



# ENZYMOLOGIE

**2<sup>ème</sup> année Pharmacie**

UE 4 Sciences biologiques 2  
Biochimie & Biologie Moléculaire  
(4 heures)

**2024-2025**

Arnaud Bruneel

[arnaud.bruneel@universite-paris-saclay.fr](mailto:arnaud.bruneel@universite-paris-saclay.fr)  
[arnaud.bruneel@aphp.fr](mailto:arnaud.bruneel@aphp.fr)

# Cours Enzymologie n° 2 (1 heure)

(30 septembre 2024)

## Plan

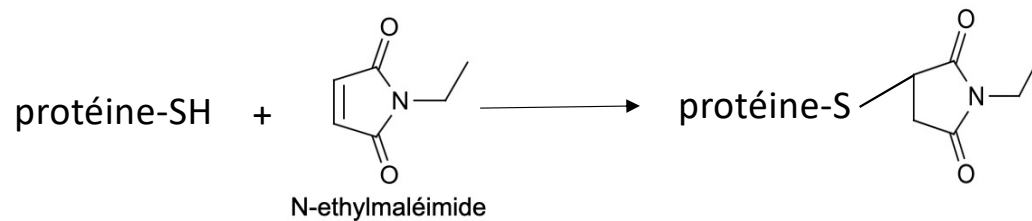
### III- Les inhibiteurs enzymatiques

- 1- inhibiteurs irréversibles (exemples)
- 2- inhibiteurs compétitifs (IC)
- 3- inhibiteurs non-compétitifs (INC)
- 4- inhibiteurs incompétitifs (IIC)
- 5- inhibition par excès de substrat

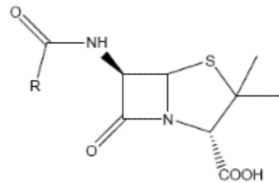
### III- Les inhibiteurs enzymatiques

#### 1- inhibiteurs irréversibles (exemples)

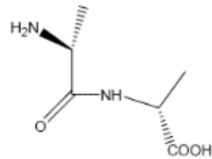
+ Dénaturation de la protéine enzymatique : **physique** (température et pH extrêmes) ou **chimique** (SDS, solvants organiques...)



Peu spécifique (inhibition de groupe) : inhibiteur de nombreuses enzymes à cystéines comme l'hexokinase, la papaïne, la succinate deshydrogénase ...

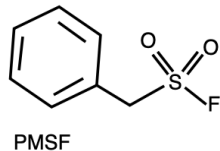


Pénicilline



motif DAla-DAla

Liaison stable de la pénicilline aux transpeptidases bactériennes

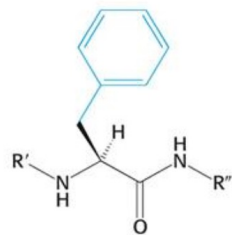


Le PMSF (*phenylmethanesulfonylfluoride*) ou l'AEBSF utilisés comme inhibiteurs des protéases à sérine dite « active » dans de nombreux "cocktails inhibant les protéases ». Attention, peuvent inhiber l'acétylcholine estérase humaine !

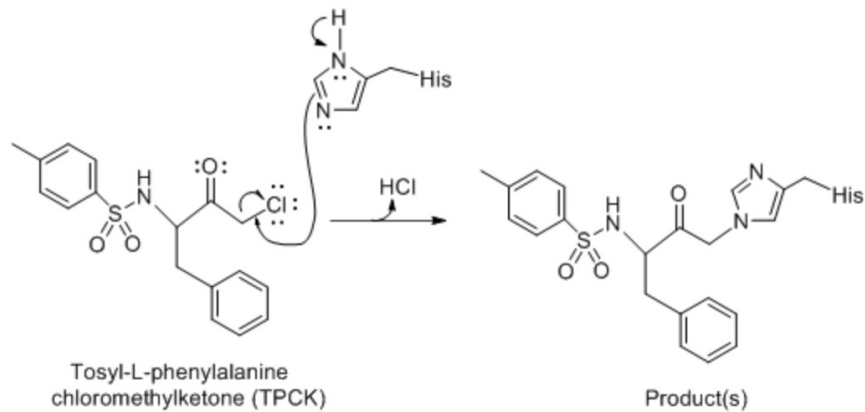
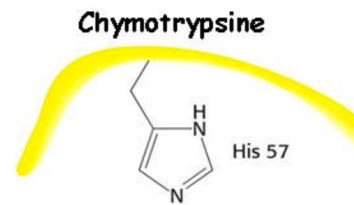
TP BBCM

