

BBA 46420

INFLUENCE DE DIVERS DONNEURS DE PROTONS
 SUR LES PROPRIÉTÉS OXYDORÉDUCTRICES DE L'UBIQUINONE 6
 EN MILIEU ORGANIQUE

GEORGES CAUQUIS ET GEORGES MARBACH

*Laboratoire d'Electrochimie Organique et Analytique du Département de Recherche Fondamentale
 Centre d'Etudes Nucléaires de Grenoble, BP 85, 38041, Grenoble Cedex (France)*

(Reçu le 5 juillet, 1972)

SUMMARY

The influence of various proton donors on the redox properties of ubiquinone-6 in organic medium

The redox behavior of ubiquinone-6 is studied in an aprotic solvent, acetonitrile. The influence of various proton donors is investigated and the reaction pathways are established. The results show that the value of the standard potential of ubiquinone is heavily increased by the addition of acids, since it varies between -0.515 V *versus* the normal hydrogen electrode in neutral non-buffered acetonitrile and $+0.610$ V in strongly acidic medium. In the presence of water, the ratio of the concentration of water to ubiquinone being 10^3 , a value of -0.340 V was obtained. Potential shifts in the presence of water, metallic cations and phosphoric acid have also been measured.

INTRODUCTION

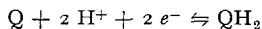
L'ubiquinone, transporteur d'électron de la chaîne respiratoire des mitochondries, se distingue des autres transporteurs par des propriétés particulières: faible poids moléculaire, forte concentration, diffusibilité éventuelle dans la phase lipidique de la membrane interne. Malgré un nombre considérable de travaux, son rôle demeure mal compris. Il était donc intéressant de préciser les propriétés d'échange d'électrons de cette quinone.

Quelques déterminations de potentiel d'équilibre ont été réalisées sur l'ubiquinone soit directement sur des suspensions aqueuses de mitochondries, soit sur la quinone en solution hydroalcoolique¹⁻³. Une seule étude a été conduite en milieu aprotique⁴. Elle mettait en évidence deux étapes successives de réduction de la quinone, avec formation d'un radical anion intermédiaire. En présence d'eau ou d'acide, une modification du comportement de l'ubiquinone était observée, mais aucun mécanisme réactionnel n'était proposé.

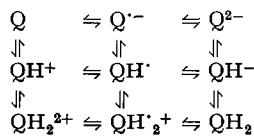
L'existence de composés acides dans la phase lipidique de la membrane interne des mitochondries, ainsi que le flux, au travers de cette membrane, de nombreux

composés donneurs ou accepteurs de protons nous ont incités à étudier plus précisément l'influence des acides sur le comportement de l'ubiquinone. L'emploi d'un solvant aprotique comme l'acétonitrile s'imposait pour une telle étude.

La réduction de l'ubiquinone (Q) en ubiquinol (QH_2), et la réaction inverse s'écrivent globalement :



En fait, chaque transformation est constituée par quatre étapes élémentaires (deux échanges d'un électron et deux échanges d'un proton) qui se produisent dans un ordre qui dépend des caractéristiques du milieu. Elles font intervenir cinq des neuf espèces réunies dans le schéma carré suivant⁵:



La présence de donneurs de proton de forces variées modifie le chemin réactionnel. Cette modification se traduit dans l'aspect des enregistrements des courbes voltampérométriques et des courbes de voltammetrie cyclique⁶. Nous avons donc utilisé ces deux méthodes dans le présent travail pour tenter de déterminer la nature des chemins réactionnels correspondant à divers donneurs de protons.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Produits chimiques

L'acétonitrile (Touzart et Matignon) est redistillé⁷ avant utilisation. Le perchlorate de tétraéthylammonium (Eastman-Kodak) est utilisé comme électrolyte support. Il est lavé à l'eau froide pour éliminer les traces d'ions chlorure et conservé au dessicateur.

L'ubiquinone 6 nous a été gracieusement fournie par les établissements Hoffmann La Roche.

