

**ECOLES NORMALES SUPERIEURES**

**CONCOURS D'ADMISSION 2020**

**JEUDI 23 AVRIL 2020 - 8h00 – 14h00**

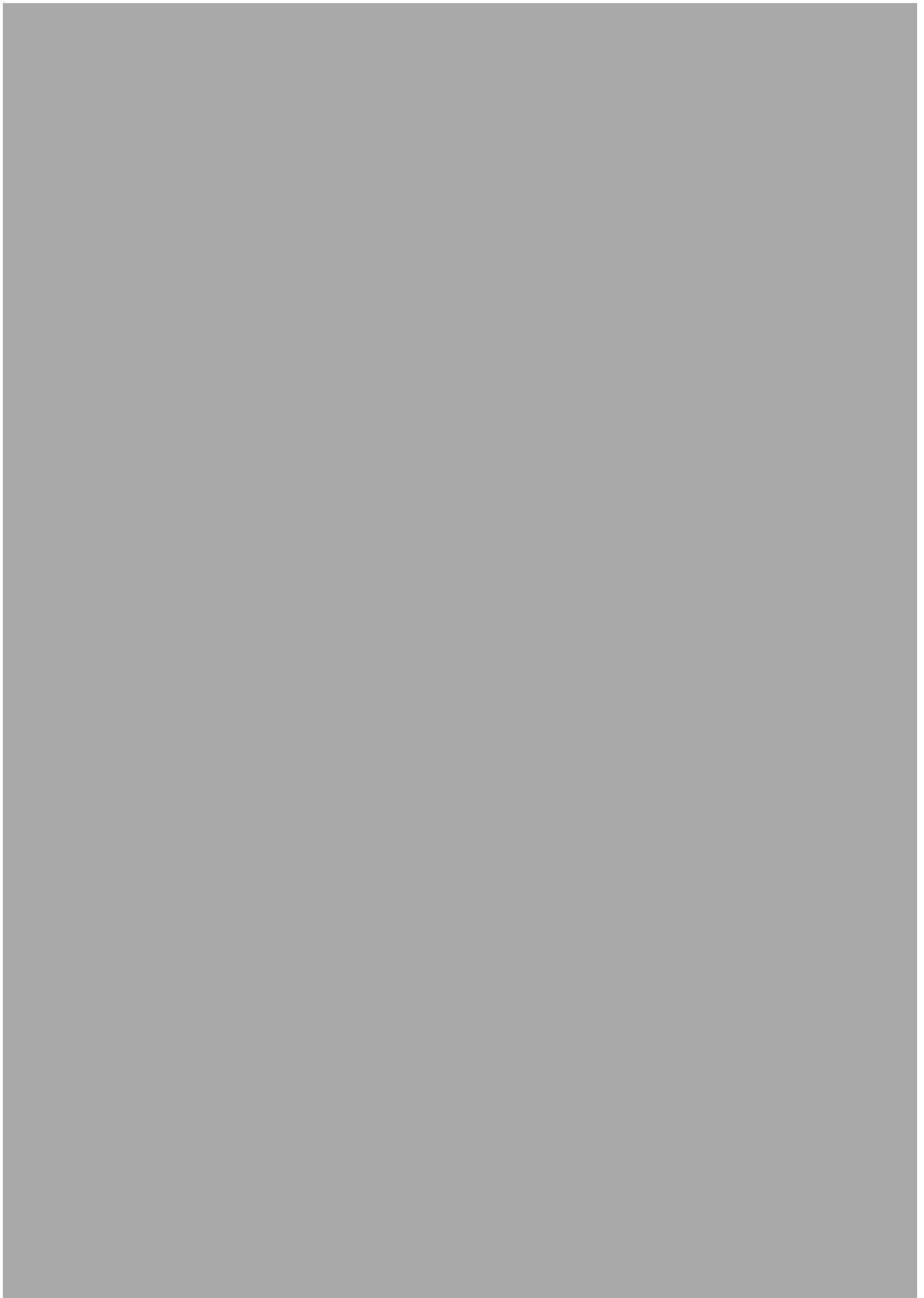
**FILIERE PC - Epreuve n° 7**

**CHIMIE B**

**(U)**

*Durée : 6 heures*

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



Le sujet comprend 24 pages numérotées de 1 à 24.

\* \* \*  
Début du sujet

## Étude d'un médicament anti-cholestérol

Dans les pays industrialisés, le traitement des maladies coronariennes est un enjeu majeur car celles-ci induisent une mortalité supérieure à l'ensemble des cancers. Dès la fin du XX<sup>e</sup> siècle, des efforts considérables ont visé à identifier des traitements efficaces et minimisant les effets secondaires. Une cible majeure est l'athérosclérose, liée principalement à des accumulations de dépôts gras, réduisant l'efficacité de la circulation sanguine et accélérant le vieillissement du cœur. Ces accumulations sont en particulier liées à des taux élevés de cholestérol, apporté par l'alimentation mais aussi par biosynthèse dans le foie. Une avancée importante a reposé sur le développement de médicaments permettant un contrôle ciblé de la formation du cholestérol. Ce sujet porte sur l'un d'entre eux, l'acide zaragozique A, représenté à la figure 1.

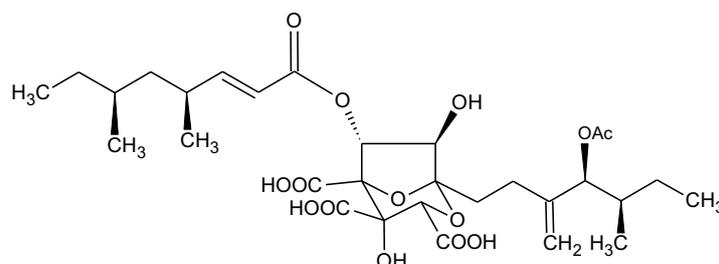


FIGURE 1 – Acide zaragozique A (**1**).

La partie 1 aborde l'étude de la structure, caractérisation et purification des protéines. La partie 2 s'intéresse au mode d'action de l'acide zaragozique A sur l'organisme. La partie 3 traite de la synthèse totale de ce principe actif.

*Les parties 1, 2 et 3 sont indépendantes. Si au cours de l'épreuve un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il le signale dans sa copie et poursuit sa composition en indiquant les raisons des initiatives qu'il est amené à prendre. Une indication du poids relatif de chaque partie dans le barème total est donnée à la suite du titre de chaque partie.*

*Un soin particulier est attendu dans l'écriture des mécanismes réactionnels ; les formules utilisées devront faire apparaître les doublets non liants, les lacunes électroniques et les formes mésomères des intermédiaires réactionnels s'il y a lieu. L'écriture des mécanismes, lorsqu'elle est demandée dans la question, pourra se faire sous une forme simplifiée (les parties de la molécule non impliquées dans le mécanisme réactionnel seront écrites avec les symboles R, R', R"... en précisant la simplification effectuée).*

*Des données pertinentes pour les différentes parties sont fournies en annexe à la fin du sujet.*

# 1 Première partie : Structure, caractérisation et purification des protéines

Cette partie représente environ 40% du total des points.

## 1.1 Étude structurale des enzymes et protéines

Chez les êtres vivants, la majorité des fonctions biologiques repose sur l'action de protéines, macromolécules du milieu biologique. Certaines, comme les enzymes, accélèrent les réactions chimiques, alors que d'autres jouent un rôle de défense, emmagasinent ou transportent des substances, interviennent dans les communications cellulaires, permettent de produire le mouvement ou soutiennent les tissus. Les protéines sont des polymères d'acides aminés, molécules possédant un groupement amine et un groupement acide carboxylique (figure 2).

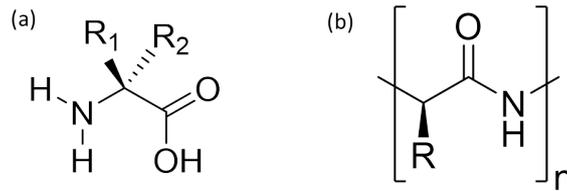


FIGURE 2 – (a) Structure générale d'un acide aminé, où  $R_1$  et  $R_2$  représentent chacun un atome d'hydrogène ou une chaîne carbonée. (b) Schéma général d'un acide aminé impliqué dans la structure primaire d'une protéine.

Une protéine est caractérisée non seulement par sa séquence, c'est-à-dire l'ordre dans lequel ses acides aminés constitutifs sont liés, mais également par sa conformation tridimensionnelle, par exemple repliée ou dépliée.

**Q. 1.** Indiquer quelles interactions entre acides aminés favorisent la forme repliée d'une protéine. Préciser pour chacune l'ordre de grandeur de l'énergie d'interaction et le comparer avec l'énergie thermique à 300 K.

La plupart des protéines sont actives sous leur forme repliée, et perdent leur activité lorsqu'elles se déplient. Ce phénomène dit de dénaturation correspond à la désorganisation de la structure spatiale mais n'affecte pas la séquence.

**Q. 2.** À partir des interactions proposées à la question 1, justifier qu'une variation de pH puisse entraîner la dénaturation d'une protéine.

Une variation de quelques degrés Celsius suffit en général pour entraîner une dénaturation thermique. Pour déterminer précisément la température à laquelle une protéine se dénature, on utilise un calorimètre différentiel à balayage (figure 3). Un tel dispositif est composé d'une enceinte contenant deux calorimètres identiques, parfaitement isolés thermiquement. L'un contient l'échantillon à analyser, l'autre contient une référence. Les deux compartiments sont initialement à la même température, puis sont chauffés de façon à maintenir l'égalité des températures dans les deux compartiments. L'information recueillie est la différence de puissance nécessaire à fournir aux deux compartiments afin qu'ils conservent une température identique.

La température  $T$  à un instant  $t$  durant un balayage linéaire en température est

$$T = T_0 + \alpha t,$$

où  $\alpha$  est la vitesse de balayage en température.

**Q. 3.** Exprimer la chaleur totale  $q_p$  fournie au système à l'instant  $t$  en fonction de sa capacité calorifique  $C_p$  et de la vitesse de balayage  $\alpha$ . On supposera que la capacité calorifique est indépendante de la température dans la petite gamme de températures balayée.

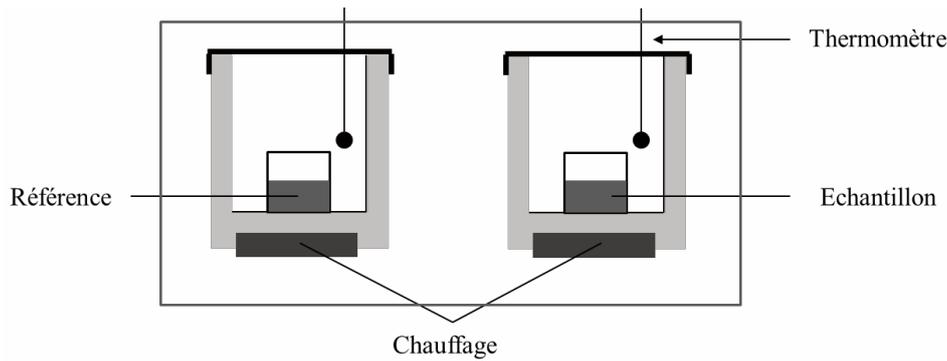


FIGURE 3 – Calorimètre différentiel à balayage.

Lorsqu'un processus endothermique comme la dénaturation d'une protéine a lieu au sein de l'enceinte contenant l'échantillon, il faut fournir une énergie supplémentaire  $q_p^{ex}$  afin d'obtenir la même variation de température que dans l'enceinte de référence. Cet excédent d'énergie peut être exprimé comme une contribution supplémentaire à la capacité calorifique, qu'on notera  $C_p^{ex}$ .

