

Corrigé :
TP Hulis

Lumières sur le vivant : Protéines fluorescentes et senseurs optogénétiques
AC : Fabienne Mérola, Hélène Pasquier et Marie Erard

I. Spectroscopie UV.

1. Donner la formule associant l'énergie d'une transition électronique entre 2 niveaux à la longueur d'onde de la lumière émise ou absorbée associée.

$$\Delta E = E(\text{LUMO}) - E(\text{HOMO}) = hc/\lambda$$

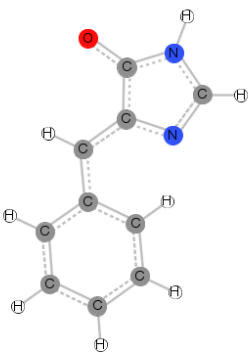
Attention, on prend toujours l'énergie la plus haute moins l'énergie la plus basse car l'énergie d'un photon est positive. Une longueur d'onde est positive.

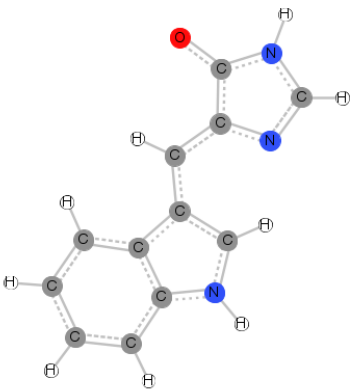
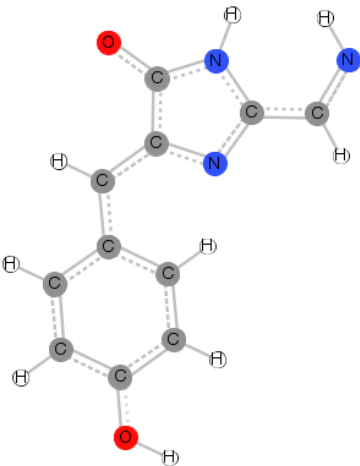
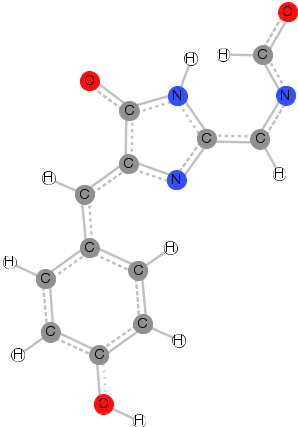
2. A l'aide du logiciel Hulis, retrouver les tendances des couleurs émises ou absorbées. On ne cherchera pas dans cette question à retrouver exactement les valeurs des longueurs d'onde, mais plutôt un classement qualitatif. On se limitera à l'étude comparative des composés dénommés : Sirius, ECFP, mOrange et DsRed. Proposer une explication à la tendance observée pour les couleurs. Essayer d'interpréter les résultats obtenus pour Sirius et ECFP, en lien avec la structure de ces composés.

Ici, on va prendre uniquement la partie conjuguée des molécules (celle qui est en couleur dans l'article) et on va récupérer les énergies de la LUMO et de la HOMO. On va ainsi pouvoir comparer les différences ΔE , énergie du photon émis. Plus ΔE est grand, plus cela correspond à une longueur d'onde λ petite, plus la couleur émise sera vers le bleu. Plus ΔE est petit, plus cela correspond à une longueur d'onde λ grande, plus la couleur émise sera vers le rouge.

Ci-dessous les dessins des parties conjuguées (en remplaçant le reste de la molécule par des hydrogène) :

Tableau 1 : Dessin du modèle dessiné sur Hulis et énergies de Hückel récupérées dans le cas où la partie non conjuguée de la molécule est modélisée par un H.