## Substrats « suicides »

Ex : TLCK/trypsine et TPCK/chymotrypsine



Substrat naturel de la chymotrypsine

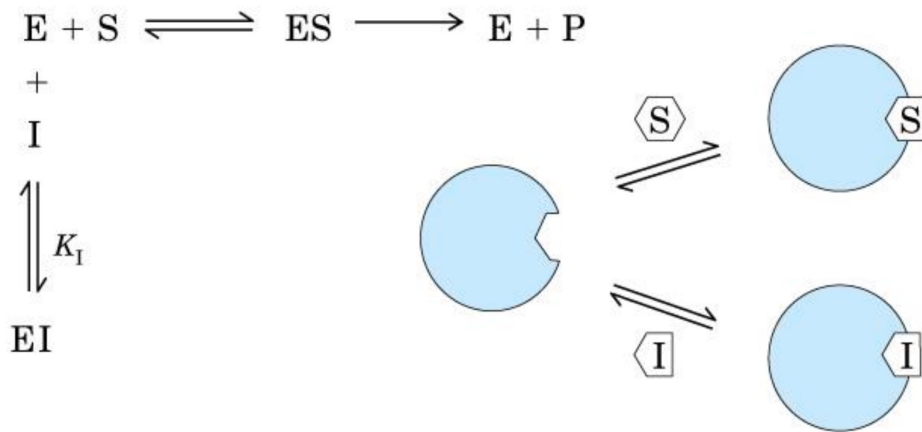


Liaison covalente avec l'His 57 du SA  
→ inhibition irréversible

### III- Les inhibiteurs enzymatiques

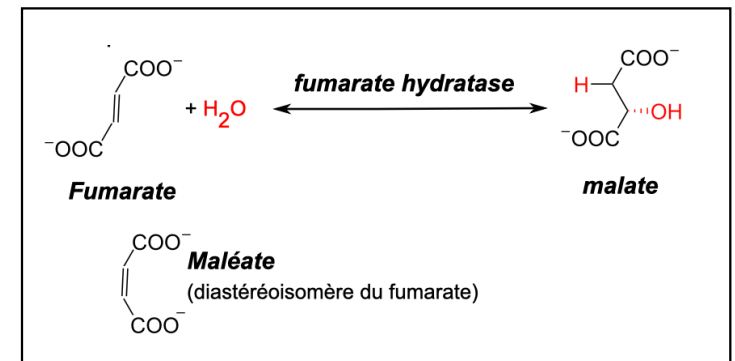
#### 2- inhibiteurs compétitifs (IC)

I est analogue à S et occupe le SA, en compétition avec S donc **l'un déplace l'autre** (loi d'action de masse)  
Analogues structuraux du substrat (ex : maléate et fumarate hydratase)



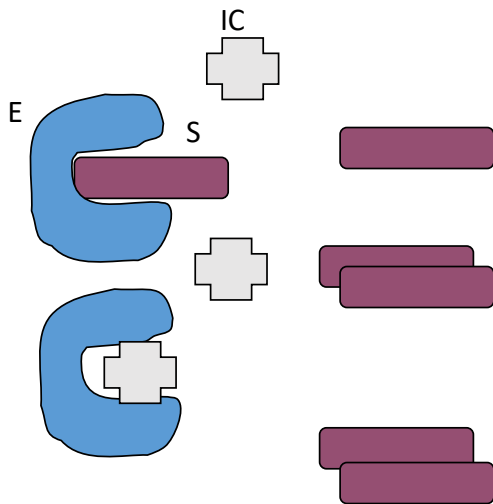
% d'inhibition :

$$\frac{v_0 - v_i}{v_0} = \frac{(I)}{(I) + K_i \left(1 + \frac{(S)}{K_m}\right)}$$



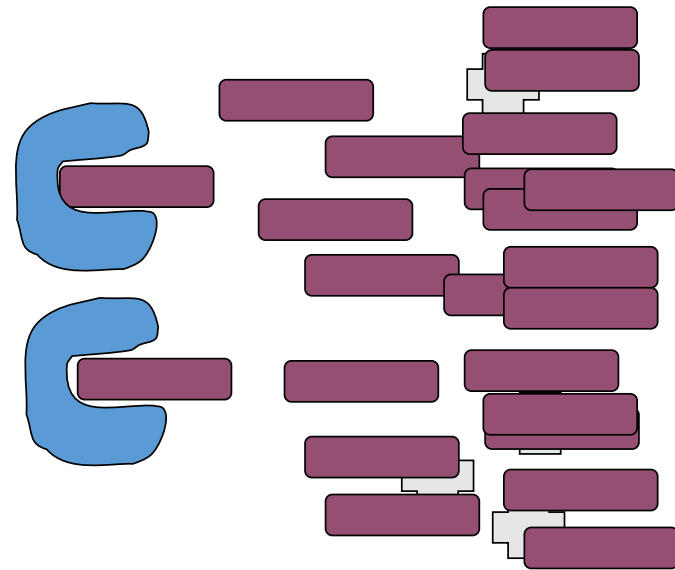
## Inhibition compétitive

En conditions de  $V_0 = \text{excès de substrat}$ ,  
L'IC inhibe  $\rightarrow V_0$  app ou mesurée diminue