**Q. 4.** Exprimer la capacité calorifique  $C_p^{ex}$  en fonction de l'excédent de puissance électrique  $P^{ex}$  nécessaire pour égaliser les températures dans les deux compartiments.

Pour déterminer la température au-dessus de laquelle une protéine perd sa structure native, on trace un thermogramme, représentant  $C_p^{ex}$  en fonction de la température. La figure 4 présente le thermogramme de l'ubiquitine, une protéine.

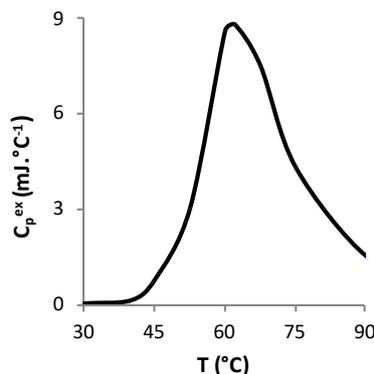


FIGURE 4 – Thermogramme de l'ubiquitine.

**Q. 5.** À l'aide du thermogramme, déterminer la température au-dessus de laquelle l'ubiquitine commence à perdre sa structure native. Comment ferait-on pour déterminer la variation d'enthalpie associée au processus de dénaturation à partir du thermogramme ?

Très souvent la dénaturation entraîne la perte de solubilité de la protéine et donc sa précipitation. On peut alors utiliser ce phénomène pour isoler une protéine, ou séparer les protéines de plus petites molécules.

**Q. 6.** En s'appuyant sur un schéma pour argumenter la réponse, expliquer comment la dénaturation pourrait entraîner la précipitation d'une protéine dans l'eau.

## 1.2 Étude des protéines par osmométrie

Une fois la protéine isolée, il est possible de lui faire retrouver sa forme repliée native en la replaçant dans ses conditions biologiques : elle reprend alors sa conformation initiale. Une fois

renaturée, la protéine peut être mise en solution et étudiée par osmométrie, technique permettant de caractériser la masse molaire moyenne en nombre du polypeptide.

Lorsque l'on place dans un compartiment  $A$  un solvant pur, séparé d'un compartiment  $B$  contenant le même solvant ainsi qu'un soluté, par une membrane perméable *uniquement* au solvant (figure 5.a), on observe un passage spontané de solvant pur du compartiment  $A$  vers le compartiment  $B$ . C'est le phénomène d'osmose. On appelle pression osmotique  $\Pi$  la pression qui devrait être appliquée à la solution (compartiment  $B$ ) afin d'empêcher le flux de solvant de  $A$  vers  $B$  (figure 5.b). L'osmométrie est une méthode permettant d'accéder à la masse molaire du soluté par mesure de la pression osmotique à différentes concentrations en soluté ; et dans le cas de macromolécules en solution, à la masse molaire moyenne en nombre.

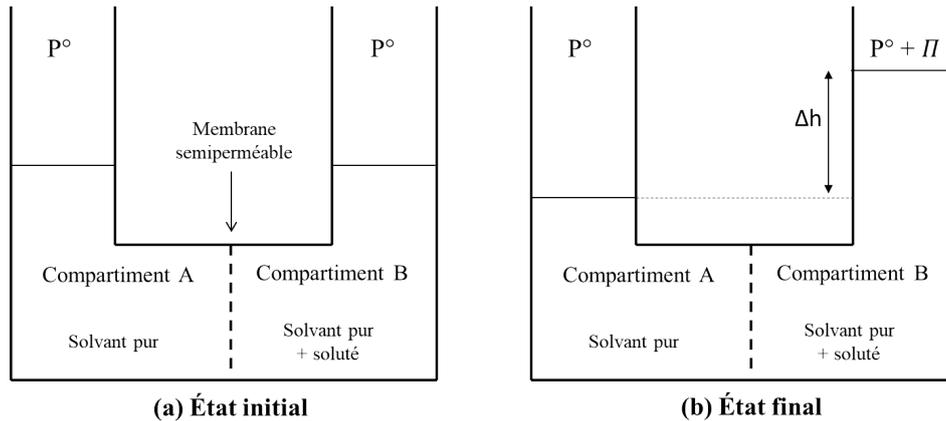


FIGURE 5 – (a) État initial avant passage du solvant de  $A$  vers  $B$ . (b) État final à l'équilibre, après passage du solvant de  $A$  vers  $B$ .

Pour la suite de cette partie, la fraction molaire du solvant est notée  $x_1$ , celle du soluté  $x_2$ , et la pression  $P^\circ$  est égale à 1 bar.

On rappelle que pour un polymère constitué de  $n_i$  chaînes de masse molaire  $M_i$ , on définit :

- la masse molaire moyenne en nombre  $\overline{M}_n = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i}$
- la masse molaire moyenne en masse  $\overline{M}_w = \frac{\sum_i n_i M_i^2}{\sum_i n_i M_i}$ .

**Q. 7.** Justifier qu'à l'état initial (figure 5.a), le système n'est pas à l'équilibre et que l'on observe le passage du solvant pur de  $A$  vers  $B$ .

**Q. 8.** En supposant la solution du compartiment  $B$  idéale, et sachant que l'on travaille en conditions diluées, établir l'expression de la pression osmotique  $\Pi$  en fonction de la concentration  $C_2$  en soluté. Cette égalité est la relation de van 't Hoff.

**Q. 9.** Démontrer que dans le cas où le soluté est un polymère en solution, la relation de van 't Hoff peut s'écrire :

$$\frac{\Pi}{C_m} = \frac{RT}{\overline{M}_n}, \quad (1)$$

où  $\overline{M}_n$  est la masse molaire moyenne en nombre du polymère et  $C_m$  sa concentration massique.

**Q. 10.** Sans la relation de van 't Hoff précédente, indiquer si on aurait pu prévoir le type de masse molaire moyenne (en nombre ou en masse) mesurable par osmométrie. La réponse pourra s'appuyer sur le raisonnement fourni à la question 7.

Afin de déterminer la masse molaire d'une enzyme, on mesure les pressions osmotiques de solutions de concentrations croissantes de cette enzyme à 298 K. Les données sont reportées dans le tableau 1 et tracées dans la figure 6.

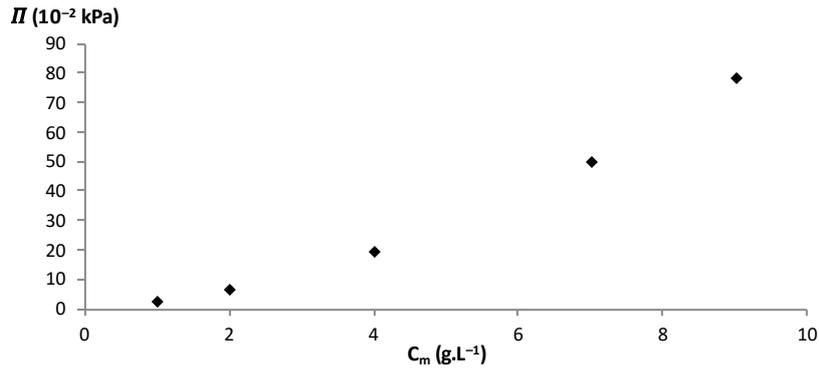


FIGURE 6 – Pression osmotique  $\Pi$  en fonction de la concentration massique pour des solutions d'une enzyme à 298 K.

$C_m$ (g · L <sup>-1</sup> )	1,00	2,00	4,00	7,00	9,00
$\Pi$ (10 <sup>-2</sup> kPa)	2,75	6,96	19,70	50,00	78,50

TABLEAU 1

Le graphique de la figure 6 montre que la relation 1 établie à la question 9 ne convient pas : les interactions entre le soluté et le solvant ne peuvent être négligées. On utilise alors une expression corrigée de la loi de van 't Hoff :

$$\frac{\Pi}{RTC_m} = \frac{1}{M_n} + A_2C_m . \quad (2)$$

Le terme  $A_2$  tient compte de l'écart à l'idéalité. Un nouveau tracé, représenté figure 7, montre que l'expression 2 apporte une description satisfaisante des données.

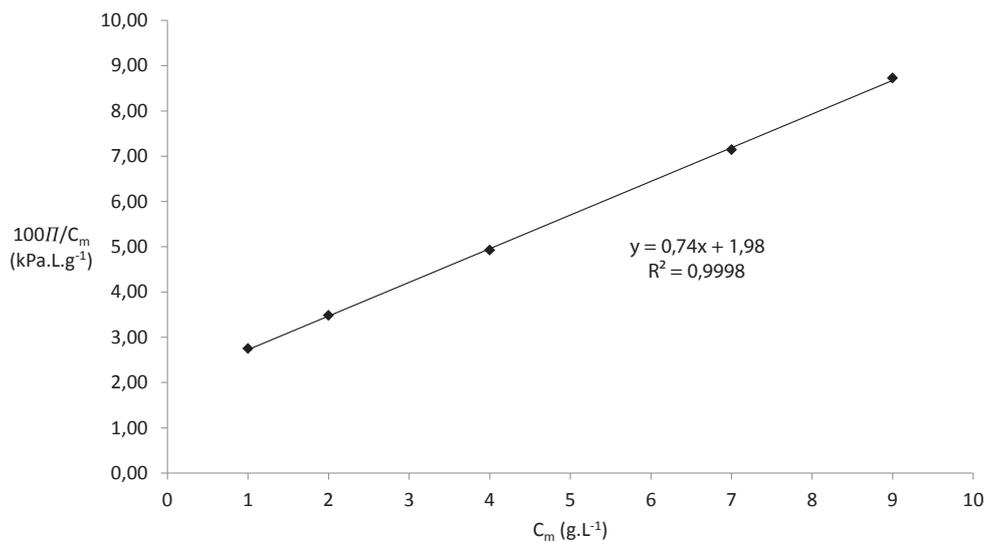


FIGURE 7 – Ratio entre pression osmotique et concentration massique tracé en fonction de la concentration massique.

**Q. 11.** Déterminer à partir de la figure 7 la valeur de la masse molaire moyenne en nombre de l'enzyme.

**Q. 12.** À partir de la figure 7, déterminer la valeur du terme  $A_2$ .

On décrit le polymère en solution par le modèle de la pelote statistique : c'est une conformation d'un polymère dans laquelle les unités de monomères sont orientées de façon aléatoire, en étant néanmoins liées aux unités adjacentes (figure 8). Cette description correspond à une répartition statistique de la forme des macromolécules en solution.



FIGURE 8 – Représentation d'une pelote statistique.

Le terme  $A_2$  permet de décrire l'interaction entre le polymère en solution et le solvant. Lorsque le terme  $A_2$  est positif, on qualifie le solvant de “bon solvant” : il interagit favorablement avec le polymère et le solvate. Lorsqu'il est négatif, le solvant est qualifié de “mauvais solvant”.

**Q. 13.** Justifier d'un point de vue thermodynamique qu'une macromolécule dans un “bon solvant” n'adopte pas la conformation d'une chaîne étirée.

**Q. 14.** Illustrer à l'aide d'un schéma une macromolécule en “bon solvant”.

**Q. 15.** Représenter la macromolécule dans un “mauvais solvant”.

### 1.3 Utilisation de la chromatographie d'exclusion stérique

La méthode précédente permet d'accéder uniquement à la valeur de la masse molaire moyenne en nombre ( $\overline{M}_n$ ) et non à la masse molaire moyenne en masse ( $\overline{M}_w$ ). Une autre méthode de caractérisation, la chromatographie d'exclusion stérique, permet d'accéder à ces deux grandeurs.