Sirius : 	Etot = $14\alpha + 20,98\beta$ Homo = $\alpha + 0,51\beta$ Lumo = $\alpha - 0,26\beta$ $\Delta E = -0,77\beta$
ECFP :	Etot = $18\alpha + 27,05\beta$ Homo = $\alpha + 0,40\beta$ Lumo = $\alpha - 0,37\beta$

 <p>The structure shows a benzene ring connected to a five-membered ring containing two nitrogen atoms and one oxygen atom. The oxygen atom is highlighted in red, and the nitrogen atoms are highlighted in blue.</p>	$\Delta E = -0,77 \beta$
<p>mOrange :</p>  <p>The structure shows a benzene ring connected to a five-membered ring containing two nitrogen atoms and one oxygen atom. The oxygen atom is highlighted in red, and the nitrogen atoms are highlighted in blue.</p>	$E_{tot} = 18\alpha + 28,35\beta$ $Homo = \alpha + 0,49\beta$ $Lumo = \alpha - 0,18\beta$ $\Delta E = -0,67\beta$
<p>DsRed :</p>  <p>The structure shows a benzene ring connected to a five-membered ring containing two nitrogen atoms and one oxygen atom. The oxygen atom is highlighted in red, and the nitrogen atoms are highlighted in blue.</p>	$E_{tot} = 20\alpha + 32,23\beta$ $Homo = \alpha + 0,53\beta$ $Lumo = \alpha - 0,07\beta$ $\Delta E = -0,60\beta$

On a d'après les résultats de Hulis données dans la tableau 1 :

$$\Delta E(\text{Sirius}) = \Delta E(\text{ECFP}) > \Delta E(\text{mOrange}) > \Delta E(\text{DsRed})$$

Car β est négatif.

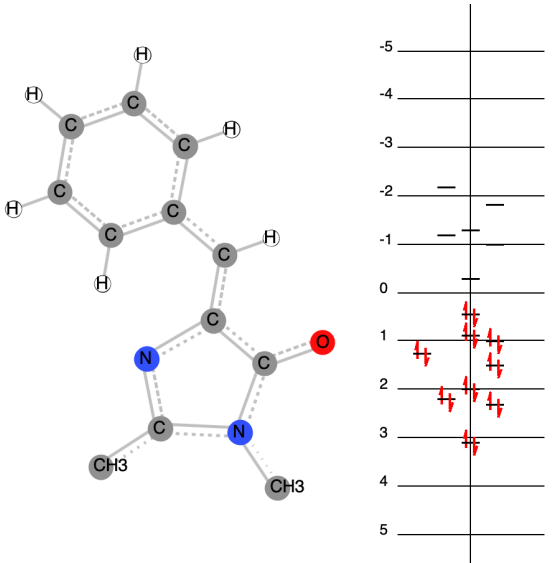
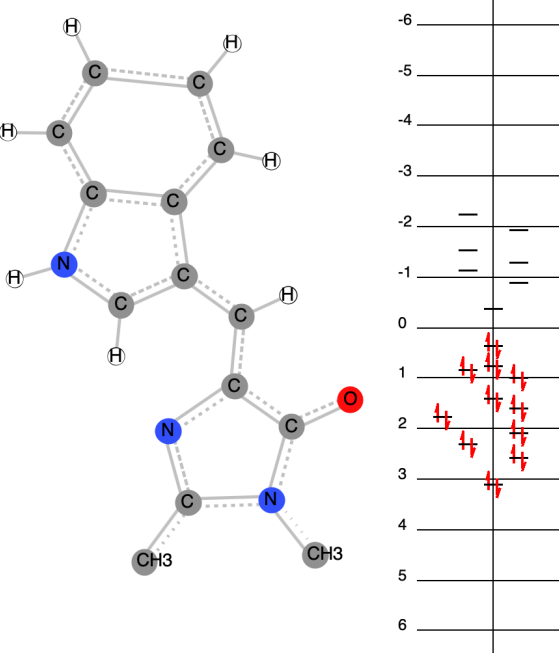
On en déduit que $\lambda(\text{Sirius}) = \lambda(\text{ECFP}) < \lambda(\text{mOrange}) < \lambda(\text{DsRed})$

