

Cinétique et ordre des réactions

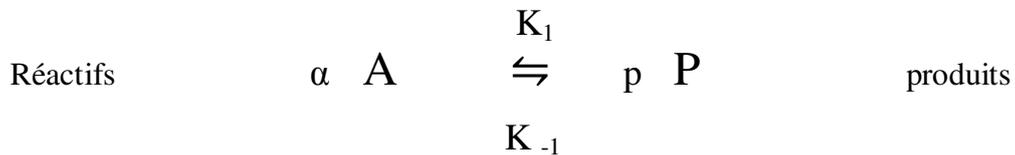
– Introduction :

Puisque les enzymes agissent en modifiant la vitesse de réaction il est nécessaire d'étudier la cinétique des réactions pour comprendre leurs modes d'action, pour cela nous allons rappeler les conventions et les concepts de base de la cinétique chimique.

Une réaction chimique est un processus au cours duquel des substances chimiques se transforment en une ou plusieurs autres réactions chimiques.

Une réaction chimique peut être représentée par une équation

Page facebook ; Domaine SNV : Biologie, Agronomie, Science Alimentaire, Ecologie



$K = K_1 / K_{-1}$ K : constante d'équilibre

α et p coefficient stœchiométrique

K_1 : constante de vitesse de la réaction directe ;

K_{-1} : constante de vitesse de la réaction inverse ;

 : Sens de la réaction directe

 : Sens de la réaction inverse

– Vitesse de réaction

La vitesse mesure la rapidité avec laquelle la concentration des réactifs et des produits changeant au cours du temps, la vitesse de la réaction peut être définie à partir de la disparition du réactif ou à partir de l'apparition du produit.

Si la concentration d'un réactif représentée par $[A]$ varie d'une quantité $\Delta[A]$ pendant l'intervalle du temps Δt la vitesse est donnée :

$$V = - \frac{\Delta[A]}{\Delta t}$$

c-à-d la vitesse est la variance (unité du temps de la concentration) de l'une des substrat initiales au finales d'où :

$$V = \frac{-1}{\alpha} \frac{d[A]}{dt} = \frac{1}{p} \frac{d[P]}{dt}$$

D'après la loi d'action de masse établie par Guldberg et Waage en (1867) : à température, la vitesse d'une réaction est proportionnelle au produits des [] des réactifs ou chacun de ces [] entrant des ce produits est élevée à une puissance égale au coefficient stœchiométrique de cet réactif



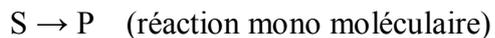
Le mécanisme d'une réaction décrite comment la réaction se déroule

- Réaction élémentaire / réaction complexe :

Si la réaction ce déroule en une seul étape on parle d'une réaction élémentaire, dans ce cas l'ordre de la molécularité s'évalue facilement



Une réaction complexe peut se décomposée en plusieurs réaction élémentaires



La molécularité fait référence au nombre de molécules altérée au cours de la réaction.

L'ordre d'une réaction est une description de la cinétique de la réaction qui découle directement de la loi d'action des masse, il définit le nombre de terme concentration qui doivent être multiplies pour obtenir l'équation de la vitesse de la réaction.

Exemple :

Réaction d'ordre un : La vitesse est proportionnelle à la concentration d'une seul réactif



$$V = \frac{d[A]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = K [A]$$

Exemple

Réaction d'ordre deux : La vitesse est proportionnelle au produit de deux concentrations ou au carré de la concentration d'un seul réactif



$$V = k [A] [B]$$

Remarque :

Le nombre de molécules participant à une réaction constitue un caractère important qu'on nomme l'ordre de la réaction, il existe deux manières de considérer l'ordre de la réaction

L'ordre par rapport à la concentration.

Exemple : l'étude d'une réaction enzymatique où on a :



Condition initiale pour mesurer la vitesse initiale :

$$[S] \gg [E] : [S] = 10^{-2} \text{ M} \rightarrow 10^{-4}$$

$$[E] = 10^{-6} \text{ M} \rightarrow 10^{-9}$$

$[S_0] \approx [S]_t$ temps de réaction doit être très court 5 à 10 % de S transformé

La première expérience :

$$[S]_1$$

$$[S]_1 \gg [E]$$

Mesurer le produit P apparu au cours du temps

$$t_1 = 1 \text{ min} \quad P_1$$

$$t_2 = 2 \text{ min} \quad P_2$$

$$t_{10} = 10 \text{ min} \quad P_{10}$$

– Effet de [S] sur V_i :

Pour $[S]_1$

$$V_{i1} = \frac{d[P]}{dt} = \text{tg } \alpha_1$$

V_{i1} pour $[S]_1$

la même chose pour $[S]_2$

$$V_{i2} = \frac{d[P]}{dt} = \text{tg } \alpha_2$$

Donc : détermination de $V_{ini} = f([s])$, la concentration en enzyme $[E]$ étant constante.