La chromatographie d'exclusion stérique est le nom donné à la séparation, par chromatographie liquide, de macromolécules selon leur taille. Une phase mobile liquide contenant le polymère est injectée en tête de colonne, et est ensuite entraînée à travers la colonne par l'action d'une pompe. La phase stationnaire est un matériau poreux, constitué de petites billes sphériques gonflées par le solvant de la phase mobile. Chaque bille contient des pores de *volume variable*.

Le solvant d'éluion est choisi de façon à être un “bon solvant” (terme introduit dans la partie précédente) du polymère étudié. Le suivi de l'évolution de l'éluion des macromolécules constituant le polymère étudié est réalisé en sortie de colonne grâce à un détecteur qui mesure généralement la différence d'indice de réfraction entre la fraction éluée et une référence.

**Q. 16.** Pourquoi doit-on choisir un “bon solvant” comme éluant ?

**Q. 17.** Discuter de l'interaction d'une macromolécule avec un pore, en fonction de la taille de la macromolécule.

**Q. 18.** Expliquer comment la chromatographie d'exclusion stérique permet de séparer les macromolécules en fonction de leur taille, puis comparer de façon qualitative la taille des macromolécules ayant suivi les chemins **1** et **2** indiqués sur la figure 9.

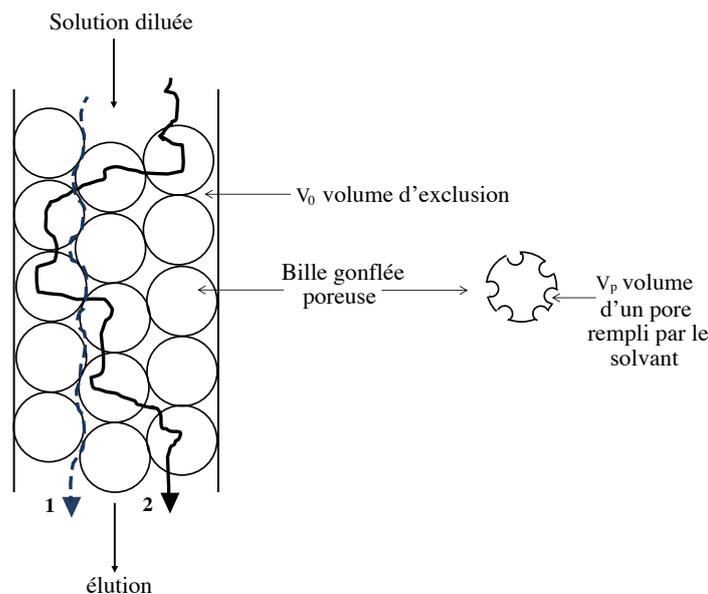


FIGURE 9 – Représentation schématique d'une chromatographie d'exclusion stérique.

Afin de déterminer la masse molaire des macromolécules éluées, il est nécessaire d'effectuer une courbe d'étalonnage au préalable. Pour cela, on élue des échantillons étalons dont les masses molaires moyennes en nombre et en masse sont connues. La figure 10 représente le chromatogramme typique d'une solution étalon de macromolécules. Les macromolécules sont détectées en sortie de colonne entre le volume d'exclusion  $V_0$ , et le volume  $V_t$  qui correspond à la somme du volume d'exclusion et de celui des pores.

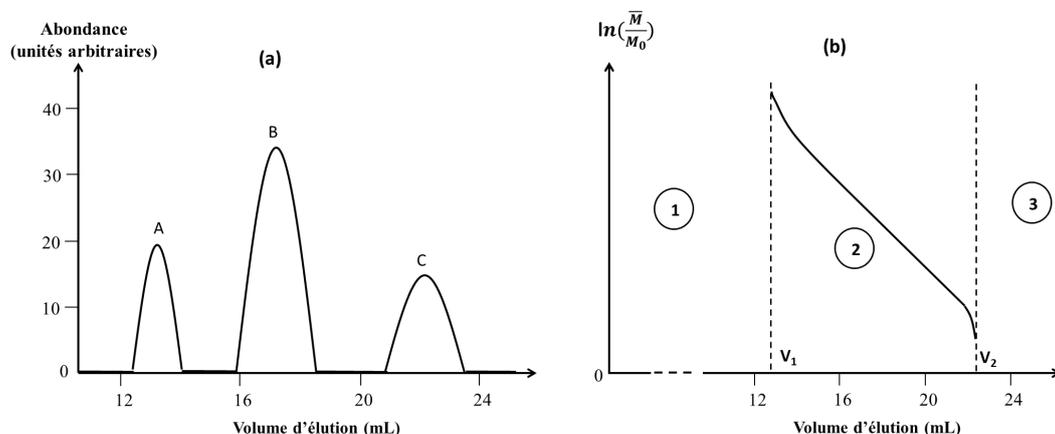


FIGURE 10 – (a) Chromatogramme d'une solution étalon. (b) Courbe d'étalonnage des masses molaires représentant  $\ln\left(\frac{\bar{M}}{M_0}\right)$  en fonction du volume d'élution (l'allure est la même pour  $\bar{M}_n$  et  $\bar{M}_w$ ;  $M_0 = 1 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

**Q. 19.** Donner l'expression du volume d'élution d'une macromolécule donnée, en fonction du volume d'exclusion  $V_0$ , du volume  $V_t$  et de  $x_j$ , la fraction du volume total des pores accessibles à la macromolécule  $j$ . Préciser à quel volume sont éluées les plus petites macromolécules.

**Q. 20.** Indiquer à quoi correspondent les zones 1, 2 et 3 de la courbe d'étalonnage des masses molaires représentée à la figure 10.b. Indiquer à quoi correspondent les volumes  $V_1$  et  $V_2$  de cette même figure.

En pratique, l'expérimentateur doit d'une part, découper le diagramme représentant la réponse du détecteur en fonction du volume d'élution en un grand nombre de tranches verticales de hauteur  $h_i$  et de fraction volumique  $\Delta V_i$ , et d'autre part, se servir de la courbe d'étalonnage donnant la correspondance entre le volume d'élution  $V_e$  et la masse  $M_i$ .

**Q. 21.** Expliquer comment on peut déterminer les masses molaires moyennes en nombre et en masse à partir de cette découpe du diagramme. La réponse pourra s'appuyer sur un schéma.

#### 1.4 Chromatographie d'affinité

Dans le milieu biologique il n'est pas rare de trouver des protéines de masses moléculaires proches. La chromatographie d'exclusion stérique n'est alors pas le moyen le plus efficace pour isoler une protéine particulière afin de l'étudier. La chromatographie d'affinité a été développée dans ce but. C'est une méthode qui permet l'extraction et la purification d'enzymes, la purification d'anticorps ou encore l'isolement des protéines et acides nucléiques. Cette technique de chromatographie permet de séparer un composé en utilisant des interactions entre un ligand spécifique greffé sur une matrice macromoléculaire, et le substrat à isoler. Nous allons ici nous intéresser à la purification d'une protéine par cette méthode.

Dans la pratique, on réalise une colonne dont le support solide interagit spécifiquement avec la protéine que l'on souhaite isoler. On élue ensuite la solution contenant la protéine d'intérêt ainsi que des protéines non désirées. La protéine d'intérêt se fixe sur la phase stationnaire de la colonne, tandis que les autres éluent à travers la colonne. Une fois toutes les impuretés éluées, on décroche la protéine d'intérêt de la phase stationnaire à l'aide d'un éluant spécifique, et on récupère ainsi la protéine purifiée.

La chromatographie d'affinité sur ions métalliques est une des techniques couramment utilisées pour ce type de chromatographie. On synthétise dans un premier temps un gel (phase stationnaire), fonctionnalisé avec des ligands permettant la complexation d'un ion métallique. Cet ion métallique est ensuite introduit et fixé quantitativement sur la phase stationnaire. Afin que la protéine d'intérêt interagisse spécifiquement avec cet ion métallique, on introduit par génie génétique un marqueur poly-histidine (six histidines au moins) dans sa séquence. Le groupement imidazole de l'histidine (figure 11) présente une très bonne affinité pour certains ions métalliques, notamment les ions cuivre(II), permettant ainsi à la protéine de se lier au gel. La figure 12 présente les différentes étapes de préparation du gel.

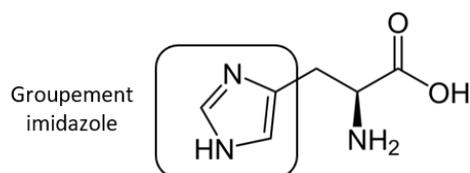


FIGURE 11 – Résidu histidine avec son groupement imidazole.

Le mélange à purifier est élué avec deux solutions aqueuses :

- **Solution 1** : tampon phosphate  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , NaCl  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , imidazole  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7
- **Solution 2** : tampon phosphate  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , NaCl  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , imidazole  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7

En sortie de colonne, on suit l'évolution de l'absorbance à 280 nm en fonction du volume élué. Le résultat est donné dans la figure 13.

**Q. 22.** Donner le mécanisme de la fonctionnalisation de la chaîne par l'acide iminodiacétique (IDA) (voir figure 12). Préciser pourquoi on se place à pH 10.

On s'intéresse au complexe formé par interaction de l'ion cuivre(II) avec le gel. Dans un premier temps, on étudie un complexe de cuivre en géométrie octaédrique :  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ . Le

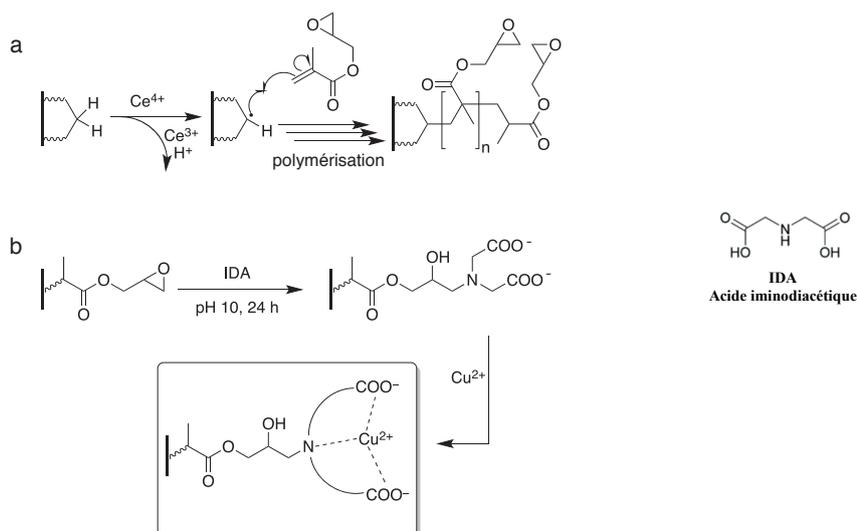


FIGURE 12 – Étapes de préparation du gel. (a) Greffage des fonctions époxydes. (b) Fonctionnalisation de la chaîne par l'acide iminodiacétique et fixation des ions cuivre(II).

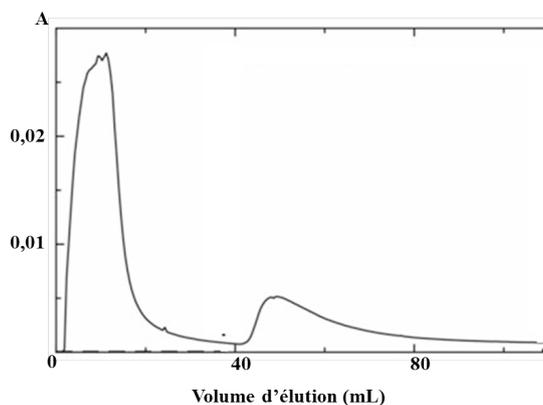


FIGURE 13 – Absorbance à 280 nm en fonction du volume d'éluion (d'après J. Chromatogr. A (2013) 1272, 145-149).

diagramme d'orbitales moléculaires de ce complexe ainsi que les orbitales du fragment  $(\text{H}_2\text{O})_6$  sont donnés dans la figure 14.