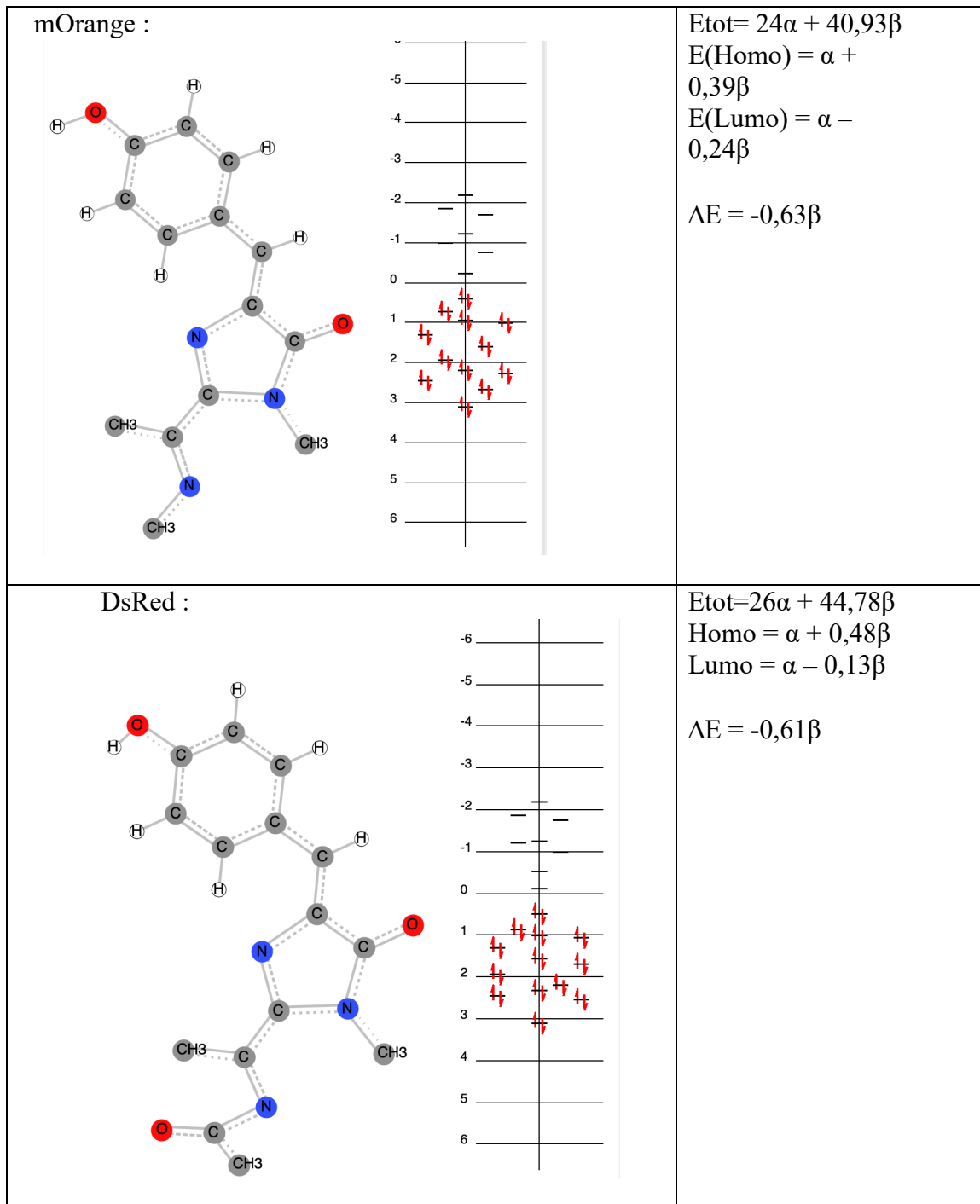
Plus ΔE diminue, plus λ augmente, plus la couleur est vers le rouge. Donc on retrouve la tendance des résultats expérimentaux de l'article.

Par contre, on ne peut pas distinguer avec Hulis la différence de couleur entre Sirius et ECFP. La méthode n'est pas assez précise pour faire cette distinction.

