

# BIOCHIMIE

C'est la chimie des êtres vivants. La matière vivante est constituée de molécules dont la structure et les propriétés physico-chimiques suivent les mêmes lois de la physique et de la chimie que les molécules du monde inanimé. Ces molécules que l'on trouve chez les êtres vivants ont des propriétés extraordinaires par rapport à celles de la matière inanimée et c'est bien le but de la biochimie, de comprendre comment toutes ses molécules inanimées qui constituent un organisme interagissent les unes avec les autres pour maintenir et perpétuer la vie. Cela implique, d'une part, l'étude des biomolécules et, d'autre part, l'étude de cette logique moléculaire de l'état vivant.

Cette année : étude des biomolécules, et des propriétés physico-chimiques : biochimie structurale.

En deuxième année : biologie moléculaire, c'est-à-dire essayer de comprendre quels sont les mécanismes qui permettent à un organisme de perpétuer la vie.

Les biomolécules entrent dans quatre grandes classes :

- Les lipides (*Première Année*)
- Les protéines (*Première Année*)
- Les glucides (*Première Année*)
- Les acides nucléiques (*Deuxième Année*)

# **LES LIPIDES**

## **I) Introduction**

### **A) Caractères généraux des lipides**

Les lipides sont des biomolécules organiques insolubles dans l'eau, on va les extraire des cellules ou tissus par des solvants non polaires tel que le chloroforme, l'éther, le benzène. Il existe différentes classes de lipides, mais leurs propriétés communes résultent des chaînes hydrocarbonées (carbone + hydrogène) qui constituent la majeure partie de leur structure. Ces lipides présentent plusieurs fonctions biologiques importantes, ils remplissent des fonctions structurales essentielles en tant que composants majeurs des biomolécules membranaires. Ils servent de combustibles pour la cellule et pour cela ils interviennent dans des réactions d'oxydation dans la cellule, un rôle de protection à la surface d'un grand nombre d'organisme ; ils peuvent aussi être des constituants de la surface cellulaire et participer à la reconnaissance des cellules et de fait jouer un rôle d'immunité cellulaire. Enfin, certaines substances telles que les vitamines et les hormones sont classées parmi les lipides et ces substances sont douées d'une intense activité biologique.

### **B) Classification des lipides**

Les lipides peuvent être classés de plusieurs façons ; la plus satisfaisante étant celle fondée sur la structure de leur squelette carboné.

1<sup>ère</sup> classe : Les lipides complexes : on y range les lipides qui ne contiennent que des acides gras et ces lipides complexes sont dit « saponifiables », c'est-à-dire qu'après hydrolyse alcaline (ajout de soude ou potasse), ils donnent des savons.

2<sup>ème</sup> classe : Les lipides simples, ce sont les lipides qui ne contiennent pas d'acide gras. On dit qu'ils sont « insaponifiables. »

## II) Les acides gras

### A) Généralités

Malgré leur importance quantitative comme constituants des lipides complexes, ils se trouvent en très faible quantité à l'état libre. On connaît et a isolé plus de 100 acides gras extraits de tissus animaux, végétaux et de microorganismes.

Ils présentent une seule fonction carboxylique (COOH.) Ils possèdent une longue chaîne hydrocarbonée qui est supérieure à 4 carbones. Cette chaîne va être saturée ou non. Elle est généralement non ramifiée et parfois cyclique. Dans la grande majorité des cas, il y a un nombre pair de carbone.

### B) Nomenclature générale des acides gras

Un acide gras sera donné par :  $C_n : X^{\Delta a}$

**n** est le nombre d'atome de carbone.

**X** est le nombre de double liaison dans la chaîne hydrocarbonée.

**Δ** signifie qu'il y a une insaturation dans la chaîne.

**a** indique la position de la double liaison dans la chaîne.

Si rien n'est précisé d'autre, cela veut dire que la double liaison est en position *cis*.

Sinon, on écrit  $C_n : X^{\Delta trans a}$ , et la double liaison est en position *trans*.

### **C) Étude descriptive**

#### 1) Les acides gras saturés ( $C_n : 0$ )

##### a) Les acides gras saturés à chaîne droite

Ce sont les plus répandus dans la nature par rapport à ceux à chaînes ramifiées.

La formule lipide est  $C_n : 0$

La formule brute de l'acide gras saturé à chaîne droite est :  $C_nH_{2n}O_2$

$n$  est un nombre paire de carbone qui va de 4 à 32.