**Q. 23.** Donner les critères à considérer pour que des orbitales puissent interagir. Donner les orbitales du cuivre à considérer pour la construction du diagramme du complexe  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  et les représenter.

**Q. 24.** À quel type de ligand appartient  $\text{H}_2\text{O}$ ? En le justifiant, donner les interactions des orbitales du fragment  $(\text{H}_2\text{O})_6$  avec celles du métal. *Les éléments de symétrie des différentes orbitales seront présentés sous forme de tableau. L'orientation des axes donnée dans la figure 14 devra être respectée.* Justifier la levée de dégénérescence des orbitales  $d$  du métal observée.

Lorsque la protéine marquée par la chaîne poly-histidine se lie à l'ion cuivre(II) du gel, le complexe adopte une géométrie tétraédrique.

**Q. 25.** En le justifiant, préciser par quel atome du groupement imidazole l'histidine se lie au complexe de cuivre. Indiquer à quelle catégorie de ligands appartiennent les ligands de ce complexe.

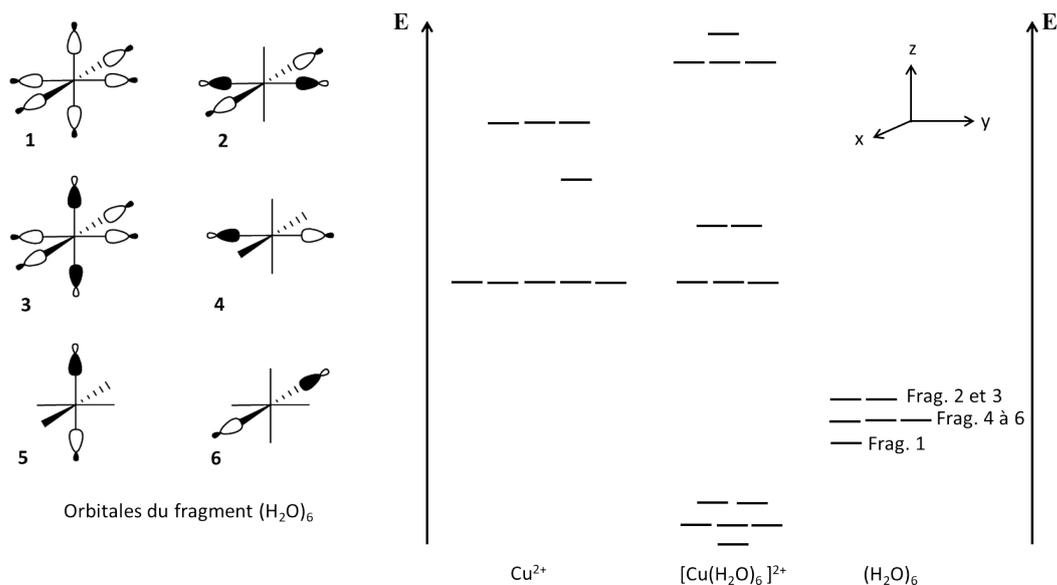


FIGURE 14 – Orbitales du fragment  $(\text{H}_2\text{O})_6$  et diagramme d'orbitales moléculaires du complexe  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ .

Pour simplifier son étude, on modélise le complexe formé dans le gel par le complexe tétraédrique  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ . Pour construire le diagramme d'orbitales moléculaires de ce complexe, on place le métal au centre d'un cube, et les ligands sur la moitié des sommets de ce cube. On considère chaque ligand  $\text{NH}_3$  comme étant uniquement  $\sigma$ -donneur, et l'orbitale  $\sigma$  par laquelle il intervient sera modélisée par une orbitale  $s$ . Les orbitales du fragment  $(\text{NH}_3)_4$  sont représentées dans la figure 15.

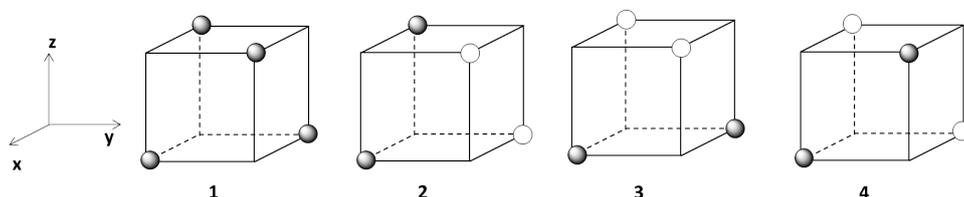


FIGURE 15 – Orbitales simplifiées du fragment  $(\text{NH}_3)_4$ . On place le repère au centre du cube.

**Q. 26.** Sachant qu'une orbitale du métal interagit *au maximum* avec une orbitale de fragment, représenter les quatre orbitales moléculaires *liantes* issues de l'interaction de  $\text{Cu}^{2+}$  avec  $(\text{NH}_3)_4$ . Justifier de façon concise le raisonnement employé.

**Q. 27.** À l'aide de la question précédente et du diagramme de  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ , représenter le diagramme d'orbitales moléculaires de  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ . Indiquer par des traits en pointillés de quelles orbitales de fragment sont issues les orbitales moléculaires. La forme des orbitales moléculaires ne sera pas représentée. Effectuer le remplissage électronique de ce diagramme et conclure sur la stabilité du complexe tétraédrique  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ .

**Q. 28.** Lors de la préparation du gel, pourquoi réalise-t-on une polymérisation pour greffer les groupements époxydes au lieu de directement fixer une petite molécule avec une fonction époxyde ?

**Q. 29.** Justifier pourquoi deux vagues sont observées sur le chromatogramme figure 13. Expliquer alors pourquoi on utilise deux solutions différentes pour l'élution.

**Q. 30.** Préciser pourquoi on se place à pH 7 dans les solutions d'éluion.

**Q. 31.** La solution **1** contient de l'imidazole en concentration  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . L'imidazole n'est pas nécessaire pour cette solution, néanmoins il améliore la purification. Proposer une explication quant à son utilisation dans cette solution.

**Q. 32.** Donner le rôle de l'imidazole dans la solution **2**, et justifier notamment sa concentration élevée. Indiquer quelle serait l'allure du chromatogramme figure 13 si on utilisait une solution **2** dix fois moins concentrée en imidazole.

Le mélange initial de protéines, ainsi que la protéine purifiée, peuvent être analysés par électrophorèse. L'électrophorèse classique est une méthode de caractérisation analogue à la chromatographie sur couche mince : les composés à analyser sont déposés sur un gel, puis on applique un champ électrique afin de réaliser une migration différentielle des molécules en fonction de leur mobilité électrique.

**Q. 33.** Justifier pourquoi on ne réalise pas une chromatographie sur couche mince classique pour l'analyse des protéines.

Pour étudier la mobilité d'une espèce dans un champ électrique, on considère dans un premier temps une particule sphérique de charge  $q$ , de rayon hydrodynamique  $r$  et immergée dans un solvant de viscosité  $\eta$ . Cette particule est mise en mouvement par l'action d'un champ électrique  $E$ , et subit une force de frottement due au solvant de norme  $F_f$  telle que

$$F_f = 6\pi\eta r v, \quad (3)$$

où  $v$  est la vitesse de la particule.

**Q. 34.** Montrer que la particule accélère jusqu'à atteindre une vitesse constante  $v$  proportionnelle à  $E$  telle que  $v = \mu_l E$ . Donner l'expression du facteur  $\mu_l$  appelé mobilité limite.

Afin de décrire la réalité du milieu électrophorétique, on ne considère plus une particule seule dans un solvant mais des particules de charge  $q$  en solution dans un liquide de pH donné et de force ionique fixe. On considère que durant l'expérience, le champ électrique est uniforme dans toute la solution, et que la force ionique et le pH de la solution restent inchangés. Le milieu, globalement neutre, est constitué d'anions et de cations, et chaque particule s'entoure donc d'un nuage d'ions (figure 16).

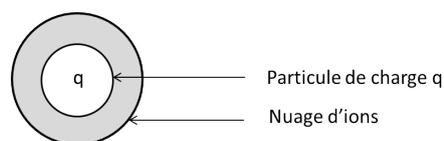


FIGURE 16 – Particule de charge  $q$ , en milieu ionique, entourée d'un nuage d'ions.

**Q. 35.** Déterminer la charge globale du nuage d'ions entourant une particule de charge  $q$ . Lorsque l'électrophorèse commence, on observe, par rapport à la situation de la question 34, l'apparition d'une nouvelle force  $F_r$  qui s'exerce sur la particule. Proposer une interprétation moléculaire pour cette force, et déterminer sa direction.

**Q. 36.** Donner l'expression de la mobilité  $\mu_e$  d'une particule en milieu électrophorétique en fonction notamment de  $F_r$ , et comparer cette mobilité  $\mu_e$  à la mobilité  $\mu_l$ . Pour des milieux de force ionique et de viscosité croissantes, discuter l'évolution de  $\mu_e$ . Indiquer quels paramètres de l'expérience peuvent être adaptés pour optimiser la séparation par électrophorèse dans ces conditions.

La vitesse à laquelle se déplace une protéine dans l'eau sous l'effet d'un champ électrique a été mesurée à différentes valeurs du pH. Les résultats sont regroupés dans le tableau 2. Le point isoélectrique est le pH pour lequel une espèce ionique présente une charge globale nulle.

pH	4,20	4,60	5,20	5,65	6,30	7,00
$v$ ( $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ )	0,50	0,18	-0,25	-0,65	-0,90	-1,25

TABLEAU 2 – Vitesse d'une protéine sous l'action d'un champ électrique  $E = 150 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  en fonction du pH.

**Q. 37.** À partir des données du tableau, déterminer le point isoélectrique de cette protéine. Déterminer sa mobilité électrophorétique  $\mu_e$  à pH = 4,2.

L'inconvénient de l'électrophorèse classique pour séparer des protéines est qu'il n'y a pas de corrélation entre la taille d'une protéine et sa charge nette. Ainsi, on ne sépare pas les protéines en fonction de leur masse moléculaire mais en fonction de leur charge. Pour y remédier, on a recours à la technique de SDS-PAGE. Dans cette méthode, le mélange initial de protéines, ainsi que les fractions éluées lors de la chromatographie d'affinité, sont analysés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium. Le dodécylsulfate de sodium (SDS) est un détergent ionique chargé dont la longue chaîne carbonée peut interagir avec la chaîne peptidique hydrophobe de la protéine. Ces interactions provoquent le dépliement de la protéine (voir figure 17). On retrouve en moyenne une molécule de SDS tous les deux acides aminés de la chaîne peptidique.

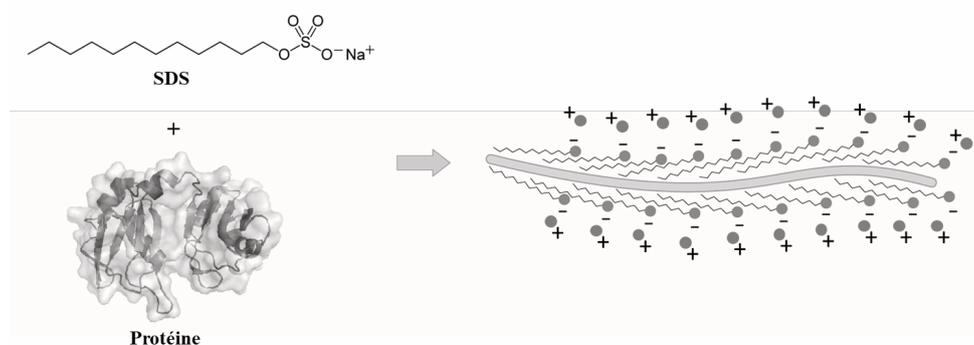


FIGURE 17 – Représentation schématique de l'interaction du SDS avec une protéine.