$K_M$  app augmente

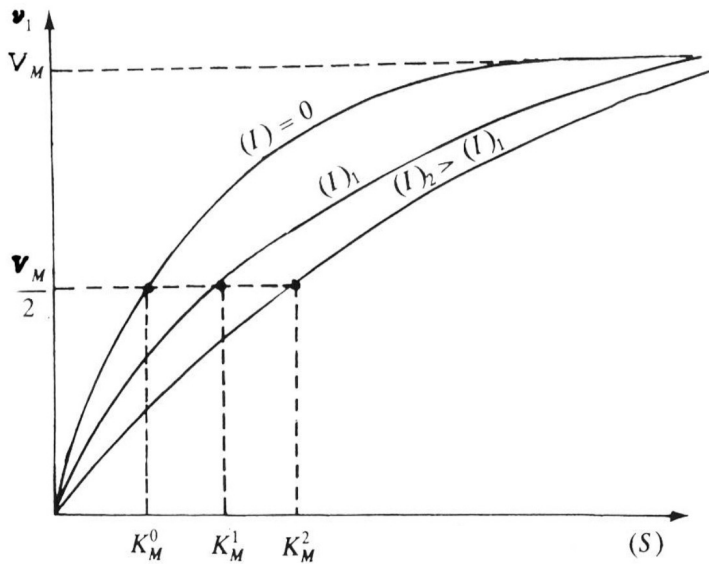
En conditions de  $V_{\max} = \text{excès ++++ de substrat}$ ,  
l'IC « n'est plus là », l'IC n'inhibe plus  
 $\rightarrow V_{\max}$  app identique



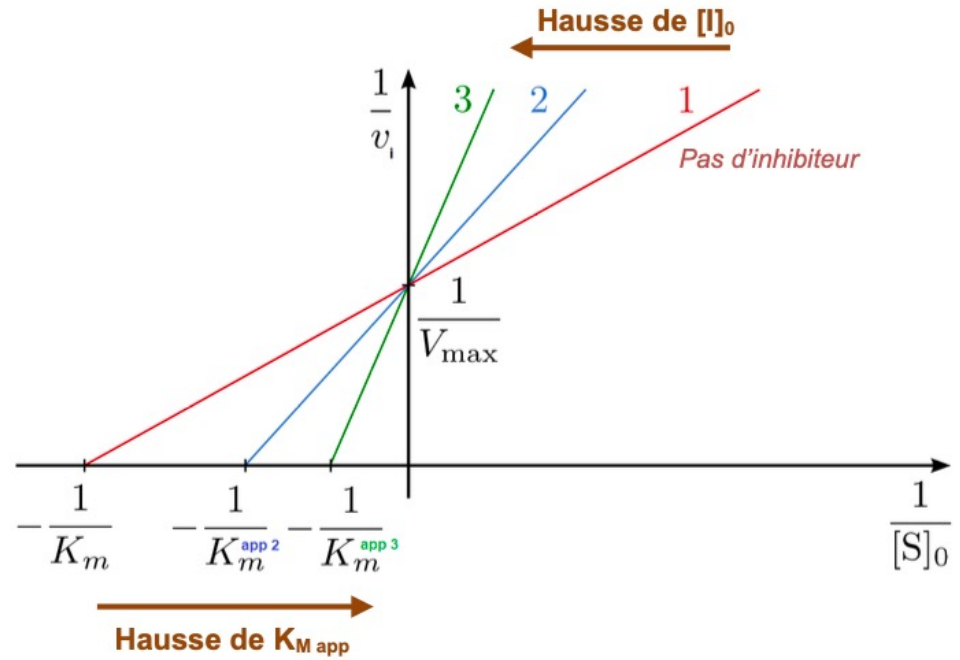
### III- Les inhibiteurs enzymatiques

#### 2- inhibiteurs compétitifs (IC)

Enzymologie  
=  
Biochimie  
Expérimentale



Augmentation  $K_M$  app



**Calcul du  $K_i$  d'un inhibiteur compétitif :**

$$K_{Mapp} = K_M (1 + [I]/K_i)$$

$$K_{Mapp}/K_M = 1 + [I]/K_i$$

$$[I]/K_i = (K_{Mapp}/K_M) - 1$$

$$K_i = [I]/(K_{Mapp}/K_M) - 1$$

$K_{Mapp}$  =  $K_M$  apparent (en présence de l'inhibiteur)

