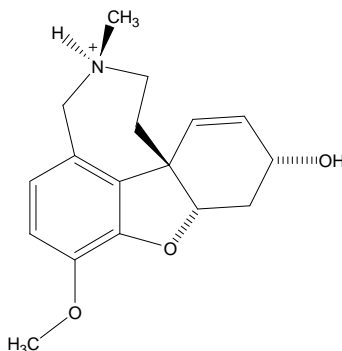


I On considère la galanthamine ci-dessous, inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE) et modulateur allostérique des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, utilisée aujourd'hui pour le traitement des symptômes de la maladie d'Alzheimer.



1- A partir de la structure chimique de la molécule, indiquer les types d'interactions susceptibles de se produire lors de son interaction avec ses récepteurs biologiques.

Ioniques : $\text{NH}^+ \dots \text{Y}^-$ (chaînes latérales d'acides aminés ionisées négativement), **liaisons H** ($\text{NH}^+ \dots$ sites accepteurs de la protéine ; $\text{OH} \dots$ sites accepteurs de la protéine ; sites donneurs de la protéine $\dots \text{O}$ de la molécule) ; **van der Waals** (empilement des noyaux aromatiques et impliquant les groupements apolaires)

2- L'analyse des structures cristallographiques de complexes entre la galanthamine et l'AChE disponibles dans la banque de données des protéines révèle la présence de multiples molécules d'eau dans le site de reconnaissance. Quels rôles peuvent jouer ces molécules ? Sur quels termes énergétiques du processus d'interaction exercent-elles leur influence ?

Molécules d'eau : rôle **structural** dans le maintien de conformations locales spécifiques mais également **fonctionnel** dans des interactions relais entre le ligand et le récepteur.

Les interactions avec les molécules d'eau ont à la fois une incidence au niveau de l'**enthalpie** de la réaction de complexation mais également au niveau **entropique** étant donné les phénomènes de désolvatation impliqués.

3- L'interaction entre la galanthamine et l'AChE est étudiée en solution et une représentation de Scatchard est effectuée pour l'analyser. Quels paramètres peuvent être déterminés à partir de cette représentation ?

La constante de dissociation du complexe (à partir de la pente de la droite) et la **stoechiométrie** du complexe, à partir de l'abscisse à l'origine.

4- La constante de dissociation du complexe de la galanthamine avec un de ses récepteurs biologiques a été déterminée ($K_d = 45 \times 10^{-9}$ M). Calculer la variation d'enthalpie libre de la réaction correspondante à 298 K (on donne $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$).

$$\Delta G = -RT \ln K$$

$$\text{Soit } \Delta G = -8,314 \times 298 \times \ln 45 \times 10^{-9} = +41,9 \text{ kJ/mol}$$

La variation d'enthalpie de la réaction a été estimée expérimentalement à $-14,5 \text{ kJ/mol}$. Calculer la contribution entropique de la réaction de complexation (à 298 K).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \text{ donc } \Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T}$$

$$\Delta S = (-14,5 - 41,9) / 298 = -0,189 \text{ J/mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

La composante majoritaire de la réaction est-elle de nature entropique ou enthalpique ? Justifier.

$\Delta H = -14,5$ kJ/mol $T\Delta S = -56,4$ kJ/mol. La composante majoritaire de la réaction est donc très clairement (presque quatre fois plus) **de nature entropique** (défavorable : perte importante de degrés de liberté lors de la formation du complexe).

II On se propose d'étudier l'interaction de la galanthamine avec ses récepteurs biologiques par spectroscopie UV-visible.

1- Préciser les chromophores de la molécule et les transitions électroniques associées.

Chromophores : Aromatique, éthylénique (double liaison) et fonctions contenant des hétéroatomes.