La figure 18 présente le résultat de la SDS-PAGE. Après migration, les protéines sont révélées à l'aide d'un indicateur coloré.

**Q. 38.** Justifier pourquoi le SDS permet de faire une séparation des protéines en fonction de leur masse molaire par rapport à une électrophorèse classique.

**Q. 39.** Analyser la SDS-PAGE réalisée à la figure 18. Conclure quant à la purification effectuée, et donner une valeur en kDa du poids moléculaire de la protéine d'intérêt.

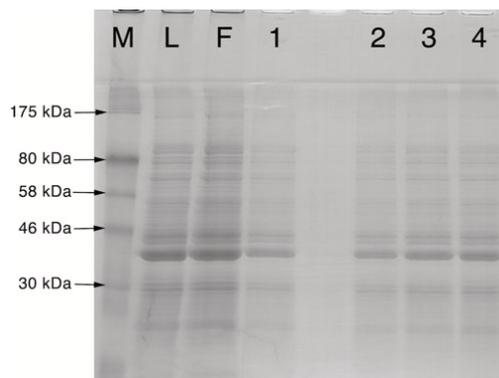


FIGURE 18 – SDS-PAGE du mélange initial (L), pendant le passage de la solution **1** (F), pendant le passage de la solution **2** (fractions 1 à 4 collectées au cours de la chromatographie d'affinité). M est un marqueur de masse moléculaire (d'après J. Chromatogr. A (2013) 1272, 145-149).

## 2 Deuxième partie : Action de l'acide zaragozique A sur l'organisme

*Cette partie représente environ 15% du total des points.*

### 2.1 Activité biologique de l'acide zaragozique A

Les médicaments interviennent dans l'organisme au niveau des voies métaboliques de production de certaines espèces. Par exemple l'aspirine est un anti-inflammatoire non stéroïdien qui inhibe la production de prostaglandines (agents de signalisation de l'organisme provoquant une inflammation locale), par interaction avec deux enzymes qui permettent leur production.

Pour qu'un médicament soit efficace avec un minimum de nocivité, il faut qu'il agisse sur la production d'une espèce responsable de la pathologie que l'on souhaite traiter, sans intervenir dans la production d'autres espèces. Dans le cas du cholestérol, deux principes actifs majeurs sont utilisés pour inhiber sa production : le Mevacor et l'acide zaragozique A. Leur mode d'action est représenté dans la voie métabolique du cholestérol sur la figure 19.

**Q. 40.** Si on considère le groupe transformé équivalent à un ester, indiquer quel type de transformation est mis en jeu pour former l'acide mévalonique **4**. Préciser quel réactif chimique pourrait être utilisé pour une telle réaction, et quel est l'avantage à mettre en œuvre une enzyme.

**Q. 41.** Justifier lequel des deux médicaments est le plus indiqué pour limiter les effets secondaires, en lien avec la figure 19.

### 2.2 Cinétique enzymatique : inhibition compétitive de la squalène synthase par l'acide zaragozique A

L'acide zaragozique A ralentit l'activité de l'enzyme squalène synthase, en formant de manière réversible un adduit inactif avec l'enzyme. C'est un inhibiteur compétitif efficace.

L'enzyme squalène synthase catalyse la réaction de dimérisation du farnesyl-pyrophosphate **5**, selon un profil cinétique caractéristique d'un mécanisme de Michaelis–Menten. L'évolution de la vitesse de formation du produit de réaction, en absence et en présence de l'inhibiteur **I** est représentée dans le graphe suivant (figure 20), suite à une étude cinétique.

Le mécanisme de l'enzyme michaelienne est décrit par 2 étapes successives. La première correspond à l'équilibre d'association de l'enzyme **E** avec le substrat **S**, formant l'adduit **ES**. La constante de l'équilibre de dissociation de **ES** est  $K_M$ , la constante michaelienne. La deuxième étape correspond à l'étape élémentaire de formation du produit **P**, avec la constante de vitesse  $k$ . En présence de l'inhibiteur **I**, un équilibre compétitif s'ajoute, avec l'association de l'enzyme **E** et de **I**, formant l'adduit **EI**. La constante de l'équilibre de dissociation de **EI** est  $K_I$ , la constante d'inhibition.

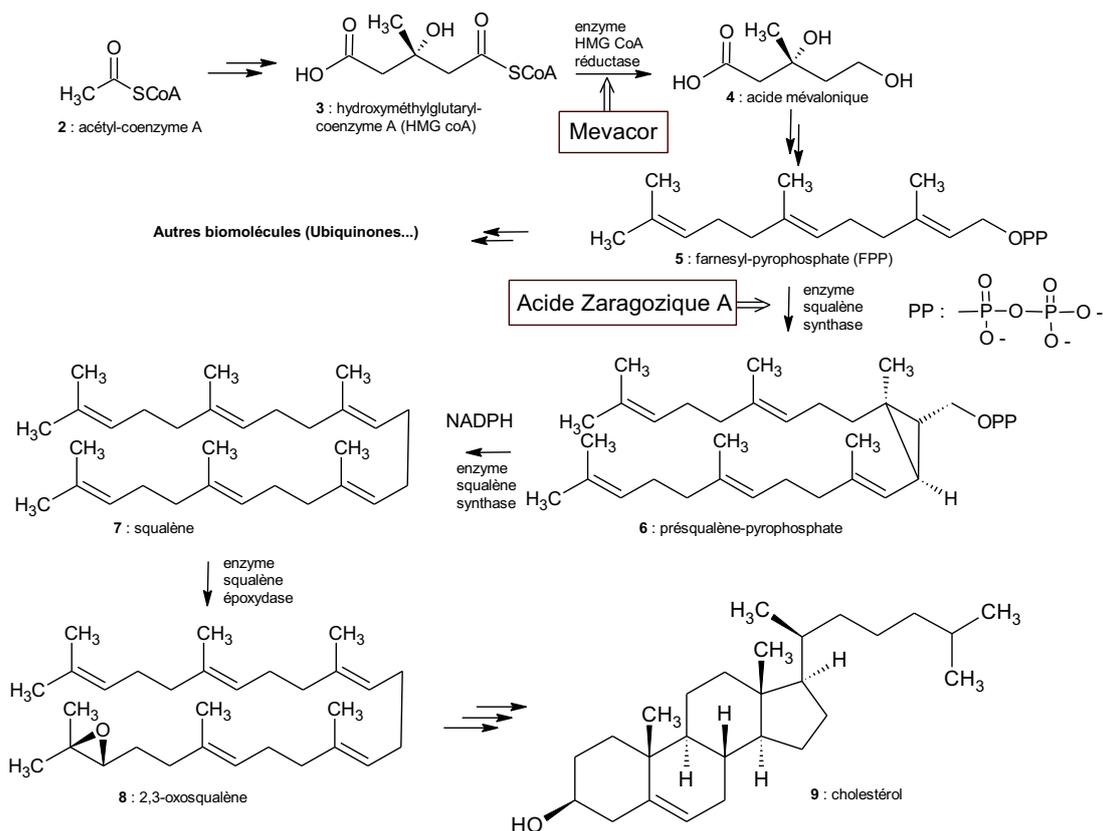


FIGURE 19 – Voie métabolique simplifiée du cholestérol 9.

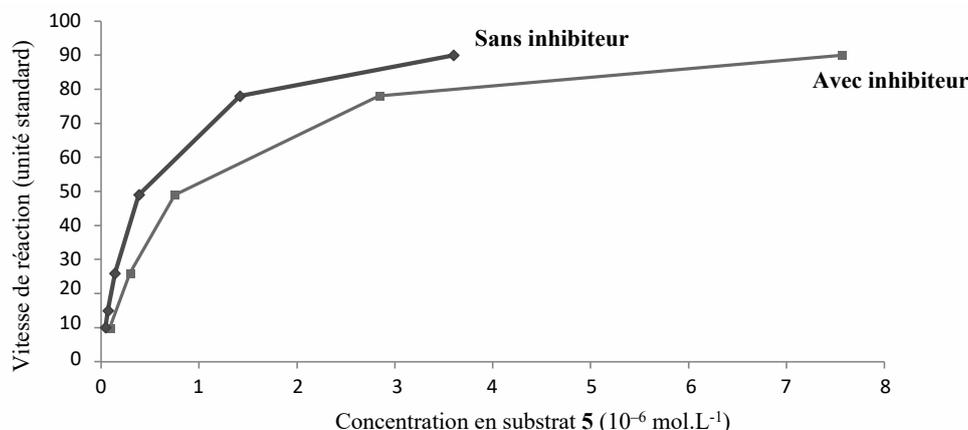


FIGURE 20 – Dépendance de la vitesse de réaction de l'enzyme **E** squalène synthase, en fonction de la concentration en substrat **S** 5; mesures en absence d'inhibiteur **I**, ou en présence de l'inhibiteur **I** acide zaragozique A, à la concentration de  $8 \cdot 10^{-11} \text{ mol.L}^{-1}$ .

**Q. 42.** Les enzymes sont essentielles pour les êtres vivants car elles catalysent de nombreuses réactions. Donner l'allure d'un profil réactionnel simple avec et sans catalyseur. Expliciter l'influence de la catalyse sur la thermodynamique et la cinétique d'une réaction.

**Q. 43.** Représenter les schémas réactionnels sans et avec l'inhibiteur **I**. Exprimer  $V$ , la loi cinétique de l'étape de formation du produit **P**.

**Q. 44.** En absence d'inhibiteur, exprimer le bilan de matière de l'enzyme. Exprimer la vitesse maximale de réaction  $V_{\max}$ , en fonction de la concentration totale introduite de l'enzyme  $[E]_T$ . Exprimer la vitesse de réaction  $V$ , en fonction de  $V_{\max}$ , de  $K_M$  et de la concentration en substrat

[S].

**Q. 45.** Si l'on se place dans les conditions réactionnelles où la vitesse de réaction  $V$  mesurée est égale à la moitié de  $V_{\max}$ , estimer la valeur numérique de  $K_M$  à partir des données expérimentales de la figure 20.

**Q. 46.** En présence de l'inhibiteur **I**, exprimer le bilan de matière de l'enzyme. Exprimer la vitesse maximale de réaction  $V_{\max}$ , en fonction de la concentration totale introduite de l'enzyme  $[E]_T$ . Conclure sur l'effet de l'inhibiteur compétitif **I** sur la vitesse maximale de l'enzyme michaelienne.

**Q. 47.** Exprimer la vitesse de réaction  $V$ , en fonction de  $V_{\max}$ , de  $K_M$ , de  $K_I$ , des concentrations en substrat [S] et inhibiteur [I].

On note la constante michaelienne apparente  $K_M^{\text{app}}$  :

$$K_M^{\text{app}} = K_M \left( 1 + \frac{[I]}{C^{\circ} K_I} \right) \quad (4)$$

où  $C^{\circ}=1 \text{ mol.L}^{-1}$  est la concentration standard.

**Q. 48.** Si l'on se place dans les conditions réactionnelles où la vitesse de réaction  $V$  mesurée est égale à la moitié de  $V_{\max}$ , estimer la valeur numérique de  $K_M^{\text{app}}$  à partir des données expérimentales de la figure 20.

**Q. 49.** Indiquer le rapport numérique entier entre les valeurs de  $K_M^{\text{app}}$  et de  $K_M$ . Dans ces conditions, estimer la valeur numérique de  $K_I$  à partir des données expérimentales de la figure 20.

