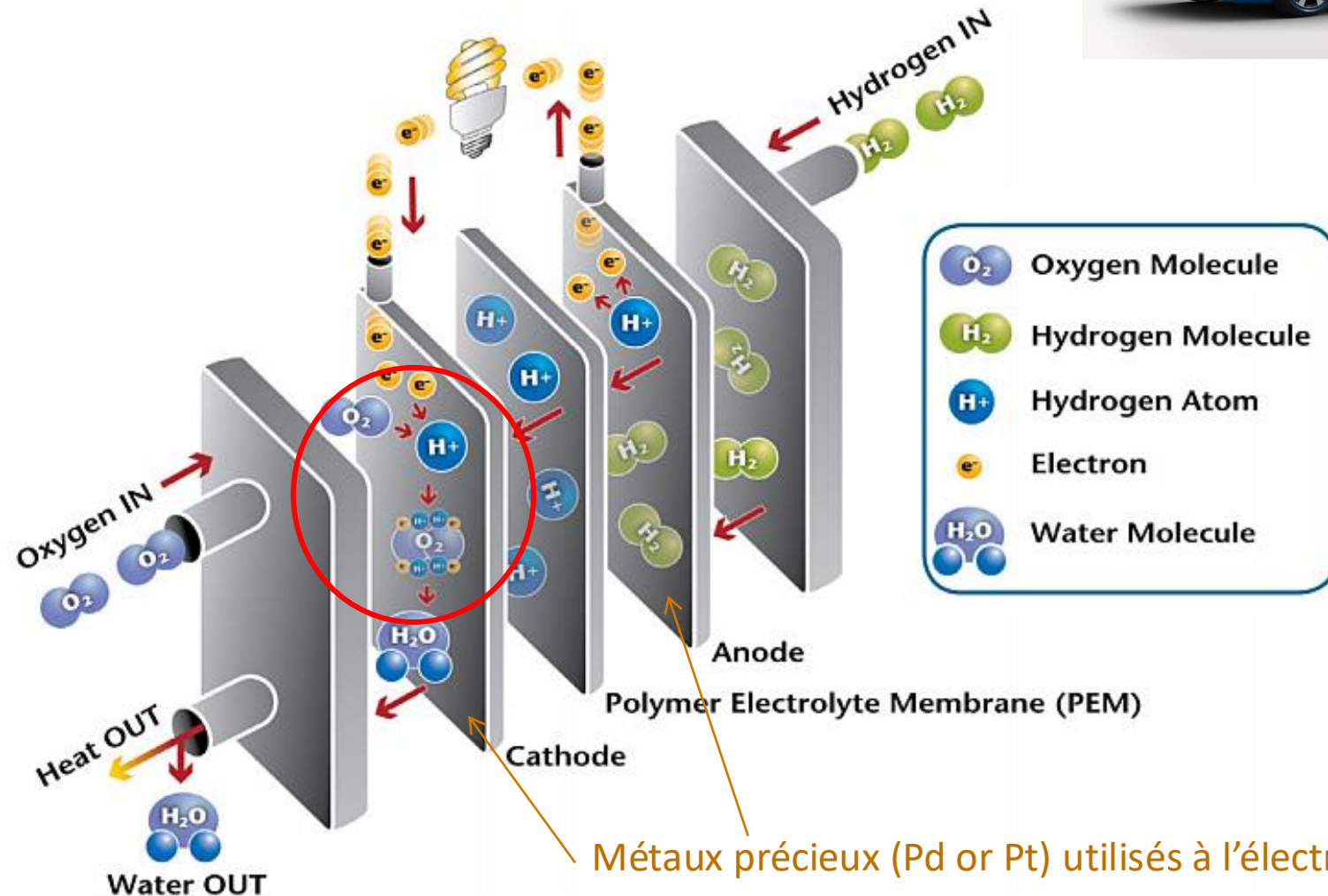
- La tyrosine est-elle indispensable au mécanisme ?
- Peut-on modéliser ce système chimiquement ?

6

Enzymes à
Cofacteur
Héminique

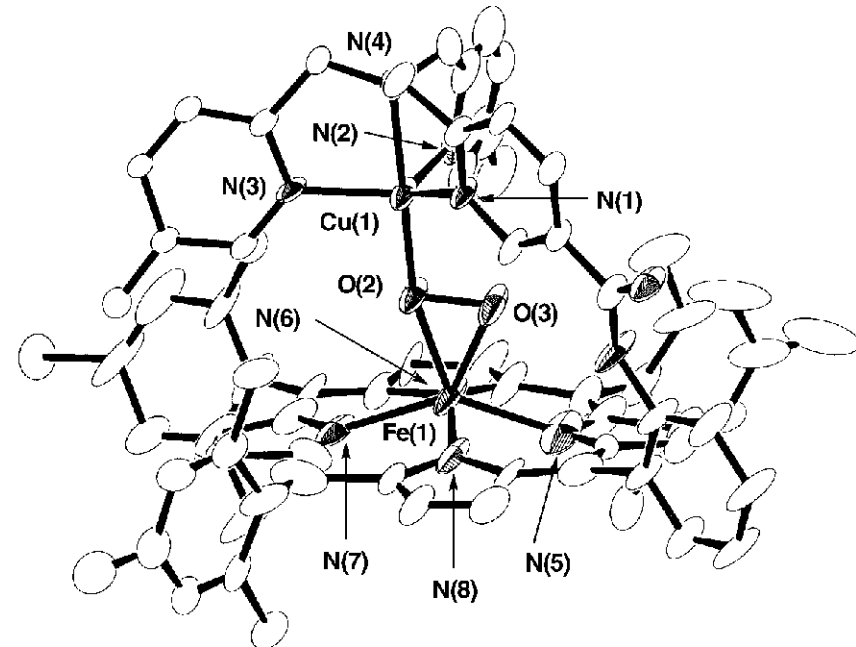
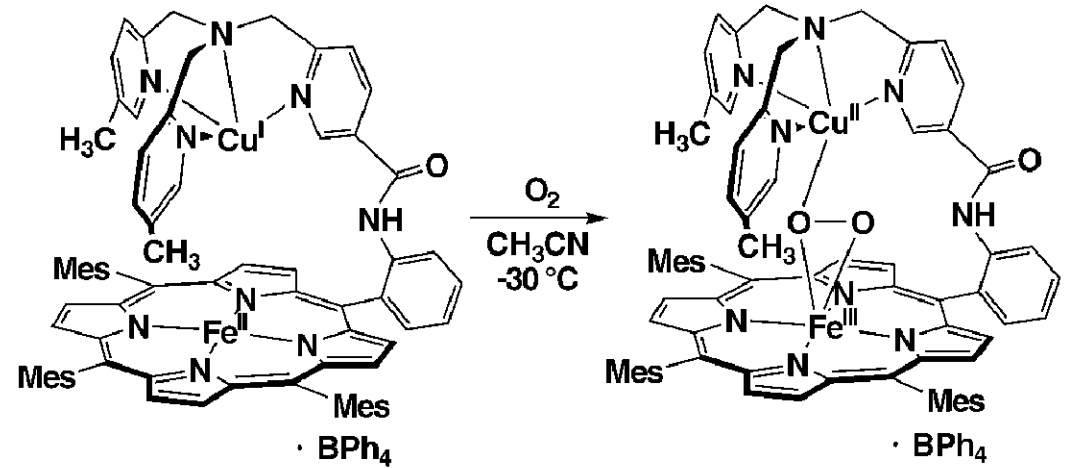
III) Cytochromes c oxydase

Inspiration pour catalyseurs bioinspirés



III) Cytochromes c oxydase

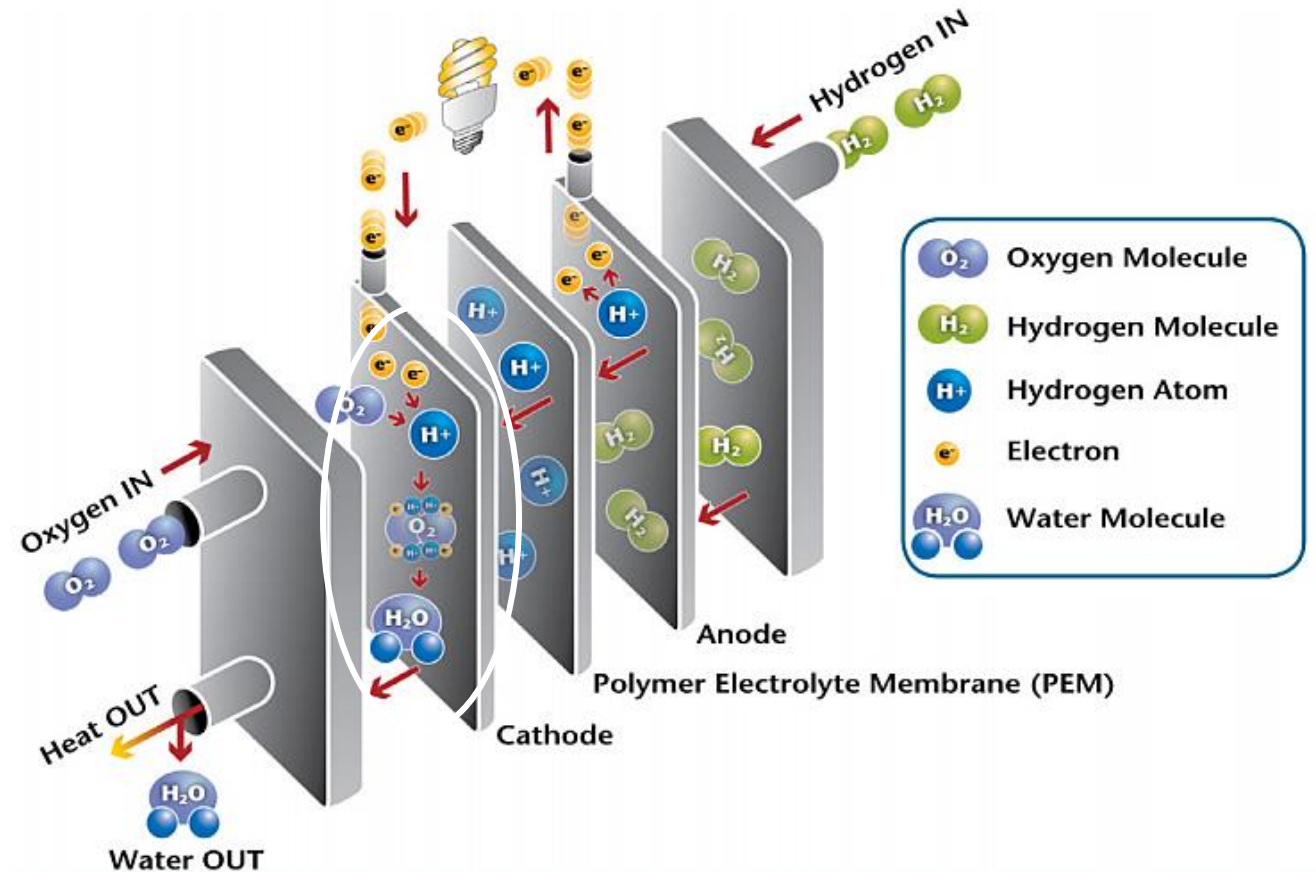
Modèles synthétiques

Intermédiaire et
Activité non catalytiqueTrès difficile de réduire O_2
à 4 électrons

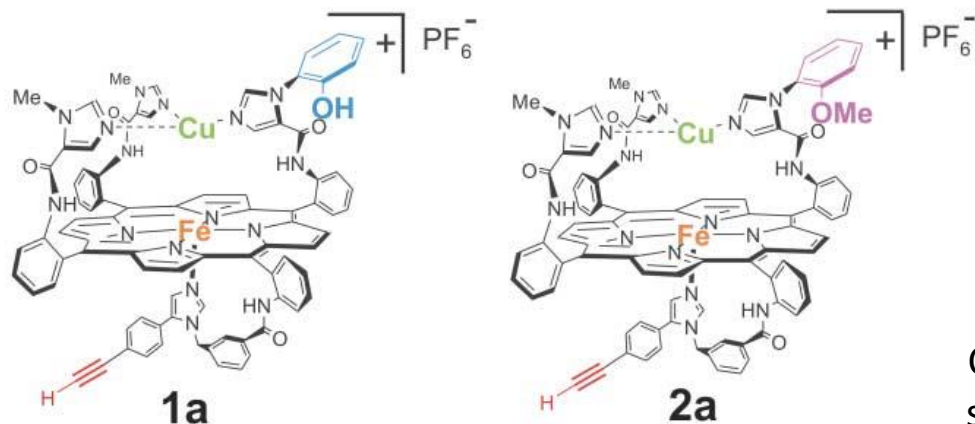
III) Cytochromes c oxydase

Deux problèmes se posent pour les modèles bioinspirés...

- Le greffage aux électrodes
- La réduction complète de O_2



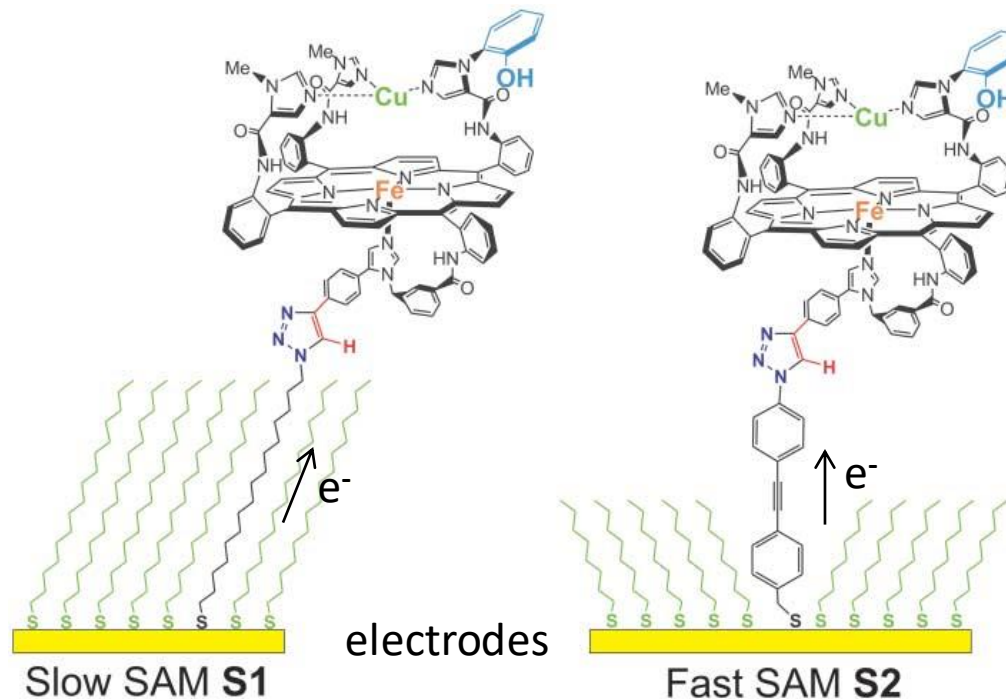
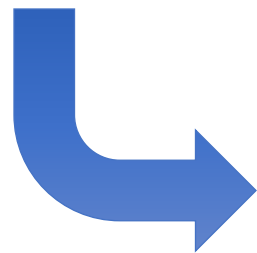
III) Cytochromes c oxydase



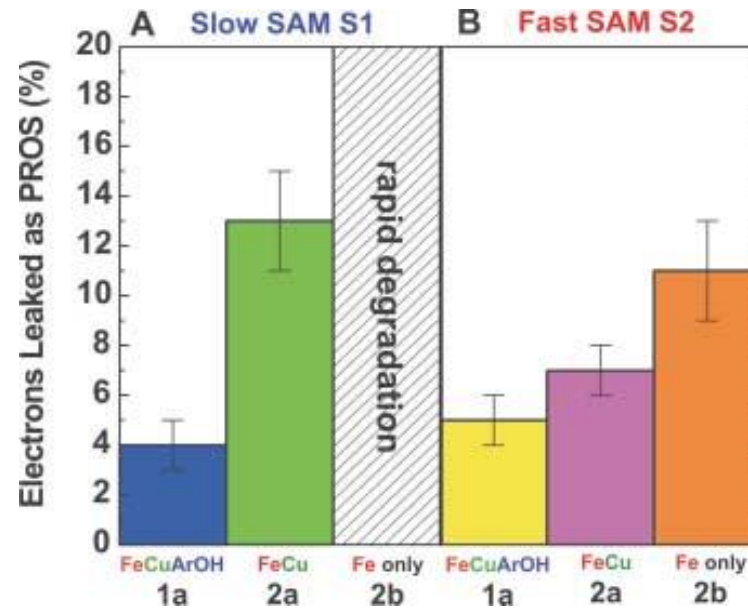
Modèles synthétiques

Systèmes fonctionnels

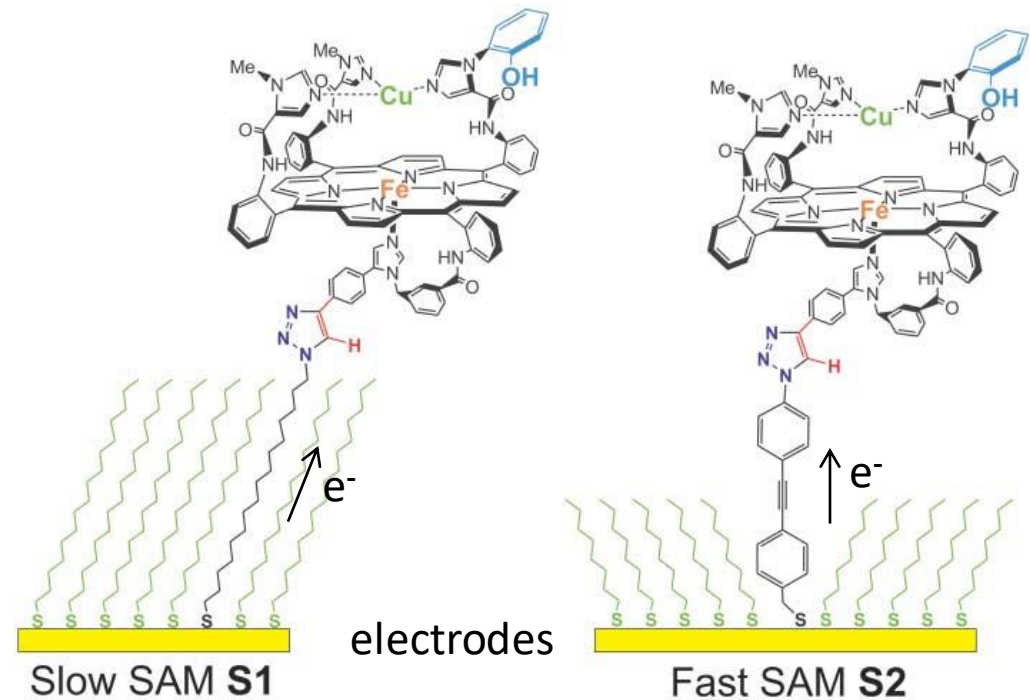
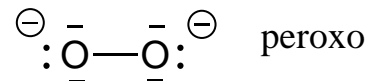
Comparable au
système naturel