Appareillage

Le montage électrochimique utilisé est un montage classique à trois électrodes⁸. L'électrode de travail est une électrode tournante à disque de platine poli (Tacussel) pour le tracé des courbes de voltammetrie stationnaire, et une électrode de platine Beckmann No. 39273 pour la voltammetrie cyclique. L'électrode de référence est constituée par le couple Ag/Ag⁺ 10⁻² M dans l'acétonitrile (les potentiels par rapport à l'électrode normale à hydrogène s'obtiennent en rajoutant +0.536 V aux valeurs données). L'électrode auxiliaire est un fil de platine.

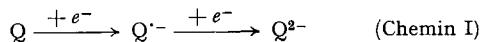
Les générateurs de tension sont du type Tacussel PRT 10-0.5 en voltammetrie stationnaire et Hewlett-Packard 3300 A en voltammetrie cyclique.

La cellule de travail Metrohm EA 876-5 est maintenue pendant toutes les expériences sous un courant d'argon saturé d'acétonitrile.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Réduction de Q dans l'acétonitrile non tamponné

La Fig. 1 représente la courbe de voltammetrie cyclique de Q dans l'acétonitrile. Les deux systèmes de pics aa' et bb', dont les potentiels sont $E_{pa} = -1.05$ V et $E_{pb} = -1.7$ V par rapport à $\text{Ag}/\text{Ag}^+ 10^{-2}$ M, suggèrent une réduction de Q en deux étapes fournissant successivement le radical anion et le dianion



L'analyse des pics montre que les transferts sont contrôlés par la seule diffusion. Le radical anion intermédiaire peut être obtenu par une électrolyse de la solution à -1.3 V qui consomme 1 faraday par mole de Q. Si le potentiel est ensuite porté à -1.9 V, la solution vire du jaune au vert par suite de la formation du dianion, espèce peu stable parce que très basique.

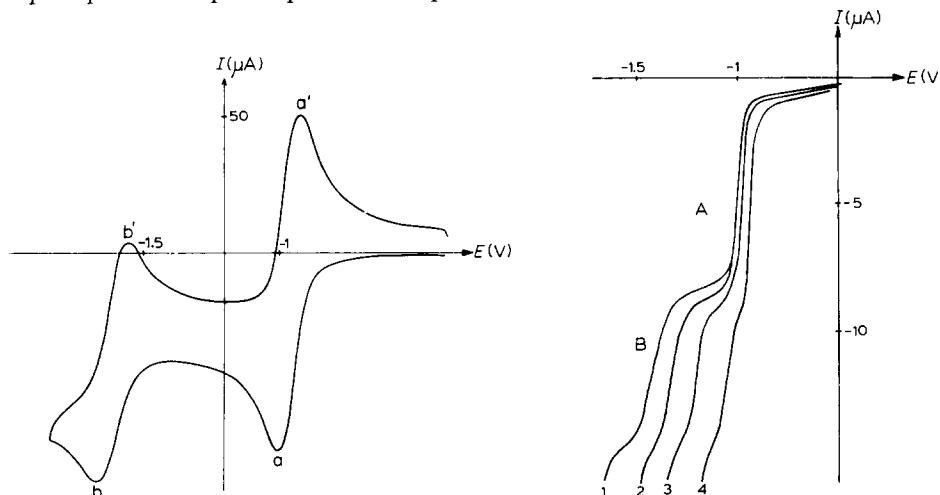


Fig. 1. Voltammetrie cyclique de l'ubiquinone 6 $1.7 \cdot 10^{-3}$ M dans l'acétonitrile. Electrolyte support: perchlorate de tétraéthylammonium 10^{-1} M. Vitesse de balayage: $67 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. (Les conditions de vitesse de balayage et de concentration en ubiquinone 6 et en électrolyte support sont identiques pour toutes les figures).