##### b) Les acides gras saturés à chaîne ramifiée

Pour la plupart, ils ne possèdent qu'une seule ramification. Les deux exemples qui suivent sont les deux plus importants en médecine.

Exemple 1 : Acide tuberculostéarique : 18 atomes de carbone, 1 groupement méthyle en position 10.

Exemple 2 : Acide mycocérosique : 28 atomes de carbone, 4 groupements.

Ces deux acides gras sont dans les bacilles de coques responsables de la tuberculose.

#### 2) Les acides gras insaturés éthyléniques

La formule lipide :  $C_n : X^{\Delta a}$  ; ils sont plus abondants que les acides gras insaturés.

##### a) Les acides gras monoéthyléniques

( $C_n : 1$ ) La double liaison des acides gras se trouve en position 9, 10 :  $C_n : 1^{\Delta 9}$

Acide palmitoléique (à savoir) :  $C_{16} : 1^{\Delta 9}$

Acide oléique (à savoir) :  $C_{18} : 1^{\Delta 9}$

Formule brute :  $C_nH_{2n-2}O_2$

### ***b) Les gras di-, tri-, polyéthyléniques***

Les acides gras comportent plusieurs double liaisons :

1-Les acides gras polyéthyléniques à double liaison en position malonique

Position malonique : Quand deux double liaisons sont séparées par un CH<sub>2</sub>.

L'acide linoléique indispensable à l'homme car pas de métabolisme pour la

synthèse : C<sub>18</sub> : 2<sup>Δ9-10, 12-13</sup>

Acide linoléique C<sub>18</sub> : 3<sup>Δ9,12,15</sup>

2-Les acides gras polyéthyléniques à double liaison en position conjuguée

Conjuguée : Entre deux double liaisons ⇒ une seule liaison covalente.

Acide éléostéarique : C<sub>18</sub> : 3<sup>Δ9,11, 13</sup>

3-Les acides gras polyéthyléniques à double liaison en position succinique

Position succinique : Entre deux doubles liaisons ⇒ deux groupements CH<sub>2</sub>.

Exemple : Acide clupanodonique.

3) Les acides gras cycliques

Ces acides gras peuvent porter un cycle.

Exemple : l'acide chaulmoogrique comporte une structure cyclique entre 13 et 18 + une double liaison en position 15-16.

4) Les acides gras porteurs de fonctions diverses

En général, des fonctions oxygénées qui apparaissent lorsque les acides gras sont en contact de l'air.

Exemple : Acide vernolique avec une fonction époxy.

## D) Propriétés physico-chimiques des acides gras

### 1) Propriétés physiques

#### a) La solubilité

Ils sont insolubles dans l'eau mais solubles dans des solvants organiques tels que le chloroforme, l'éther, le benzène.

#### b) L'ébullition

Le point d'ébullition est d'autant plus élevé que le nombre de carbone est plus important et que la chaîne est plus longue.

