



Université Ziane Achour-Djelfa

Faculté des Sciences exactes et informatique

Département de Chimie

Cours adressé aux étudiants de 1^{ère} Année Master

Chimie Organique et Chimie Organique Appliquée

Module : Chimie Enzymatique

Chapitre III : Inhibiteurs Réversibles.

Enseignant : Dr. Bensatal Ahmed

E.mail.matmatidz@gmail.com

Introduction

L'activité enzymatique peut être affectée de façon spécifique par de nombreux agents chimiques. L'étude de ces effecteurs est importante. Elle permet d'analyser les processus enzymatiques et de comprendre certains aspects du mécanisme d'action des enzymes.

III.1. Les effecteurs de la réaction enzymatique

Un effecteur est une substance chimique qui modifie l'activité enzymatique. Les effecteurs sont répartis en deux groupes :

a. Les activateurs : qui augmentent l'activité enzymatique

b. Les inhibiteurs : qui diminuent l'activité enzymatique

III.2. Définition des inhibiteurs :

Un inhibiteur est une substance qui diminue la vitesse d'une réaction catalysée par une enzyme. En se liant sur une enzyme, un inhibiteur peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive.

L'inhibiteur est une molécule qui se lie à l'enzyme mais ne subit pas de transformation, il entraîne une diminution de l'activité enzymatique.

- Les inhibiteurs sont très utilisés pour déterminer le mécanisme d'action d'une enzyme.
- L'affinité d'un inhibiteur pour une enzyme est donnée par la constante d'inhibition KI.
- KI représente la concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques sont occupés.
- Ainsi, l'affinité d'un inhibiteur est d'autant plus grande que le KI est petit. Cette constante d'inhibition, exprimée en mole par litre correspond aussi à la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur.

III.3. Les types des inhibiteurs

On distingue généralement deux classes :

- les **inhibiteurs réversibles**, qui se lient à l'enzyme par des liaisons de faible énergie.
- les **inhibiteurs irréversibles**, qui se fixe de manière covalente.

III.4. Les inhibiteurs réversibles

Il existe trois types d'inhibiteurs :

Les **inhibiteurs compétitifs** : **IC**

Les **inhibiteurs non compétitifs**: **INC**

Les **inhibiteurs incompétitifs**: **IIC**

III .4.1. Les Inhibiteurs Compétitifs : IC / Inhibition Alternative: IA

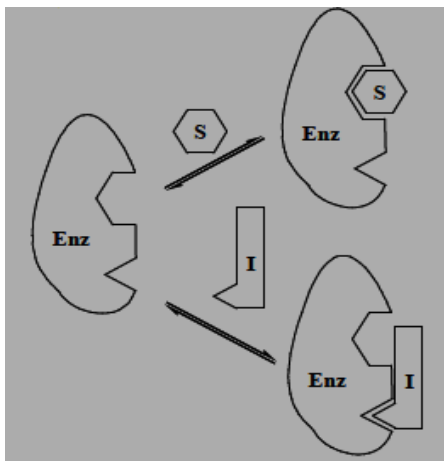
La liaison de l'inhibiteur, à l'enzyme libre, empêche la liaison du substrat alors l'inhibiteur et le substrat sont en compétition pour le même site de liaison sur l'enzyme, c'est l'inhibition la plus rencontrée.

Les IC sont des analogues structuraux du substrat S (se fixent sur le même site actif que le substrat).

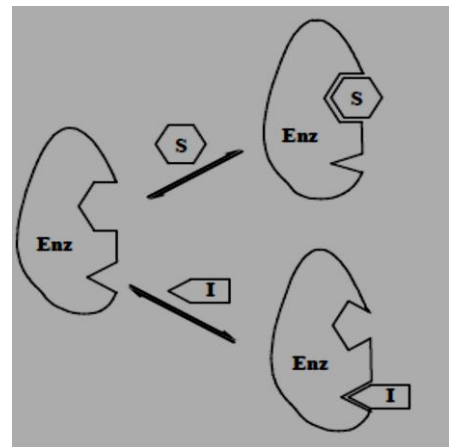
Il existe deux mécanismes possibles

Mécanisme 1. La liaison de l'inhibiteur, près du site actif, empêche la liaison du substrat par encombrement stérique.

Mécanisme 2. La liaison de l'inhibiteur, près du site actif, induit un changement de conformation de l'enzyme qui empêche la liaison du substrat.