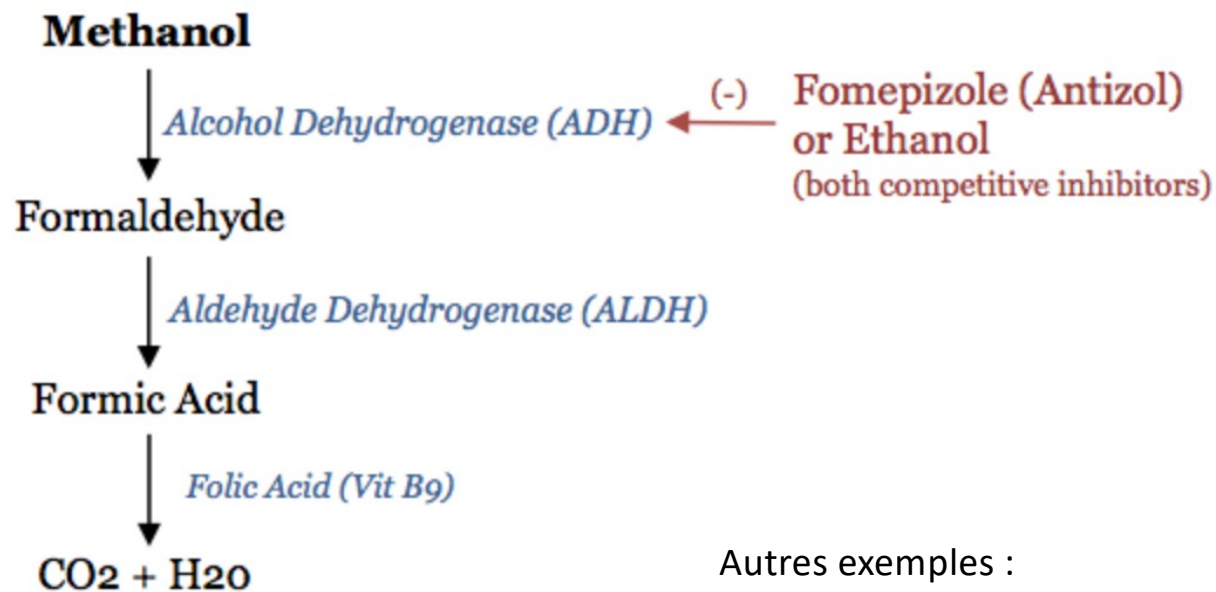
$[I]$  = concentration de l'inhibiteur

$K_i$  = constante de dissociation de l'inhibiteur

- Facteur d'inhibition = $1 + [I]/K_i$
--



## IC et intoxication par le méthanol (ou par l'éthylène glycol contenu dans les antigels)



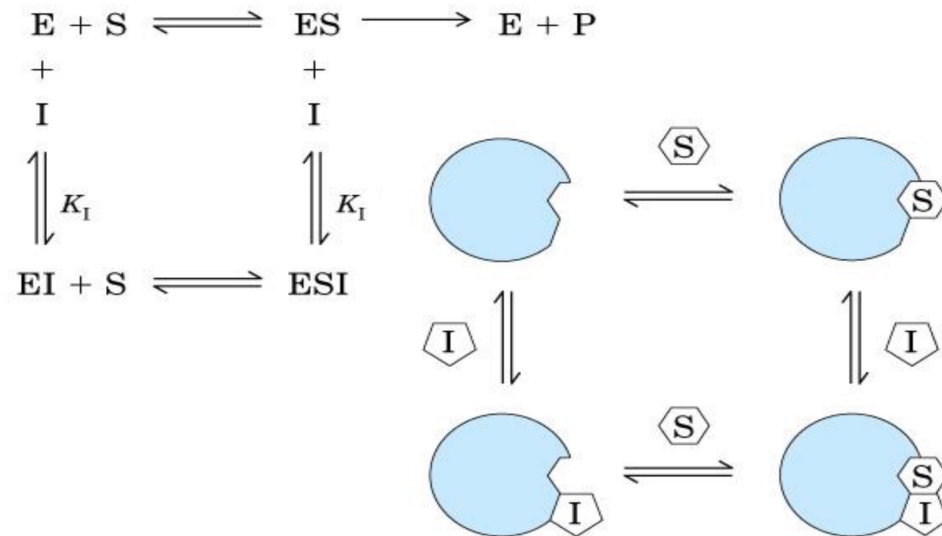
Autres exemples :

- Méthotrexate / dihydrofolate reductase
- Antiprotéases pour le traitement du VIH
- etc. etc.

### III- Les inhibiteurs enzymatiques

#### 3- inhibiteurs non-compétitifs (INC) (*purs*)

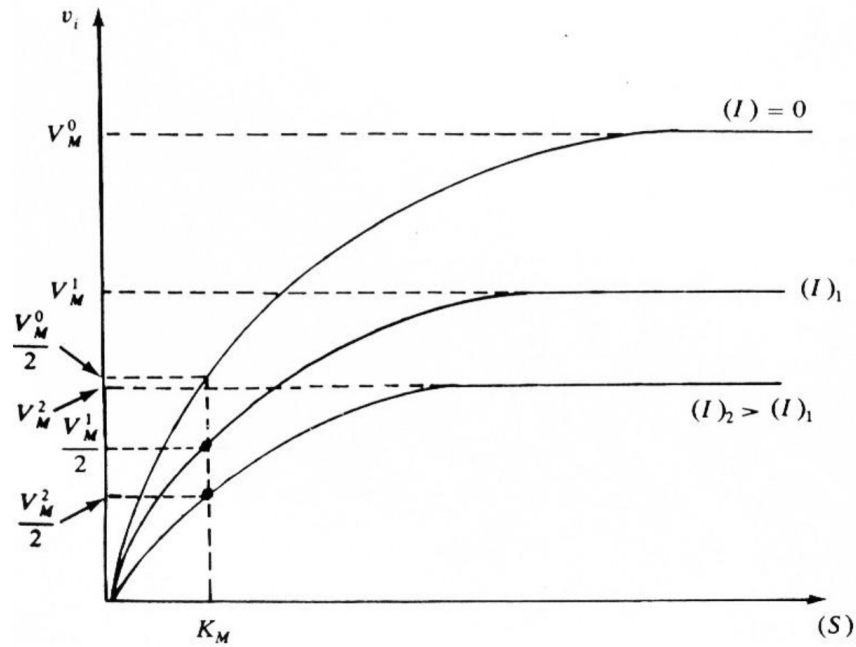
S et I se lient réversiblement et indépendamment sur E sans modifier leurs constantes de dissociation