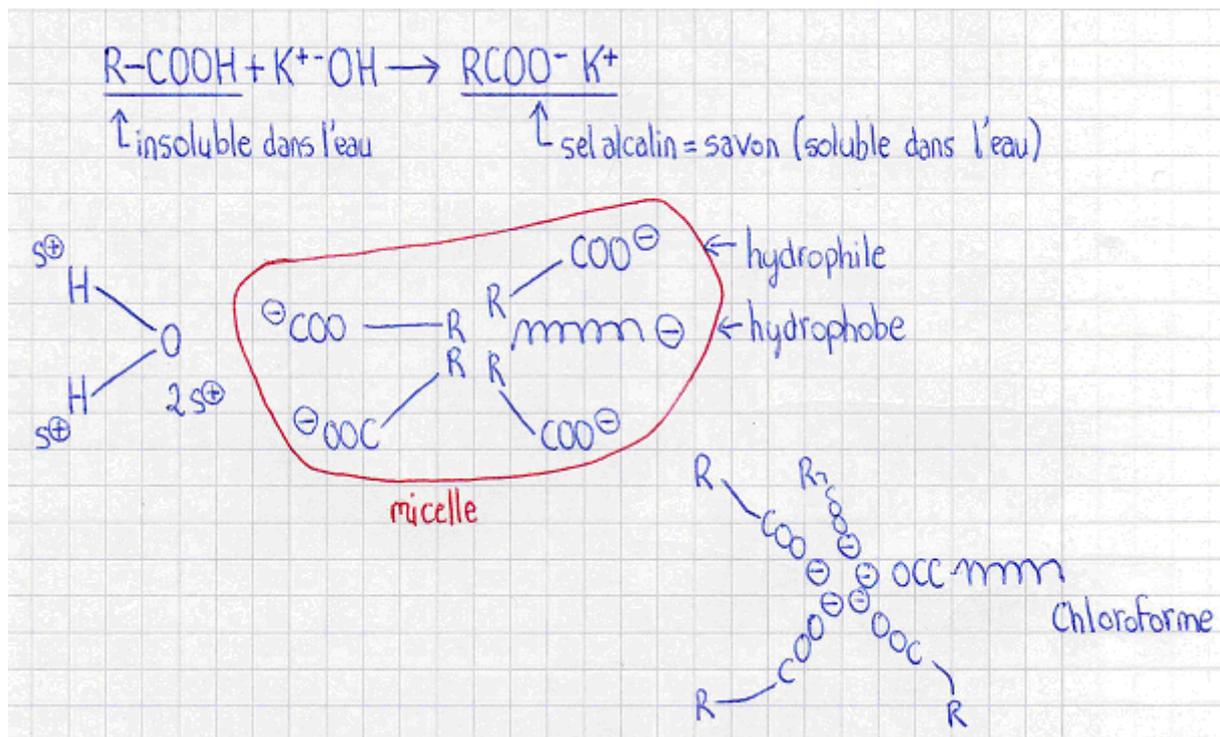
La présence de double liaisons n'a aucune influence sur le point d'ébullition.

### 2) Propriétés chimiques

Elles dépendent de deux paramètres :

#### a) Propriétés chimiques dues à la présence du groupement COOH

Si on traite un acide gras par de la potasse, on obtient :



## b) Propriétés chimiques dues à la présence de la double liaison

### 1-Réaction d'addition

En ajoutant de l'iode ou du brome, il y a un atome de I qui se fixe sur le carbone de la double liaison. Cela permet de connaître l'indice d'iode.

### 2-Réaction d'isomérisation :

Les acides gras ont la double liaison qui se trouve le plus souvent en position *cis*, il existe une technique pour passer de *cis* à *trans*.

*Cis* : groupement d'un seul coté de la double liaison.

*Trans* : groupement de part et d'autre de la double liaison.

### 3-Réaction d'oxydation :

On introduit des fonctions oxygénées. On obtient différentes choses selon la fonction :

- Par un péroxyde à froid : on obtient un époxyde.
- Par un acide minéral à chaud : on introduit deux fonctions OH adjacentes au carbone de la double liaison.
- Par un oxydant fort : Exemple : Permanganate de potassium :  $\text{KMnO}_4$  il coupe la double liaison et ça oxyde de façon maximum les deux carbones  deux fragments qui est doublement carboxyle (deux fonctions carboxyle) et un autre une fois.

### III) Les lipides complexes

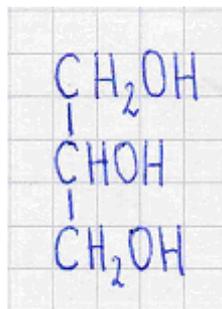
Ils sont saponifiables et comportent des acides gras.

#### A) Les glycérides

Ils constituent l'essentiel, sur le plan quantitatif des lipides naturels. Ce sont des esters du glycérol et d'acides gras.

Ester : acide gras + alcool  $\rightarrow$  ester

Pour les glycérides, l'alcool utilisé est le glycérol : trialcool.



Il contient trois fonctions alcool donc peut se lier trois fois. Il y a donc trois positions :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha'$ .

#### 1) La nomenclature

Elle est la combinaison de deux critères :

- La nature des acides gras qui estérifient le glycérol. Si les trois acides gras sont identiques, le glycéride est dit « homogène », s'ils sont différents, il est dit « hétérogène. »
- Le nombre et la position d'estérification des acides gras avec le glycérol.

## 2) Conformation spatiale des triglycérides

Quand on cristallise un triglycéride pour l'analyse par rayon X, on a la structure



## 3) Propriétés chimiques

### a) Hydrolyse des glycérides

Cette hydrolyse peut être acide (ajout d'acide sulfurique à 5%), les molécules d'eau vont participer à couper le triglycéride et on obtient du glycérol et trois acides gras.

