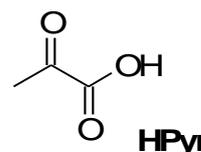
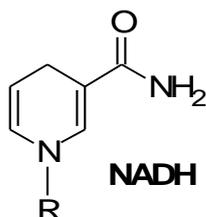
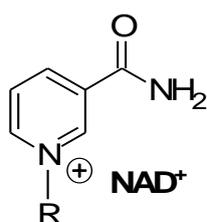


# Glycolyse anaérobie et acide lactique

La glycolyse est un mécanisme complexe faisant intervenir de nombreuses réactions biochimiques. La dernière d'entre elles est une réaction d'oxydoréduction. Il s'agit de la réduction de l'ion pyruvate noté  $\text{Pyr}^-$  en ion lactate noté  $\text{Lac}^-$  par la forme réduite du nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) en présence d'un tampon phosphate ( $\text{pH} = 7,5$ ). Cette réaction se déroule en présence d'une enzyme spécifique de l'acide L-lactique (acide 2-hydroxypropanoïque), la lactate déshydrogénase, notée E.

**Données à 298 K :**

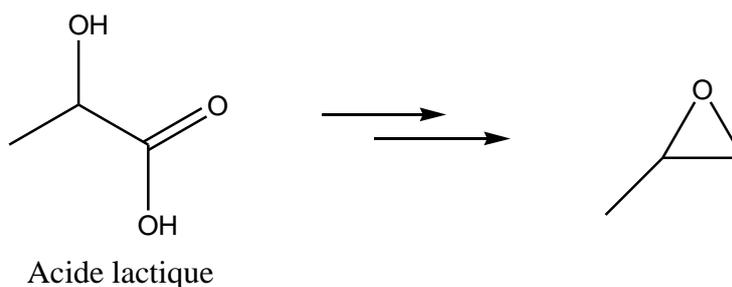
- $pK_a$  du couple acide lactique/ion lactate noté  $\text{HLac}/\text{Lac}^-$  :  $pK_a = 3,9$ .
- $pK_a$  du couple acide pyruvique/ion pyruvate noté  $\text{HPyr}/\text{Pyr}^-$  :  $pK'_a = 2,5$ .
- Potentiel standard redox du couple  $\text{HPyr}/\text{HLac}$  :  $E_1^0 = 0,27 \text{ V}$ .
- Potentiel standard redox du couple  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  :  $E_2^0 = -0,11 \text{ V}$ .



**Question simple :** comment activer le caractère nucléofuge des alcools. Ecrire les équations bilans des réactions envisagées.

**Questions ouvertes :**

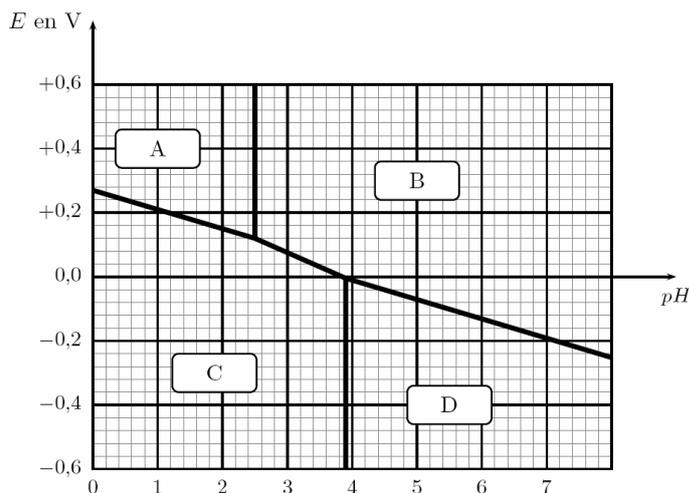
- à l'aide des documents à votre disposition, caractérisez la réaction de réduction de l'acide pyruvique par NADH d'un point de vue thermodynamique et cinétique. Vous mettrez notamment en évidence le rôle catalytique de l'enzyme et vous déterminerez l'activité de cette enzyme, *définie comme la quantité maximale de substrat convertie par unité de temps*.
- Proposez une suite réactionnelle pour la transformation suivante :



## Document 1

Diagramme potentiel-pH relatif aux espèces de l'acide lactique et de l'acide pyruvique.