Du point de vue pharmacologique, il est commode d'estimer l'efficacité de l'inhibition d'une enzyme par la valeur  $CI_{50}$  de la concentration en inhibiteur permettant de limiter l'activité enzymatique à 50%. La formule de Cheng-Prusoff permet d'estimer cette valeur :

$$K_I = \frac{CI_{50}}{C^{\circ} + \frac{[S]}{K_M}} \quad (5)$$

Les tests d'efficacité pharmacologique ont été réalisés pour une concentration en substrat optimale de 5 micromoles par litre.

**Q. 50.** Estimer la valeur de la  $CI_{50}$ . Que penser de l'efficacité de l'acide zaragozique? Un inhibiteur peut être caractérisé par deux grandeurs,  $K_I$  et  $CI_{50}$ , comparer la pertinence de ces deux indicateurs en vue d'une utilisation médicale.

### 3 Troisième partie : Synthèse totale de l'acide zaragozique A

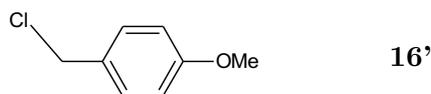
*Cette partie représente environ 45% du total des points.*

Les acides zaragoziques sont une famille de molécules naturelles produites par deux champignons : *Sporomielles intermedia* et *L. elatius*. Ils ne sont cependant accessibles qu'en petite quantité via ces champignons, et il a été nécessaire de mettre au point la synthèse totale de l'acide zaragozique A.

#### 3.1 Première cible : l'intermédiaire clé 31

La premier réactif est très peu coûteux car il est utilisé pour la préparation industrielle du solvant THF, il s'agit du but-2-yne-1,4-diol **16**.

**Q. 51.** Proposer les conditions permettant la préparation du di-éther **17** correspondant, à partir du chlorure de *para*-méthoxybenzyle Cl-PMB **16'**. Vous discuterez du choix de la base. Proposer la structure de **17**.



La seconde étape correspond à l'hydrostannation de la fonction alcyne de **17**, par réaction du tributylstannane  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ , en présence de  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2]$ , générant l'alcène **18**. Le cycle catalytique est proposé à la figure 21.

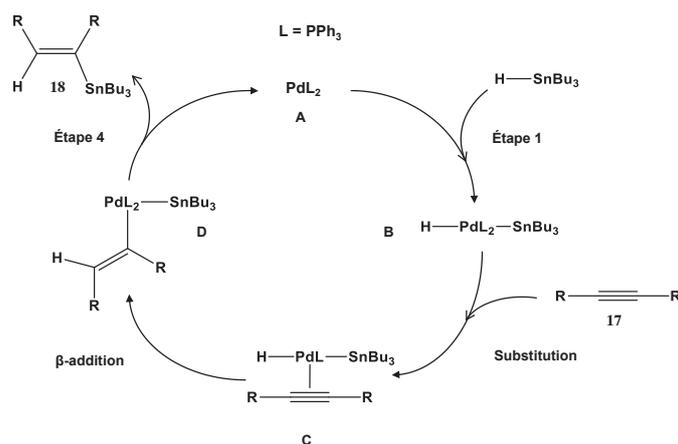
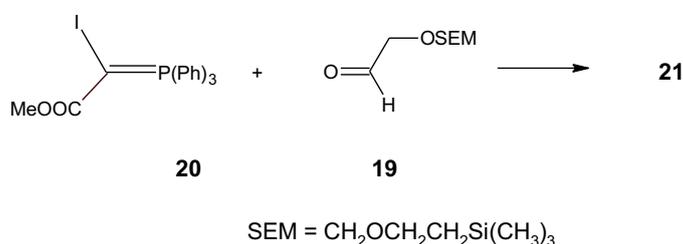


FIGURE 21 – Cycle catalytique de la réaction d'hydrostannation.

**Q. 52.** Nommer les étapes 1 et 4 du cycle et donner le degré d'oxydation du palladium dans les intermédiaires **A**, **B**, **C** et **D**. Préciser la structure du produit **18** formé.

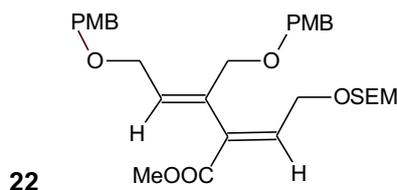
**Q. 53.** Illustrer à l'aide d'orbitales moléculaires les phénomènes de  $\sigma$ -donation et de  $\pi$ -rétrodonation ayant lieu lors de la coordination d'un alcyne avec le palladium. On limitera l'étude aux orbitales  $\pi$  de l'alcyne pointant vers le palladium. En déduire alors si un appauvrissement électronique du complexe de palladium permet de favoriser cette coordination.

Le deuxième réactif est l'alpha-aldol protégé **19**. Il réagit avec l'ylure de phosphore **20**, générant le produit **21**.



**Q. 54.** Donner la structure du produit **21** formé, sachant qu'il est de stéréochimie *Z*. Expliquer pourquoi le groupe hydroxyle du réactif **19** doit être protégé.

Les produits **18** et **21** sont ensuite couplés par réaction de Stille, catalysée au palladium, conduisant au produit **22** suivant :



L'étape suivante met en œuvre une réaction de dihydroxylation asymétrique, utilisant  $\text{OsO}_4$  en présence d'un ligand optiquement actif.

**Q. 55.** Préciser le degré d'oxydation du métal osmium et en déduire son caractère électrophile ou nucléophile, et donc la double liaison de l'intermédiaire **22** qui devrait réagir préférentiellement lors de la dihydroxylation

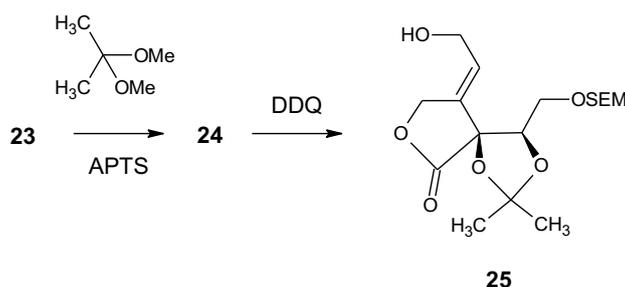
En réalité, c'est l'autre double liaison qui réagit très sélectivement. L'étude de la structure cristalline de **22** par diffraction des rayons X montre que le groupement ester est perpendiculaire à l'alcène.

**Q. 56.** Expliquer pourquoi ce n'est pas la géométrie attendue, et quelle pourrait être la cause de cette déformation. Expliquer en quoi cela modifie significativement les propriétés électroniques de l'alcène voisin, et proposer la structure du produit **23** formé.

Le composé **23** réagit avec le 2,2-diméthoxypropane, en présence d'une quantité catalytique de l'acide *para*-toluènesulfonique APTS, pour former le cétal **24**.

**Q. 57.** Donner la structure du produit **24**. Par analogie avec le mécanisme de la cétalisation par une cétone, proposer un mécanisme pour la formation de **24**. Quel est le rôle de l'APTS ?

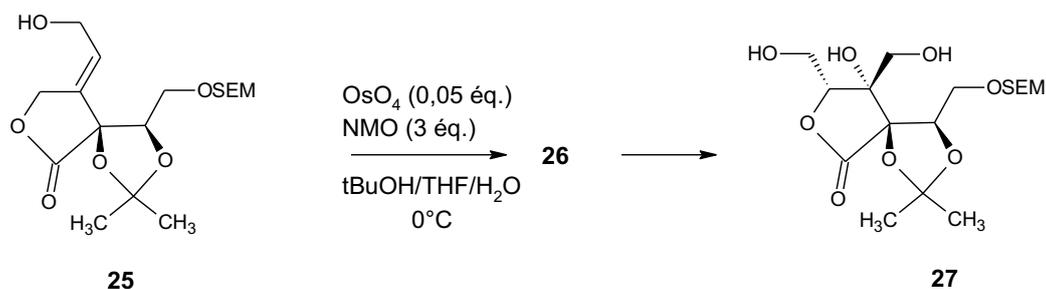
L'étape suivante est la déprotection sélective du produit **24**, par oxydation douce en employant la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ). Après hydrolyse *in situ*, le diol obtenu se cyclise et génère le produit **25**.



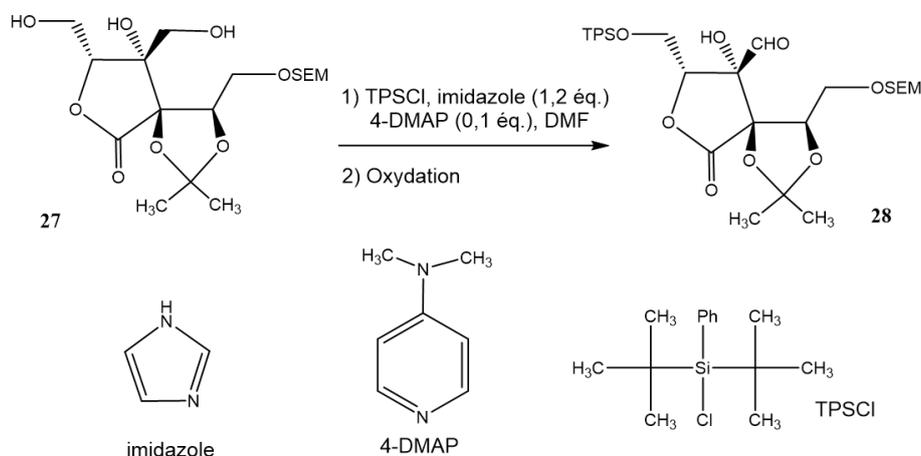
**Q. 58.** Indiquer le rôle de l'étape formant **24**. Comment se nomme la réaction de cyclisation générant **25** ? Expliquer pourquoi elle est régiosélective.

L'étape suivante met en jeu le tétraoxyde d'osmium en quantité catalytique et l'oxydant *N*-oxo-*N*-méthylmorpholine NMO. Le produit **26** obtenu présente un seul diastéréoisomère.

**Q. 59.** Donner les deux stéréoisomères de **26** que l'on peut obtenir. Proposer le mécanisme pour la formation de **27** en milieu acide, sans tenir compte de la stéréochimie. En déduire le stéréoisomère de **26** qui se forme effectivement.



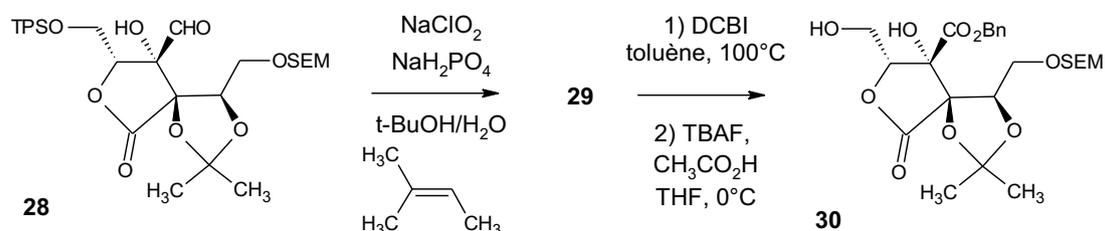
La première étape de la réaction suivante met en œuvre le di-tert-butylchlorophénylsilane TPSCl, en présence d'imidazole et de 4-diméthylaminopyridine (4-DMAP).



**Q. 60.** Quel type de transformation s'établit lors de la première étape? Expliquer l'importance de l'encombrement des substituants du silicium pour la régiosélectivité de la réaction.

L'étape suivante forme l'intermédiaire **29** par réaction d'oxydoréduction.