### b) Saponification des glycérides

Ajout de potasse + chauffage → hydrolyse qui coupe le triglycéride pour donner un savon. Les acides gras sont sous forme dissoute. Cette réaction a reçu des applications industrielles et a permis de déterminer des indices d'ester.

#### IV) Les méthodes d'étude

##### A) Détermination des indices

Les indices sont des caractéristiques, des constantes. Pour un lipide, ce sont des nombres qui sont donnés sans unité.

##### 1) L'indice d'acide $I_A$

###### a) Définition

C'est le nombre de mg de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité d'un acide gras d'un lipide à froid.

###### b) Principe

Dans une matière grasse, l'acidité résulte uniquement de la présence des carboxyles, c'est-à-dire des groupements COOH libres appartenant à des acides gras.  $R-COOH + K^+OH \rightarrow R-COO^- K^+ + H_2O$

##### 2) L'indice de saponification $I_S$

###### a) Définition

C'est le nombre de mg de potasse nécessaire pour neutraliser les acides et saponifier les esters contenus dans 1g de lipide à chaud.

##### 3) L'indice d'ester $I_E$

###### a) Définition

C'est le nombre de mg de potasse nécessaire pour saponifier les esters contenus dans 1g de lipide.  $I_E = I_S - I_A$

Il s'obtient par calcul avec  $I_S$  et  $I_A$  d'expérience préalable.

#### 4) Interprétation des indices

##### a) Utilisation de l'indice d'acide

Dans le cas de lipides complexes (qui contiennent des acides gras) purs, l'indice d'acide = 0

$$I_S = I_E$$

Dans le cas d'un triglycéride homogène (glycérol estérifier par le même acide gras), le lipide complexe n'est pas pur ( $\rightarrow I_A \neq 0$ )

$$\text{Le pourcentage d'impureté} = I_S / I_A \times 100$$

Ces manipulations ont lieu dans les contrôles alimentaires : le pourcentage d'impuretés de l'huile doit être inférieur à 1%.

##### b) Utilisation de l'indice d'ester

Il permet de déterminer la masse molaire d'un triglycéride homogène inconnu.

$$M_{(\text{gamme})} = (56,1 \cdot 10^{+3} \times 3) / I_E$$

56,1 = masse molaire potasse,

$10^{+3}$  = mise en gamme,

3 = nombre de molécule de potasse pour estérifier 1g de lipide.

#### 5) L'indice d'iode $I_i$

##### a) Définition

C'est le nombre de grammes d'iode fixés par 100g de lipides.

##### b) Principe

Cet indice ne peut se faire que si on a des acides gras insaturés (présentant au moins une double liaison.) (Voir réaction addition)

c) Signification de cet indice

Si l'indice = 0 → acide gras saturé.

Si l'indice ≠ 0 → déterminer le nombre de double liaison.

6) Oxydation par  $\text{KmnO}_4$

(Oxydation forte)

Permet de déterminer la position de la double liaison dans l'acide gras.

B) Séparation des acides gras par chromatographie en phase gazeuse

- Chromatographie = séparation

- Toujours une phase mobile (gaz) et une phase stationnaire (solide.)

La séparation se fera suivant l'affinité différente de chaque molécule pour l'une ou l'autre phase.

C) Séparation des lipides par chromatographie sur couche mince (CCM)

- Technique de séparation

- On a une phase mobile (solvant) et une phase stationnaire (solide sur une plaque.)

La séparation sera en fonction de l'affinité du solvant et du solide.

## **V) Les lipides simples**

A) Les terpènes

Cette classe va avoir comme unité de base l'isoprène : 2 méthyl-1,3, butadiène (5 carbones.)

1) Les monoterpènes

On a deux unités de base qui vont se lier (10 carbones.)

Il y a deux dispositions : une régulière (menthol) et une autre irrégulière (geraniol.)

Autres exemples : limonène, camphre, pinène.

Ces constituants sont notamment responsables des odeurs de la menthe, dans le géranium, le citron.

## 2) Les sesquiterpènes

Trois unités de base : 15 atomes de carbones, dans une disposition régulière : Farnesol qu'on trouve dans les cyclamènes.

## 3) Les diterpènes

Ils sont constitués de quatre unités de base : 20 carbones. Ils sont très nombreux.

Exemple :

- Phytol : Disposition régulière, linéaire.
- Rétinol : (Vitamine A<sub>1</sub>) : Présence d'un cycle.