On aurait pu aussi répondre en modélisant la structure sigma de la partie non conjuguée par un $-\text{CH}_3$. Les résultats sont donnés dans le Tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2 : Dessin du modèle dessiné sur Hulis et énergies de Hückel récupérées dans le cas où la partie non conjuguée de la molécule est modélisée par un $-\text{CH}_3$.

<p>Sirius :</p> 	<p> $E_{\text{tot}} = 18\alpha + 29,27\beta$ $E(\text{HOMO}) = \alpha + 0,44\beta$ $E(\text{LUMO}) = \alpha - 0,29\beta$ $\Delta E = -0,73\beta$ </p>
<p>ECFP :</p> 	<p> $E_{\text{tot}} = 22\alpha + 35,33\beta$ $\text{Homo} = \alpha + 0,35\beta$ $\text{Lumo} = \alpha - 0,39\beta$ $\Delta E = -0,74\beta$ </p>



On retrouve la même tendance que dans le cas où on avait modéliser avec les H. On a toujours la limite de la méthode de Hückel pour donner la bonne tendance entre Sirius et ECFP. En effet, on ne retrouve pas que la différence d'énergie entre LUMO et HOMO est plus grande pour Sirius que pour ECFP.

3. Pourquoi YFP est-il associé à la couleur jaune ?

YFP est comme AvGFP qui est vert avec en plus une interaction π dans YFP qui destabilise HOMO ou stabilise la LUMO, donc transition d'énergie plus petite.

Attention, cela n'a pas de sens de superposer dans Hulis les deux molécules de la YFP car Hulis ne prend pas en compte la géométrie dans l'espace.

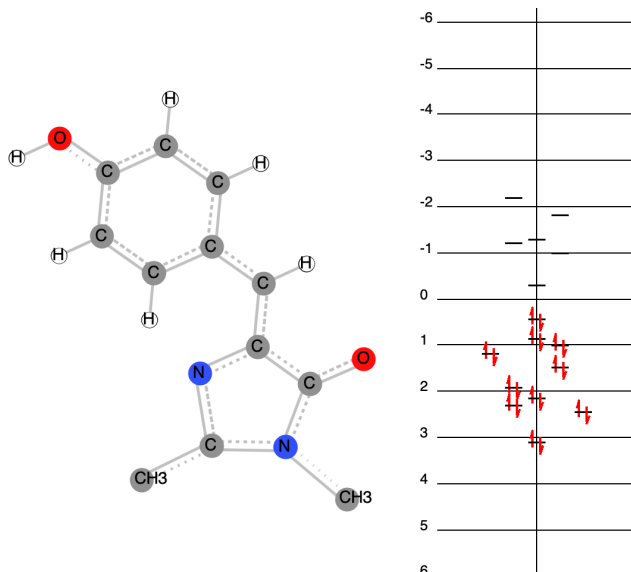


Figure 1 : modèle du système conjugué de AvGFP (vert) et YFP (jaune)

Pour le modèle de AvGFP et YFP :

$$\text{Homo} = \alpha + 0,43\beta$$

$$\text{Lumo} = \alpha - 0,30\beta$$

D'où l'énergie de transition :

$$\Delta E = -0,73\beta$$

On retrouve une valeur proche de celle de ECFP et Sirius, montrant la limite du modèle de Hückel.

4. Dans la figure 4a, retrouver l'évolution de la longueur d'onde maximale du spectre UV en fonction de la protonation ou de la déprotonation du chromophore des GFP. Comment expliquez-vous la tendance observée pour les λ_{max} ?