**Q. 61.** Calculer les degrés d'oxydation du chlore et du phosphore, dans les réactifs employés. Les degrés d'oxydation stables du phosphore et du chlore sont respectivement : +III, +IV, +V et 0, -I. En déduire le réactif actif en oxydoréduction. Préciser le site réactif de **28**. Le 2-méthylbut-2-ène piège le dichlore. Proposer les 2 couples redox mis en jeu, les demi-réactions redox impliquées et la réaction bilan. En déduire la structure de **29**.



La réaction suivante conduit à la formation de l'ester benzylique **30**. Dans une première étape, **29** réagit avec le DCBI (N,N'-dicyclohexyl-O-benzylisourée), en libérant l'alcool benzylique pour former **29'**.



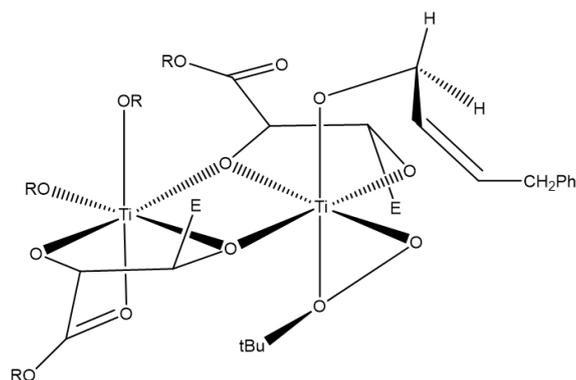


FIGURE 22 – Proposition d'état de transition pour l'époxydation asymétrique.

dans le complexe de titane représenté figure 22. En déduire la stéréochimie de l'énantiomère majoritairement obtenu (excès énantiomérique de 81%).

L'époxyde obtenu peut être qualitativement décrit par les orbitales moléculaires (O.M.) du cycle de l'oxirane  $C_2H_4O$  (figure 23). Elles sont générées par recouvrement des O.M. de l'alcène participant à l'interaction avec les orbitales atomiques (O.A.) de valence de l'oxygène, positionnées comme indiqué sur la figure.

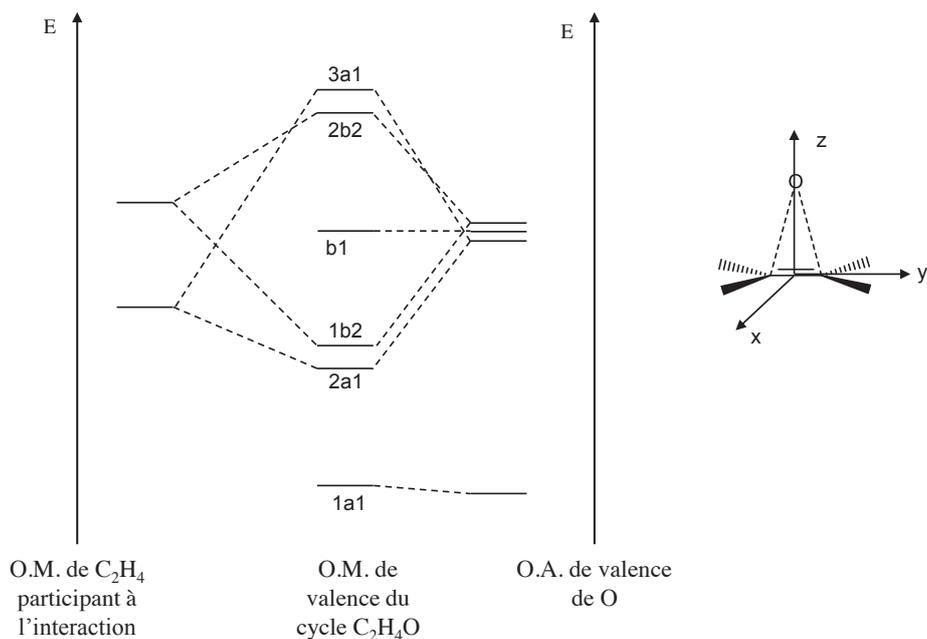
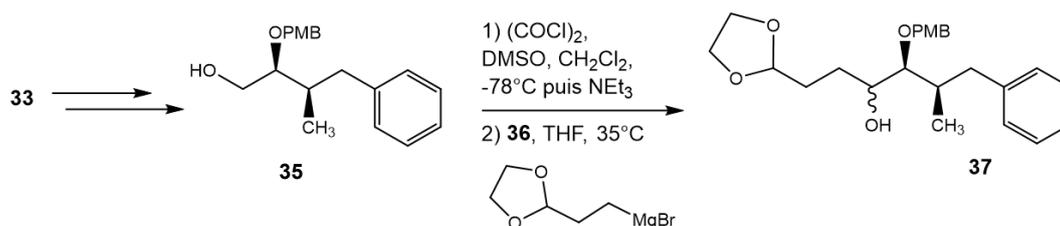


FIGURE 23 – Diagramme des orbitales moléculaires de valence du cycle de l'oxirane.

**Q. 66.** En considérant la symétrie et les niveaux d'énergie des O.M. de  $C_2H_4$ , justifier que seules deux O.M. soient à prendre en compte dans ce diagramme. Effectuer le remplissage électronique du diagramme d'O.M., identifier les orbitales frontalières et les représenter. Préciser pour les orbitales H.O. (plus haute occupée) et B.V. (plus basse vacante) sur quel fragment l'O.M. est la plus développée.

**Q. 67.** À partir de l'analyse des orbitales, expliquer quel site du cycle présentera une réactivité nucléophile, et lequel présentera une réactivité électrophile. Indiquer alors l'angle d'approche optimal vers le cycle.

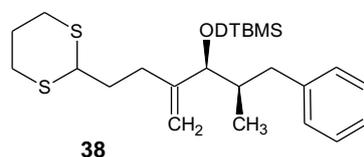
Des étapes supplémentaires permettent de passer de **33** à **35**.



**Q. 68.** Préciser la structure du produit formé après la première étape de transformation de **35**.

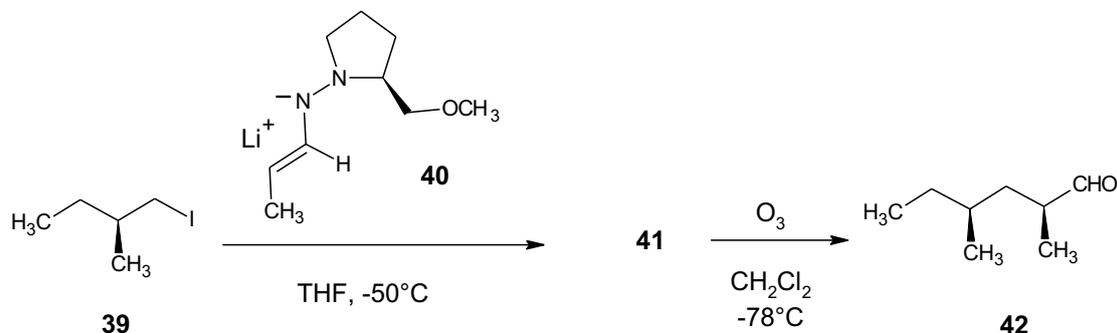
**Q. 69.** La seconde étape fait réagir le composé organométallique **36**. Préciser le mécanisme réactionnel et les précautions opératoires importantes à suivre. Justifier la représentation de la liaison C-O en zigzag, dans le produit **37** formé.

Les derniers aménagements fonctionnels conduisent à la chaîne latérale aliphatique  $\text{C}_1$  **38**.



### 3.3 Troisième cible : chaîne latérale ester $\text{C}_6$ **43**

Le réactif **39** (voir schéma réactionnel ci-dessous) est disponible commercialement sous forme énantiomériquement pure. Le réactif **40** est obtenu par déprotonation de l'hydrazone SAMP, énantiomériquement pure, en employant le diisopropylamide de lithium.

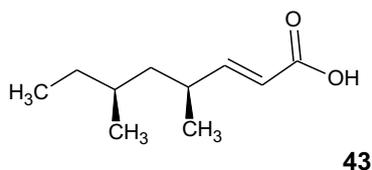


**Q. 70.** Par analogie avec la réactivité des cétones, indiquer quel type de réaction conduit au produit intermédiaire **41**. Représenter la structure de **41**.

**Q. 71.** Cette réaction produit **41** avec un excès diastéréoisomérique de 92%. Montrer que la double coordination de l'ion lithium par l'anion hydrazone **40**, permet de former un cycle à 6 membres incluant l'atome d'oxygène. Représenter les conformations possibles du cycle. À partir de la conformation la plus stable, représenter la face favorable pour l'approche de l'iodure **39** sachant que les atomes  $\text{Li-N-C=C}$  sont dans un même plan, vérifier l'obtention du diastéréoisomère majoritaire. Quelle est la proportion de cet isomère ?

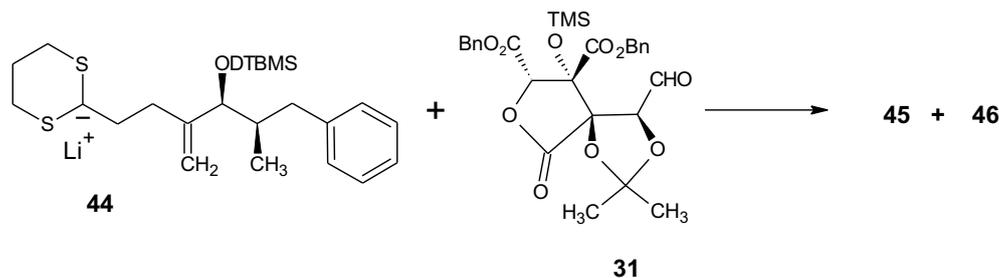
**Q. 72.** Représenter la structure de Lewis de l'ozone  $\text{O}_3$  et expliquer la première étape du mécanisme conduisant à l'aldéhyde **42**. Quelle a été l'utilité de l'hydrazone **40** dans cette séquence de la synthèse ?

L'extension de la chaîne de ce produit est ensuite réalisée, par réaction de Wittig, puis l'hydrolyse de la fonction ester introduite, pour générer la chaîne latérale  $\text{C}_6$  **43**.



### 3.4 Couplages, réarrangement, finalisation de la synthèse

Le traitement de **38** par un équivalent de butyllithium dans le THF, à  $-25^{\circ}\text{C}$ , conduit à la formation de l'organolithié **44**. Il réagit ensuite à  $-78^{\circ}\text{C}$  sur le produit **31**, afin de générer le mélange de stéréoisomères **45** et **46**, après hydrolyse.



**Q. 73.** Expliquer quelle réaction s'établit, en justifiant sa chimiosélectivité. Préciser quel centre stéréogène distingue les isomères formés. L'isomère **46** est séparé par chromatographie et utilisé pour la suite de la synthèse. Le représenter, avec la configuration R sur le centre distinctif.

**Q. 74.** La fonction éther silylé la moins encombrée, R-OTMS, du produit **46** est déprotégée. Proposer un mode opératoire adéquat.

**Q. 75.** Ensuite, la fonction dithiane (figure 24) est hydrolysée. En raisonnant par analogie avec la réactivité des acétals déduire la fonction alors libérée dans le produit **47**? Représenter la structure de **47**.

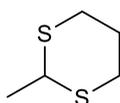
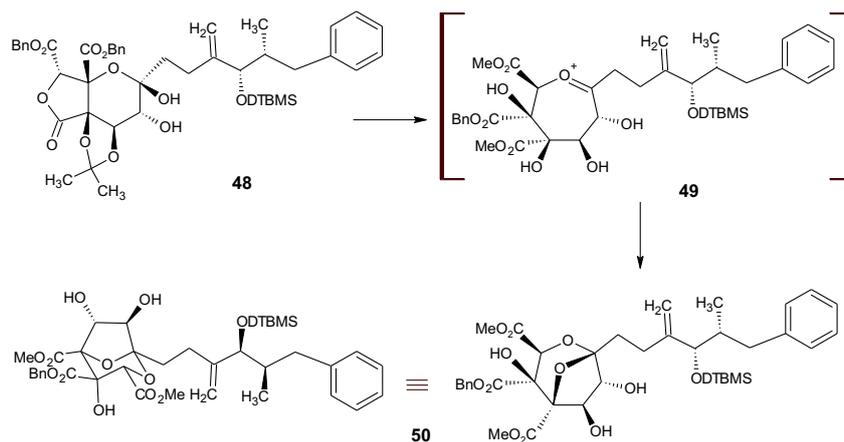


FIGURE 24 – Exemple de dithiane.