Le rétinol ou vitamine A<sub>1</sub> est un facteur de croissance. Il empêche à la cornée de durcir. Les besoins chez l'homme en vitamine A<sub>1</sub> sont de 1mg/jour.

Le phytol, on l'obtient par hydrolyse de la chlorophylle, on le trouve aussi dans la vitamine E qui possède des propriétés anti-oxydantes, en ce sens qu'elle prévient l'auto-oxydation des acides gras insaturés.

On le trouve aussi dans la vitamine K<sub>1</sub>, celle-ci étant dotée de propriétés antihémorragiques, son action est telle qu'elle agit de manière directe sur le taux de prothrombine, facteur qui joue sur la coagulation du sang.

#### 4) Les tétraterpènes

8 unités de bases = 40 carbones.

Exemple : caroténoïde ; ce sont des composés qui comporte un grand nombre de double liaison ce qui leur donne une coloration rouge jaune très forte. Le  $\beta$ -carotène qui comprend 11 doubles liaisons avec un cycle à chaque extrémité que l'on trouve dans les carottes et d'autres dans le jaune d'œuf.

#### 5) Les triterpènes

Ils ont 6 unités de bases donc 30 carbones.

Le plus important : Le squalène. Il va subir différents types de cyclisation pour donner des composés que sont les stérols qui vont constituer la deuxième classe des lipides simples.

#### B) Les stérols

##### 1) Les précurseurs du cholestérol

Le squalène va subir un certain nombre de cyclisation en donnant plusieurs intermédiaires qui aboutissent au cholestérol. Le cholestérol est le stérol animal le plus abondant, on le trouve dans les membranes plasmiques de nombreuses cellules animales et dans les lipoprotéines du plasma sanguin.

Lipoprotéine = lipides + protéines (liaison covalente)

Dès qu'il y a cyclisation, le squalène, formé de 4 noyaux stérol.

Le premier intermédiaire est le lanostérol et le dernier est le cholestérol.

Le cholestérol est fait de 27 atomes de carbones, il a 3 groupements méthyl en moins + perte d'une double liaison et migration d'une double liaison de 24-25 à 5-6.

## 2) Les dérivés du cholestérol

A partir du cholestérol, on obtient :

- Les acides biliaires, contenu dans la bile à l'état de sel. Ils ont des propriétés tensioactives et facilitent la digestion des lipides. Les acides biliaires sont synthétisés dans le foie à partir du cholestérol.

- Les hormones stéroïdes, ces hormones peuvent être synthétisées dans des tissus spécialisés tels les corticosurrénales, ovaires, le placenta ou les testicules.

Il va y avoir trois grandes catégories d'hormones en  $C_{21}$ ,  $C_{19}$ ,  $C_{18}$ .

Exemple  $C_{21}$  : La progestérone qui est synthétisée par le corps jaune de l'ovaire. Le cortisol qui est synthétisé par les corticosurrénales. Elles interviennent dans le métabolisme des glucides et des protéines.

Exemple  $C_{19}$  : La testostérone qui est synthétisée par les testicules.

Exemple  $C_{18}$  : les hormones œstrogènes qui sont synthétisées dans les follicules de l'ovaire.

## VI) Application

Biochimie humaine, nutritionnelle, métabolique, intérêt chimique. Toutes les formules vues sont les bases du métabolisme des êtres vivants. Le métabolisme à l'échelle humaine : métabolisme humain et nutritionnel.

### A) Le destin des aliments dans l'organisme humain

Notre alimentation est formée de différents composants. Mais le corps est composé de glucides, protéines, lipides et d'oxygène qui constituent les entrées dans un organisme humain. Le métabolisme, c'est la transformation de ces molécules pour vivre. A la sortie, tout est transformé en eau, urée,  $CO_2$ , et ATP.