Notion de la vitesse initiale :

Dans les conditions initiales, le processus enzymatique est décrit par deux étapes :

- étape 1 : La Fixation

Formation du complexe ES par association réversible e rapide impliquant des interactions non covalent entre le substrat et les acides aminés de reconnaissance du site actif :



K_1 : constante de dissociation du complexe ES (sec^{-1})

Le rapport $K_1 / K_{-1} = K$ constante d'affinité de l'enzyme pour son substrat

- étape 2 : La catalyse



C'est la succession de réaction intermédiaires impliquant la transformation de ES en état de transition où S est lié au acides aminés du site catalytique au niveau du site actif de l'enzyme (souvent par des liaisons covalentes).

Cet état de transition se transforme en complexe EP qui se dissocier finalement en E_{libre} et P

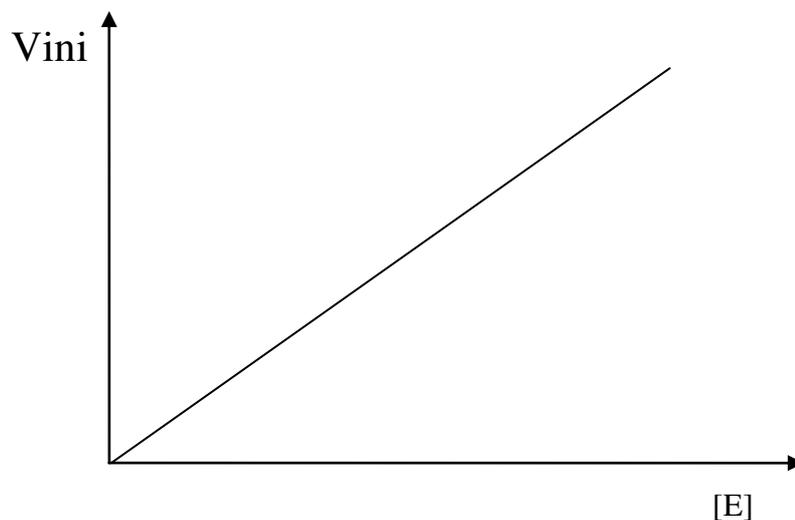
La catalyse est lent par rapport à la formation du complexe ES c-à-d que le K_{cat} est nettement inférieure à K_1 (constante d'association) $K_{cat} \ll K_1$ donc on peut écrire :

$$V_i = V_{ini} = \frac{d[P]}{dt} = K_{cat} [ES]$$



L'enzyme ayant une structure tertiaire, les acides aminés du site actif ne sont pas forcément voisins dans la structure primaire (souvent ils ne le sont pas)

Effet de la concentration de l'enzyme [E] sur la V_{ini}



L'enzyme est toujours saturée et les vitesses sont des V_i max

On choisissant une concentration de substrat [S] tel que l'enzyme soit saturé le complexe ES

Le rapport $ES / E_t = 1$ les V_i mesurées sont des V_{ini} maximum, on peut alors utiliser la V_{max} pour doser l'enzyme à condition de respecter $[S] \gg [E]_{totale}$ et de bien s'assurer que l'on mesure des V_{ini} max On observe d'après la courbe une proportionnalité strict entre les V_{ini} max et la concentration de l'enzyme.

$$V_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

- $[S] = K_m \rightarrow V_i = V_{\max} / 2$
- $[S] \gg K_m \rightarrow [S] + K_m \approx [S] \rightarrow V_{ini} = V_{\max}$
- $[S] \ll K_m \rightarrow [S] + K_m \approx K_m \rightarrow V_{ini} = (V_{\max} / K_m) [S]$

Equation de MICHAELIS MENTEN :

$$V_{ini} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

La vitesse est

$$V_{ini} = \frac{d[A]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

$$V_{ini} = k_2 [ES] - k_{-2} [E_L] [P]$$

Dont : $k_{-2} [E_L] [P]$ est négligeable par rapport au $k_2 [ES]$ puisqu'on est dans les conditions initiales

$$k_2 [ES] \gg \gg k_{-2} [E_L] [P]$$

$$\text{Donc } V_{ini} = k_2 [ES]$$

Interprétation cinétique de l'équation de MECHAELIS-MENTEN :