Transitions électroniques : $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$

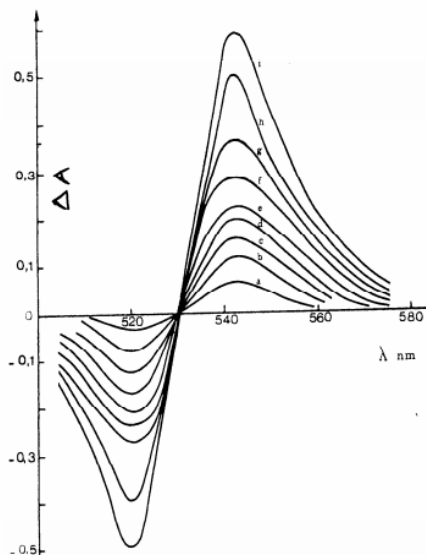
2- La figure ci-dessous montre les spectres dans le visible obtenus lors de l'étude de l'interaction d'un système récepteur-ligand par spectroscopie différentielle. Il a été montré que la protéine absorbe dans l'UV entre 200 et 360 nm.

a/ Expliquer très succinctement le principe de la spectroscopie différentielle.

Consiste à soustraire les spectres de l'échantillon (récepteur+ligand) de la référence (ligand) de façon à obtenir un spectre résultant reflétant directement la quantité de complexe récepteur-ligand formé. Dans le cas où la protéine absorbe dans le domaine de longueur d'onde du complexe, ce qui n'est pas le cas ici, on doit utiliser des cuves à double compartiment, qui permettent de soustraire les contributions des espèces libres de ligand et de protéine.

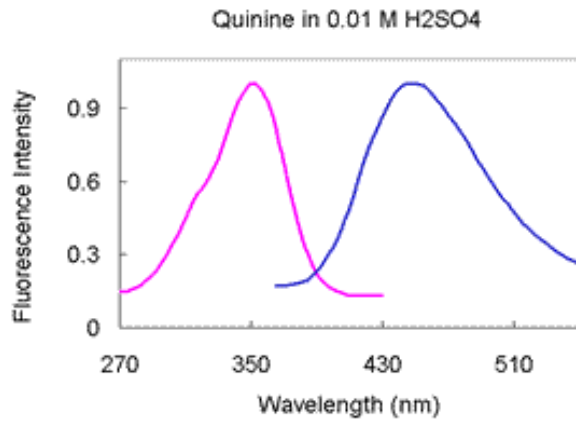
b/ Interpréter le spectre

La partie négative, dont le maximum est située vers 520 nm, est due à la soustraction des proportions des espèces libres de ligand en référence et en échantillon (une partie du ligand est complexée au récepteur dans le compartiment échantillon). Le pic dont le maximum est situé vers 540 nm est lié à la quantité de complexe qui se forme en solution. Plus la quantité de ligand augmente, plus la quantité de complexe augmente, donc plus le pic négatif correspondant au ligand libre diminue.



Spectres dans le visible obtenus lors de l'étude de l'interaction d'un système récepteur-ligand

III La quinine est un alcaloïde naturel découvert au Pérou au XVII^{ème} siècle. Utilisé pour ses vertus antipaludiques, ce composé se retrouve également dans certaines boissons gazeuses comme le Schweppes et le Canada Dry. Les spectres d'excitation et d'émission de la molécule sont montrés sur la figure ci-dessous.



1-A quel spectre (gauche ou droite) correspond le spectre de fluorescence ? Justifier.

A gauche absorption, à droite émission. Du fait de la relaxation vibrationnelle et de l'existence d'autres phénomènes pouvant dépeupler l'état excité, la quantité d'énergie **émise par fluorescence est toujours inférieure** à la quantité absorbée, donc la **longueur d'onde d'émission toujours plus élevée**.

2- Le phénomène de transfert d'énergie de fluorescence résonant (FRET en anglais) est provoqué par le recouvrement de spectres de deux molécules, l'une jouant le rôle de donneur D et l'autre d'accepteur A. Lors d'une expérience mettant en jeu deux molécules D et A, une efficacité de transfert E_T de 0,6 a été déterminée. Sachant que la distance R_0 pour ce système est de 51,2 Å, calculer la distance R séparant D et A

$$E_T = \frac{R_0^6}{R_0^6 + R^6} \text{ donc } R_0^6 E_T + R^6 E_T = R_0^6 \text{ soit } R = R_0 \times \left(\frac{1 - E_T}{E_T} \right)^{1/6}$$

$$R = 51,2 \times \left(\frac{1 - 0,6}{0,6} \right)^{1/6} = 47,9$$
