

Transformation de la matière : évolution temporelle d'un système chimique (cinétique chimique) – Chapitre 3 : Catalyse



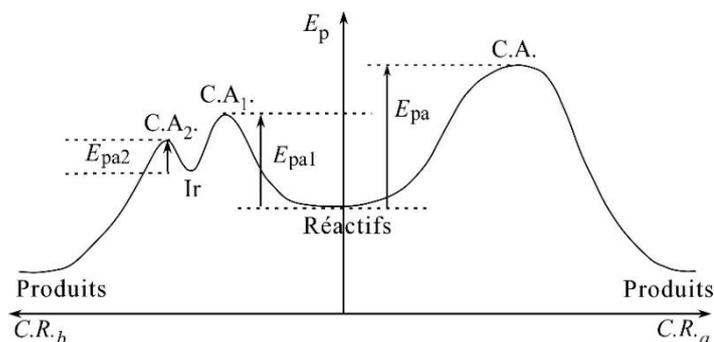
Exercices d'application

1

Profils énergétiques

Ci-dessous, deux profils énergétiques concernant une même réaction, profil *a* pour *C.R._a* et profil *b* pour *C.R._b*.

Quel est le profil correspondant à la réaction avec catalyse ? Quel est celui correspondant à la réaction sans catalyse ?



Remarque : C.A. = complexe activé (synonyme d'état de transition), Ir = intermédiaire réactionnel.

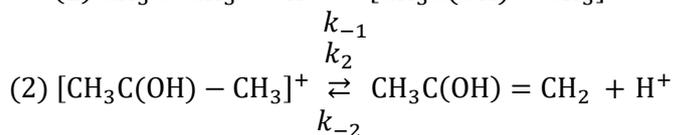
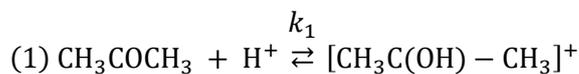
2

Equilibre céto-énolique

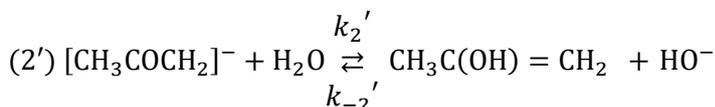
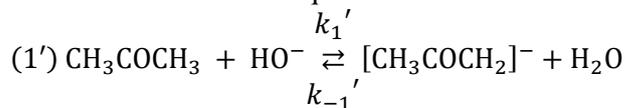
Lorsque l'on place une cétone en milieu acide ou basique, un équilibre s'installe entre la cétone et un isomère de constitution appelé énol.

On considère les deux mécanismes réactionnels ci-dessous, sur la propanone.

Mécanisme A en milieu acide:



Mécanisme B en milieu basique :



1. Pour les deux mécanismes proposés ci-dessus, écrire l'équation de l'équilibre chimique correspondant.
2. Pour chaque mécanisme identifier l'intermédiaire réactionnel et le catalyseur.
3. Représenter les mécanismes en utilisant des formules développées pour chaque entité organique
4. Représenter les formules mésomères des intermédiaires organiques intervenant dans chaque mécanisme.

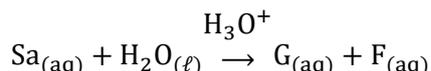


Exercices d'entraînement

3

Hydrolyse du saccharose

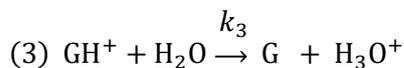
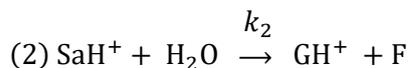
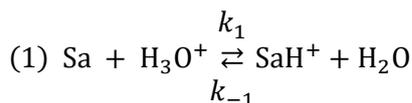
On réalise à température constante l'hydrolyse du saccharose (Sa) en glucose (G) et en fructose (F), catalysée par les ions H_3O^+ . L'équation de réaction est :



Expérimentalement la vitesse de formation du glucose respecte la loi d'ordre suivante :

$$v_{f,G} = k[\text{H}_3\text{O}^+][\text{Sa}]$$

La transformation est modélisée par le mécanisme suivant où l'acte (1) est un pré-équilibre rapide et l'acte (2) est plus difficile que l'acte (3) :

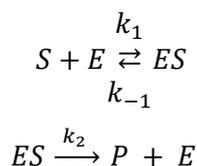


- Quels sont les intermédiaires réactionnels intervenant dans le mécanisme ? Justifier.
- Justifier que l'ion H_3O^+ soit un catalyseur.
- Établir la loi de vitesse pour la vitesse de formation du glucose grâce au mécanisme réactionnel proposé.
- Retrouve-t-on la loi expérimentale ? Si oui quelle est l'expression de la constante cinétique k ?

4

Un deuxième modèle de la catalyse enzymatique et inhibition

En 1925, G.E. Briggs et J.-B. S. Haldane, tout en conservant le mécanisme simplifié de l'action enzymatique présenté ci-dessous, sont revenus sur l'hypothèse du pré-équilibre rapide proposé par Leonor Michaelis et Maud Menten en 1913. Ils émettent l'hypothèse qu'après le très court temps d'induction de la réaction, l'approximation de Bodenstein (approximation de l'état quasi-stationnaire) est applicable au complexe enzyme-substrat ES .