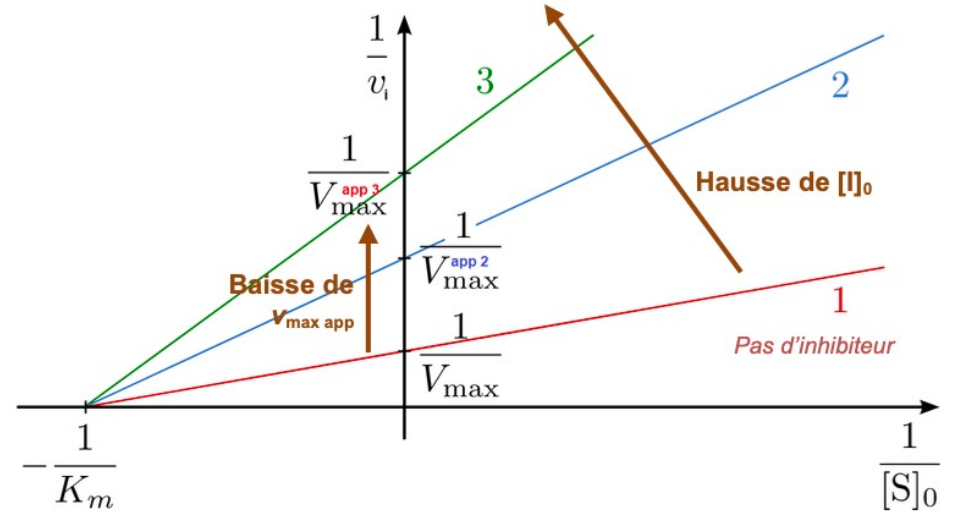
$$\frac{v_0 - v_i}{v_0} = 1 - \frac{K_i}{K_i + (I)} = \frac{(I)}{K_i + (I)}$$

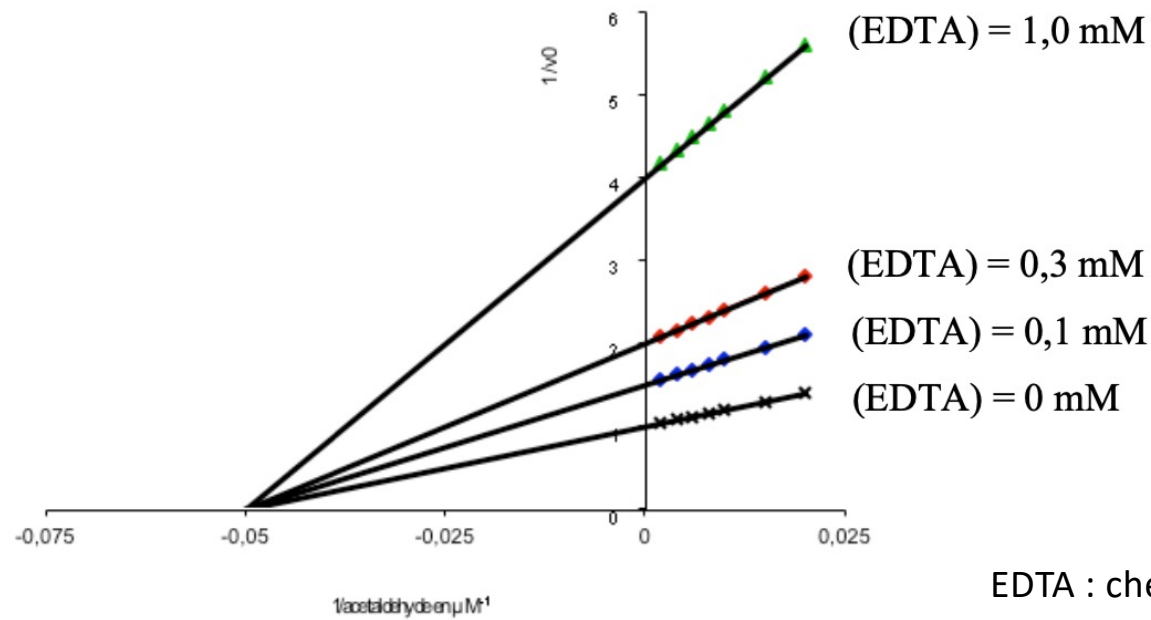
## 2- inhibiteurs non-compétitifs (INC) (purs)