molécule protonée : $E_{\text{tot}} = 16\alpha + 25,29\beta$:

$$E(\text{homo}) = (\alpha + 0,49\beta)$$

$$E(\text{lumo}) = (\alpha - 0,28\beta)$$

$$\Delta E = -0,77\beta > 0$$

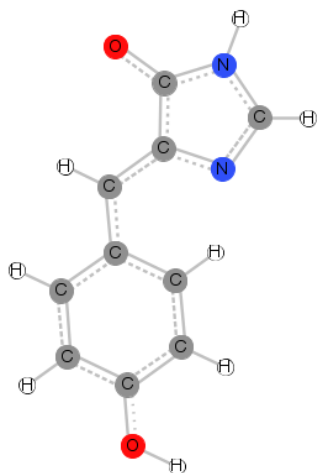


Figure 1 : modèle dans Hulis de la molécule protonée (en remplaçant les chaînes latérales par H)

Molécule déprotonée : attention de rajouter la charge moins dans hulis

$$E_{\text{total}} = 16\alpha + 23,47\beta :$$

$$E(\text{homo}) = (\alpha + 0,37\beta)$$

$$E(\text{lumo}) = (\alpha - 0,33\beta)$$

$$\Delta E = -0,70\beta$$

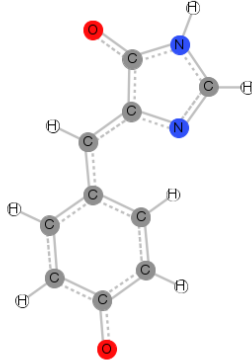


Figure 2 : modèle dans Hulis de la molécule déprotonée.

$$DE_{\text{prot}} > DE_{\text{nonprot}} \rightarrow \lambda_{\text{prot}} < \lambda_{\text{nonprot}}$$

Pouvez-vous utiliser le spectre pour trouver la valeur de β ? Vous développerez votre réponse.

$\lambda = 520 \text{ nm}$ pour la molécule déprotonée.

$$\beta = 1/(0,70 \lambda) = 2,747 \cdot 10^{-3} \text{ nm}^{-1} \text{ (à mettre en Joules)}$$

avec : vitesse de la lumière : $c = 299\,792\,458 \text{ m.s}^{-1}$

et constante de Planck : $h = 4.135\,667\,516(91) \times 10^{-15} \text{ eV.s}$ ou $h = 6,626\,070\,15 \times 10^{-34} \text{ J s}$

$$\beta = hc/(0,70 \lambda) = 3,41 \text{ eV} = 5,5 \cdot 10^{-19} \text{ J}$$

Remarque :

D'après Wikipedia https://fr.wikipedia.org/wiki/Méthode_de_Hückel: « Pour les polyènes linéaires, les différences d'énergies sont données par (une formule) à partir de laquelle une valeur de β peut être obtenue entre -60 et -70 kcal/mole ². »

Nous allons vérifier qu'on trouve un ordre de grandeur correct.

$$1 \text{ kcal/mol} \Rightarrow 6,95 \cdot 10^{-21} \text{ J} \Rightarrow 0,043 \text{ eV}$$

$$-60 \text{ kcal/mol} \text{ correspond à } -4,2 \cdot 10^{-19} \text{ J} \Rightarrow -2,6 \text{ eV}$$

$$-70 \text{ kcal/mol} \text{ correspond à } -4,8 \cdot 10^{-19} \text{ J} \Rightarrow -3,0 \text{ eV}$$

On est donc dans les bons ordres de grandeur.

5. Est-ce que Hulis peut être utilisé pour traiter les variations des longueurs d'onde absorbées en fonction de la torsion ou de l'isomérisation Z et E ?

Argumenter votre réponse avec des résultats issus de Hulis.

Non car avec Huckel qui ne regarde que la connectivité.

Si je fais le dessin d'un alcène Z ou d'un alcène E dans Hulis, j'obtiens exactement les mêmes énergies.