1. Etablissement de la loi de vitesse

- On note v la vitesse d'apparition du produit P , $[E]_0$ la concentration initiale en enzyme E . Etablir dans ces conditions que la loi macroscopique $v = k_2[E]_0[S]/([S] + K_M)$ trouvée dans l'hypothèse de Michaelis et Menten est encore valable.
- Donner l'expression de K_M en fonction des constantes de vitesse spécifiques k_i , puis en fonction des concentrations $[E]$, $[S]$ et $[ES]$.
- Il est souvent plus facile de mesurer la vitesse initiale, notée v_0 . Donner l'expression de v_0 en fonction notamment de la concentration introduite en substrat $[S]_0$.

2. Analyse graphique

- Tracer et commenter l'allure du graphe donnant la vitesse initiale v_0 en fonction de la concentration introduite en substrat $[S]_0$. Exprimer la vitesse asymptotique $v_{0,\text{max}}$ en fonction de k_2 et $[E]_0$, puis exprimer v_0 en fonction de $v_{0,\text{max}}$ notamment.
- Comment peut-on mesurer graphiquement la valeur de la constante de Michaelis-Menten K_M ? Afin d'avoir une bonne adaptation de l'enzyme au substrat, faut-il que K_M soit élevée ou faible ?
- Expérimentalement, on réalise plusieurs expériences en mesurant pour chacune d'elle v_0 pour $[S]_0$ donnée. Afin d'améliorer la mesure de K_M , on trace alors $1/v_0$ en fonction de $1/[S]_0$ (représentation de Lineweaver et Burk). Comment lit-on alors K_M ? comment évalue-t-on k_2 ? En quoi cette méthode améliore-t-elle la précision des mesures ?
- On réalise l'hydrolyse de l'ion fumarate F par l'eau en ion maléate M , catalysée par l'enzyme fumarase E , selon l'équation bilan $F + \text{H}_2\text{O} = M$, pour une concentration initiale en enzyme $[E]_0 = 1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. La mesure de la vitesse volumique globale de la réaction pour différentes concentrations en substrat F a donné les résultats suivants :

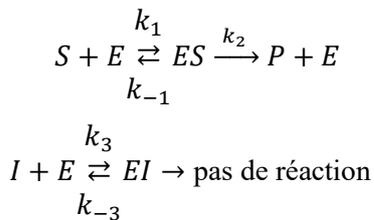
$[F]_0$ ($1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	1,0	2,0	3,0	5,0	8,0
v_0 ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	2,6	4,3	6,3	7,2	8,7

$[F]_0$ ($1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	10	20	50
v_0 ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	9,3	10,8	12,0

Calculer la constante de Michaelis-Menten de cette réaction, ainsi que la vitesse maximale pour cette concentration initiale en enzyme.

3. Inhibition compétitive

Un inhibiteur compétitif de l'enzyme, noté I , est une substance qui se lie de manière renversable au site actif de l'enzyme à la place du substrat, mais ne conduit à la formation d'aucun produit. Le mécanisme simplifié de ce type d'inhibition est présenté ci-dessous.



- 3.1. Ecrire la relation de conservation de la matière pour l'enzyme E en présence de l'inhibiteur.
- 3.2. En considérant qu'à chaque instant il y a équilibre entre le complexe enzyme-inhibiteur et les espèces E et I libre en solution, donner la relation entre les concentrations $[EI]$, $[E]$ et $[I]$.
- 3.3. En utilisant les deux équations précédentes et la définition de la constante K_M en fonction des concentrations $[E]$, $[S]$ et $[ES]$, montrer que la vitesse de la réaction peut se mettre sous la forme :

$$v = \frac{k_2[E]_0[S]}{\left([S] + K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)\right)}$$

où K_I est une fonction simple des k_i qu'on explicitera. Que vaut la vitesse initiale v_0 en fonction de $[I]_0$ concentration initiale en inhibiteur de $[S]_0$?

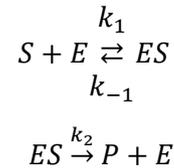
- 3.4. Donner l'allure de la représentation de Lineweaver et Burk de cette réaction pour les trois valeurs suivantes de concentration initiale en inhibiteur : $[I]_0 = 0$, $[I]_0 = K_I$ et $[I]_0 = 2K_I$. On précisera en particulier à chaque fois les valeurs des coefficients directeurs des droites, ainsi que des ordonnées à l'origine, et on apportera une conclusion sur la manière de reconnaître expérimentalement ce type d'inhibition.