Enzymologie  
=  
Biochimie  
Expérimentale



$K_M$  app identiques





EDTA : chélateur des cations divalents

**Calcul du Ki d'un inhibiteur non-compétitif :**

$$V_{\max \text{ app}} = V_{\max} / (1 + [I]/K_i)$$

$$V_{\max} / V_{\max \text{ app}} = 1 + [I]/K_i$$

$$[I]/K_i = (V_{\max} / V_{\max \text{ app}}) - 1$$

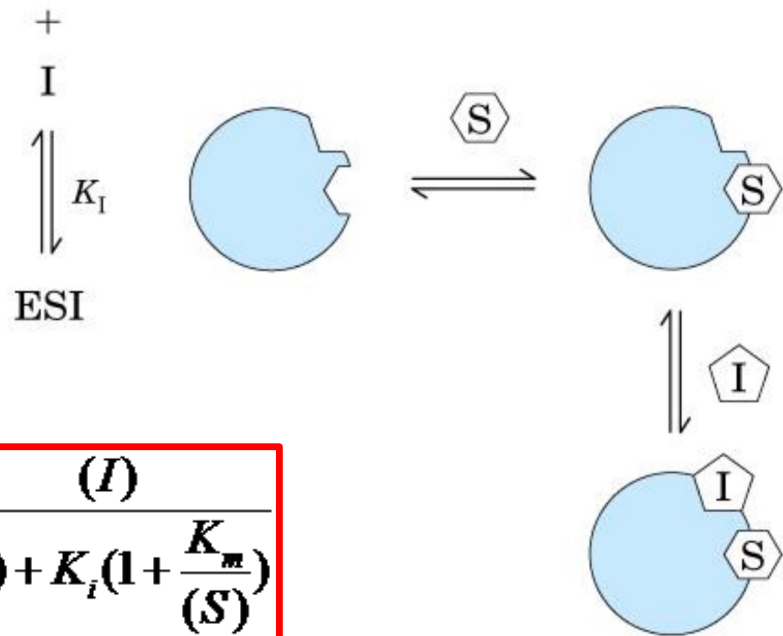
$$K_i = [I] / (V_{\max} / V_{\max \text{ app}} - 1)$$

- Facteur d'inhibition = $1 + [I]/K_i$
--

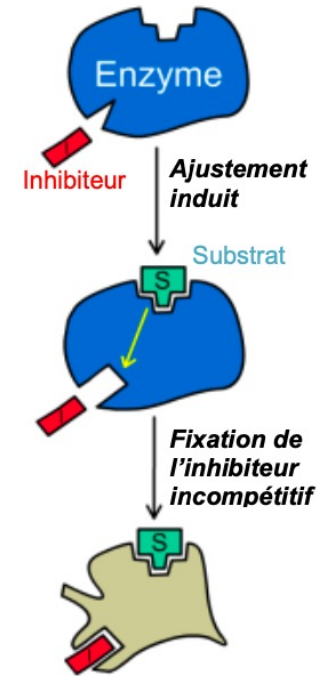
### III- Les inhibiteurs enzymatiques

#### 3- inhibiteurs incompétitifs (IIC)

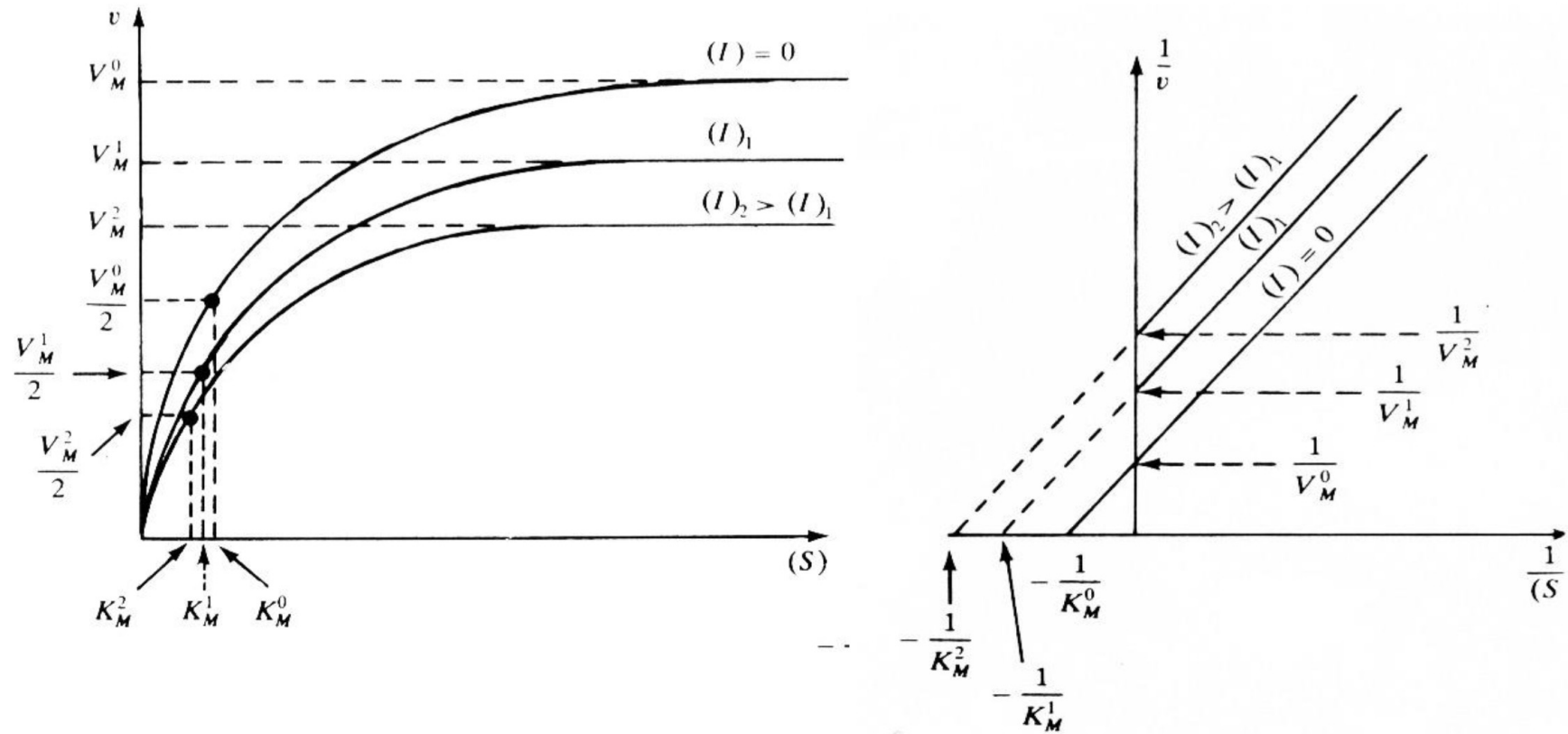
I se lie à ES pour former un complexe improductif