Ces transformations vont se faire en quatre étapes :

- ⇒ **1<sup>e</sup>** : Intestin : Aliments digérés et absorbés vont passer dans la lumière intestinale puis dans la cellule intestinale avant, ensuite, de passer dans le sang (glucide → glucose ; lipide → chylomicron ; protéines → acides aminés.)
- ⇒ **2<sup>e</sup>** : Le sang : Ces molécules vont être véhiculées vers les organes (foie, reins) ou dans des tissus (globules rouges, grains corporelles.)
- ⇒ **3<sup>e</sup>** : Les organes ou tissus : Lorsque cela passe à travers la membrane, ils se retrouvent dans le cytosol des cellules avec un grand nombre d'organites.
- ⇒ **4<sup>e</sup>** : Mitochondrie : Importance des mitochondries car c'est le lieu de production d'énergie de la cellule. Quand ils se trouvent à l'intérieur de la mitochondrie, ils subissent des dégradations par des cycles des Krebs pour aboutir des molécules Acétyl-COA : cette molécule acétyl-COA avec le cycle de respiration permet d'obtenir l'ATP.

## B) Le métabolisme lipidique

### 1) Les lipides alimentaires

C'est la biochimie agroalimentaire nutritionnelle.

L'homme ingère 40 à 140g de lipide par jour. Ce qui représente 38 à 45% de sa ration énergétique ; le reste est apporté par les protéines (10-14%) et par les glucides (50% à 70%.) Les lipides sont apportés pour moitié sous forme visible, c'est-à-dire via huile, beurre, et graisses animales. La teneur en lipide de ces constituants est d'environ 80g pour 100g de lipides et pour moitié sous forme invisible dans les viandes, poissons, la charcuterie, de teneur variable.

Exemple : chips : 36g pour 100g. Les lipides alimentaires contiennent 95% de triglycéride avec des acides gras saturés ou insaturés dont la chaîne est supérieure à 12 carbones. Les autres 5% sont constitués par des triglycérides dont la chaîne est inférieure à 12 carbones, des phospholipides du cholestérol sous forme estérifiée.

## 2) Résumé des grandes voies du métabolisme lipidique

Le métabolisme des lipides alimentaires débute par leur digestion dans l'intestin. Ces lipides passent sous forme de lipoprotéines solubles : les chylomicrons. Ensuite, cela transite dans le sang.

## C) Les anomalies du métabolisme

### 1) Aperçu des anomalies métaboliques

Elles peuvent être classées en 4 groupes :

#### a) Les maladies héréditaires du métabolisme

Parmi les 6800 maladies dénombrées à ce jour, on connaît 800 maladies dues à une anomalie métabolique (qui entraîne une maladie) ceci a lieu lorsqu'il y a absence d'une enzyme ; ceci va entraîner un blocage de la voie métabolique, ce qui a pour conséquence une accumulation en amont d'un substrat et d'un déficit en aval. Ces malades forment un ensemble hétérogène (= maladie rare) et sont difficiles à étudier. Pour le moment, les possibilités de traitement sont très limitées, la biologie moléculaire a permis l'identification de nombreux gènes responsables de ces maladies.

#### b) Les maladies métaboliques multifonctionnelles

L'obésité, le diabète de type 2, l'artériosclérose, sont des maladies dues à la fois à des facteurs d'environnement (stress...) et des facteurs héréditaires mal identifiés pouvant impliquer plusieurs gènes de prédisposition.

#### c) Les anomalies secondaires

Anomalies liées à la perturbation de certaines voies métaboliques dues à des phénomènes extérieurs : insuffisance en oxygène, excès d'alcool, carence alimentaire.

#### d) Syndromes biochimiques

Sous de nombreuses situations pathologiques (virale ou bactérienne), on constate un dysfonctionnement de certaines voies métaboliques (difficiles à interpréter.)

### 2) Anomalies du métabolisme lipidique

Lipides alimentaires  $\Rightarrow$  95% triglycérides  $>$  12 carbones et 5%  $<$  12 carbones.

Rendre soluble : Enzymes : phospholipase, lipase-clipase, cholestérol-estérase.

Anomalie :

- Manque de lipase. Dans ce cas là il faut des carbones  $<$  12 carbones car cela peuvent passer directement dans le sang sans lipase.
- Synthèse sel biliaire en manque  $\rightarrow$  pas de formation de micelle.