III) Cytochromes c oxydase



production of Reactive Oxygen Species



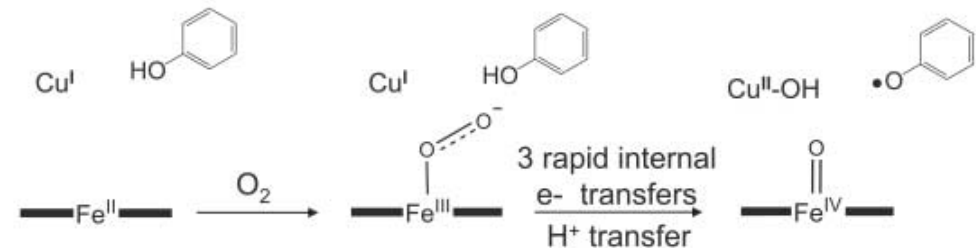
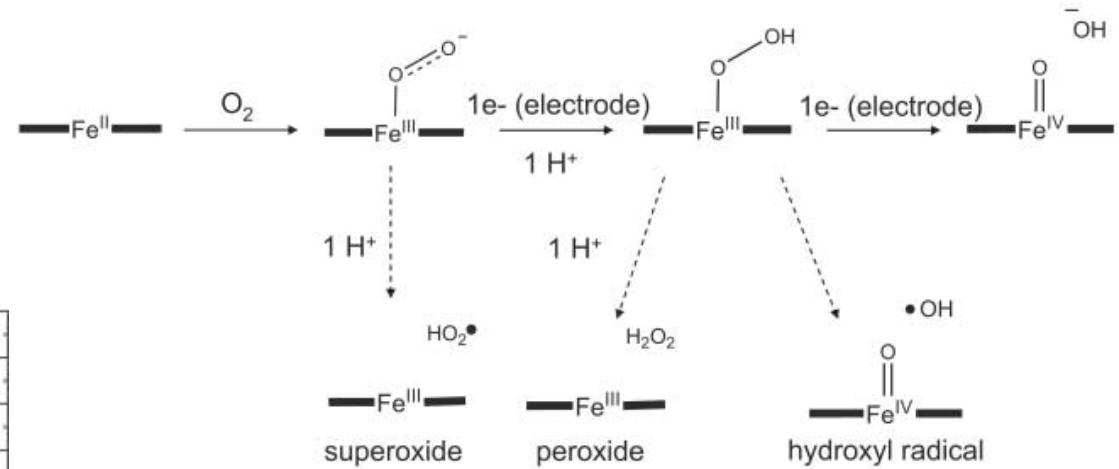
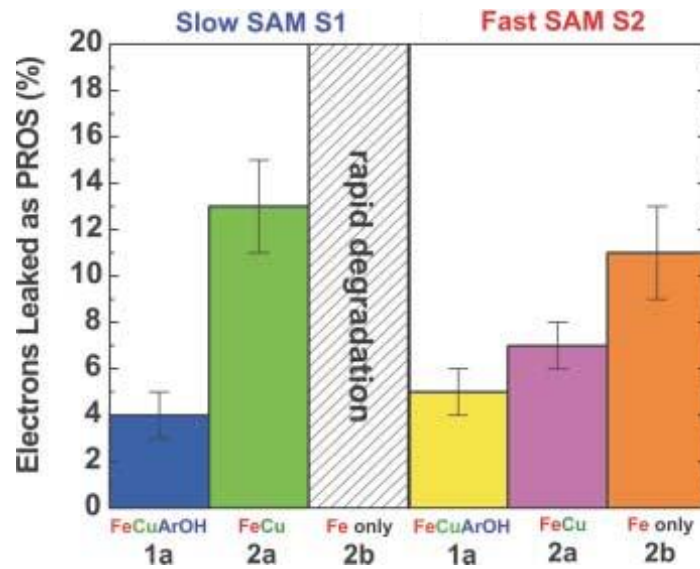
Modèles synthétiques

Systèmes fonctionnels

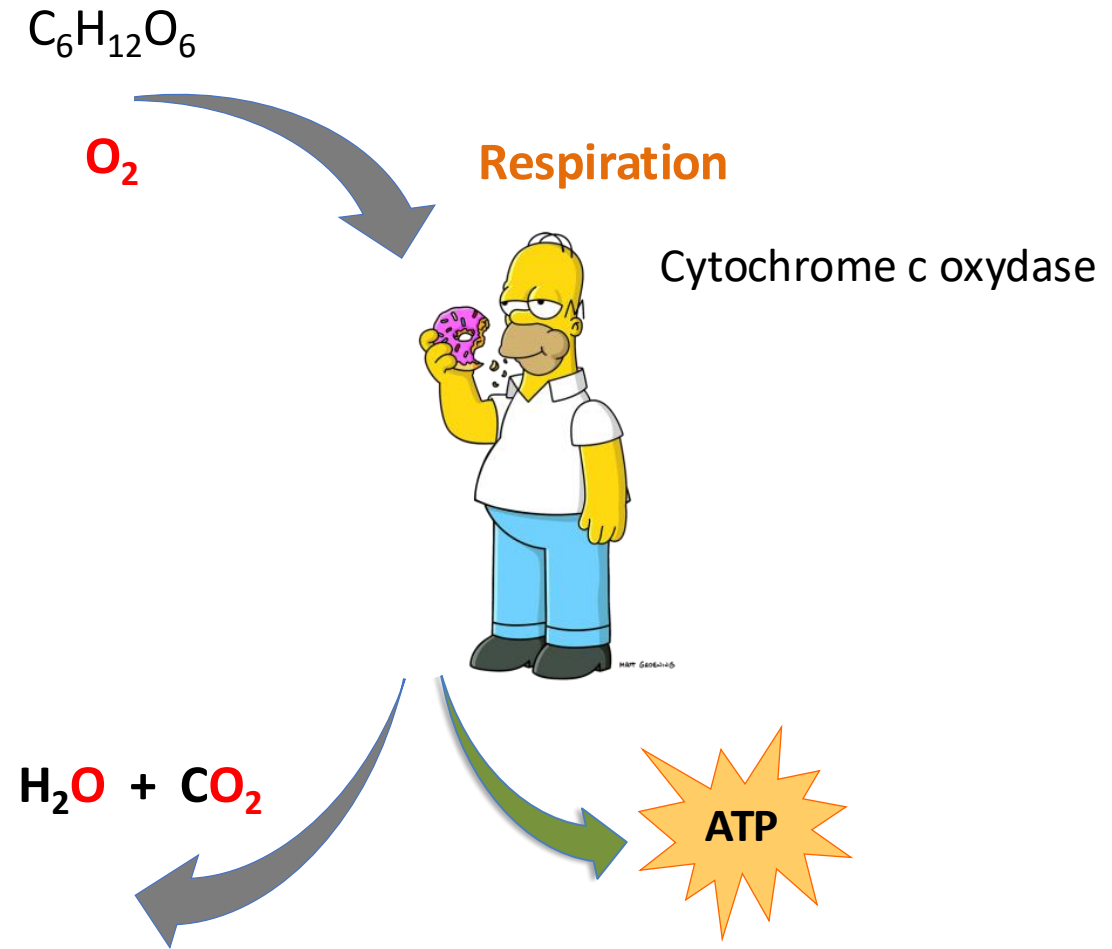
III) Cytochromes c oxydase

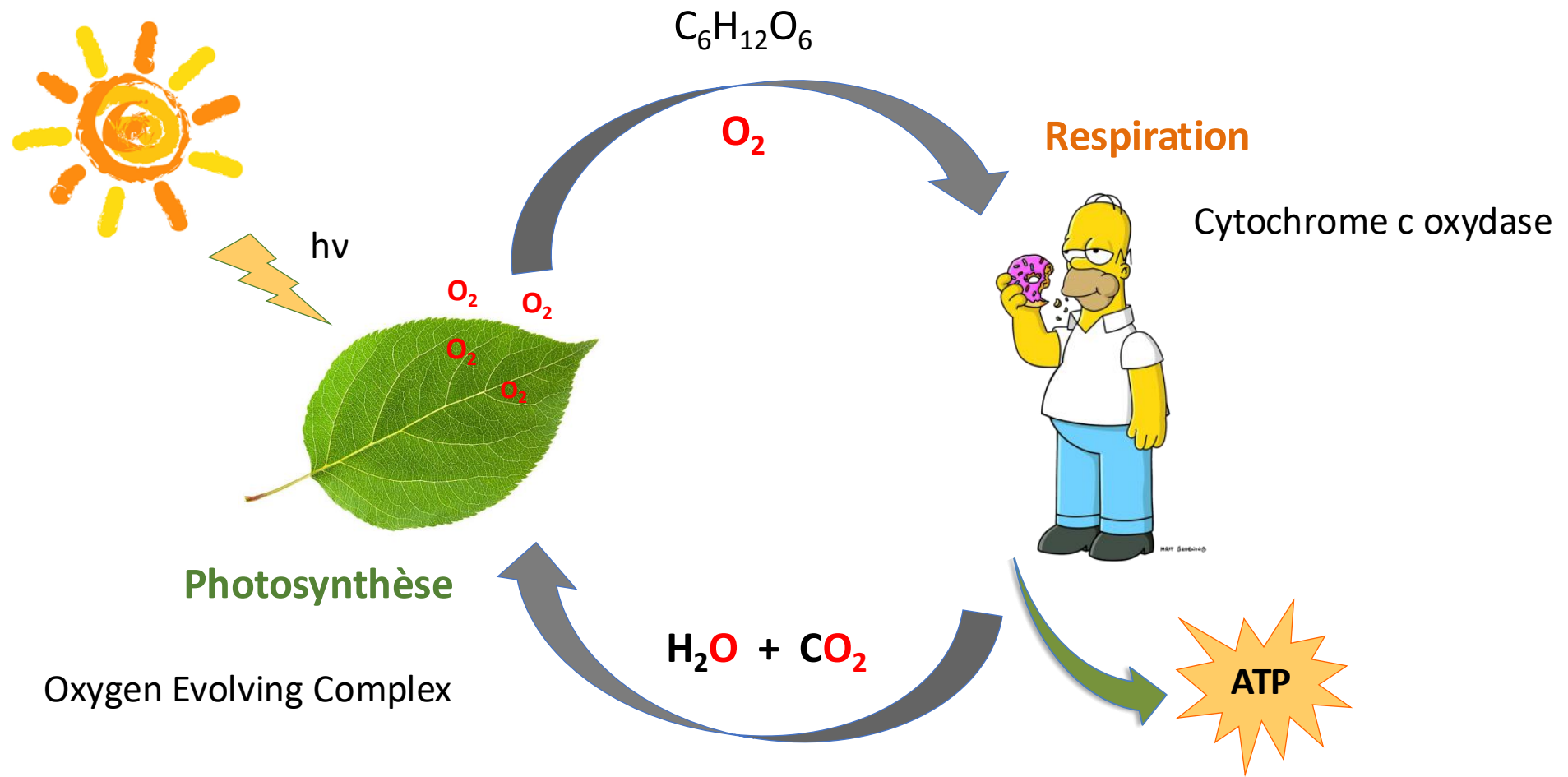
Modèles synthétiques

Systèmes fonctionnels



III) Cytochromes c oxydase

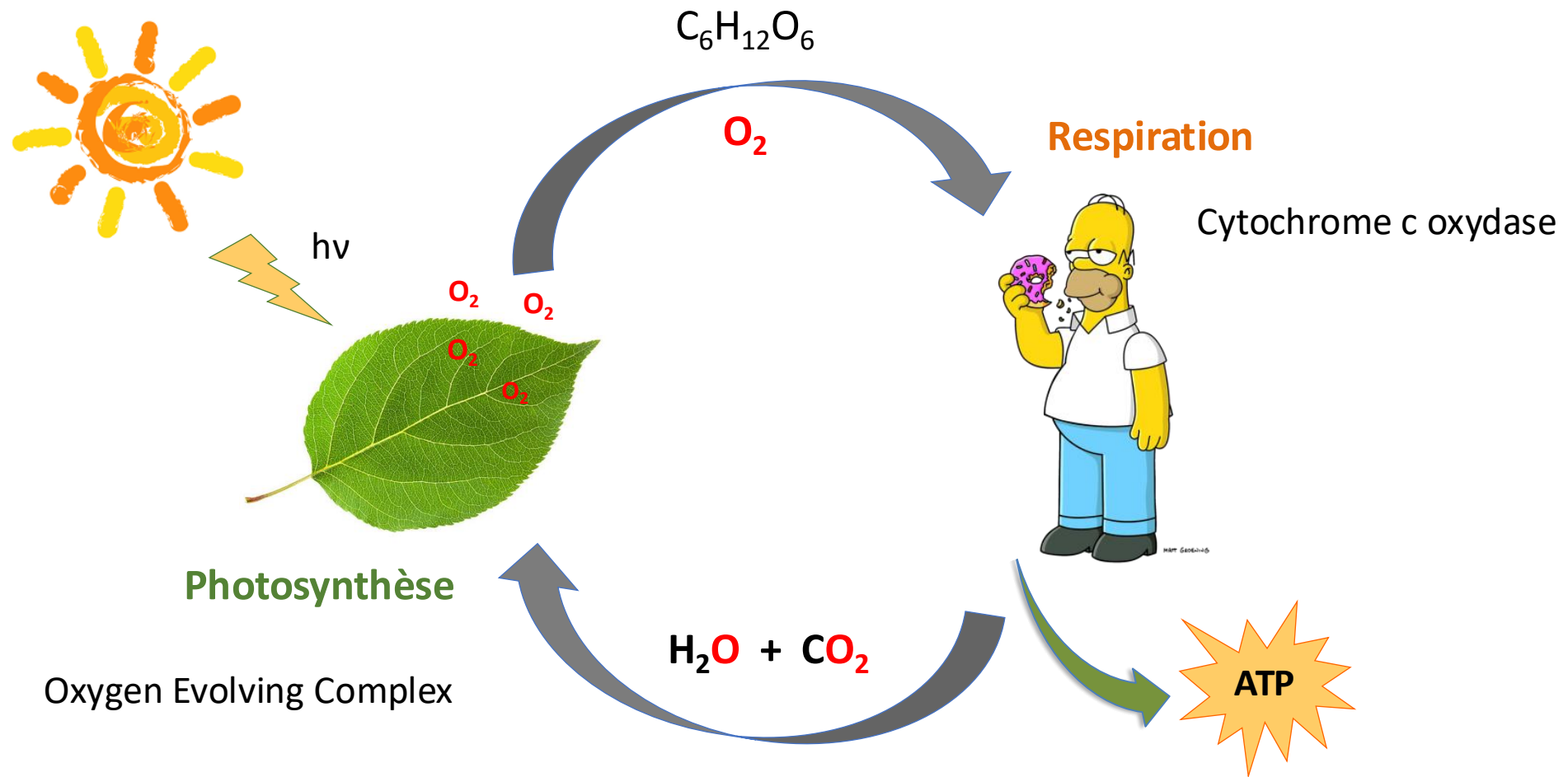




7

Enzymes à cluster métallique

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

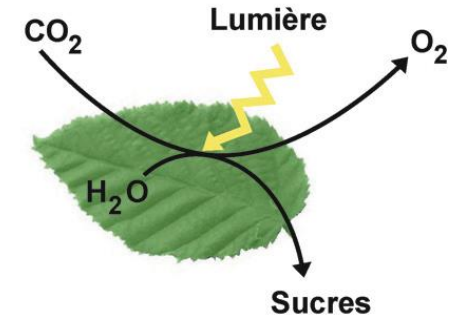


7

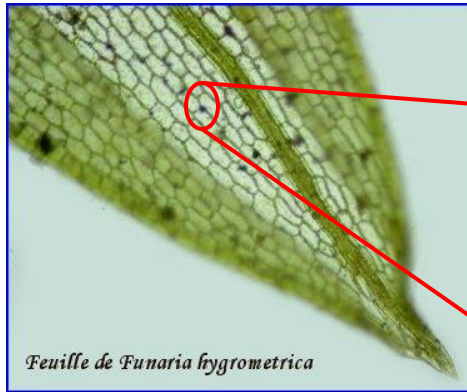
Enzymes à cluster métallique

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

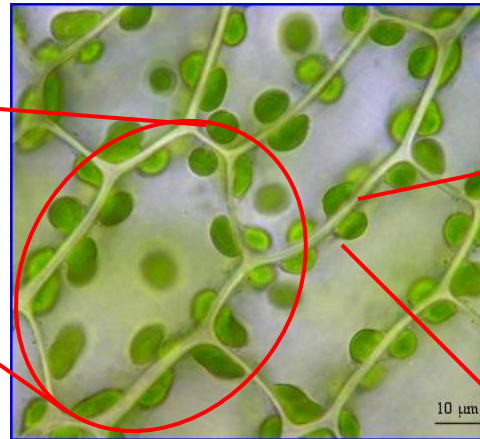
Où le processus a-t-il lieu ?