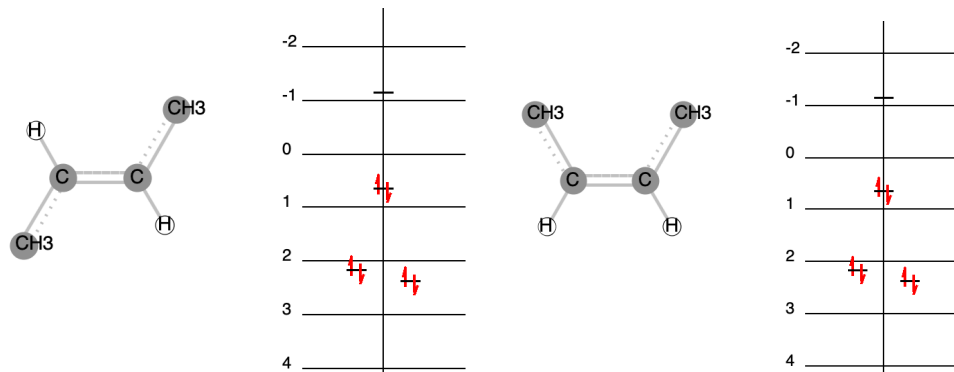


Figure : alcène E et alcène Z dans Hulis

II. Réactivité : on se concentrera sur certaines parties des chromophores des GFP

1. Dans la molécule de phénol, on s'intéresse aux réactions de substitution électrophile aromatique. Retrouver les sites de stabilité préférentielle de la charge positive des différents intermédiaires de Wheland (trouver un moyen simple de les modéliser). En déduire, les sites préférentiels de substitution électrophile sur le phénol. Vous pouvez vous aider de l'énergie totale de chaque intermédiaire modèle.

Solution : On enlève 1 C et on rajoute une charge + pour modéliser l'IR de Wheland. En effet, cela casse la conjugaison de la molécule et on rajoute la charge plus.

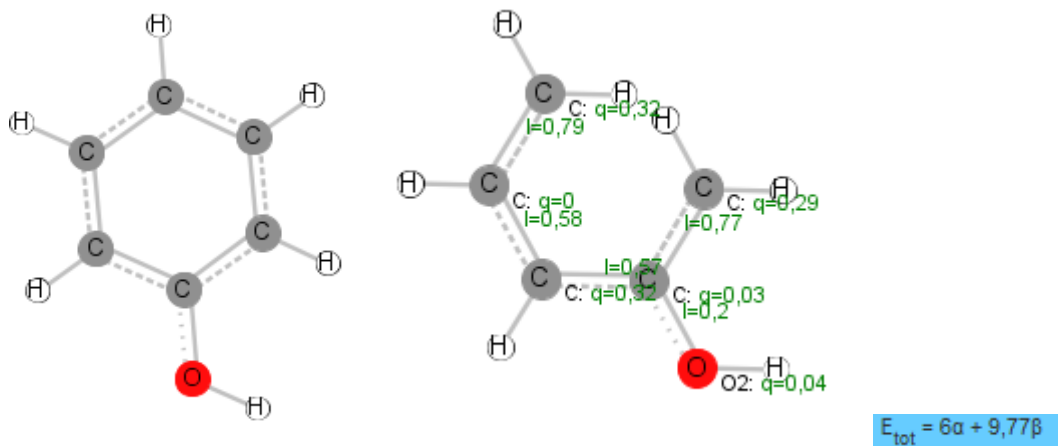


Figure : Modèle du Phénol dans Hulis (gauche). Modèle de l'IR méta (droite) et énergie du Modèle méta