## LES PROTEINES

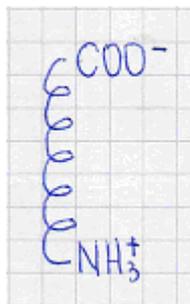
### I) Introduction

#### A) Caractères généraux

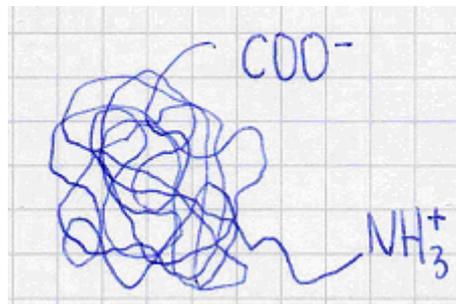
##### 1) Les généralités

« Protéine » vient du grec *protos*, qui veut dire *premier*, ce terme fut introduit par un hollandais en 1836 avec l'idée que ces molécules avaient un rôle de premier ordre et étaient très importantes. Elles résultent de l'assemblage des acides aminés en une chaîne linéaire non ramifiée. Les protéines existent dans deux états, et appellent conformation. Le premier état correspond aux protéines globulaires. Exemple : La plupart des enzymes comme le lysozyme, les hormones et les anticorps sont des protéines globulaires. Le deuxième correspond aux protéines fibreuses : Exemple : La kératine, la soie et le collagène.

Protéine fibreuse:



Protéine globulaire :



## 2) Les principales fonctions des protéines

Les protéines présentent une grande diversité de fonction :

### a) le mouvement

Les bactéries se meuvent à l'aide de cils et de flagelles. Les cellules eucaryotes multicellulaires disposent de muscles squelettiques. Les activités locomotrices dépendent de mouvements coordonnés d'assemblage de protéines fibreuses, qui se trouvent être l'actine et la myosine.

### b) Les fonctions mécaniques

Les fonctions mécaniques sont aussi assurées par des protéines fibreuses chez les bactéries ; ces protéines se situent dans la paroi cellulaire, où elles ont aussi un rôle structural. Chez les organismes eucaryotes multicellulaires, les fonctions mécaniques sont assurées par le collagène. Il est présent dans la peau, les tendons les cartilages, les os et les dents. Ces protéines fibreuses fournissent aux tissus une grande résistance à la traction.

### c) Le transport et le stockage

Beaucoup de molécules et d'ions sont transportés dans le sang par des protéines. Exemple : L'hémoglobine est la protéine qui assure le transport de l'oxygène chez les vertébrés. On trouve aussi les ferritines qui transportent et stockent le fer dans l'organisme.

### d) La catalyse enzymatique

Les enzymes sont des catalyseurs protéiques de type globulaire. Elles sont capables de multiplier les vitesses de réaction par des facteurs allant jusqu'à

$10^{12}$ .

Leur efficacité et spécificité font d'elles des molécules-clé du métabolisme.

e) la protection

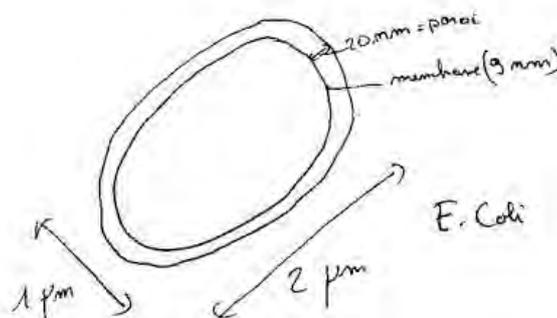
Les anticorps sont des protéines qui interviennent dans la destruction des cellules étrangères.

f) Le traitement de l'information

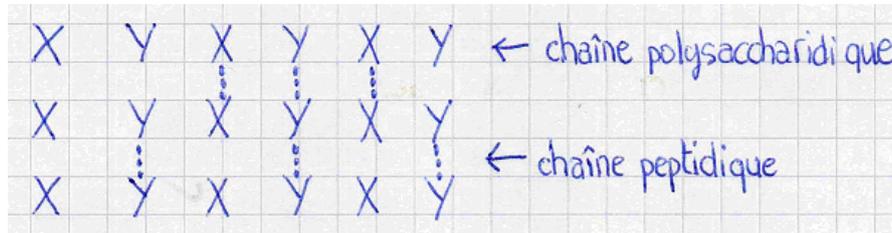
Les neurones répondent à des signaux grâce à des récepteurs protéiques, situés à leur surface. Toutes ces propriétés sont dues à relation, structure, et fonctions très précises entre chaque protéine et autres molécules – comme l'image d'une clé dans une serrure. Cette reconnaissance est permise grâce à la structure spatiale de la protéine qui ménage à sa surface des endroits dans lesquels les autres molécules peuvent s'insérer.

Exemple d'une enzyme : Le lysozyme.