Deux hypothèse ont été déposées pour expliquée l'équation de MECHAELIS-MENTEN

1- Hypothèse de quasi-équilibre

L'équation de Henry MECHAELIS et MENTEN en 1913



k_2 et $[ES]$ sont inexprimables dans cette hypothèse

Dé l'addition de l'enzyme il s'établit un équilibre entre la forme libre de l'enzyme et de substrat et le complexe ES ;

Les auteurs ont défini une constante de dissociation K_s (constante macroscopique) qui lie les concentrations des composés impliqués dans cet équilibre

$$[ES] = [E_{\text{libre}}][S] / K_s \dots\dots\dots ①$$

$$V_{\text{ini}} = K_2 [ES] \dots\dots\dots ②$$

$$V_{\text{ini}} = K_2 [E_{\text{libre}}] [S] / K_s \dots\dots\dots ③$$

D'après la loi de conservation d'espèces :

$$[E_{\text{totale}}] = [E_{\text{libre}}] + [ES] \quad [E_{\text{libre}}] = [E_{\text{total}}] - [ES] \dots\dots\dots ④$$

$$V_{\text{ini}} = K_2 \frac{([E_{\text{total}}] - [ES]) [S]}{K_s}$$

$$V_{\text{ini}} = K_2 \frac{[E_{\text{total}}][S] - [ES][S]}{K_s}$$

$$V_{\text{ini}} = K_2 \frac{[E_{\text{total}}][S]}{K_s} - \frac{[ES][S]}{K_s}$$

$$K_s [ES] = ([E_{\text{totale}}] - [ES]) [S] = [E_{\text{totale}}] [S] - [ES] [S] \quad \text{d'après ① et ④}$$

Donc

$$[ES] (K_D + [S]) = [E_{\text{totale}}] [S]$$

Par la suite

$$[ES] = [E_{\text{totale}}] [S] / (K_D + [S])$$

$$V_{\text{ini}} = V_{\text{max}} [S] / (K_s + [S])$$

$$V_{\text{max}} = K_2 [E_{\text{totale}}] \quad \text{donc } V_{\text{ini}} = V_{\text{max}} \frac{[S]}{K_s + [S]} \rightarrow \text{fonction de saturation}$$

$$K_s = [E_{\text{libre}}] [S] / [ES]$$

2- Hypothèse de l'état stationnaire du [ES] de BRIGGS-HALDANE 1925

Les auteurs ont développé une équation plus générale que celle de MICHAELIS-MENTEN, ils ont montré qu'il ne s'établit pas forcément un équilibre rapide pour toutes les enzymes entre les formes libres l'enzyme et le substrat et le complexe ES mais après un certain temps, étape pré-stationnaire, c'est la concentration de complexe [ES] qui demeure constante, cette constante est à l'état stationnaire $[ES] = \text{constante}$ si la vitesse de formation de ES égale à la vitesse de dissociation.

La vitesse de formation de ES :

$$K_1 [E_{\text{libre}}] [S] + K_2 [E_{\text{libre}}] [P]$$

La vitesse de dissociation de ES :

$$K_{-1}[ES] + K_2 [ES]$$

Si la vitesse de dissociation = vitesse de formation

Donc

$$\Leftrightarrow K_1 [E_{\text{libre}}] [S] = K_{-1}[ES] + K_2 [ES]$$

$$\Leftrightarrow K_1 [E_{\text{libre}}] [S] = (K_{-1} + K_2)[ES]$$

$$\Leftrightarrow K_1 [E_{\text{libre}}] [S] = (K_{-1} + K_2)[ES]$$

$$\Leftrightarrow [E_{\text{libre}}] [S] = ((K_{-1} + K_2) / K_1)[ES]$$

$$K_m = (K_{-1} + K_2) / K_1$$

On définit une autre constante macroscopique $K_m = (K_{-1} + K_2) / K_1$

D'où on peut l'écrire

$$[E_{\text{libre}}][S] = K_m [ES] \Leftrightarrow K_m = [E_{\text{libre}}][S] / [ES]$$

$$V_{\text{ini}} = K_2 [ES] \quad V_{\text{ini}} = [E_{\text{libre}}][S] / K_m$$

D'après la loi de conservation des espèces :

$$[E_{\text{total}}] = [E_{\text{libre}}] + [ES] \Leftrightarrow [E_{\text{libre}}] = [E_{\text{total}}] - [ES]$$

$$[ES] = (([E_{\text{total}}] - [ES]) [S] / K_m) \Leftrightarrow [ES] K_m = [E_{\text{total}}] [S] - [ES] [S]$$

$$\Leftrightarrow [ES] = [E_{\text{total}}] [S] / (K_m + [S])$$

$$V_{\text{in}} = K_2 [ES]$$

$$V_{\text{in}} = K_2 [E_{\text{total}}] [S] / (K_m + [S]) \quad \text{sachant que } K_2 [E_{\text{total}}] = V_{\text{max}}$$

$$\Leftrightarrow V_{\text{in}} = V_{\text{max}} [S] / (K_m + [S])$$

La signification des paramètres cinétiques

- La K_2 ou constante catalytique :