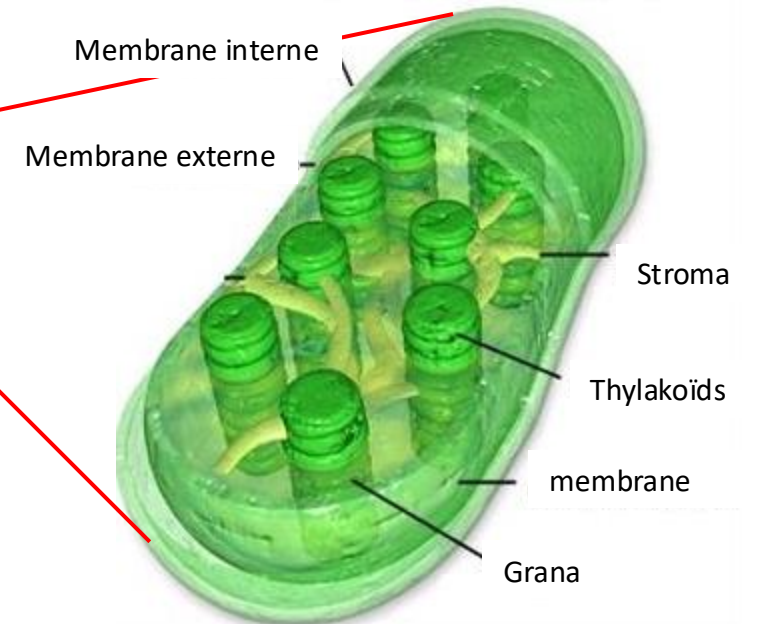
leaf



Plant cell



Chloroplaste

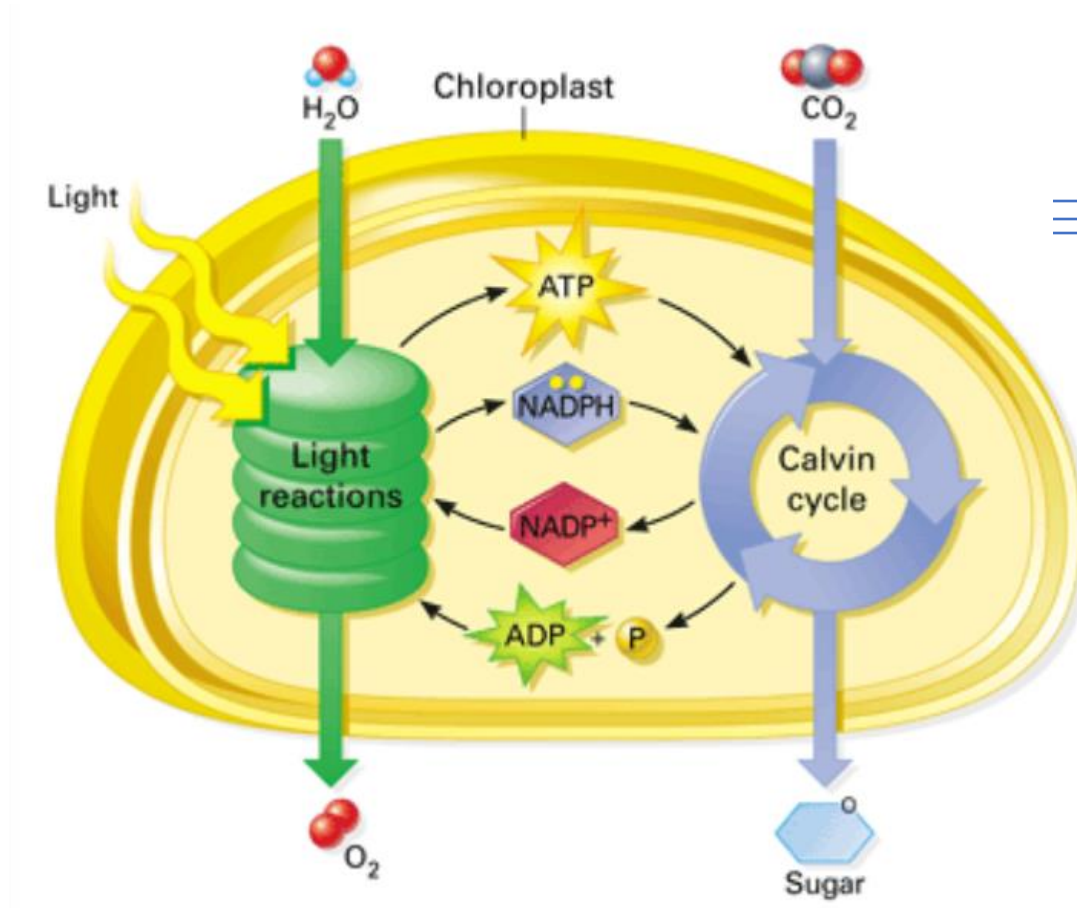


7

Enzymes à cluster métallique

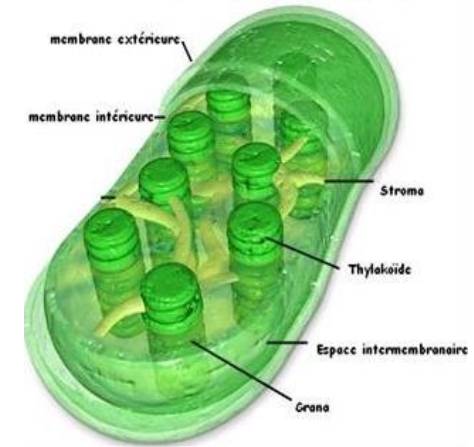
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Photosynthèse



Daylight activity

Night activity

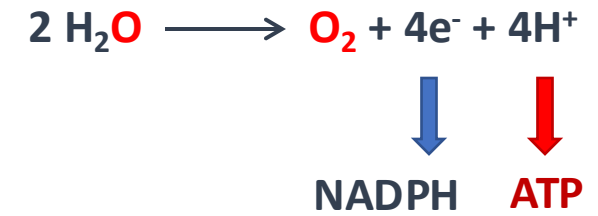
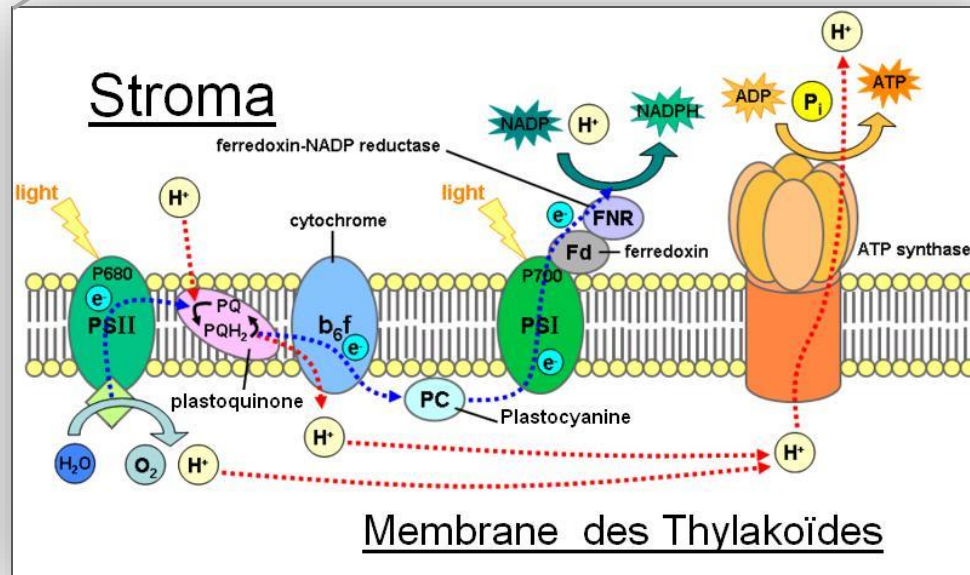
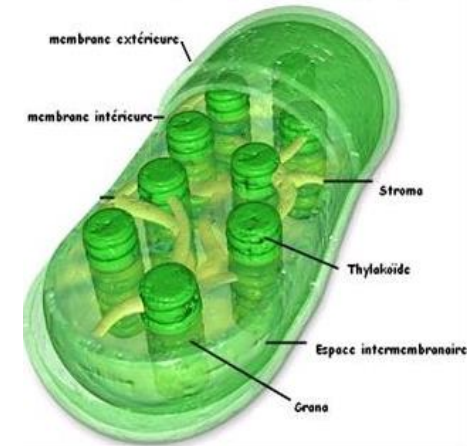
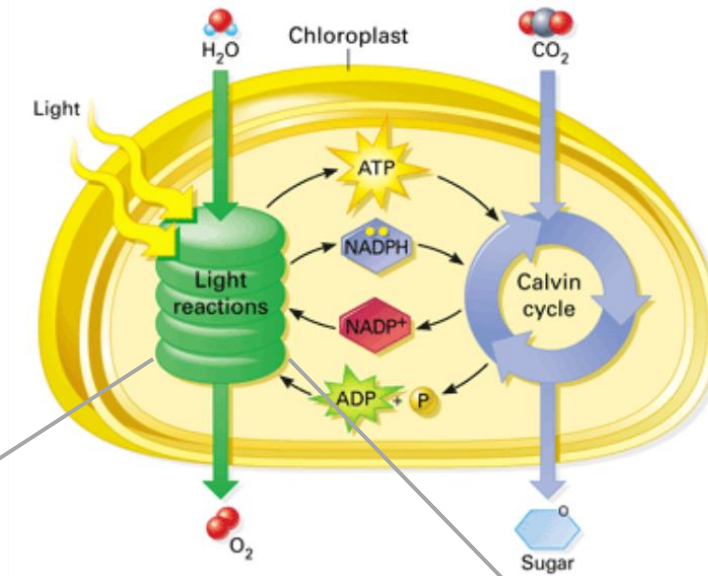


Chloroplaste

7

Enzymes à cluster métallique

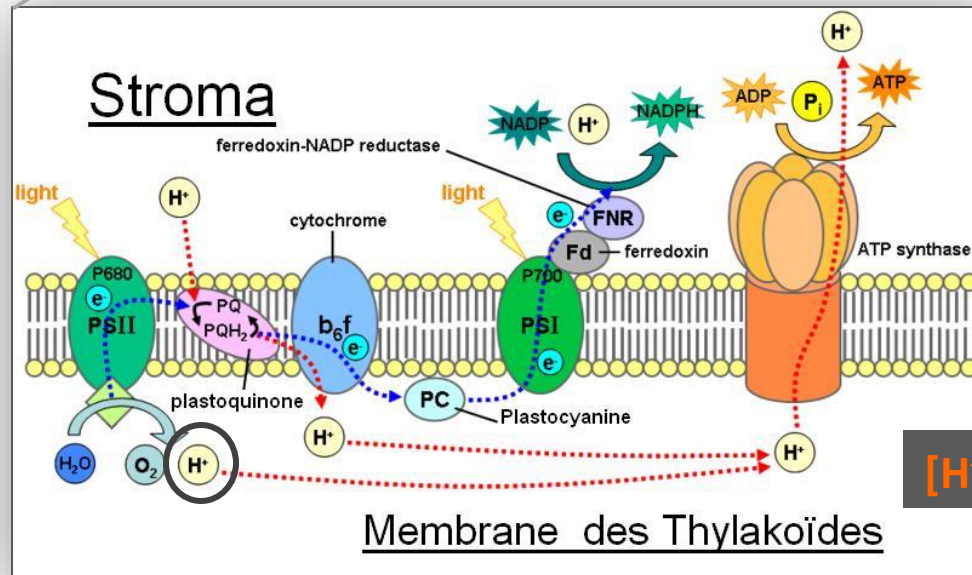
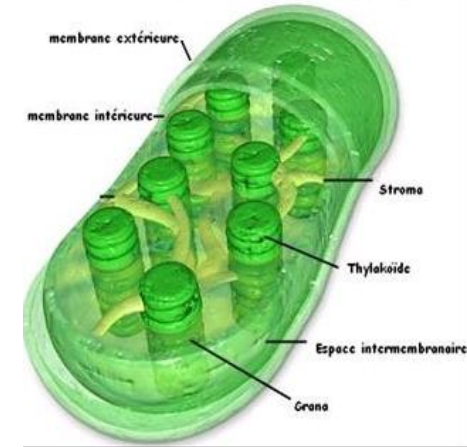
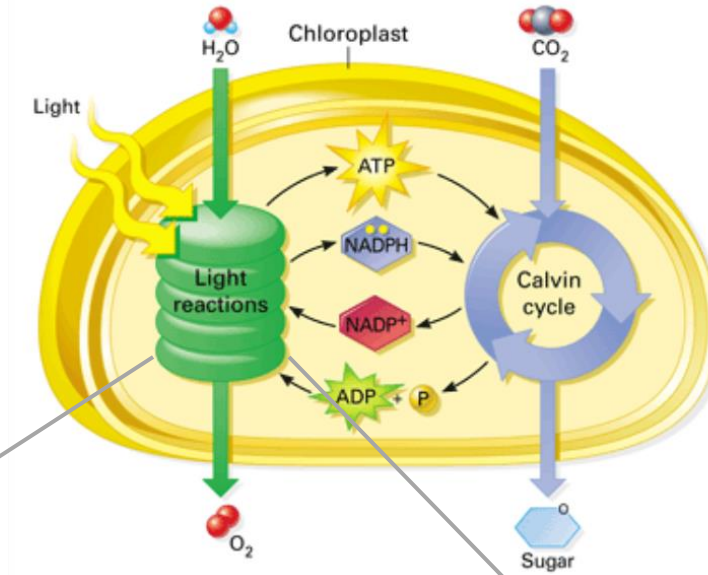
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »



7

Enzymes à cluster métallique

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »



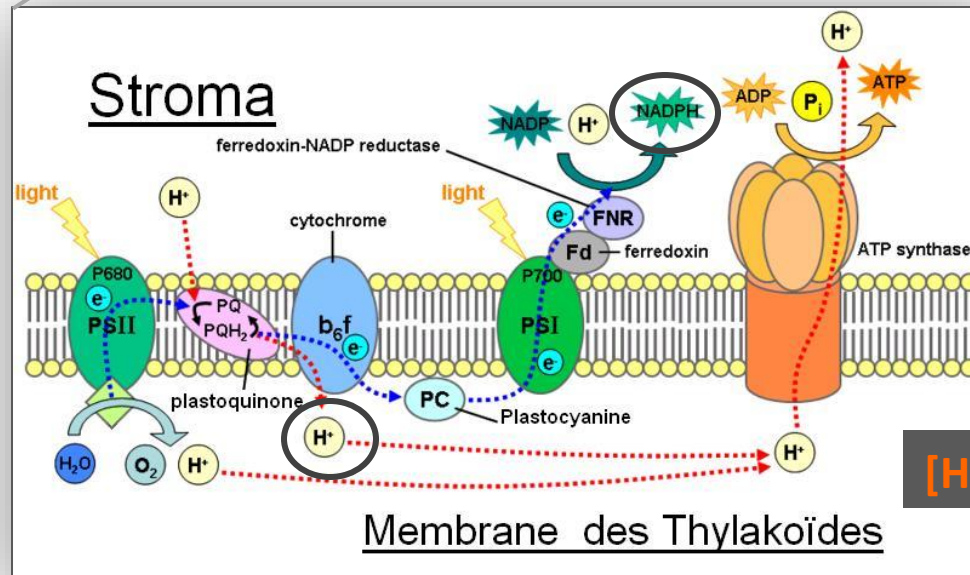
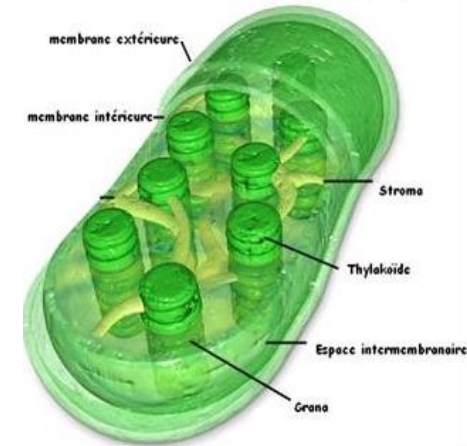
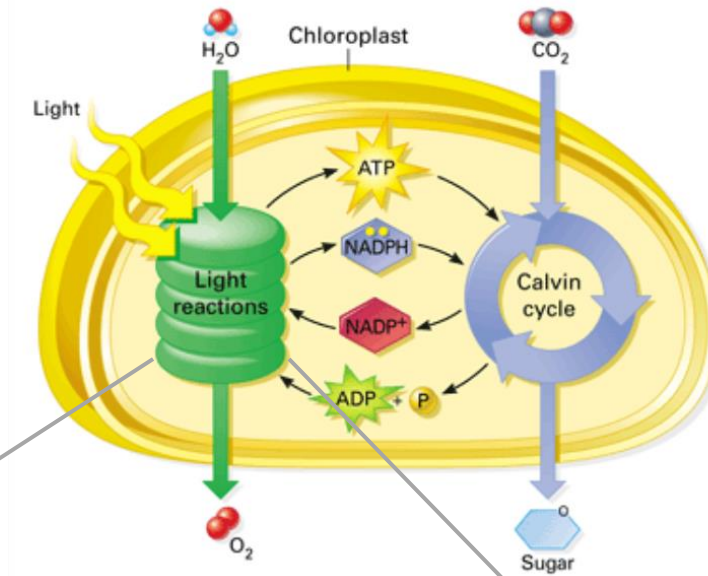
[H⁺] ↗

- Provenant de l'oxydation de l'eau

7

Enzymes à cluster métallique

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »



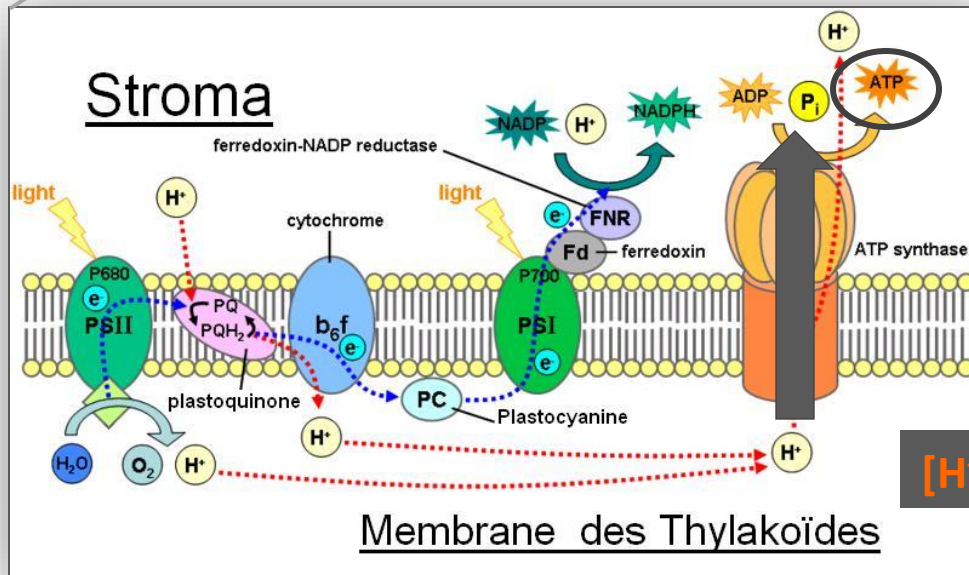
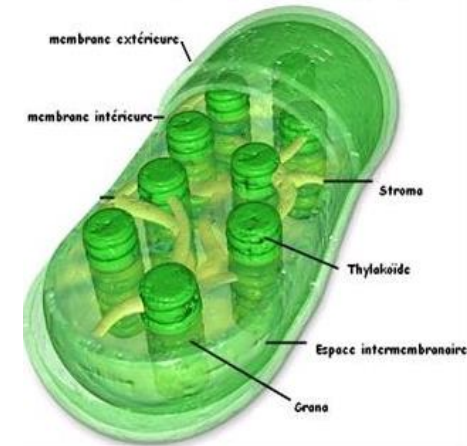
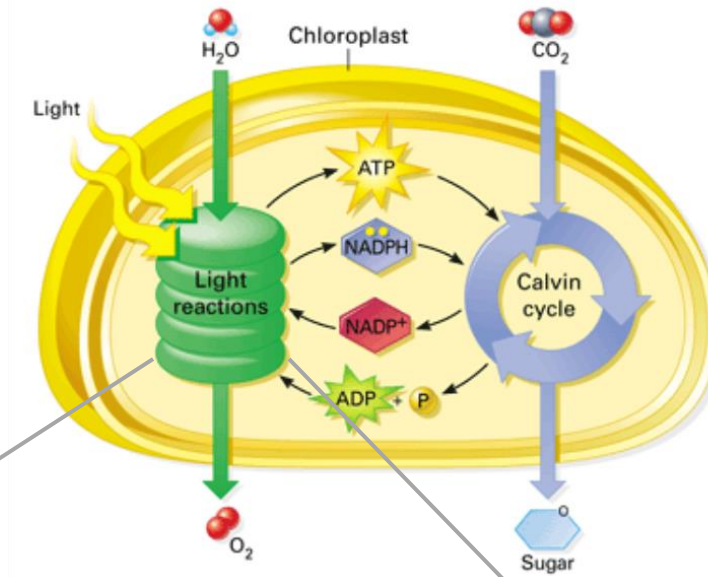
[H⁺] ↗

- Provenant de l'oxydation de l'eau
- Provenant du transport des électrons

7

Enzymes à cluster métallique

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

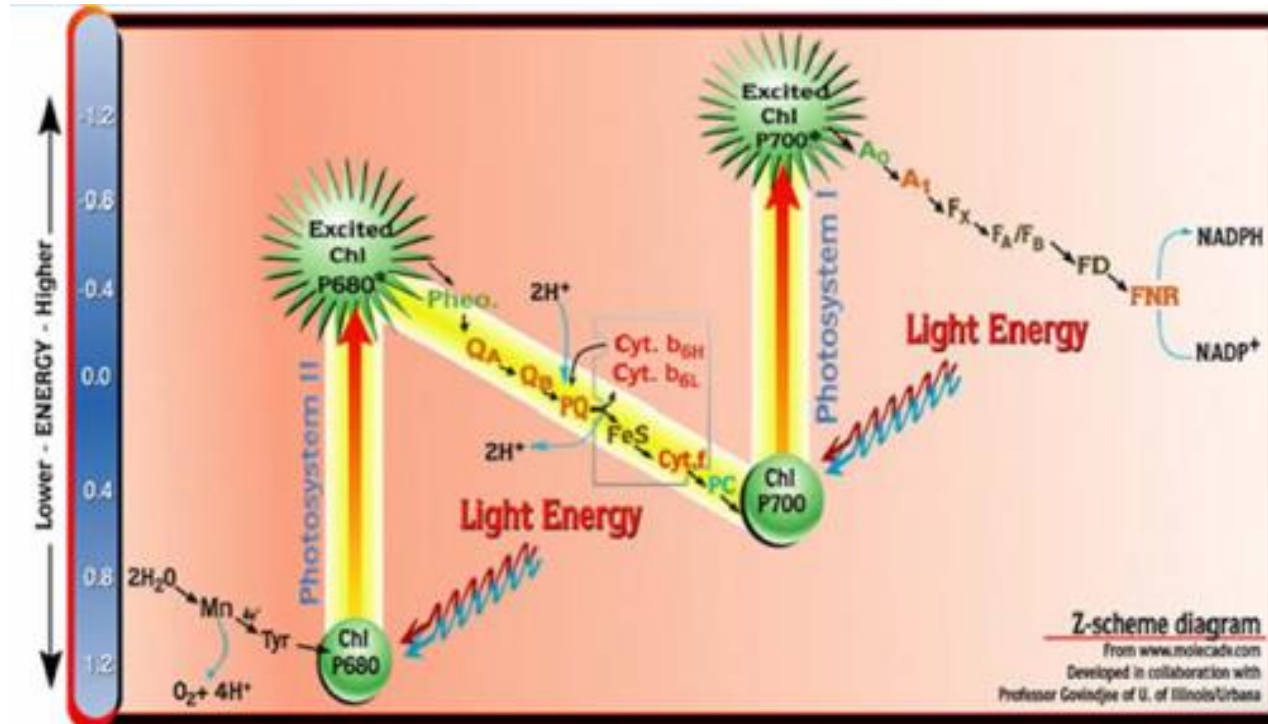


[H⁺] ↗

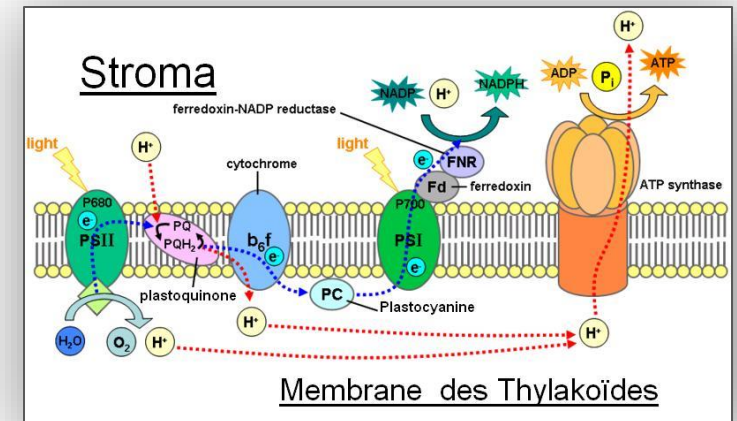
- Provenant de l'oxydation de l'eau
- Provenant du transport des électrons

1) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

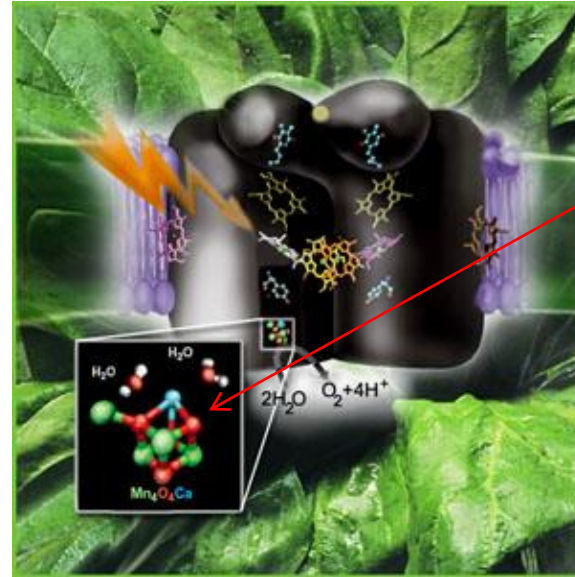
Chaîne de transport d'électrons



Deux chlorophylles à l'état excité sont nécessaires pour atteindre des potentiels suffisamment réducteurs pour assurer le transport des électrons vers NAD^+ dans le stroma.



Enzymes à cluster métallique



Photosystem II (PSII)

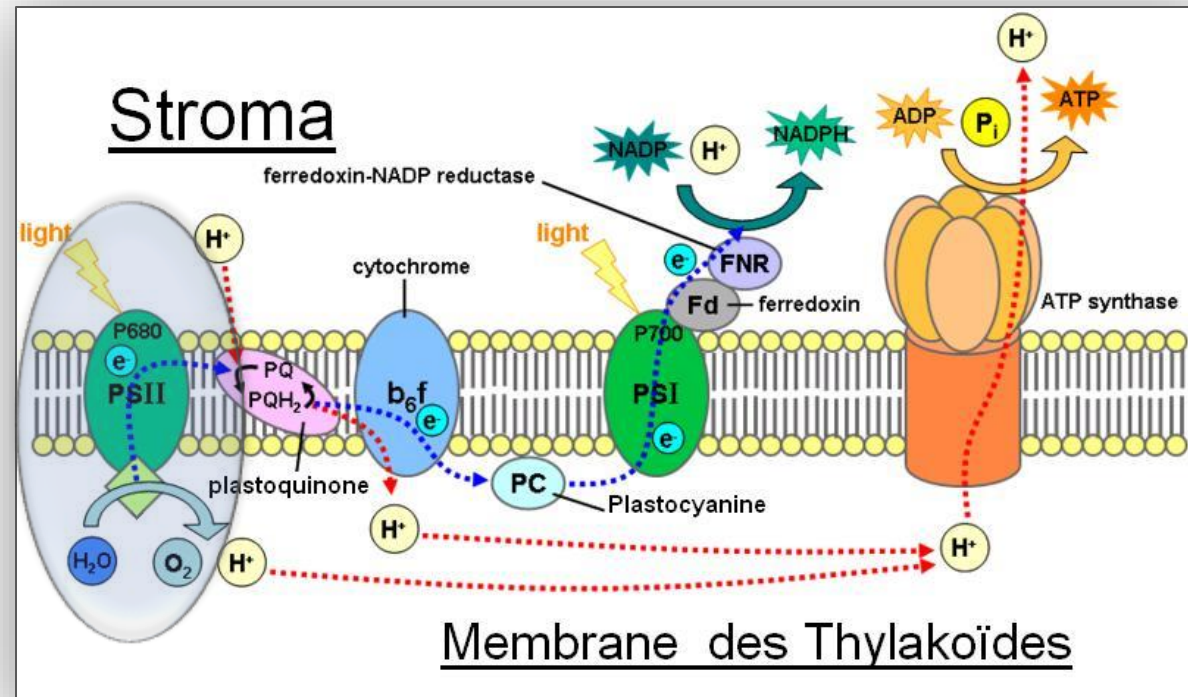
Sous irradiation lumineuse, l'eau est oxydée au sein du PSII par l'**oxygen evolving complex** (OEC): un cluster métallique constitué de 4 ions manganèse, 4 atomes d'oxygène et 1 ion calcium.

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Accumulates in thylakoids

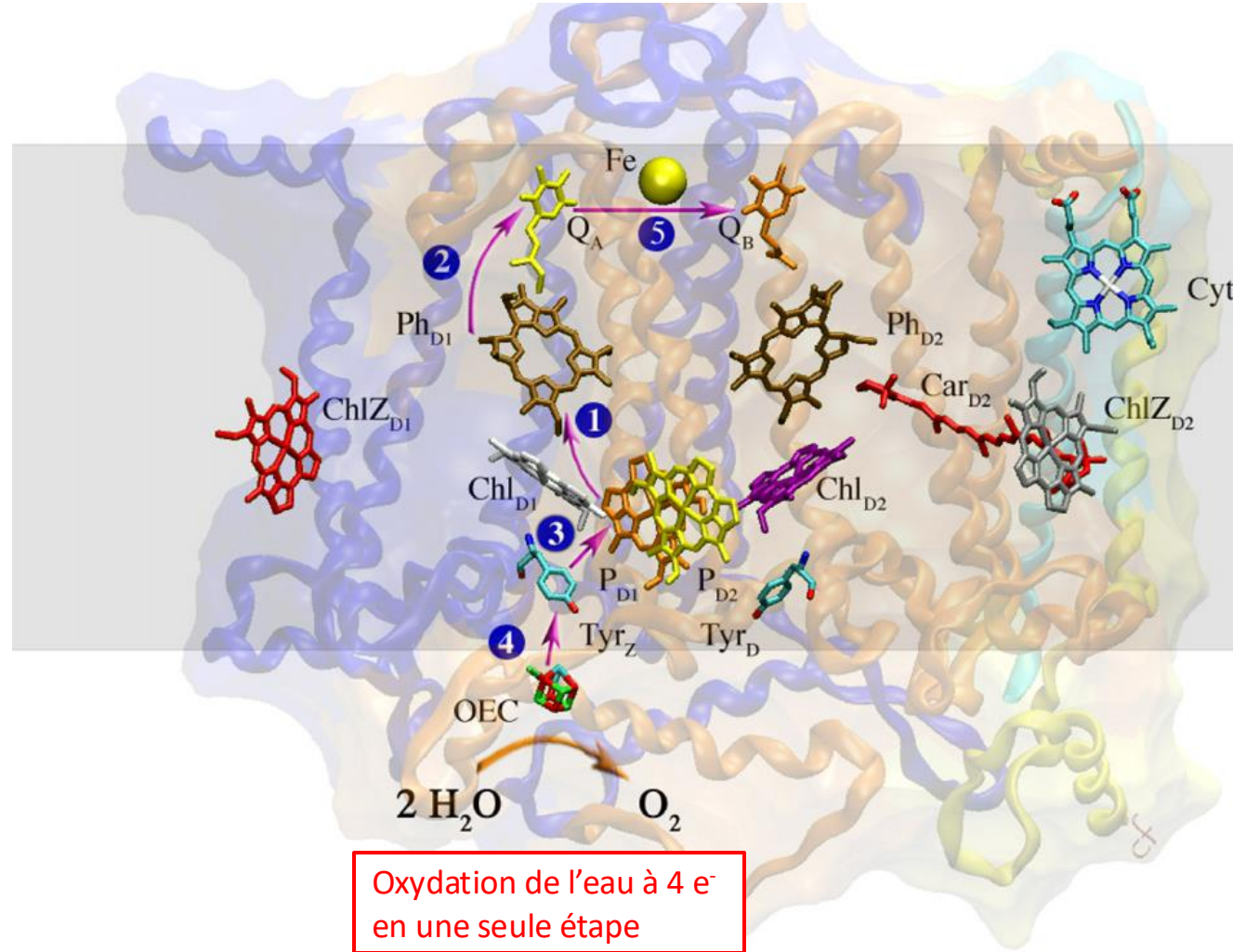


Driven towards plastoquinone



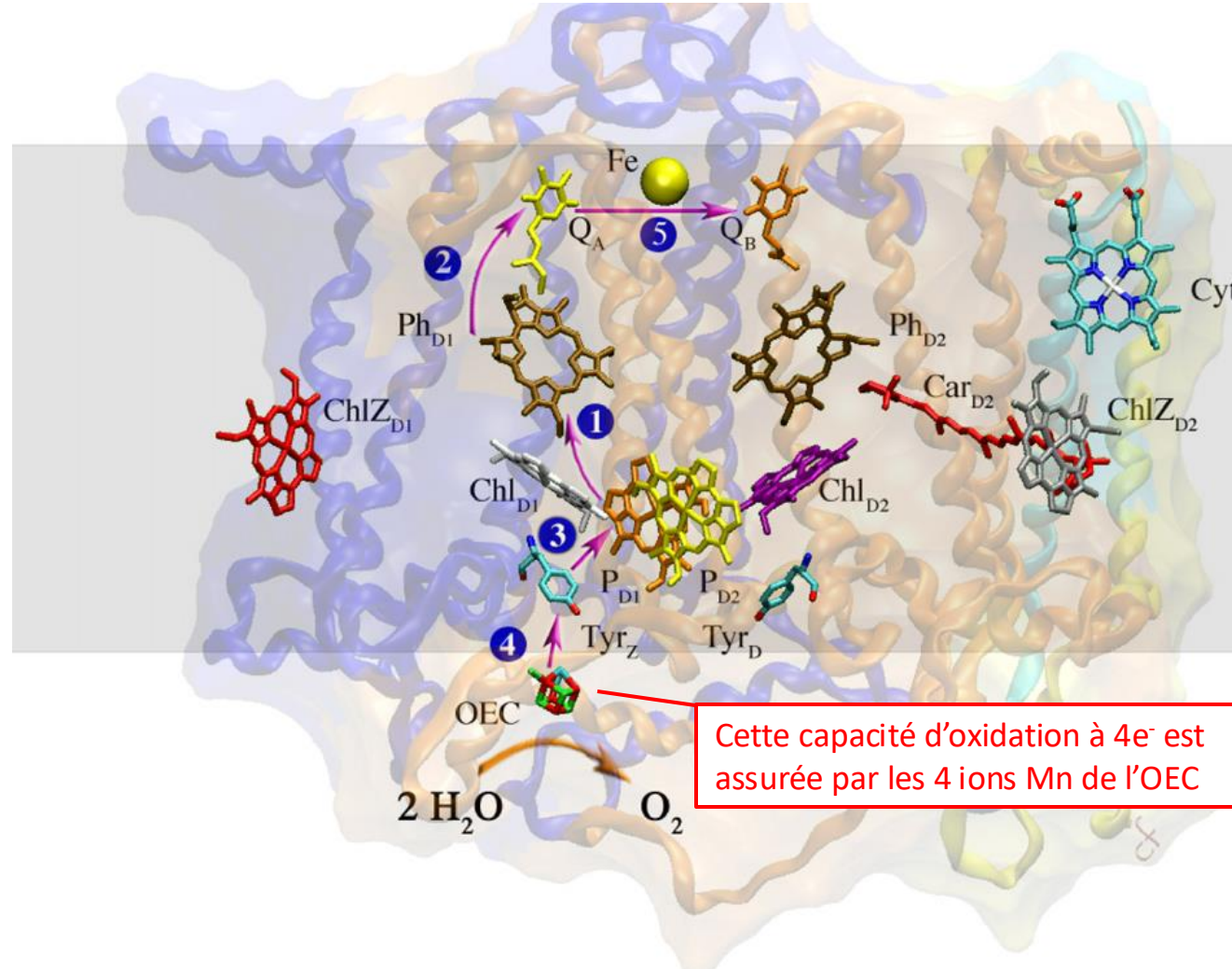
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Photosystem II: Comment ça marche ?