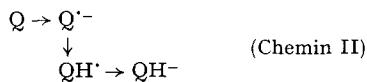
Fig. 2. Courbes intensité-potentiel de l'ubiquinone 6 dans l'acétonitrile en présence de diverses concentrations c en eau. 1, $c = 6.3 \cdot 10^{-3}$ M (concentration en eau résiduelle du solvant); 2, $c = 5.5 \cdot 10^{-2}$ M; 3, $c = 3.3 \cdot 10^{-1}$ M; 4, $c = 1.7$ M.

A l'électrode tournante à disque, la courbe intensité-potentiel de Q présente deux vagues, A et B (Fig. 2, courbe 1) correspondant aux deux systèmes de pics décrits ci-dessus. Il est à noter que le tracé de la vague B est peu reproductible si le balayage des potentiels est effectué à une vitesse inférieure à $4 \text{ V} \cdot \text{min}^{-1}$ et que son courant limite est toujours inférieur à celui de la vague A. Ces phénomènes s'interprètent en tenant compte de l'influence de l'eau résiduelle du solvant dont la concentration est de l'ordre de $3 \cdot 10^{-3}$ M. Cette eau est capable de protoner le radical anion pour donner QH^{\cdot} , espèce plus réductible que la quinone de départ. Cette propriété a été établie à propos des hydrocarbures par Hoijtink *et al.*⁹; on admet

généralement qu'elle est également valable dans le cas des quinones. QH^{\cdot} est donc immédiatement réduit en $QH^{\cdot-}$, phénomène que traduit la différence des courants limites des vagues A et B. On sait de plus¹⁰ que $QH^{\cdot-}$ donne fréquemment avec le cation de l'électrolyte support un sel insoluble non conducteur. Le dépôt de ce sel sur l'électrode paraît responsable des difficultés de tracé de la vague B aux faibles vitesses de balayage.

Réduction de Q en présence d'eau

L'addition d'eau déplace les vagues A et B vers les potentiels positifs (Fig. 2). L'effet solvatant de l'eau sur les espèces $Q^{\cdot-}$ et Q^{2-} explique ce déplacement. L'augmentation de la vague A aux dépens de B qui est également visible sur la Fig. 2 correspond à l'influence croissante du mécanisme faisant intervenir la protonation du radical anion:



Ce mécanisme, qui fait intervenir deux réactions électrochimiques, notées E, séparées par une réaction chimique, notée C, est donc du type ECE.

Le remplacement progressif du mécanisme EE par un mécanisme ECE lors de l'addition d'eau est clairement mis en évidence en considérant le nombre apparent d'électrons échangés sur la première vague. Cette grandeur notée n_{app} est le rapport du courant limite de la première vague à la somme des courants limites des deux vagues, cette somme représentant l'échange de deux électrons. Le Tableau I indique la variation de n_{app} avec la concentration en eau. Cette variation est en accord¹¹ avec l'hypothèse de l'établissement progressif d'un mécanisme ECE.

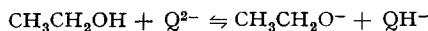
TABLEAU I

VALEURS DU NOMBRE APPARENT D'ÉLECTRONS ÉCHANGÉS SUR LA PREMIÈRE VAGUE DE RÉDUCTION DE L'UBIQUINONE 6 DANS L'ACÉTONITRILE POUR DIFFÉRENTES VALEURS DE LA CONCENTRATION EN EAU

Concentration en eau (M):	$6.6 \cdot 10^{-3}$	$5.5 \cdot 10^{-2}$	$3.3 \cdot 10^{-1}$	1.7	1.1
n_{app}	1.08	1.19	1.25	1.33	Précipitation

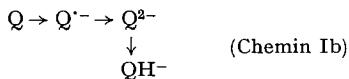
Réduction de Q en présence d'éthanol

Pour étudier l'influence de l'éthanol, donneur de protons plus faible que l'eau, Q a été dissoute dans un mélange acétonitrile-éthanol (50:50, v/v). La voltammetrie cyclique obtenue dans ces conditions (Fig. 3, courbe 1) présente deux pics cathodiques a et b correspondant au mécanisme EE (Chemin I). Sur le balayage retour, le pic b' est absent. On note en plus du pic de réoxydation a' de $Q^{\cdot-}$ un nouveau pic g vers -0.5 V. Il doit être attribué à l'oxydation de $QH^{\cdot-}$ en présence de l'ion éthylate qui agit comme une base relativement forte. Cet ion se formerait par la réaction