Mécanisme 1

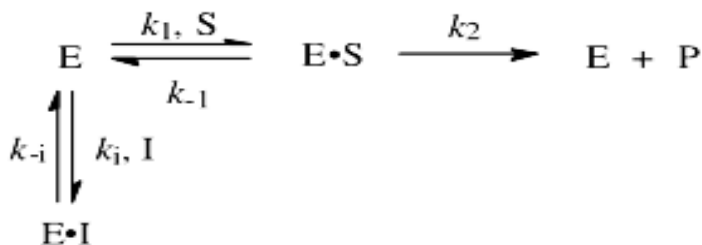


Mécanisme 2

Fig 1. Représentations schématiques alternatives de l'inhibition compétitive

☀ Représentation réactionnelles

Dans le cadre du schéma Michaelis-Menten, l'inhibition compétitive est représentée par un équilibre additionnel :



Équations pour l'inhibition compétitive

Conservation de masse : $[E]_0 = [E] + [E \cdot S] + [E \cdot I]$

Substitution en fonction de E·S :

– état stationnaire : $\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[E \cdot S]}$ – constante d'inhibition : $K_i = \frac{[E][I]}{[E \cdot I]}$

Nous savons encore que $\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[E \cdot S]}$ (approximation de l'état stationnaire).

Maintenant, $[E]_0 = [E] + [E \cdot S] + [E \cdot I]$ et $K_i = \frac{[E][I]}{[E \cdot I]}$,

alors, $[E \cdot I] = \frac{[E][I]}{K_i} = \frac{(k_2 + k_{-1})[E \cdot S] \cdot [I]}{k_1[S] K_i} = \frac{(k_2 + k_{-1})[E \cdot S][I]}{k_1[S]K_i}$.

Donc, $[E]_0 = \frac{(k_2 + k_{-1})[E \cdot S]}{k_1[S]} + [E \cdot S] + \frac{(k_2 + k_{-1})[E \cdot S][I]}{k_1[S]K_i}$

$$[E]_0 = [E \cdot S] \left(\frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1[S]} + 1 + \frac{(k_2 + k_{-1})[I]}{k_1[S]K_i} \right)$$

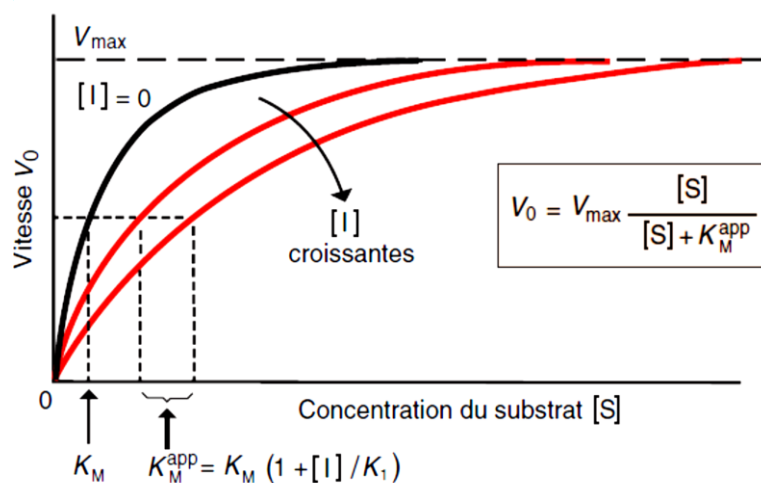
et $[E \cdot S] = \frac{[E]_0}{\left(\frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1[S]} + 1 + \frac{(k_2 + k_{-1})[I]}{k_1[S]K_i} \right)}$

$v = k_2[ES]$

donc, $v = \frac{k_2[E]_0}{1 + \left(\frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1[S]} \right) \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} = \frac{k_2[E]_0[S]}{[S] + \underbrace{\left(\frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1} \right)}_{K_M} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)}$

Alors on voit que le K_M augmente par un facteur de $\left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$

Représentation graphique hyperbolique



$$v = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_M \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)}$$