5

Inhibition en catalyse enzymatique (inspiré d'un sujet d'ENS)

1. Cas sans inhibiteur

On considère le schéma réactionnel suivant, communément admis pour l'étude de la cinétique enzymatique, mettant en jeu une enzyme E , un substrat S , le complexe enzyme-substrat ES et un produit P :



- 1.1. En supposant que l'approximation pré-équilibre rapide est valide, montrer que la loi de vitesse globale de la réaction, assimilée à la vitesse de formation du produit P , peut se mettre sous la forme de l'équation de Michaelis-Menten :

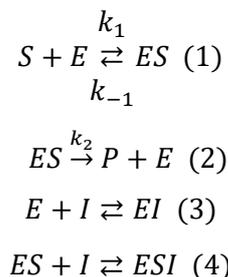
$$v = \frac{k_2[E]_0}{1 + \frac{K_M}{[S]}}$$

où $[E]_0$ est la quantité totale d'enzyme et K_M est une constante dont on donnera l'expression en fonction des constantes de vitesse. On notera par la suite $v_{\max} = k_2[E]_0$

- 1.2. En déduire l'allure du graphique $v = f([S])$, en précisant les éléments caractéristiques de cette courbe (asymptote, tangente à l'origine).
- 1.3. Pour quelle valeur de v obtient-on facilement K_M par simple lecture du graphique ?
- 1.4. Si cette valeur de v n'est pas connue, quelle autre représentation graphique permettrait d'obtenir K_M ?

2. Présence d'un inhibiteur I

Considérons le schéma réactionnel suivant :



Les étapes (3) et (4) correspondent à des équilibres rapides par rapport à la réaction de formation du produit.

- 2.1. Rappeler ce qu'est un inhibiteur. Quels modes d'action peut-il présenter ?

2.2. Inhibition compétitive

On se restreint tout d'abord au cas d'un inhibiteur compétitif, correspondant aux étapes (1), (2) et (3).

2.2.1. Quelles propriétés géométriques et électroniques l'inhibiteur va-t-il probablement présenter ?

2.2.2. Etablir la nouvelle loi de vitesse. On introduira $K_{I(E)}$, constante de dissociation du complexe EI , c'est-à-dire la constante d'équilibre de la réaction (3) écrite dans l'autre sens.

2.2.3. Par analogie avec l'équation de Michaelis-Menten, on écrira la loi de vitesse sous la forme :

$$v = \frac{v_{\max}^I}{1 + \frac{K_M^I}{[S]}}$$

donner l'expression de v_{\max}^I (pour $[I] \neq 0$) en fonction de v_{\max} (pour $[I] = 0$). De même, exprimer K_M^I (pour $[I] \neq 0$) en fonction de K_M (pour $[I] = 0$), $[I]$ et K_I .

2.2.4. La concentration en inhibiteur étant très grande devant celle de l'enzyme, on considèrera qu'elle reste constante tout au long de l'étude. Représenter graphiquement $1/v = f(1/[S])$ pour $[I] = 0$ et $[I] \neq 0$. Commenter.

2.3. Cas d'autres types d'inhibiteur

On étudie ensuite le cas d'un inhibiteur incompétitif, correspondant aux étapes (1), (2) et (4) :

2.3.1. Etablir la nouvelle loi de vitesse. On introduira cette fois-ci la constante $K_{I(ES)}$ de dissociation du complexe ESI .

2.3.2. En déduire la relation entre v_{\max}^{II} et v_{\max} , ainsi qu'entre K_M^{II} et K_M (on utilisera les mêmes notations qu'aux questions précédentes).

2.3.3. En considérant de nouveau que la concentration en inhibiteur reste constante au cours de l'étude, représenter graphiquement $1/v = f(1/[S])$ pour $[I] = 0$ et $[I] \neq 0$. Commenter.

On considère enfin le cas d'un inhibiteur mixte dit non compétitif, correspondant à l'ensemble des étapes (1), (2), (3) et (4).

2.3.4. Etablir la nouvelle loi de vitesse. Donner la relation entre v_{\max}^{III} et v_{\max} , ainsi qu'entre K_M^{III} et K_M .

2.3.5. En considérant de nouveau que la concentration en inhibiteur reste constante au cours de l'étude, représenter graphiquement $1/v = f(1/[S])$ pour $[I] = 0$ et $[I] \neq 0$. Déterminer le point d'intersection entre les deux droites. Commenter.

2.4. Application

2.4.1. Proposer en quelques lignes une démarche expérimentale pour un biologiste qui souhaite connaître le type d'inhibition d'un inhibiteur I face à une réaction sur un substrat S catalysée par une enzyme E .

2.4.2. L'activité de la malonyl-transacylase, notée E , est inhibée par l'acétyl-coenzyme A notée I . Le tableau ci-dessous donne les vitesses de la réaction (unité arbitraire u.a.) pour différentes concentrations en substrat S , et différentes concentrations en inhibiteur I .

$[S](10^{-6} \text{ mol. L}^{-1})$	Vitesse (unité arbitraire)		
	$[I] = 0 \text{ mol. L}^{-1}$	$[I] = 225 \mu\text{mol. L}^{-1}$	$[I] = 450 \mu\text{mol. L}^{-1}$
8,5	0,25	0,10	0,065
17	0,40	0,19	0,12
25	0,50	0,25	0,17
40	0,61	0,35	0,245
60	0,70	0,45	0,33
100	0,80	0,575	0,45

Déterminer le type d'inhibition et la constante $K_{I(E)}$ et/ou $K_{I(ES)}$ correspondante.