$$\frac{v_0 - v_i}{v_0} = \frac{(I)}{(I) + K_i \left(1 + \frac{K_m}{(S)}\right)}$$



### 3- inhibiteurs incompetitifs (IIC)



**Calcul du Ki d'un inhibiteur incompétitif :**

$$K_M \text{ app} = K_M / (1 + [I]/K_i)$$

$$K_M / K_M \text{ app} = 1 + [I]/K_i$$

$$[I]/K_i = K_M / K_M \text{ app} - 1$$

$$K_i = [I] / (K_M / K_M \text{ app} - 1)$$

*Ou en envisageant  $V_{max} \text{ app}$  et  $V_{max} \dots$*

- Facteur d'inhibition = $1 + [I]/K_i$
--

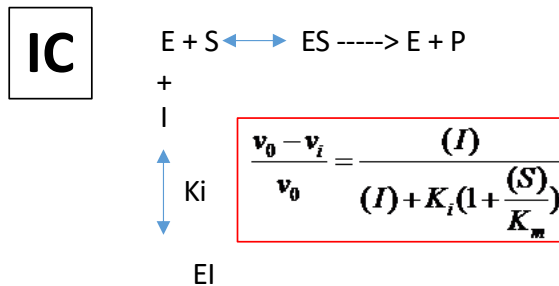


## Les inhibiteurs enzymatiques

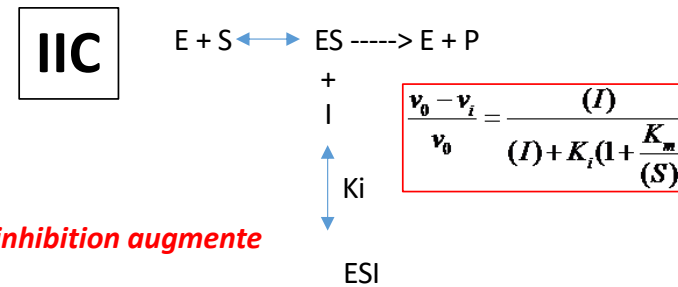
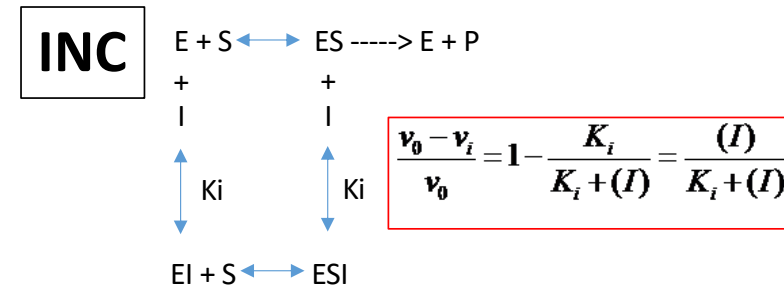
- $K_i$  : constante de dissociation de l'inhibiteur
- Facteur d'inhibition =  $1 + I/K_i$