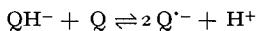


Cette hypothèse est renforcée par le fait que dans le cas de la vitamine K₃, l'addition de différentes bases de force croissante à l'espèce homologue de QH⁻ en solution dans l'acétonitrile provoque des déplacements de plus en plus marqués du pic g vers les potentiels négatifs¹².

Ces résultats suggèrent le chemin suivant:



La réaction de dismutation:



produit les ions Q^{·-} qui sont réoxydés au pic a'. L'équilibre ne semble pas très déplacé dans un sens ni dans l'autre puisque des ions QH⁻ sont directement oxydés sur le pic g. On peut noter de plus que les surfaces des pics a' et g sont inférieures à celles des pics a et b, bien que g soit un pic biélectronique. Ceci montre que la réoxydation de l'espèce QH⁻ se fait parallèlement par voie chimique et par voie électrochimique.

Le rôle des cations

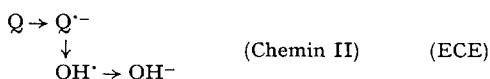
Lorsqu'une solution de perchlorate de magnésium anhydre est ajoutée à une solution de Q, le système de pic bb' décroît puis disparaît lorsque Mg²⁺ et Q sont en concentrations égales. Le pic a augmente au fur et à mesure des additions de Mg²⁺, tandis que le pic a' diminue, ce qui traduit le caractère irréversible que prend le processus de réduction. Ceci s'explique en supposant que les ions Q²⁻ sont complexés par les ions Mg²⁺.

Si le balayage retour est étendu jusqu'à 1 V, on note vers 0.7 V l'apparition d'un nouveau pic anodique de faible intensité. L'espèce qui en est responsable a pu être identifiée à l'ubiquinol QH₂, par comparaison avec le voltammogramme obtenu directement en dissolvant un échantillon de QH₂ dans l'acétonitrile. Nous supposons que l'apparition de cette espèce est due aux propriétés d'acide de Lewis de Mg²⁺ en présence de l'eau résiduelle du solvant. Le travail de Fujinaga *et al.*¹³ effectué dans plusieurs solvants avec diverses quinones, est en accord avec cette interprétation.

Réduction de Q en présence d'acide acétique

L'addition d'acide acétique à une solution de Q se traduit par l'augmentation et l'élargissement du pic a, tandis que le pic b disparaît. Lorsque la stoechiométrie 1:1 est atteinte, on est en présence du pic biélectronique c qui remplace les pics a et b (Fig. 3, courbe 2). Les pics a' et b' sont alors également remplacés par le pic g correspondant à la réoxydation de QH⁻. L'écart entre les potentiels du pic g sur les courbes 1 et 2 s'explique par la différence de basicité entre les ions éthylate et acétate.

Le mécanisme de réduction suivant est en accord avec ces résultats:



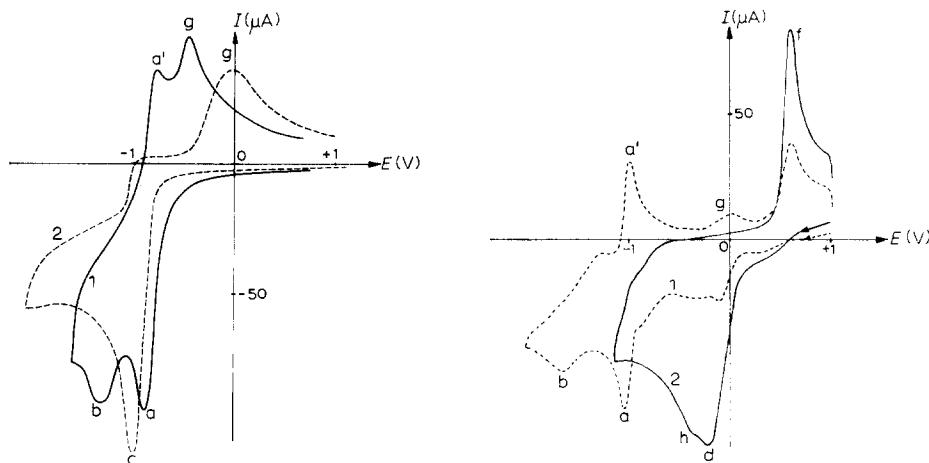


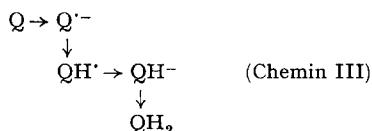
Fig. 3. Courbe 1, voltammetrie cyclique de l'ubiquinone 6 dans un mélange eau-acetonitrile (50:50, v/v). Courbe 2, voltammetrie de l'ubiquinone 6 dans l'acetonitrile en présence d'acide acétique $1.7 \cdot 10^{-3}$ M.

Fig. 4. Voltammetrie cyclique de l'ubiquinone 6 dans l'acetonitrile en présence d'acide perchlorique à deux concentrations différentes. 1, $c = 1.7 \cdot 10^{-3}$ M; 2, $c = 3.4 \cdot 10^{-3}$ M.

Réduction de Q en présence d'acide orthophosphorique

Au cours d'additions successives d'une solution de H_3PO_4 dans l'acetonitrile, on note l'apparition du pic g qui disparaît ensuite au profit du pic anodique correspondant à l'oxydation de QH_2 et situé à 0.58 V. Après addition de deux équivalents d'acide orthophosphorique, seuls demeurent le pic c , en réduction, et le pic de réoxydation de QH_2 .

Ces résultats conduisent à proposer un mécanisme du type ECEC



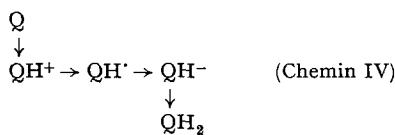
Réduction en présence d'acide perchlorique

L'addition d'acide perchlorique, acide fort dans l'acetonitrile, à une solution de Q produit d'importantes modifications du voltammogramme (Fig. 4). Sur le balayage aller, les pics a et b décroissent et disparaissent. Ils sont remplacés par un pic composite à -0.4 V, qui est en fait la superposition de deux pics d et h . Dans ce domaine de potentiel, interviennent en effet la réduction du proton (pic h) et celle de la quinone protonée QH^+ (pic d). Sur le balayage retour, deux pics g et f sont visibles, puis le pic g disparaît au profit du pic f , qui atteint sa hauteur maximale lorsque deux équivalents en acide ont été ajoutés. C'est ce pic f qui correspond à l'oxydation de QH_2 . Il est à remarquer que l'acide perchlorique à la même concentration, seul dans l'acetonitrile, donne lieu à un pic h plus grand et plus étroit que celui que l'on observe en présence de Q . Ceci prouve qu'une partie de l'acide intervient dans le processus de réduction de la quinone.

L'électrolyse de la solution au potentiel de -1.2 V consomme 2 faradays par mole de Q et produit QH_2 . Des voltammétries cycliques tracées après cette électrolyse donnent les résultats suivants. Si le balayage cathodique aller part de 0 V, aucun pic n'est visible à -0.4 V. S'il commence au-delà du pic f, le pic composite d + h apparaît. L'addition ultérieure de protons provoque la croissance de ce pic composite, tandis que son maximum se déplace vers les potentiels négatifs en raison de la croissance du pic h. Ces faits établissent que les pics d et f se correspondent.