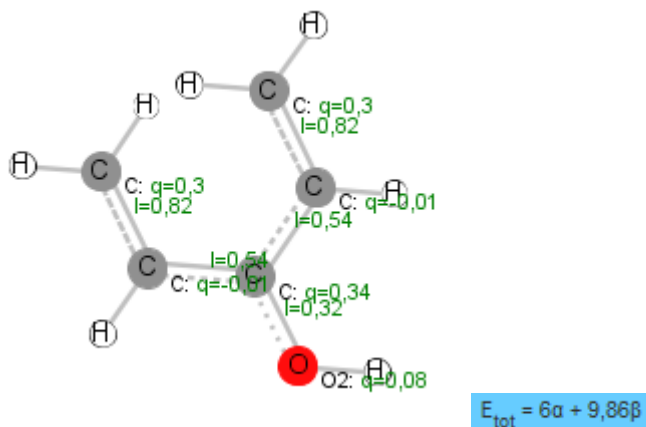


Figure : Modèle de l'IR para et énergie de l'IR para

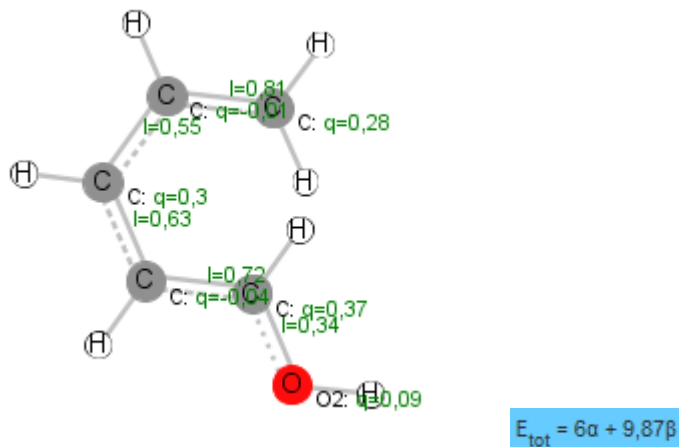


Figure : Modèle de l'IR ortho et energie de l'IR ortho

Si on regarde les énergies totales, le meta est le moins stable. (Le coefficient devant le paramètre beta est plus faible)

2. A partir du schéma de la figure 2a, modéliser la réaction de cyclisation à l'aide de Hulis :
 - a. Trouver des fragments représentatifs des parties « réactives » de la molécule.
 - b. Caractériser les sites électrophiles et nucléophiles.
 - c. Expliquer la réaction par la théorie des orbitales frontières.

- a. On peut utiliser le même modèle pour les deux fragments correspondant à Me-CO-NH-Me.
- b. On regarde pour le fragment correspondant au nucléophile la HOMO et pour le fragment réagissant comme électrophile la LUMO.

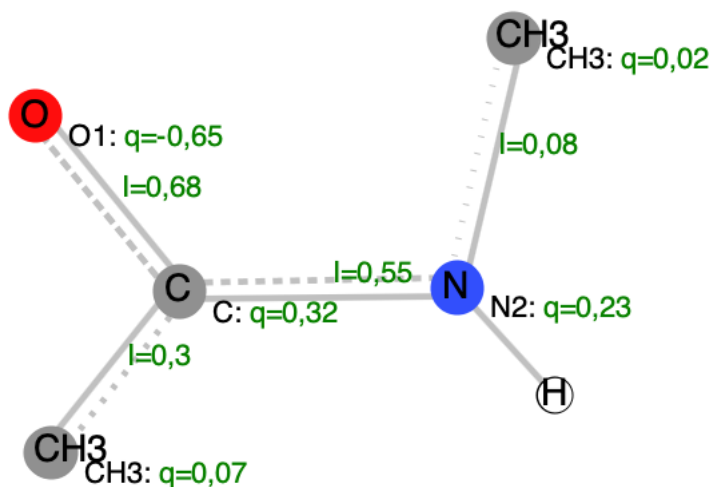


Figure 1 : fragment modèle pour la réaction de cyclisation

Sur la figure 1, on voit que la charge négative est sur l'oxygène est la charge la plus positive est sur le carbone du carbonyle. On pourrait penser que l'oxygène est le centre nucléophile et le carbone de l'amide le centre électrophile.

Le modèle de donne pas d'information sur la géométrie dans l'espace des fragments. D'après la figure 2 ci-dessous, on voit que c'est l'azote qui est le centre nucléophile car celui qui peut attaquer le centre électrophile.