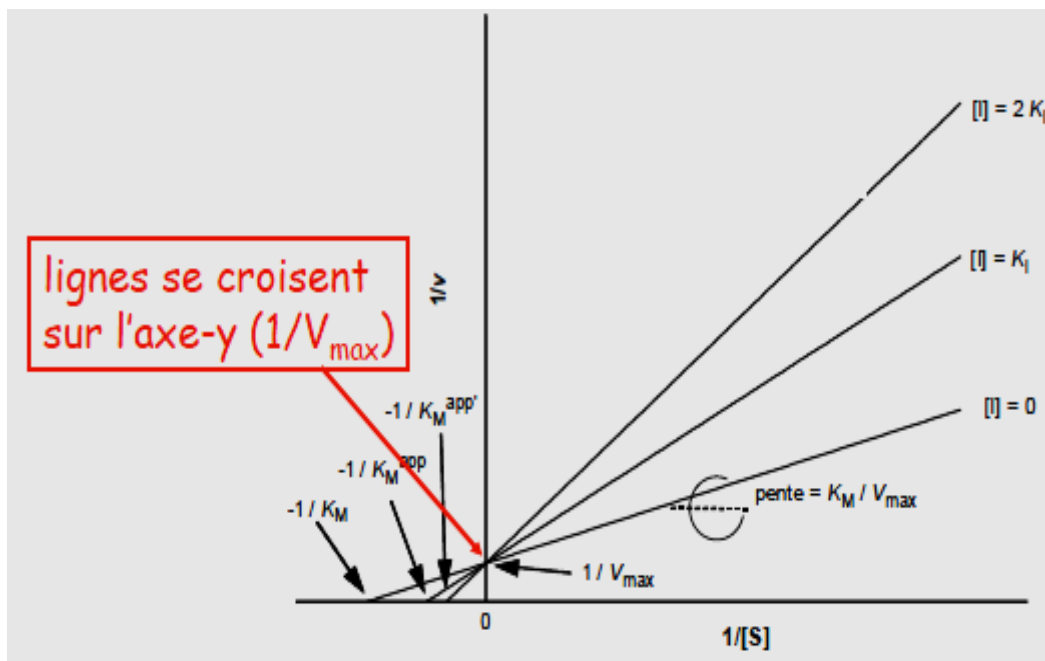
Graphique Michaelis-Menten d'inhibition compétitive

★ Représentation graphique **linéaire** de Lineweaver-Burk (LB)

Pour des concentrations croissantes de I, les droites obtenues coupent toutes l'axe des ordonnées au même point $1/V_{\max}$, ce qui confirme que l'augmentation de la concentration du substrat vient à annuler l'effet de l'inhibiteur. Par contre, elles coupent l'axe des abscisses en des points $-1/K_{Mapp}$ dont les valeurs absolues décroissent lorsque la concentration de I augmente. Ainsi, dans un système compétitif, la présence de l'inhibiteur se traduit par une variation apparente de la constante K_M , sans effet sur la vitesse maximum V_{\max} .

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

axe-y
 pente
 axe-x
 ordonné à l'origine



Graphique Lineweaver-Burk d'inhibition compétitive

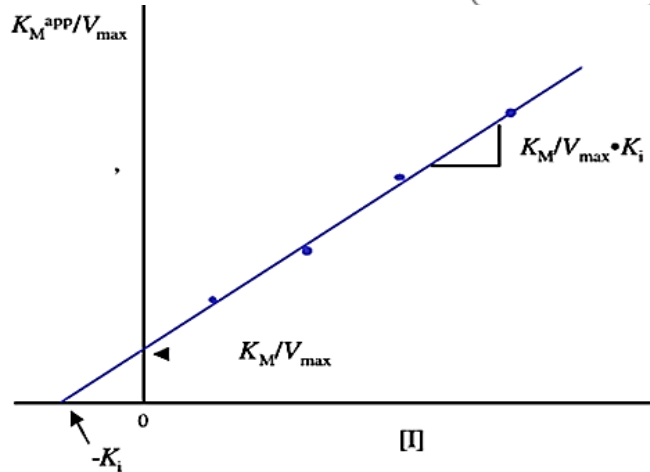
$$K_M^{app} = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) = K_M + \frac{K_M}{K_i} [I]$$

Détermination des valeurs de KI pour l'inhibition compétitives.

Il existe deux méthodes :

Méthode 1

$$K_M^{\text{app}} = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) = K_M + \frac{K_M}{K_i} [I] \quad \left(\div V_{\text{max}} \right) \Rightarrow \left(\frac{K_M^{\text{app}}}{V_{\text{max}}} \right) = \left(\frac{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)}{V_{\text{max}}} \right) = \frac{K_M}{V_{\text{max}}} + \frac{K_M}{V_{\text{max}} K_i} [I]$$



L'abscisse à l'origine donne la valeur de K_i : pente du graphique LB

Méthode 2

$$K_M^{\text{app}} = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) = K_M + \frac{K_M}{K_i} [I]$$

