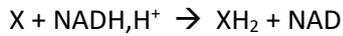


Une poudre contenant une enzyme à usage thérapeutique est contrôlée lors de la production. L'enzyme est une oxydoréductase catalysant une réaction du type



Pour effectuer ce contrôle, 100 μL d'une solution A contenant 0,1 g de poudre dans 10 mL de sérum physiologique est ajoutée à 400 μL d'une solution de tampon et 100 μL d'une solution à 0,2 mM de NADH, H^+ . L'ensemble est préincubé 5 minutes à 37°C dans une cuve de 1 cm de côté. Puis la réaction est déclenchée par l'ajout de 400 μL de solution du substrat X de concentration égale à 15 Km. La réaction se déroule dans les conditions de vitesse initiale. La quantité de NADH, H^+ consommée en trois minutes est de 0,6 micromole.

Une solution de poudre contenant la même préparation de poudre d'enzyme à la concentration de 1 g/L à une absorbance de 0,05

Coefficient molaire du NADH, H^+ : 6300 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$

- 1- Calculer l'absorbance du mélange réactionnel avant le déclenchement de la réaction par le substrat
- 2- Calculer la concentration catalytique de la poudre.
- 3- Le pharmacien doit préparer 100 gélules de 500 mg à 50 U. Calculer la quantité (poids) de poudre contenant l'enzyme et d'excipient qu'il doit utiliser.
- 4- Déterminer la valeur de la concentration catalytique de la poudre que nous aurions obtenue si la solution de substrat X avait été de 20 Km. Que pouvez vous conclure sur la valeur de la concentration catalytique ?

Réponses

- 1) La loi de Beer Lambert est additive

Abs tot = abs solution pdre + abs NADH, H

$$= 0,05 \times 10 \times 1/6 + 6300 \times 0,2 \cdot 10^{-3} \times 1/6$$

$$= 0,0833 + 0,21$$

$$= 0,2933$$

- 2) Activité dans la cuve : 0,6 μmol consommée en 3 min soit 0,2 $\mu\text{mol}/\text{min}$ pour 100 μL de solution

soit $0,2 \times 10^4 = 2000 \text{ U/L}$ pour la solution de poudre elle même

Solution à 10g de poudre par litre soit une concentration catalytique de 200 U/g pour la poudre

- 3) Il faut faire 100 Gélules à 50 U

Sachant que 1g de poudre représente 200 U cela fait 4 fois moins pour une gélule, soit 250 mg de poudre.

Il faut donc 250 mg d'excipient par gélule pour une gélule de 500 mg.

Donc pour préparer 100 gélules il faut mélanger 25 g de poudre et 25 g d'excipient.

- 4) Dans la condition initiale, la concentration dans le mélange réactionnel de substrat est de $15 \text{ Km} \times 4/10 = 6 \text{ Km}$ l'activité mesurée dans ces conditions est donc $V_0 = 6/7 V_{\text{max}}$

Dans les nouvelles conditions : $20 \times 4/10 = 8 \text{ KM}$ soit $V_0' = 8/9$ de la V_{max}

$$V_0' = V_0 \times 8/9 \times 7/6 = 207,41 \text{ soit } 207,41 \text{ U/g}$$

On en conclue donc que la concentration catalytique dépend des conditions opératoires et notamment de la concentration en substrat utilisée