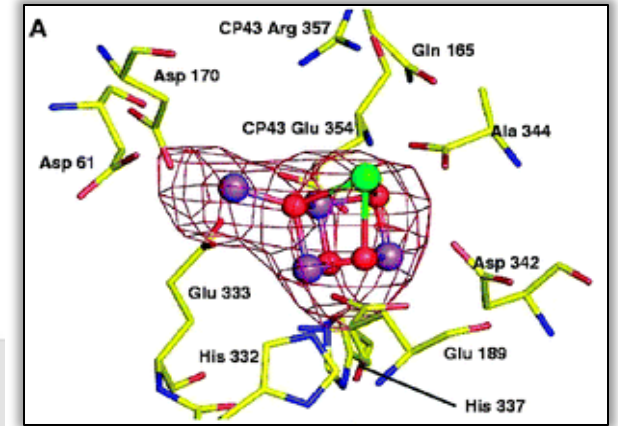


I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Photosystem II: Comment ça marche ?



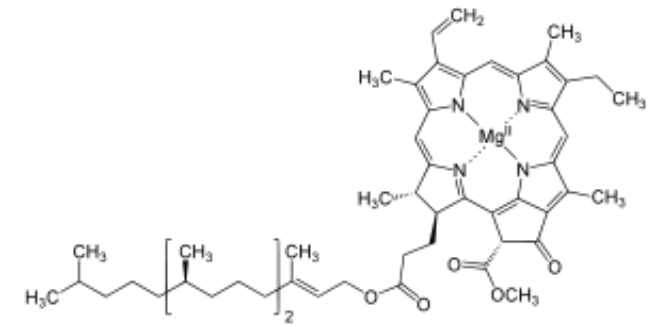
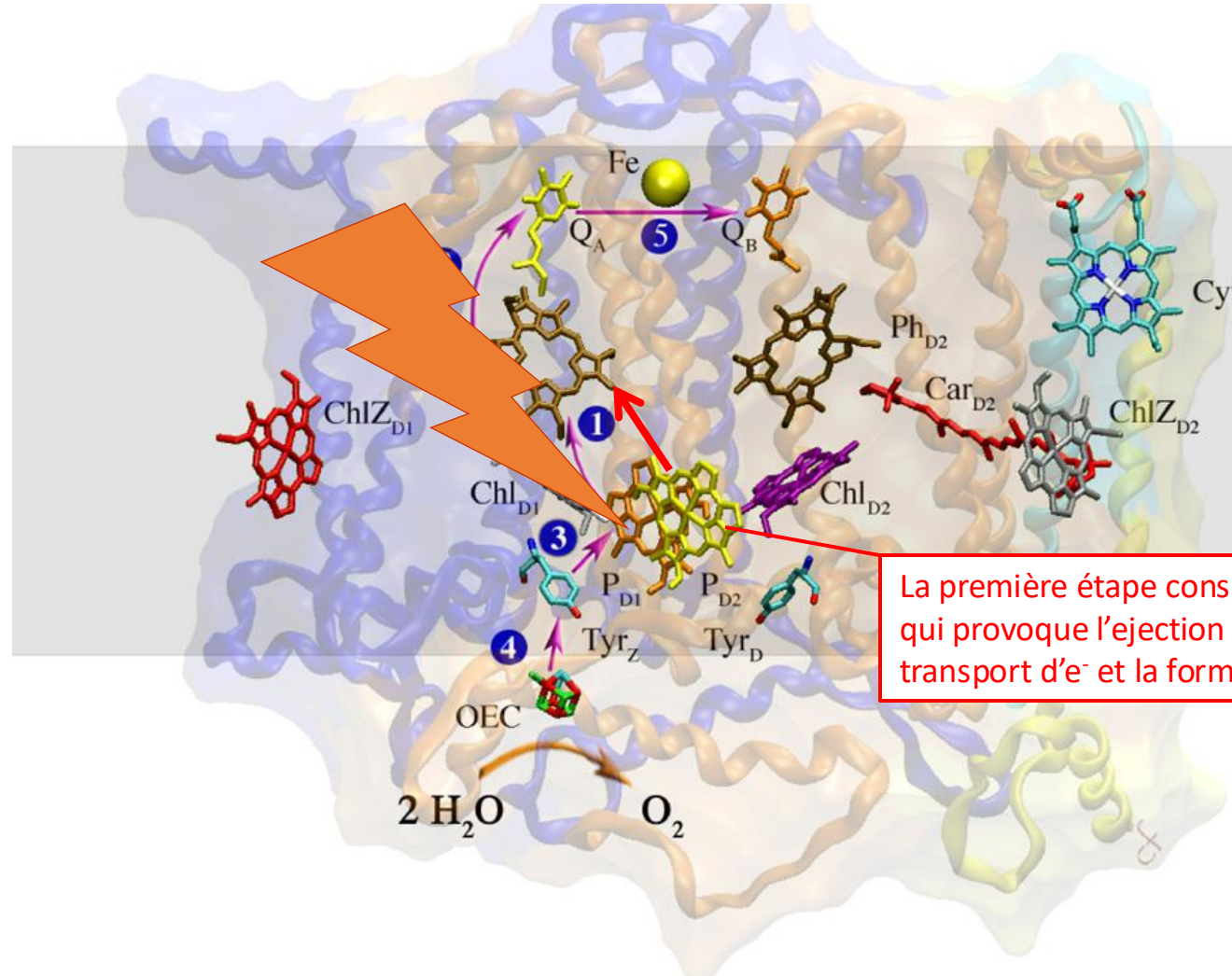
Cette capacité d'oxydation à $4e^-$ est assurée par les 4 ions Mn de l'OEC



Oxygen Evolving Complex

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Photosystem II: Comment ça marche ?

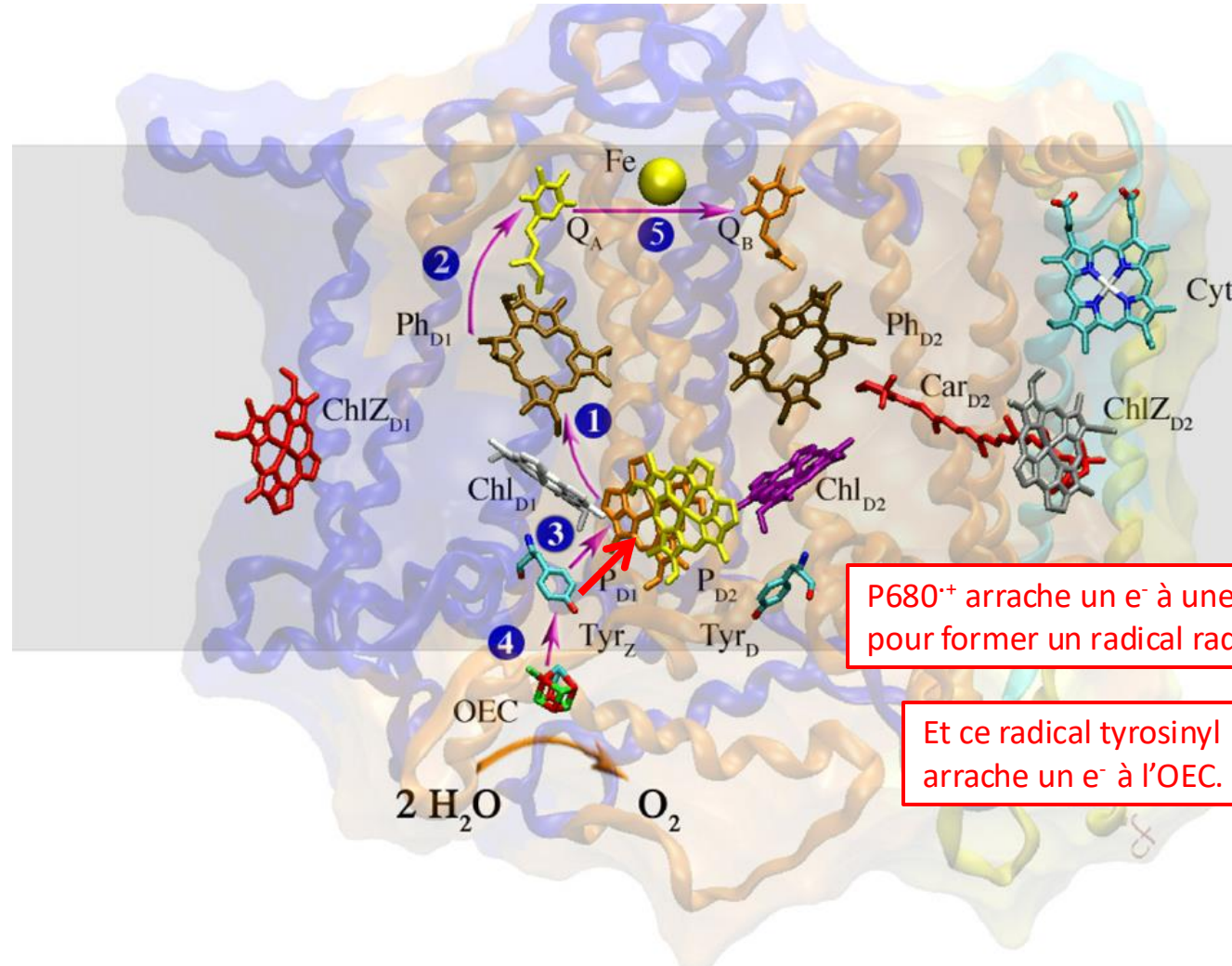


Chlorophyll A

Cytochrome P680 has a similar structure as chlorophyll A, but its exact structure is not resolved yet.

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

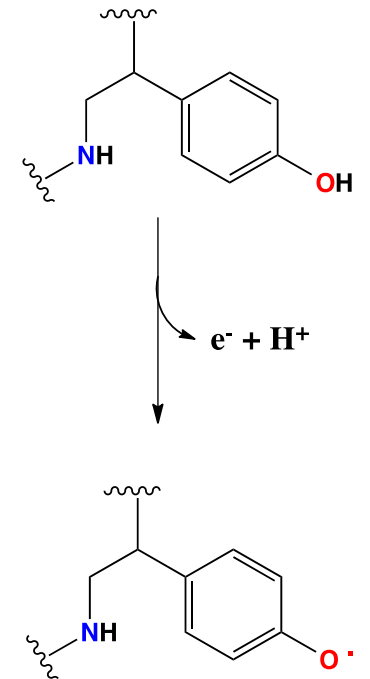
Photosystem II: Comment ça marche ?



P680⁺ arrache un e⁻ à une tyrosine pour former un radical tyrosinyl

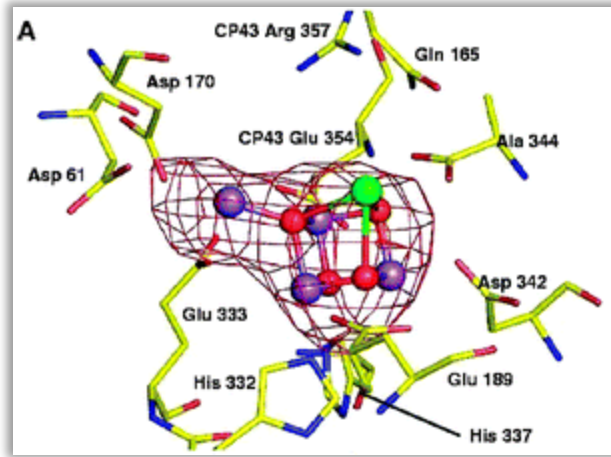
Et ce radical tyrosinyl arrache un e⁻ à l'OEC.

Tyrosine (Y)

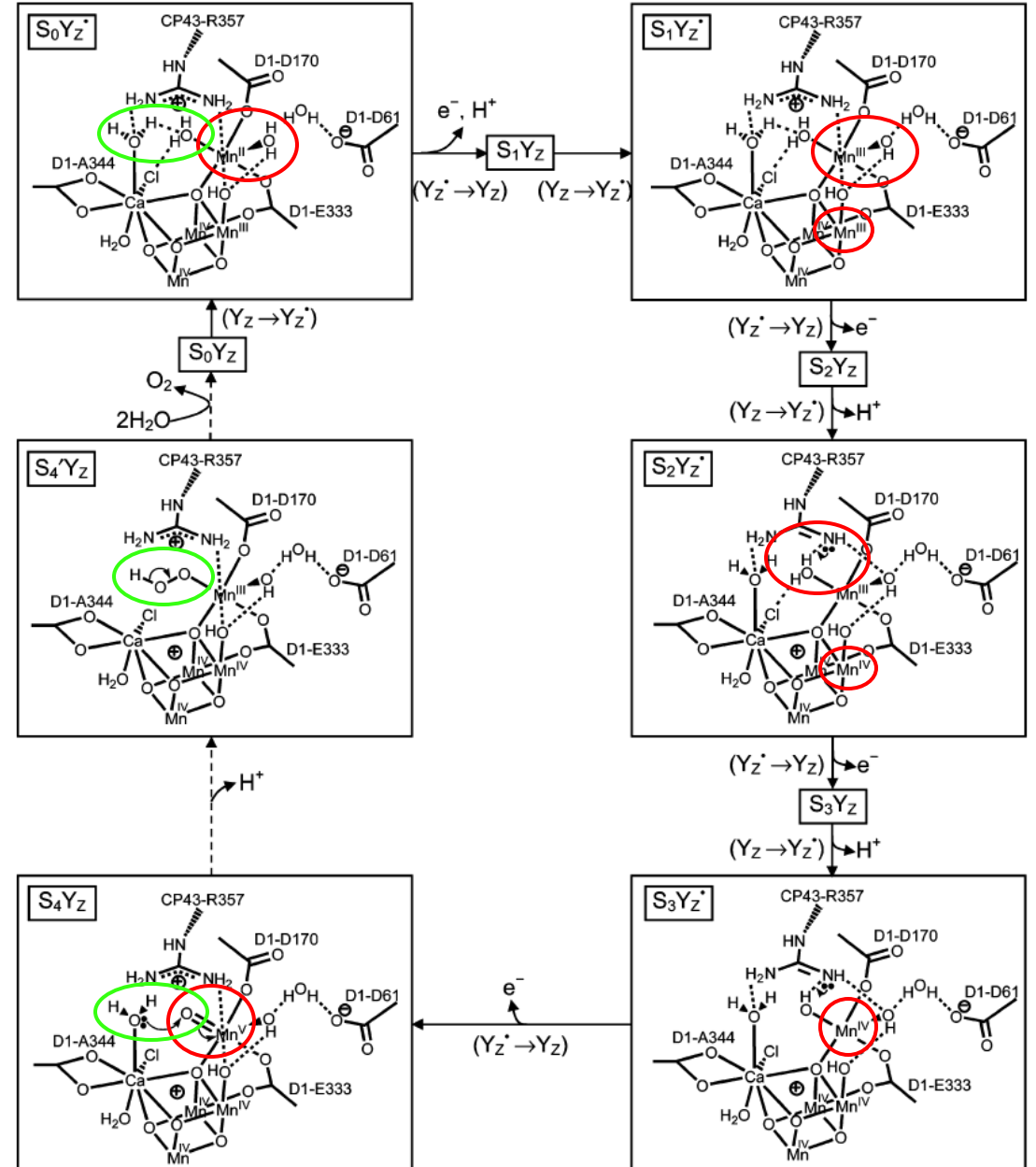


1) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

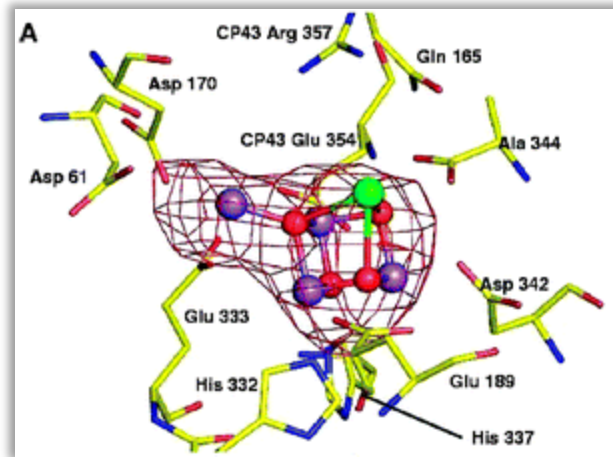
 $\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$ 