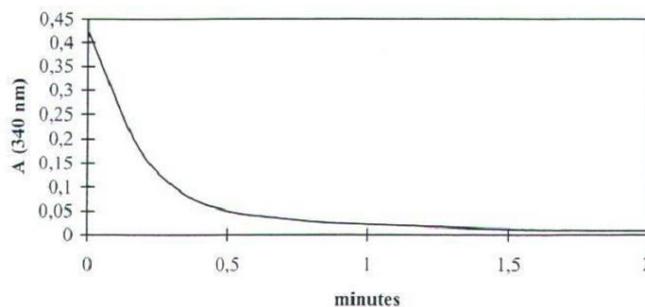
La convention de frontière est telle qu'il y a égalité des concentrations des espèces présentes à la frontière entre deux domaines de prédominance.



## Document 2

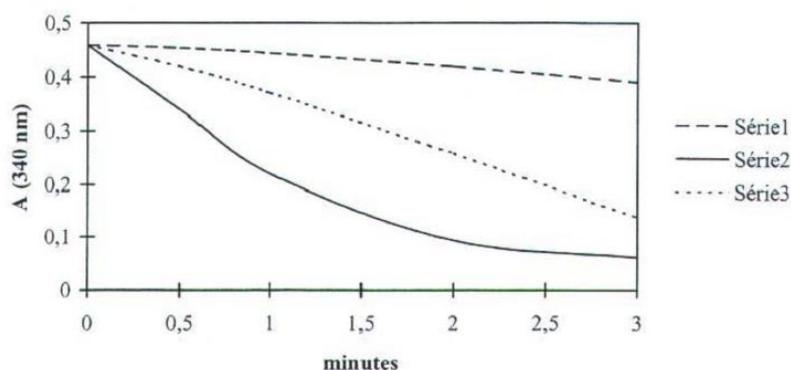
Dans une cuve de spectrophotomètre thermostatée à 25 °C, on introduit 2,85 mL de solution d'acide pyruvique (obtenue par dissolution de 0,8 mg d'acide pyruvique dans 28,5 mL de tampon phosphate), 50  $\mu$ L de solution de NADH (3,1 mg de NADH,  $M = 709,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  dans 1 mL de tampon phosphate). On additionne ensuite 100  $\mu$ L de la suspension enzymatique (0,1 mg de LDH dans 10 mL de tampon phosphate) et on suit l'absorbance de la solution à 340 nm en fonction du temps. NADH absorbe fortement à 340 nm tandis que  $\text{NAD}^+$  n'absorbe pratiquement pas à cette longueur d'onde.

Réduction de l'acide pyruvique par NADH



Une série d'expériences semblables est réalisée sans E (série 1), avec E (série 2), et avec E en présence d'acide oxamique  $\text{H}_2\text{NCOCO}_2\text{H}$  (série 3).

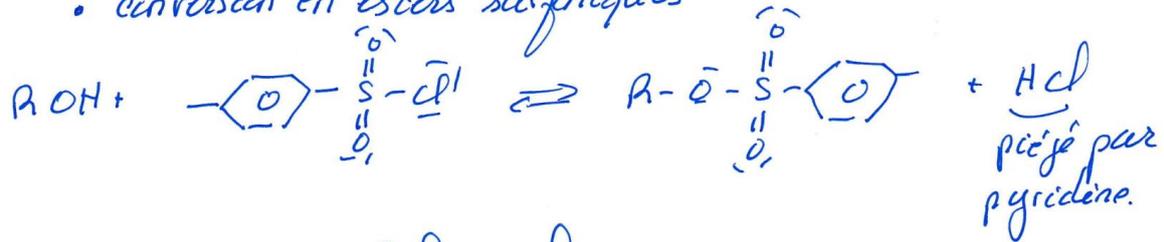
Réduction de l'acide pyruvique par NADH



Correction : glycolyse.