K_2 est une constante de vitesse de premier ordre (réaction monomoléculaire) dont l'unité est S^{-1} c'est l'inverse du temps

$$K_{\text{cat}} = V_{\text{max}} / [E]$$

Fréquence : c'est la fréquence à laquelle l'enzyme a emplit l'acte catalytique

- La vitesse maximale de la réaction

La vitesse maximale de la réaction enzymatique est une vitesse initiale théorique : c'est l'asymptote de l'hyperbole obtenu lorsque l'on porte la V_{in} en fonction de $[S]$

$V_{\text{in}} = f([S])$ que l'on appelle la courbe de saturation.

Elle ne peut être physiquement mesurée puisqu'elle correspond à une constante de $[S]$ à l'infini, sa valeur ne peut être qu'approchée ;

Dans le premier temps par la mesure d'activité en présence de concentrations croissantes de substrat

Dans un deuxième temps par l'extrapolation des données expérimentales à une concentration infinie de l'ordre de représentation graphique, comme celle du double inverse.

- Evaluation de $[S]$, $[E]$, $[ES]$ au cours d'une réaction enzymatique

L'efficacité d'une enzyme est déterminée par le rapport K_{cat} / K_m , augmente parce que

K_{cat} augmente \Rightarrow augmentation de $[P]$

K_m diminue \Rightarrow l'affinité $= 1/K_m$ augmente sachant que $k_m = (K_{-1} + K_2) / K_1$

Inhibition de la réaction enzymatique :

– Inhibition compétitive

Se sont des composés dont la structure ressemble au substrat il se combine à l'enzyme pour lequel leur affinité est parfois plus élevée que celle de substrat naturel et prend la place de celui-ci. Dans ce type d'inhibition on marque une fixation exclusive de S ou I sur le site actif.

$V = V_{max} [S] / (\alpha K_m + [S])$ avec $\alpha = 1 + [I]/K_i$ et K_i constante d'inhibition (mol/l)

$$1/V = (K_m/V_{max}) \alpha \cdot 1/[S] + 1/V_{max}$$

$$K_{m_{app}} = \alpha K_m$$

$$K_{m_{app}} > K_m$$

$$V_{max} = V_{max_{app}}$$

– Inhibition non compétitive

L'inhibiteur se fixe sur l'enzyme libre et sur le complexe ES c-à-d que l'inhibiteur se fixe sur un site autre que le site actif

$V = V_{max}(1/\alpha) [S] / (K_m + [S])$ avec $\alpha = 1 + [I]/K_i$ et K_i constante d'inhibition (mol/l)

$$1/V = (K_m/V_{max}) \alpha \cdot 1/[S] + (1/V_{max}) \alpha$$

$$K_{m_{app}} = K_m$$

$$V_{max_{app}} = V_{max} / \alpha$$

$$V_{max_{app}} < V_{max}$$

– Inhibition in-compétitive

Dans ce cas seul le complexe ES présente de l'affinité pour l'inhibiteur,

L'inhibiteur ne peut pas se fixer sur l'enzyme libre à cause de sa structure, généralement la liaison du substrat à l'enzyme entraîne une modification de la conformation de l'enzyme, révélant ainsi un site de fixation pour l'inhibiteur,

L'inhibiteur on retour modifier la conformation de site actif de l'enzyme et empêche la réaction enzymatique

$V = V_{\max}(1/\alpha) [S] / (K_m (1/\alpha) + [S])$ avec $\alpha = 1 + [I]/K_i$ et K_i constante d'inhibition (mol/l)

$$1/V = (K_m/V_{\max}) \cdot 1/[S] + (1/V_{\max}) \alpha$$

$$K_{m_{app}} = K_m / \alpha$$

$$V_{\max_{app}} = V_{\max} / \alpha$$

$$V_{\max_{app}} < V_{\max}$$

$$K_{m_{app}} > K_m$$

Inhibition par le substrat