$$v_{0_{app}} = \frac{V_{max_{app}} \cdot [S]}{K_{m_{app}} + [S]}$$

*Si S augmente, inhibition est la même*



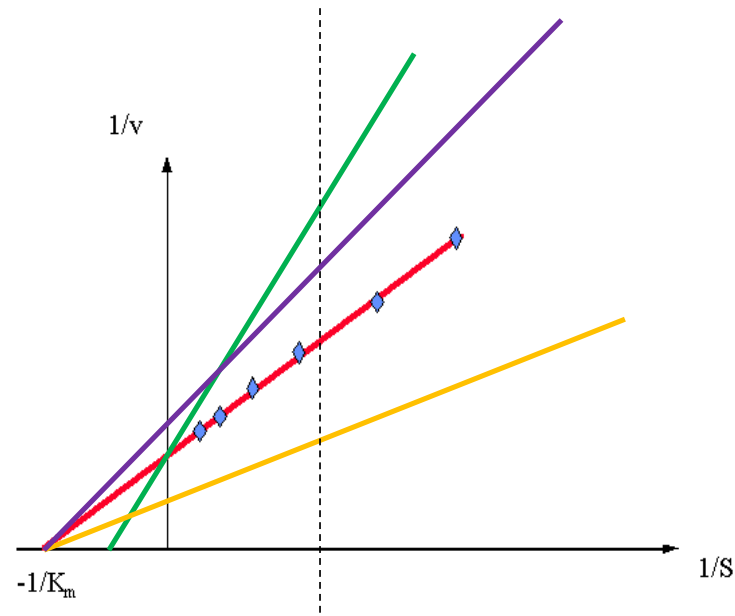
*Si S augmente, inhibition diminue*



*Si S augmente, inhibition augmente*

On a une solution d'enzyme [E], on lui donne différentes [S], on mesure les  $V_0$  et on « passe » aux inverses. En l'absence ou en présence d'une molécule additionnelle. On envisage éventuellement différentes concentrations de la molécule additionnelle.

Enzymologie  
=  
Biochimie  
Expérimentale



- Inhibiteur Compétitif

- Molécule activatrice

- Inhibiteur non-compétitif

Le **glyphosate** (N-phosphométhyl-glycine, **Roundup**) est un herbicide inhibiteur réversible de la 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSP), une enzyme clé de la biosynthèse des acides aminés aromatiques chez les végétaux. L'EPSP catalyse : shikimate-3-phosphate (S3P) + phosphoénolpyruvate (PEP)  $\rightarrow$  5-énolpyruvyl-shikimate-3-phosphate + phosphate. Le mécanisme enzymatique est ordonné : S3P premier substrat lié puis PEP. Le glyphosate se comporte en inhibiteur incompétitif du 1° substrat fixé, le shikimate-3-phosphate et compétitif du 2° substrat lié phosphoénolpyruvate.

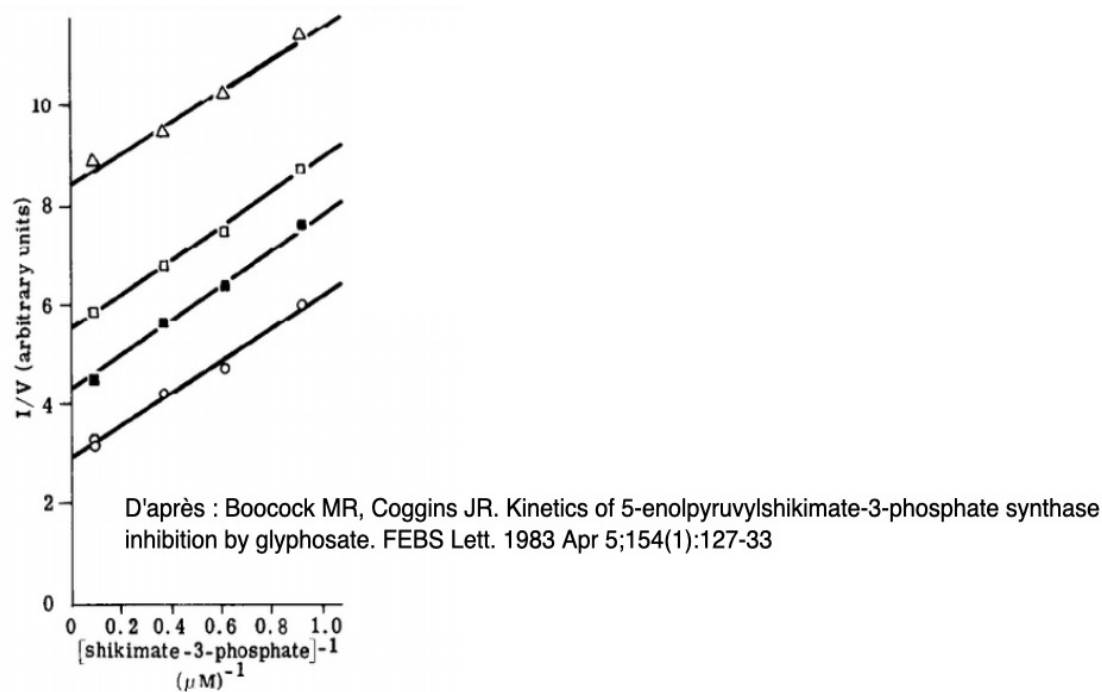


Fig.4. Effect of glyphosate on EPSP synthase: double reciprocal plot of initial velocity vs [shikimate-3-phosphate] at fixed 5.63  $\mu$ M PEP and glyphosate at: (○) 0; (■) 1  $\mu$ M; (□) 2  $\mu$ M; (△) 4  $\mu$ M.

### III- Les inhibiteurs enzymatiques

#### 4- inhibition par excès de substrat (cas particulier de l'acétylcholine estérase)