7

Enzymes à
cluster
métallique

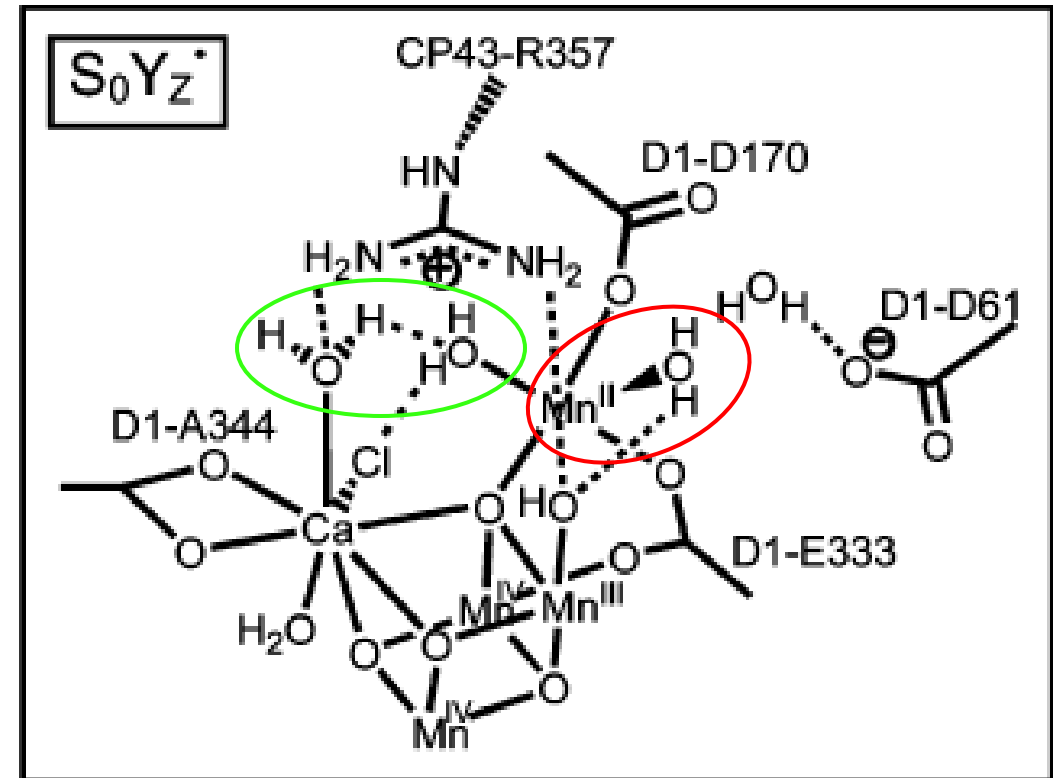
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

$\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$

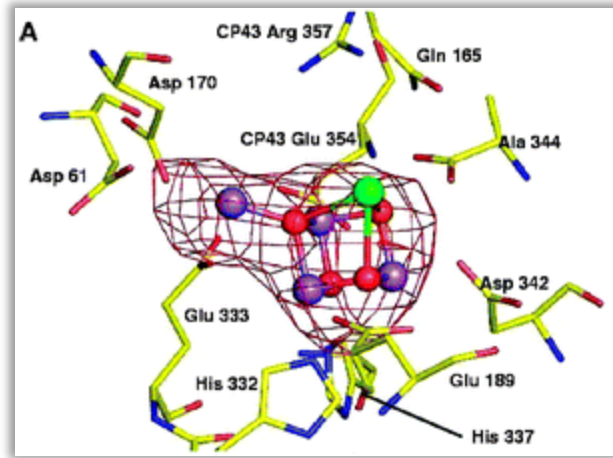


7

Enzymes à
cluster
métallique

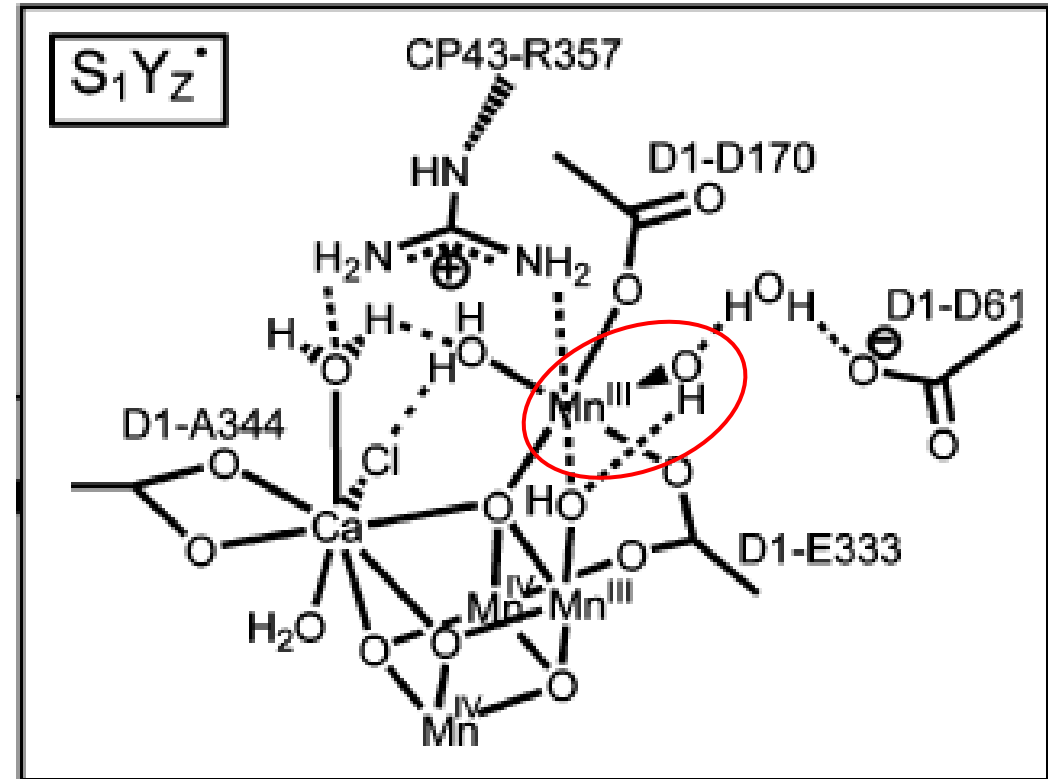
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

$\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$

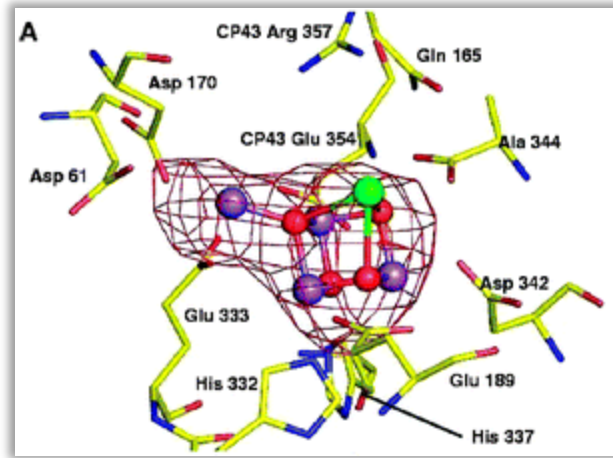


7

Enzymes à
cluster
métallique

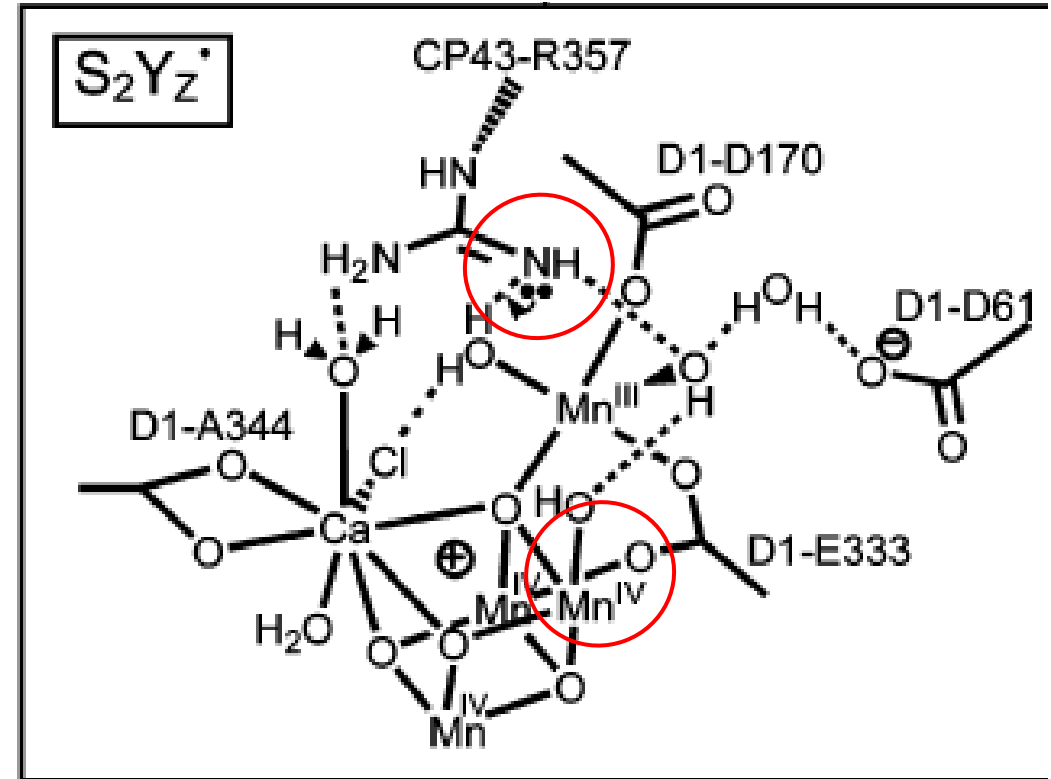
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

$\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$

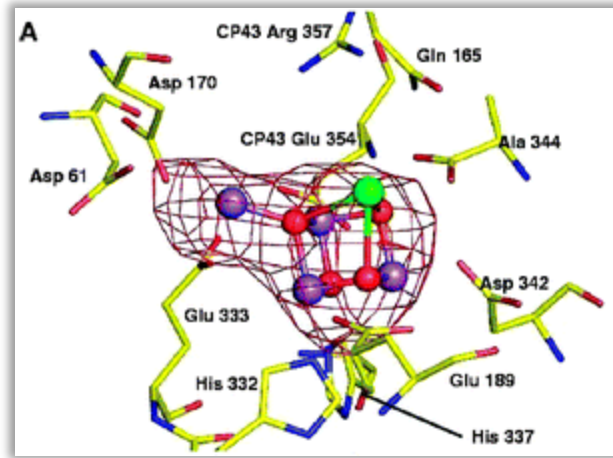


7

Enzymes à
cluster
métallique

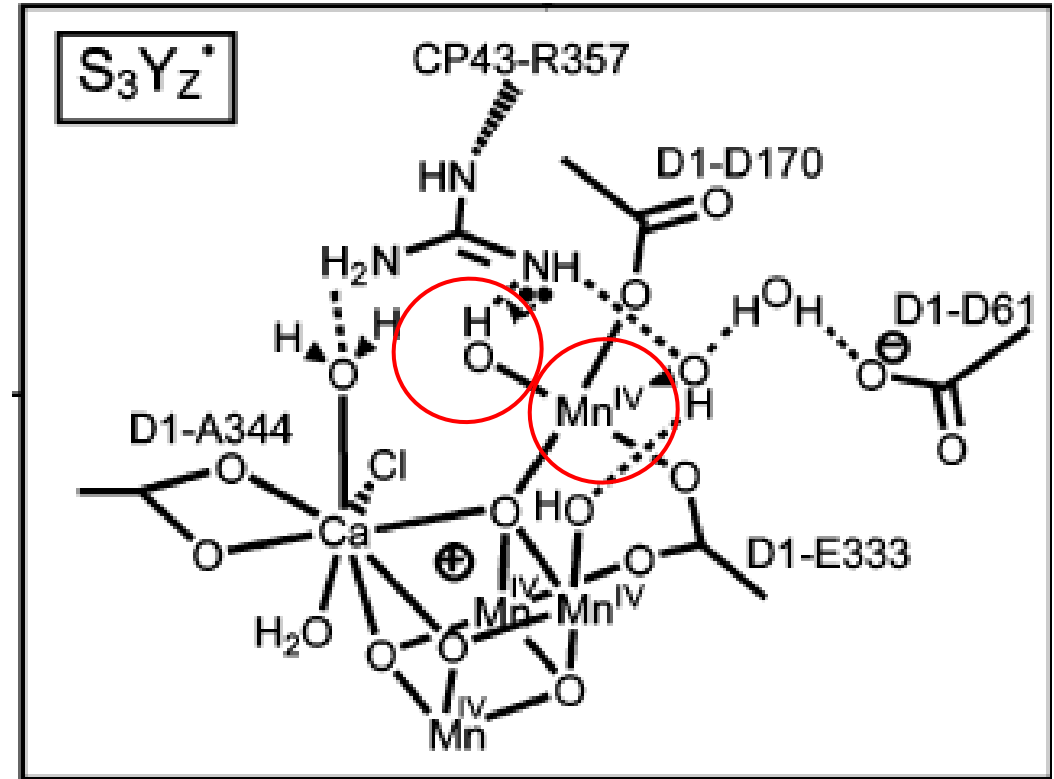
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

$\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$

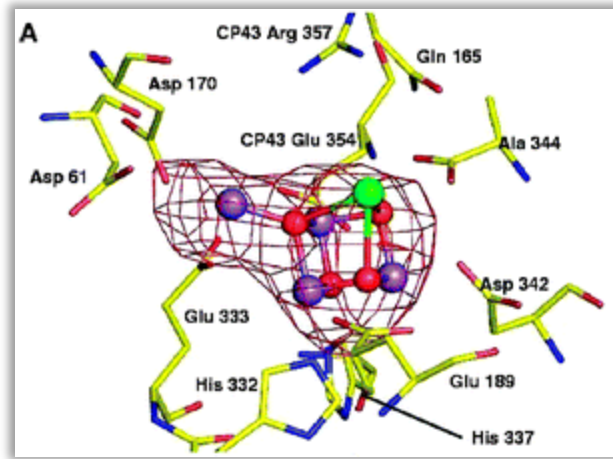


7

Enzymes à
cluster
métallique

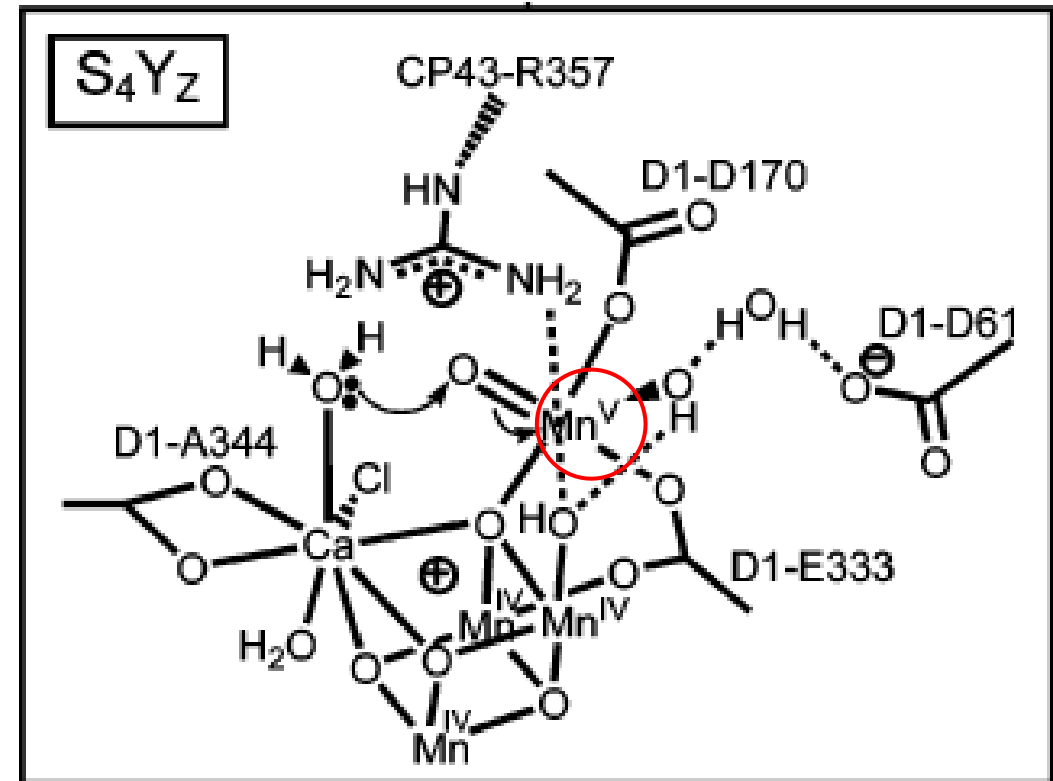
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