Le produit **47** se cyclise spontanément dans le milieu acide, par hémicétalisation intramoléculaire, générant le tricyclic **48** (représenté dans le schéma réactionnel ci-dessous).

**Q. 76.** Proposer le mécanisme de cyclisation.

Le produit **48** se réarrange en milieu acide, à reflux dans le méthanol durant 21 h, formant le produit **50** qui présente la structure du cœur de l'acide zaragozique. L'étude cinétique et les essais de piégeage mettent en évidence l'apparition de nombreux produits intermédiaires; en particulier l'intermédiaire **49** qui apparaît en fin du processus de réarrangement.

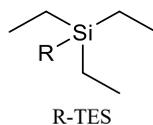


**Q. 77.** Proposer un mécanisme pour la cyclisation de l'intermédiaire **49** vers le produit **50**. Justifier la régiosélectivité de cette réaction.

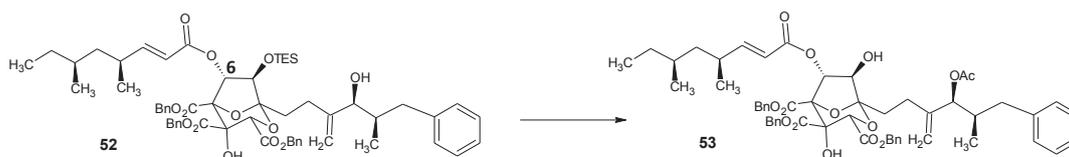
L'étape suivante consiste en une déprotection/reprotection du produit **50**, avec conversion de toutes les fonctions esters en esters benzyliques  $\text{RCO}_2\text{Bn}$  dans le produit **51**.

**Q. 78.** Expliquer pourquoi des fonctions esters méthyliques sont apparues dans le produit **50**. Pour quelle raison est-il nécessaire de modifier la nature des esters ?

Les deux étapes suivantes procèdent à des ajustements de groupes protecteurs ainsi qu'au couplage de la chaîne latérale **43** estérifiant l'alcool en  $\text{C}_6$ , générant le produit **52**. Le groupement TES correspond à l'éther de triéthylsilyle.

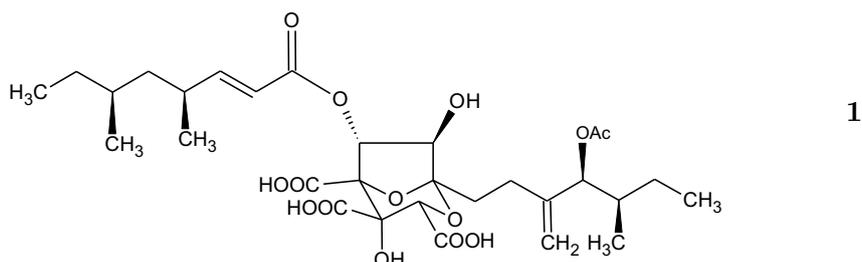


**Q. 79.** Proposer une méthode efficace et adaptée pour cette estérification.



**Q. 80.** L'étape suivante comprend deux réactions, proposer les conditions opératoires pour les réaliser et expliquer dans quel ordre les effectuer, afin d'obtenir le produit **53**.

**Q. 81.** L'étape finale conduit à l'acide zaragozique **1**. Proposer les conditions opératoires pour la réaliser, de manière analogue au traitement des éthers benzyliques.



# Annexe

- Constante d'Avogadro :  $N_A = 6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
- Constante de Boltzmann :  $k_B = 1,38 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$
- Constante des gaz parfaits :  $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

**Classification périodique des éléments**

18 VIIIA	2	4.0025	He	18 VIIA	17	17.004	Cl	16 VIA	16	15.999	O	15 VA	15	14.007	N	14 IVA	14	13.003	C	13 IIIA	13	10.811	B	5
	10	20.180	Ne	9	18.998	F	8	15.999	8	14.007	7	14.007	7	14.007	7	14.007	6	12.011	6	12.011	6	10.811	5	
	18	39.948	Ar	17	35.453	Cl	16	32.065	16	30.974	15	30.974	15	30.974	15	28.086	14	28.086	14	28.086	13	26.982	13	
	36	83.8	Kr	35	79.904	Br	34	78.96	34	74.922	33	74.922	33	74.922	33	72.64	32	72.64	32	72.64	31	69.723	31	
	54	131.29	Xe	53	126.9	I	52	127.6	52	121.76	51	121.76	51	121.76	51	118.71	50	118.71	50	118.71	49	114.82	49	
	86	222	Rn	85	210	At	84	209	84	208.98	83	208.98	83	208.98	83	207.2	82	207.2	82	207.2	81	204.38	81	
	118	294	Og	117	292	Ts	116	293	116	288	115	288	115	288	115	289	114	289	114	289	113	284	113	
	12	112	Cn	111	112	Uu	110	112	110	111	110	111	110	111	110	109	108	109	108	109	107	106	105	
	110	285	Fl	109	284	Uu	108	285	108	286	107	286	107	286	107	284	106	285	107	284	105	282	104	
	108	289	Uu	107	288	Uu	106	289	106	290	105	290	104	289	105	286	104	287	105	286	103	282	102	
	106	288	Uu	105	287	Uu	104	288	104	289	103	289	102	288	103	286	102	287	103	286	101	282	100	
	104	285	Uu	103	284	Uu	102	285	102	286	101	286	100	285	101	284	100	285	101	284	99	282	98	
	102	283	Uu	101	282	Uu	100	283	100	284	99	284	98	283	99	282	98	283	99	282	97	280	96	
	100	281	Uu	99	280	Uu	98	281	98	282	97	282	96	281	97	280	96	281	97	280	95	278	94	
	98	279	Uu	97	278	Uu	96	279	96	280	95	280	94	279	95	278	94	279	95	278	93	276	92	
	96	277	Uu	95	276	Uu	94	277	94	278	93	278	92	277	93	276	92	277	93	276	91	274	90	
	94	275	Uu	93	274	Uu	92	275	92	276	91	276	90	275	91	274	90	275	91	274	89	272	88	
	92	273	Uu	91	272	Uu	90	273	90	274	89	274	88	273	89	272	88	273	89	272	87	270	86	
	90	271	Uu	89	270	Uu	88	271	88	272	87	272	86	271	87	270	86	271	87	270	85	268	84	
	88	269	Uu	87	268	Uu	86	269	86	270	85	270	84	269	85	268	84	269	85	268	83	266	82	
	86	267	Uu	85	266	Uu	84	267	84	268	83	268	82	267	83	266	82	267	83	266	81	264	80	
	84	265	Uu	83	264	Uu	82	265	82	266	81	266	80	265	81	264	80	265	81	264	79	262	78	
	82	263	Uu	81	262	Uu	80	263	80	264	79	264	78	263	79	262	78	263	79	262	77	260	76	
	80	261	Uu	79	260	Uu	78	261	78	262	77	262	76	261	77	260	76	261	77	260	75	258	74	
	78	259	Uu	77	258	Uu	76	259	76	260	75	260	74	259	75	258	74	259	75	258	73	256	72	
	76	257	Uu	75	256	Uu	74	257	74	258	73	258	72	257	73	256	72	257	73	256	71	254	70	
	74	255	Uu	73	254	Uu	72	255	72	256	71	256	70	255	71	254	70	255	71	254	69	252	68	
	72	253	Uu	71	252	Uu	70	253	70	254	69	254	68	253	69	252	68	253	69	252	67	250	66	
	70	251	Uu	69	250	Uu	68	251	68	252	67	252	66	251	67	250	66	251	67	250	65	248	64	
	68	249	Uu	67	248	Uu	66	249	66	250	65	250	64	249	65	248	64	249	65	248	63	246	62	
	66	247	Uu	65	246	Uu	64	247	64	248	63	248	62	247	63	246	62	247	63	246	61	244	60	
	64	245	Uu	63	244	Uu	62	245	62	246	61	246	60	245	61	244	60	245	61	244	59	242	58	
	62	243	Uu	61	242	Uu	60	243	60	244	59	244	58	243	59	242	58	243	59	242	57	240	56	
	60	241	Uu	59	240	Uu	58	241	58	242	57	242	56	241	57	240	56	241	57	240	55	238	54	
	58	239	Uu	57	238	Uu	56	239	56	240	55	240	54	239	55	238	54	239	55	238	53	236	52	
	56	237	Uu	55	236	Uu	54	237	54	238	53	238	52	237	53	236	52	237	53	236	51	234	50	
	54	235	Uu	53	234	Uu	52	235	52	236	51	236	50	235	51	234	50	235	51	234	49	232	48	
	52	233	Uu	51	232	Uu	50	233	50	234	49	234	48	233	49	232	48	233	49	232	47	230	46	
	50	231	Uu	49	230	Uu	48	231	48	232	47	232	46	231	47	230	46	231	47	230	45	228	44	
	48	229	Uu	47	228	Uu	46	229	46	230	45	230	44	229	45	228	44	229	45	228	43	226	42	
	46	227	Uu	45	226	Uu	44	227	44	228	43	228	42	227	43	226	42	227	43	226	41	224	40	
	44	225	Uu	43	224	Uu	42	225	42	226	41	226	40	225	41	224	40	225	41	224	39	222	38	
	42	223	Uu	41	222	Uu	40	223	40	224	39	224	38	223	39	222	38	223	39	222	37	220	36	
	40	221	Uu	39	220	Uu	38	221	38	222	37	222	36	221	37	220	36	221	37	220	35	218	34	
	38	219	Uu	37	218	Uu	36	219	36	220	35	220	34	219	35	218	34	219	35	218	33	216	32	
	36	217	Uu	35	216	Uu	34	217	34	218	33	218	32	217	33	216	32	217	33	216	31	214	30	
	34	215	Uu	33	214	Uu	32	215	32	216	31	216	30	215	31	214	30	215	31	214	29	212	28	
	32	213	Uu	31	212	Uu	30	213	30	214	29	214	28	213	29	212	28	213	29	212	27	210	26	
	30	211	Uu	29	210	Uu	28	211	28	212	27	212	26	211	27	210	26	211	27	210	25	208	24	
	28	209	Uu	27	208	Uu	26	209	26	210	25	210	24	209	25	208	24	209	25	208	23	206	22	
	26	207	Uu	25	206	Uu	24	207	24	208	23	208	22	207	23	206	22	207	23	206	21	204	20	
	24	205	Uu	23	204	Uu	22	205	22	206	21	206	20	205	21	204	20	205	21	204	19	202	18	
	22	203	Uu	21	202	Uu	20	203	20	204	19	204	18	203	19	202	18	203	19	202	17	200	16	
	20	201	Uu	19	200	Uu	18	201	18	202	17	202	16	201	17	200	16	201	17	200	15	198	14	
	18	199	Uu	17	198	Uu	16	199	16	200	15	200	14	199	15	198	14	199	15	198	13	196	12	
	16	197	Uu	15	196	Uu	14	197	14	198	13	198	12	197	13	196	12	197	13	196	11	194	10	
	14	195	Uu	13	194	Uu	12	195	1															