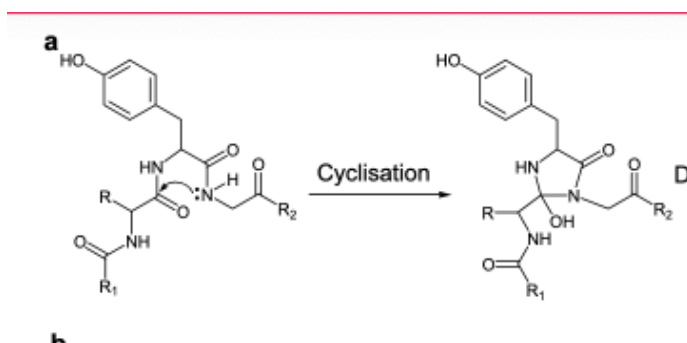


Figure 2 : extrait de la réaction de l'article

Il faut donc regarder les orbitales HOMO du fragment nucléophile et LUMO du fragment électrophile pour voir si les lobes les plus gros sont sur les sites C et N.

$$\text{HOMO } \varepsilon = \alpha + 0.72\beta$$

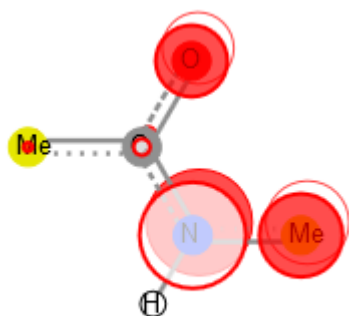


Figure 3 : HOMO du fragment

Le lobe le plus gros sur la HOMO est N donc N est le centre nucléophile.

$$\text{LUMO } \varepsilon = \alpha - 1.08\beta$$

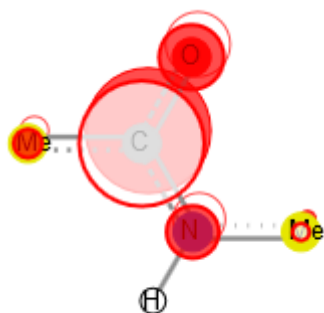


Figure 4 : LUMO du fragment

Le lobe le plus gros sur la LUMO est C de la fonction amide donc C est le centre électrophile.

c. Lors d'une interaction HOMO-LUMO entre les deux fragments, on a une liaison qui se fait entre le N centre nucléophile et le C centre électrophile.

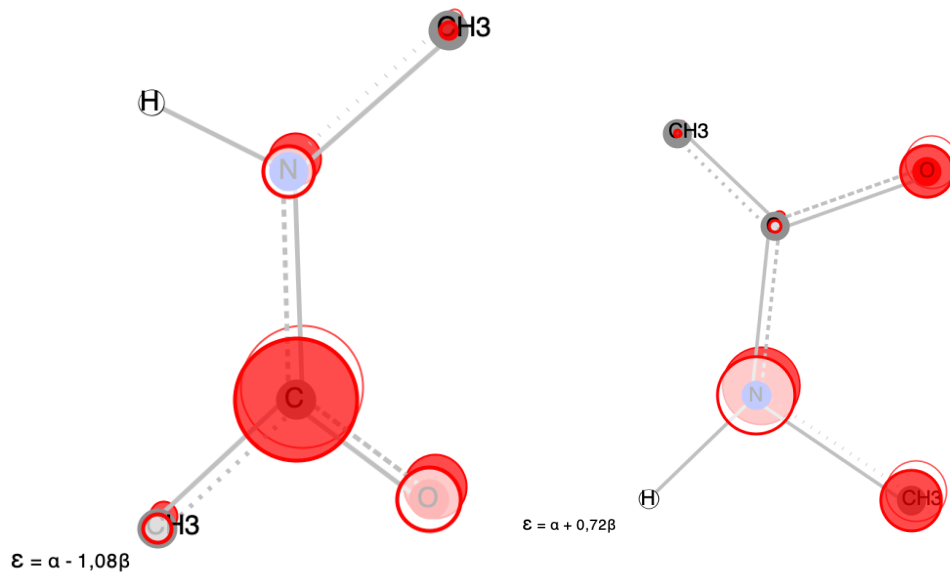


Figure 5 : fragment de gauche avec la LUMO et fragment de droite avec la HOMO placés dans des conformations lors de l'interaction.