~ 1000 O₂ s⁻¹

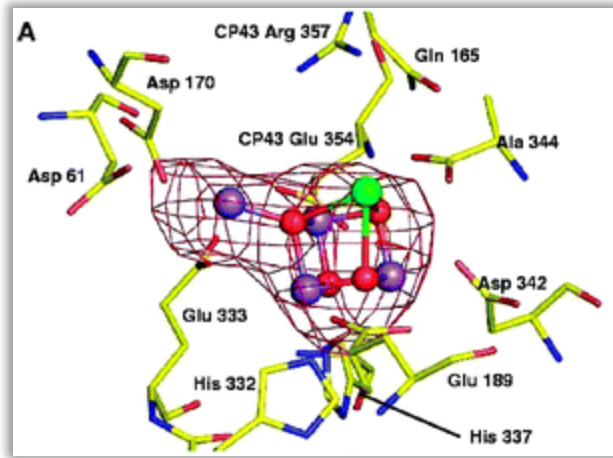


7

Enzymes à
cluster
métallique

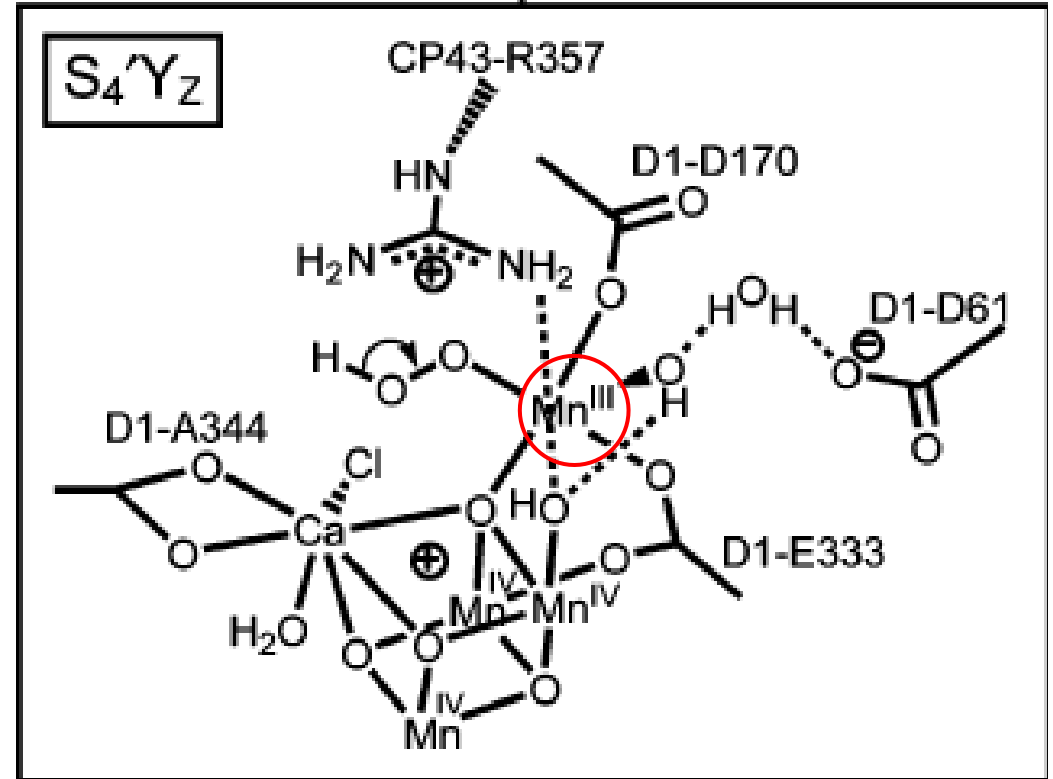
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

$\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$

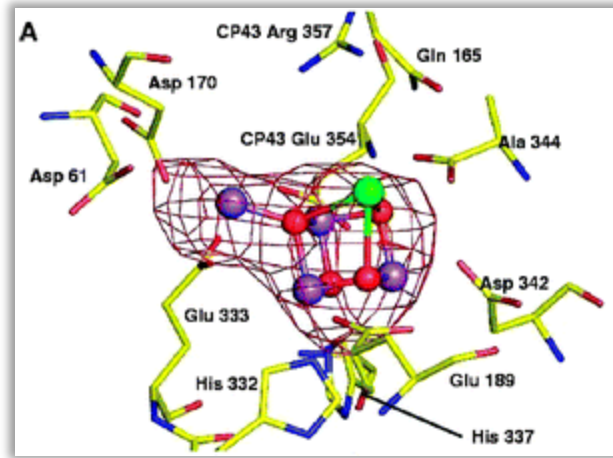


7

Enzymes à
cluster
métallique

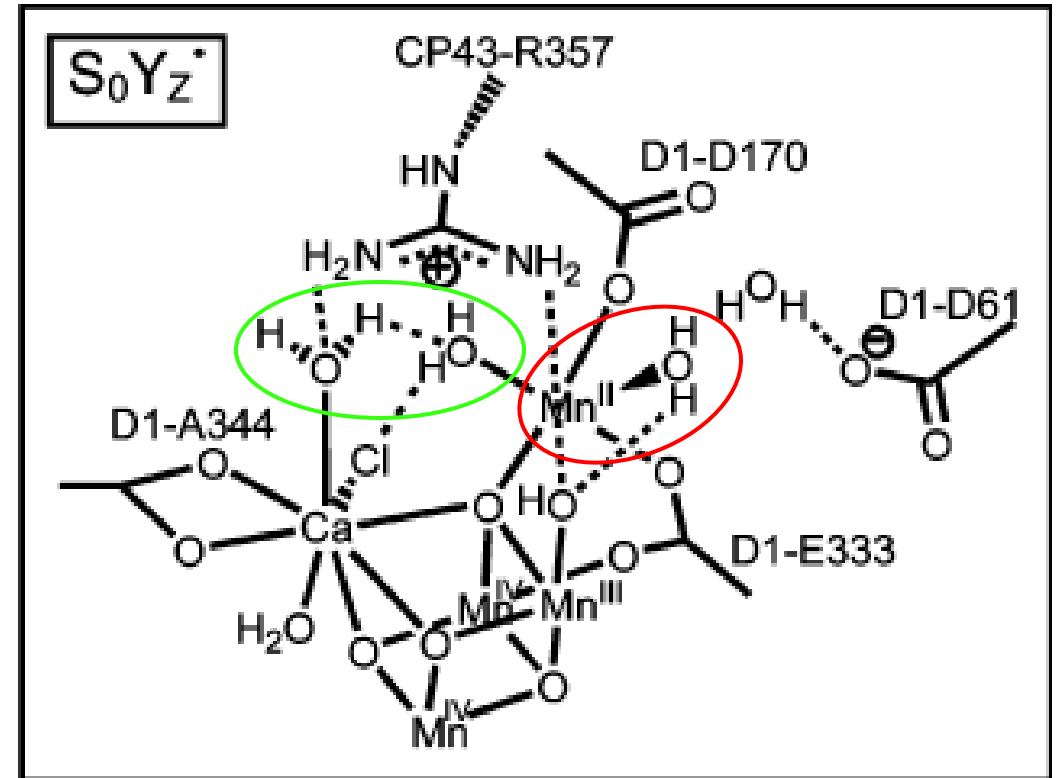
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Activité naturelle

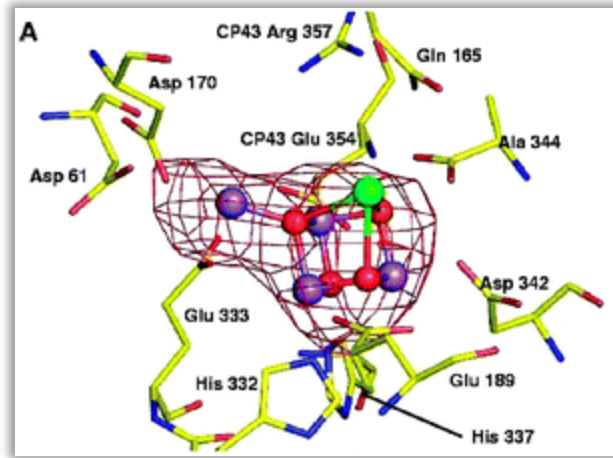
$\sim 1000 \text{ O}_2 \text{ s}^{-1}$



+ O₂

I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Mécanisme d'oxydation de l'eau



Pourquoi utiliser Ca^{2+} ?

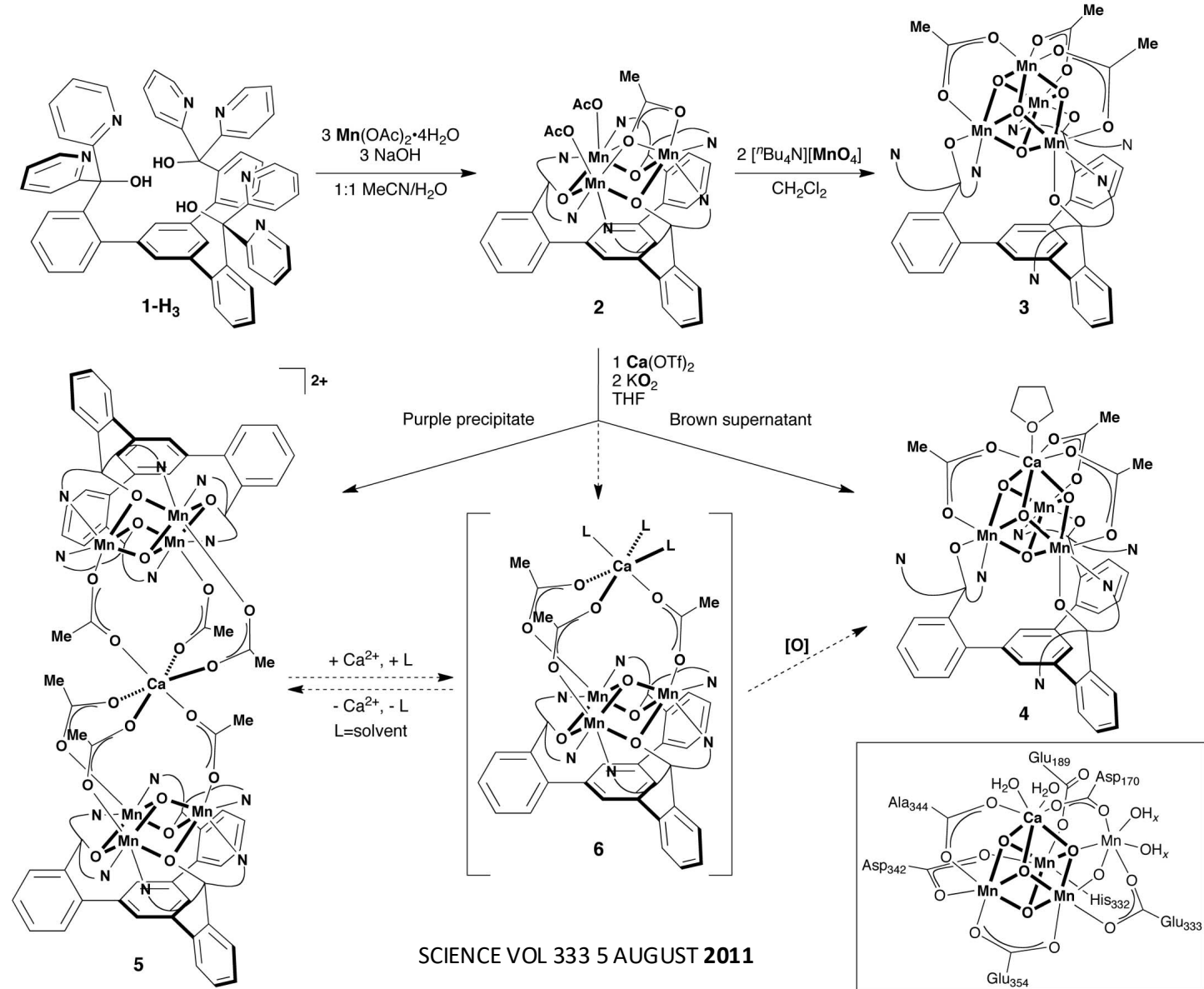
- Il est redox inactif
- Y-a-t-il d'autre raison ?

Etudier le système naturel est particulièrement compliqué!

Peut-on utiliser des modèles pour répondre à cette question ?

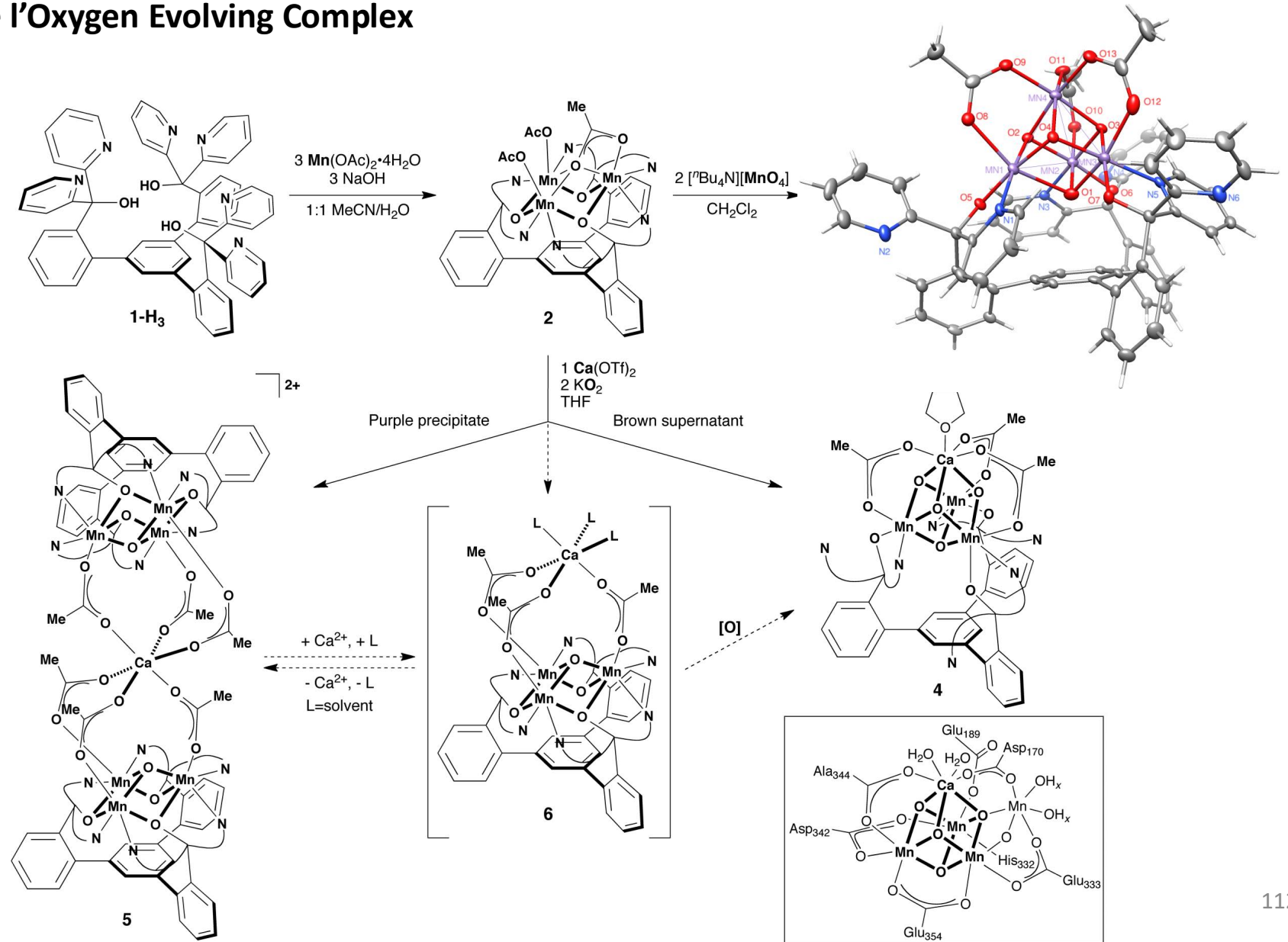
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Modèles de l'Oxygen Evolving Complex



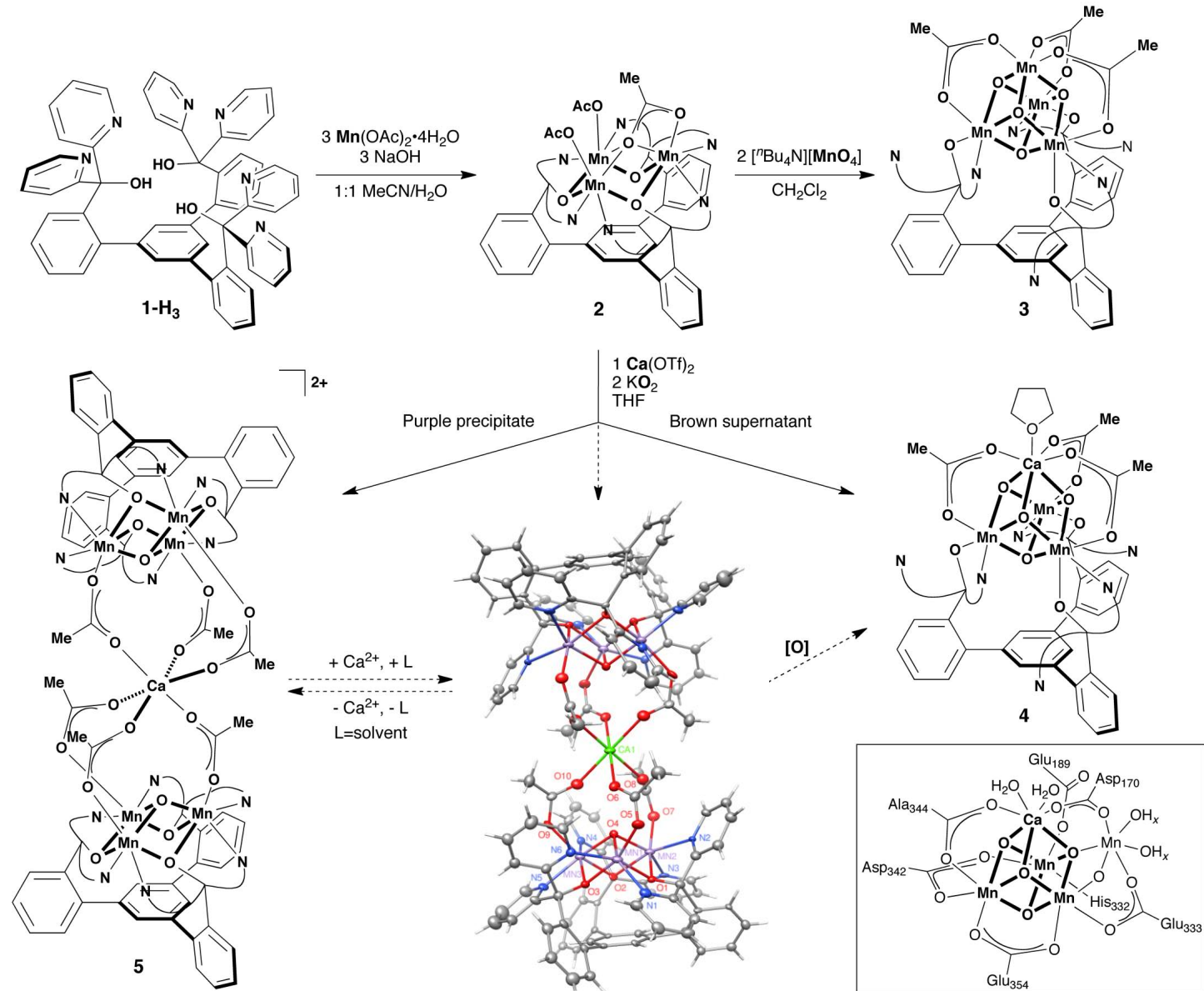
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Modèles de l'Oxygen Evolving Complex