Question simple : activat° du caractère électrofuge des alcools

- conversion en esters sulfuriques



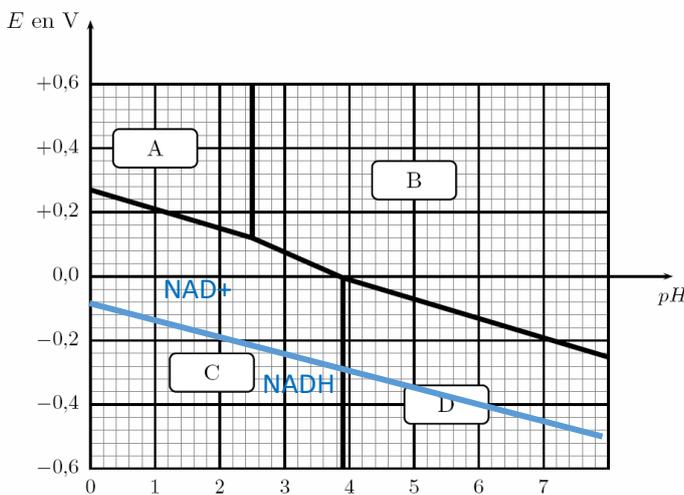
- conversion en halogénoalcane



question supplémentaire : demander le mécanisme

Question ouverte

- caractérisation thermodynamique : document 1



A: HPyr

B: Pyr<sup>-</sup>

C: HLac

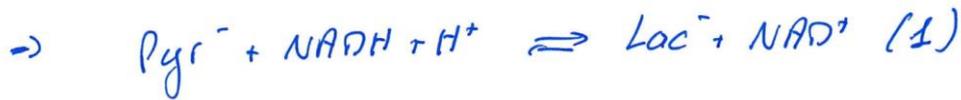
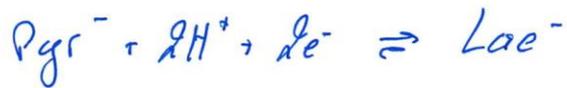
D: Lac<sup>-</sup>



$$E = E^{\circ}_{NAD^+/NADH} + 0,03 \log \frac{[NAD^+][H^+]}{[NADH]}$$

$$\Rightarrow \text{A la frontière : } E_{Pyr} = E^{\circ}_{NAD^+/NADH} - 0,03 \text{ pH}$$

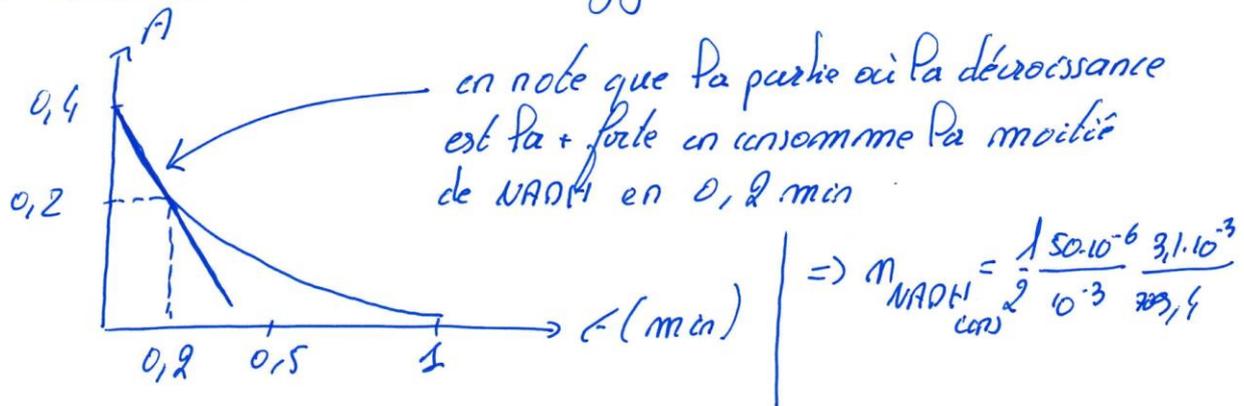
D'après le diagramme E-pH la réduct° de Pyr<sup>-</sup> par NADH est thermodynamiquement favorisée.



• caractérisat<sup>o</sup> cinétique : document 2.

\* mise en évidence du rôle catalytique de l'enzyme et du rôle inhibiteur d'acide oxamique avec le 2<sup>e</sup>me graphe.

\* recherche de l'activité de l'enzyme



$$\Rightarrow n_{\text{NADH}_{\text{cons}}} = 0,11 \mu\text{mol}$$

et d'après l'équat<sup>o</sup> (1):  $n_{\text{NADH}_{\text{cons}}} = n_{\text{Pyr}^-_{\text{cons}}}$

$$\Rightarrow \text{activité} = \frac{n_{\text{Pyr}^-_{\text{cons}}}}{t} = \frac{0,11}{0,2} = 0,55 \mu\text{mol}/\text{min}$$

• rétrosynthèse