Les courbes voltampérométriques confirment cette interprétation, la vague D qui correspond au pic d apparaissant comme un épaulement dans le tracé global qui recouvre les vagues D et H. Cet épaulement reste de hauteur constante lorsque des protons sont ajoutés en excès. Par ailleurs, l'addition de triéthylamine fait décroître la vague H, la vague D restant inchangée.

Le Chemin IV est en accord avec ces observations



CONCLUSION

Le potentiel normal de l'ubiquinone 6 varie de -0.515 V par rapport à l'électrode normale à l'hydrogène en milieu non tamponné à $+0.610$ V en milieu fortement acide. Il semble que ces variations ne dépendent pas de la longueur de la chaîne latérale isoprénique et soient donc du même ordre de grandeur pour les différentes ubiquinones⁴.

La variation du potentiel normal de l'ubiquinone en présence de protons qui peut s'interpréter comme un stockage d'énergie dans ces conditions, est à mettre en relation avec la récente hypothèse de Wikström¹⁴ concernant l'influence de la concentration en protons sur l'énergisation de la membrane interne.

RÉSUMÉ

Le comportement électrochimique de l'ubiquinone est étudié dans l'acétonitrile, solvant aprotique. Les chemins réactionnels sont établis, et les modifications qu'ils subissent sous l'influence de divers composés donneurs de protons sont étudiées. On montre que les propriétés oxydoréductrices de l'ubiquinone 6 sont fortement modifiées par les acides, le potentiel normal du composé passant de -0.515 V par rapport à l'électrode normale à hydrogène en milieu neutre non tamponné, à $+0.610$ V en milieu très acide. L'influence de l'eau, des cations métalliques et de l'acide phosphorique se traduit par les valeurs de potentiel intermédiaires.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Dr P. M. Vignais et le Professeur P. V. Vignais pour les remarques fructueuses dont ils ont bien voulu nous faire part.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 R. A. Morton, *Biochemistry of Quinones*, Academic Press, London, 1965, p. 4.
- 2 V. Moret, S. Pinamonti et E. Fornasari, *Biochim. Biophys. Acta*, 54 (1961) 381.
- 3 P. F. Urban et M. Klingenberg, *Eur. J. Biochem.*, 9 (1969) 519.
- 4 F. L. O'Brien, *A Study of the Electrochemistry of Ubiquinone and 2,3-Dimethoxy-5-methyl-1,4-benzoquinone*, Ph. D. Thesis, University of Massachusetts, 1969.
- 5 J. Jacq, *Electrochim. Acta*, 12 (1967) 1345.
- 6 R. N. Adams, *Electrochemistry at Solid Electrodes*, Marcel Dekker, New York, 1969, p. 115.
- 7 J.-P. Billon, *J. Electroanal. Chem.*, 1 (1960) 486.
- 8 G. Charlot, J. Badoz-Lambling, B. Tremillon, *Les Réactions Electrochimiques*, Masson et Cie, Paris, 1959, p. 128.
- 9 G. J. Hooijtink, J. Van Schooten, E. de Boer, W. Y. Aalbersberg, *Rec. Trav. Chim. Pays Bas*, 73 (1954) 355.
- 10 G. Demange-Guérin et J. Badoz-Lambling, *C.R. Acad. Sci. Paris*, 256 (1968) 784.
- 11 G. Cauquis, J.-L. Cros et M. Genies, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 10 (1971) 3765.
- 12 G. Cauquis et G. Marbach, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (1971) 1908.
- 13 T. Fujinaga, K. Izutsu et T. Nomura, *Effect of Metal Ions on the Polarographic Reduction of Organic Compounds in Dipolar Aprotic Solvents*, Symp. on Non-aqueous Electrochemistry, IUPAC, Paris, 1970.
- 14 M. K. F. Wikström, in G. F. Azzone, E. Carafolli, A. L. Lehninger, E. Quagliariello et N. Siliprandi, *Biochemistry and Biophysics of Mitochondrial Membranes*, Academic Press, New York, 1972, p. 147.

Biochim. Biophys. Acta, 283 (1972) 239-246