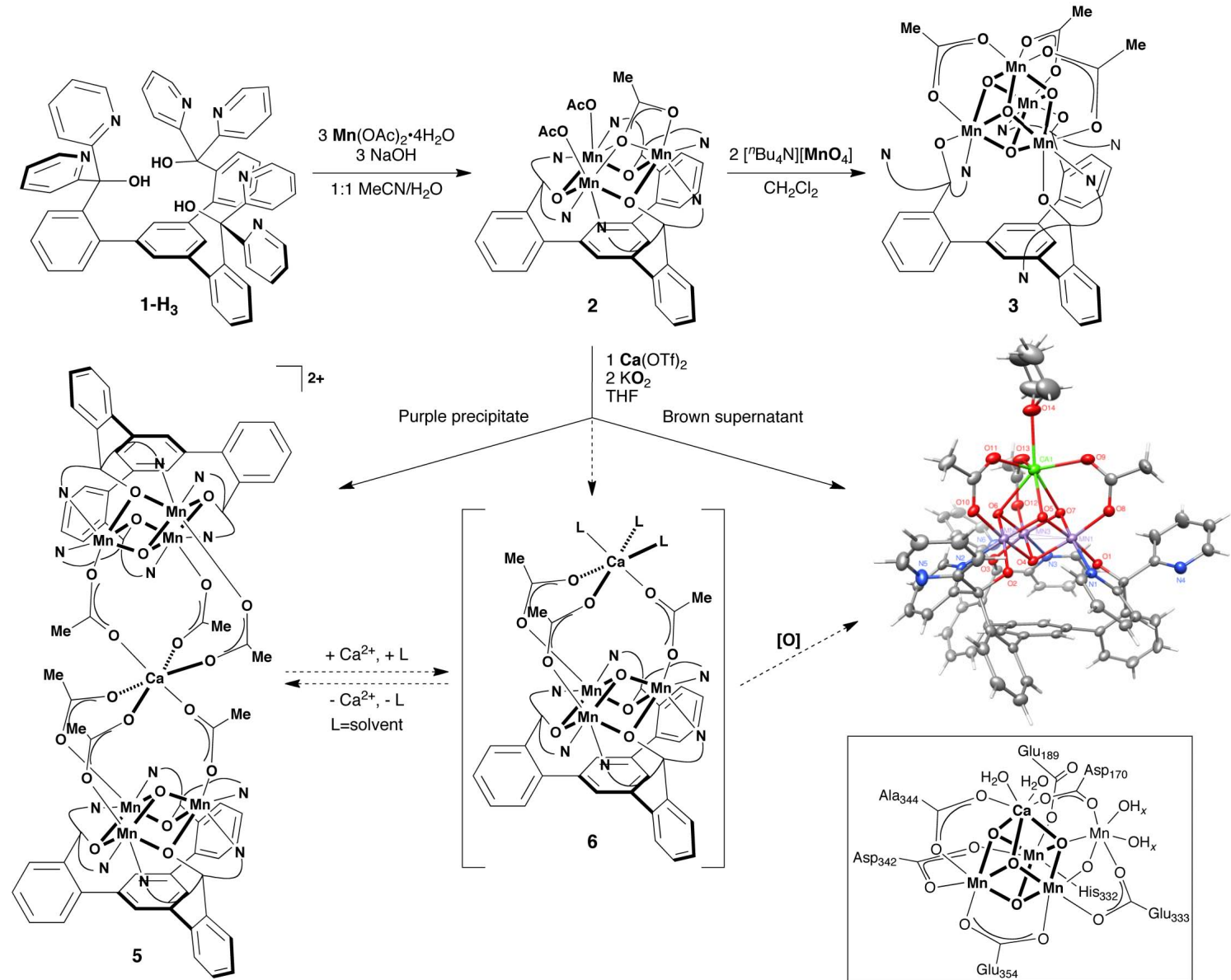
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Modèles de l'Oxygen Evolving Complex



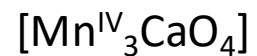
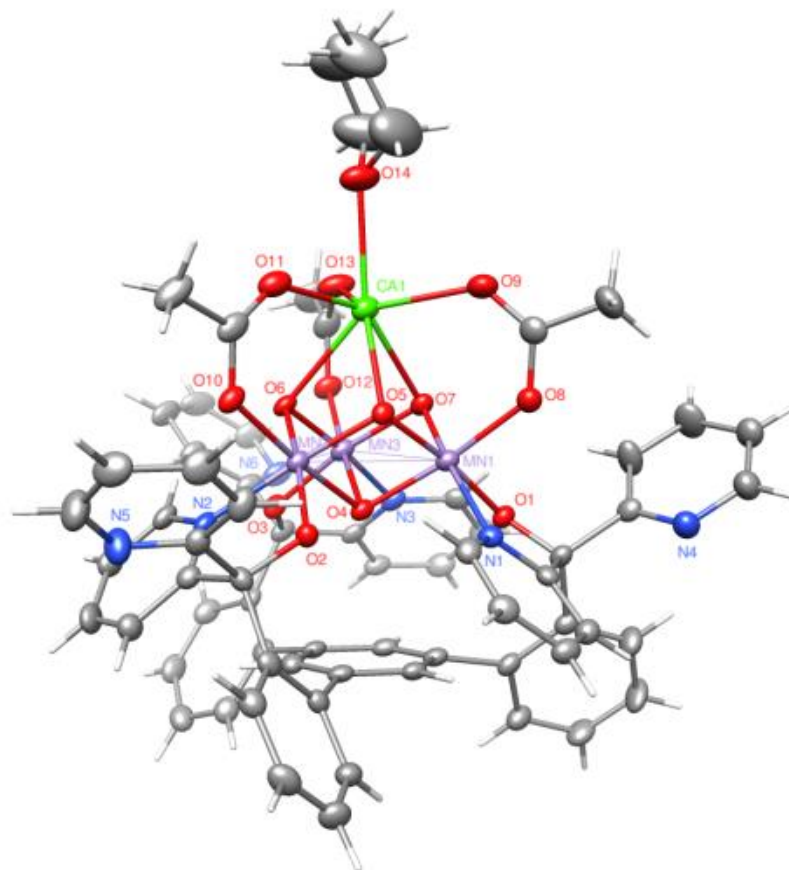
I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Modèles de l'Oxygen Evolving Complex

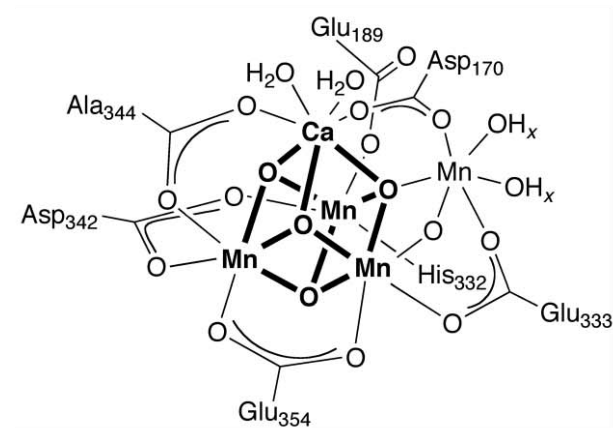
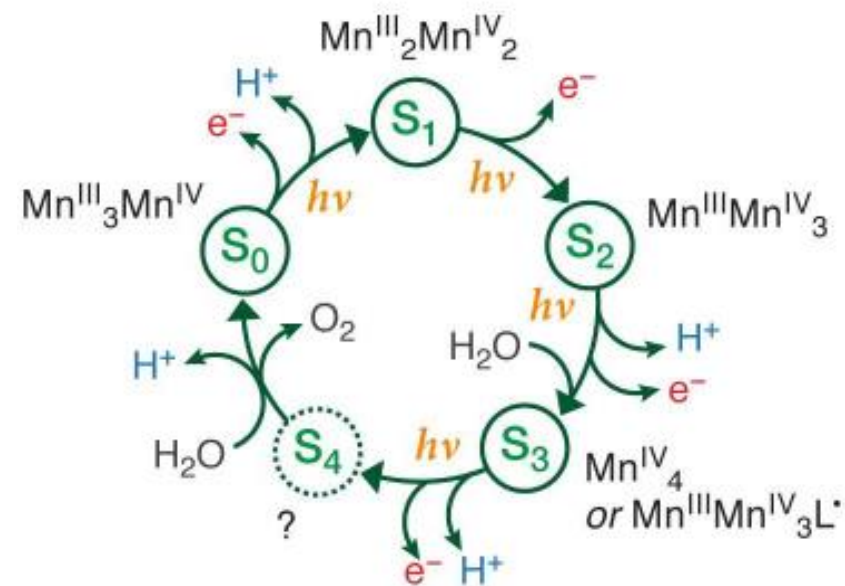


I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Modèles de l'Oxygen Evolving Complex



Stable en absence du squelette protéique



I) Photosynthèse et « Oxygen Evolving Complex »

Modèles de l'Oxygen Evolving Complex

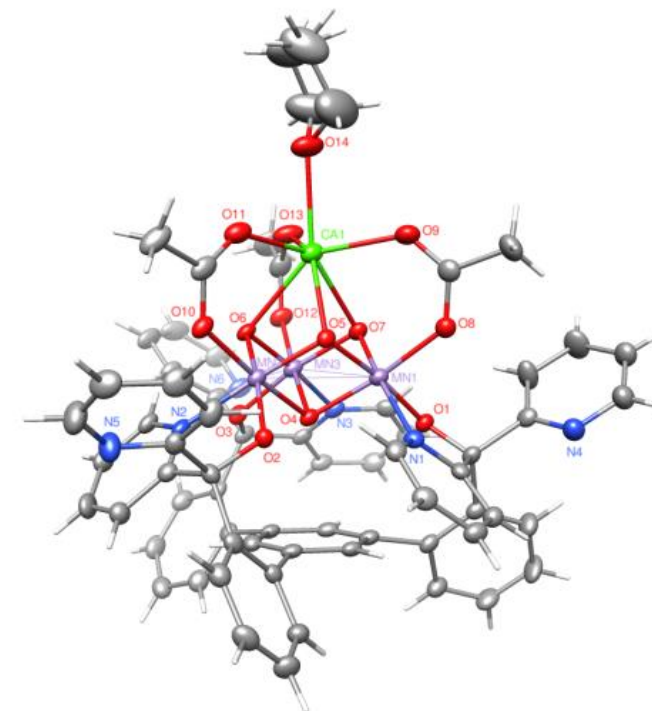
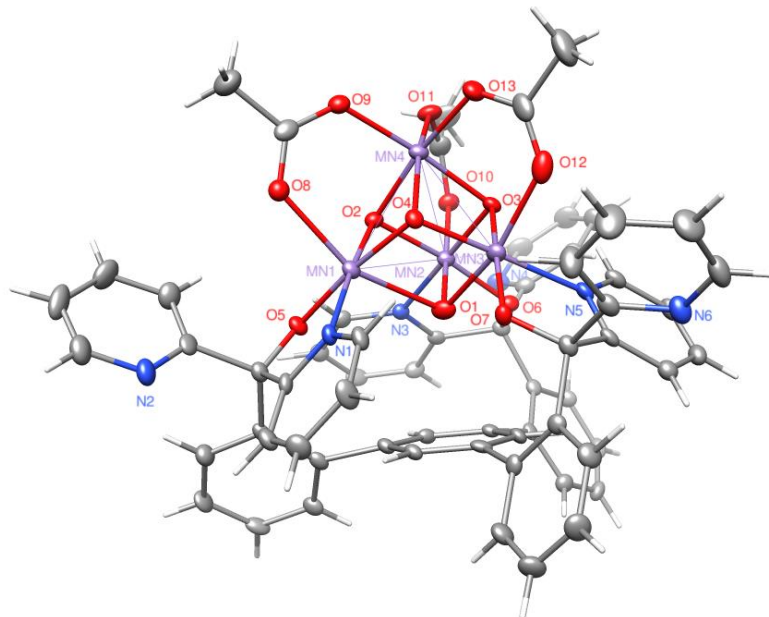
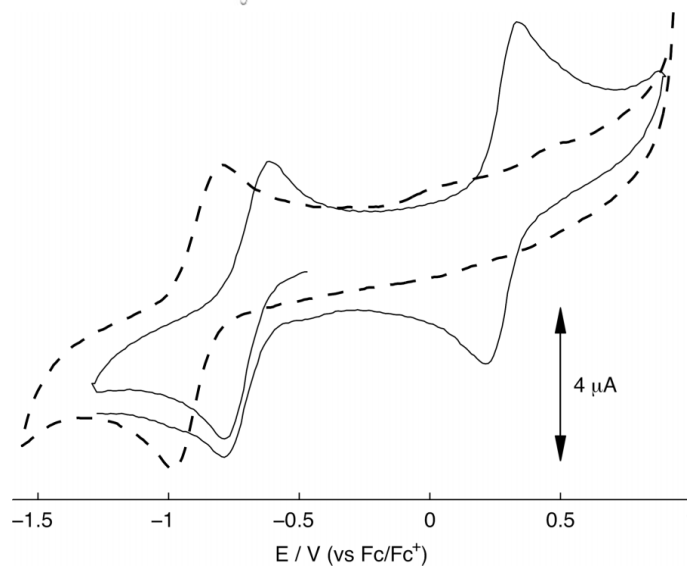


Fig. 3. Cyclic voltammograms of **3** (solid trace, DMA solution) and **4** (dashed trace, DMF solution) with 0.1 M $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$. Scan rates: 50 mV/s (**3**) and 100 mV/s (**4**). E/V, potential.

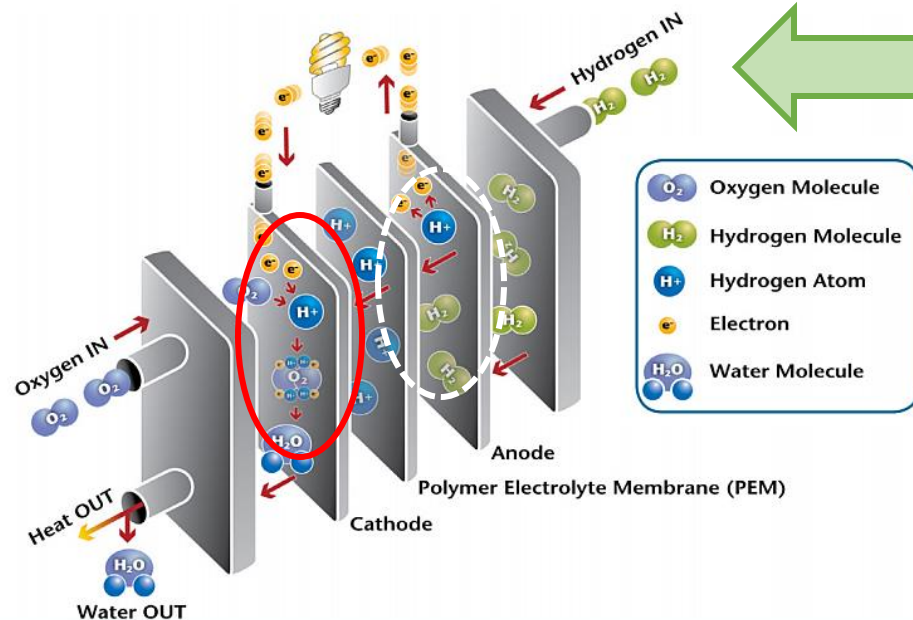


It is therefore easier to oxidize the manganese cluster in presence of Ca^{2+}

And reach high redox state for the Mn=O species

7

Enzymes à cluster métallique



Can we use Hydrogenases or models as catalysts either to evolve H_2 or oxidize it in fuel cells ?

Water Electrolysis

Model of O.E.C.

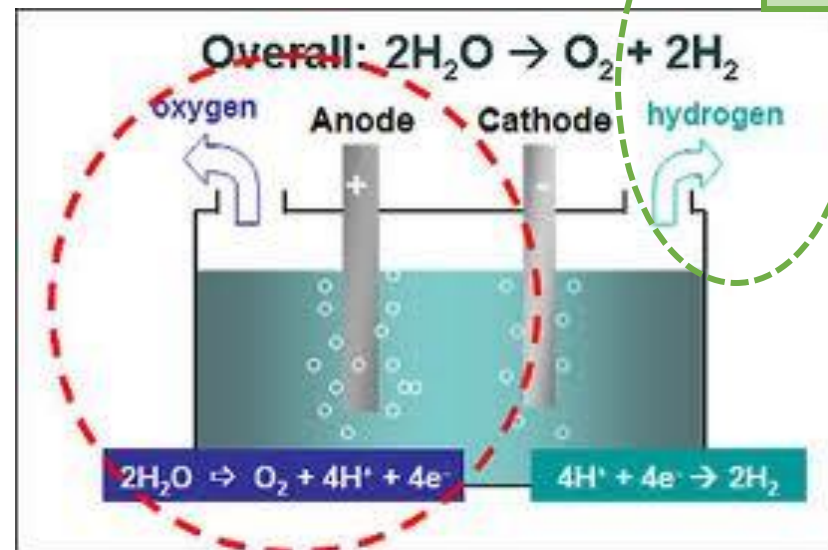


Fuel cell applications

Model of cytochrome C oxidase



OK, but how could we generate H_2 ?



7

Enzymes à cluster métallique

II) Hydrogénases