Elle intervient dans l'hydrolyse (elle catalyse l'hydrolyse.) Elle participe à l'hydrolyse de la partie glucidique de la paroi bactérienne. Elle est présente dans les larves ou la salive comme agent antibactérien.



La paroi est un assemblage de peptidoglycanes :



Le lysozyme va rompre les liaisons entre les X et Y.

## II) Les acides aminés

### A) Introduction

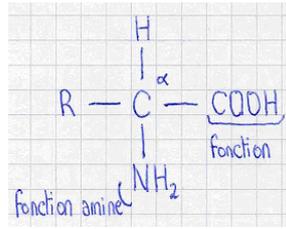
Les acides aminés représentent l'alphabet des structures protéiques. Ils déterminent la plupart des propriétés importantes des protéines. On connaît 150 acides aminés qui ont été isolés à partir des différentes cellules et organismes ; toutefois, seuls 20 acides aminés rentrent dans la constitution des protéines.

B) Étude descriptive et classification chimique des différents acides aminés suivant la nature de leur chaîne latérale

Cette classification ne concerne que les acides aminés se présentant sous forme solide, cristalline non-dissociée.

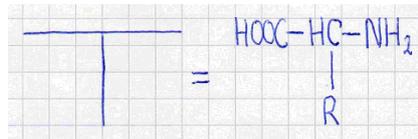
1) Les acides aminés communs à toutes les protéines.

Tous les acides aminés rencontrés dans les protéines – à l'exception de la proline - ont pour formule générale :



Il y a toujours une fonction carboxylique et une fonction amine non-substituée. Chaque acide aminé possède une chaîne latérale R caractéristique. Les acides aminés sont nommés selon un code à trois lettres. (Plus récemment, cependant, en bio-informatique, on utilise un code à une lettre pour économiser de la place dans la mémoire des ordinateurs.)

#### a) Les acides aminés aliphatiques



GLYCINE GLY G



R = H

C'est un acide aminé peu encombrant et peu coûteux à produire pour la cellule. Sa présence donne une grande flexibilité à la protéine.

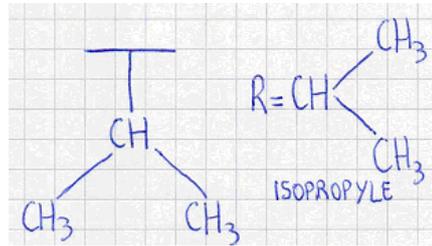
ALANINE ALA A



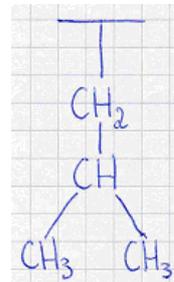
R = CH<sub>3</sub>

C'est l'acide aminé le plus fréquemment rencontré dans les protéines. Il offre l'avantage d'être peu encombrant mais moins flexible que la glycine.

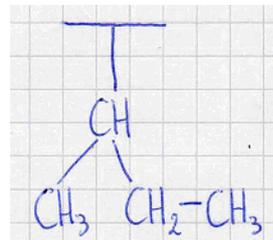
VALINE VAL V



LEUCINE LEU L



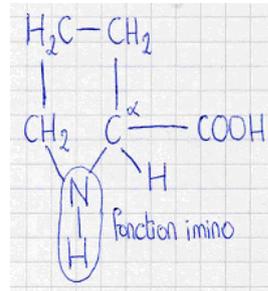
ISOLEUCINE ILE I



Toutes les trois sont responsables du caractère rigide de l'acide aminé ; ces acides aminés se trouvent par conséquent à des endroits charnières de la protéine.

b) Acide aminé imino-acide

PROLINE PRO P



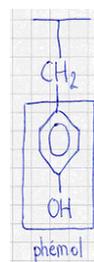
C'est le seul acide aminé à ne pas répondre à la formule générale des acides aminés vus précédemment. Sa formule a une caractéristique : lorsqu'elle se trouve dans une protéine, elle doit adopter une forme particulière à son voisinage car la fonction *imino* la rend peu flexible.

c) Les acides aminés aromatiques

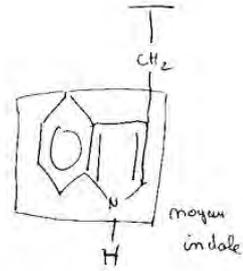
PHENYLALANINE PHE F



TYROSINE TYR Y



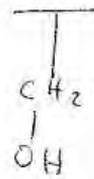
TRYPTOPHANE TRP W



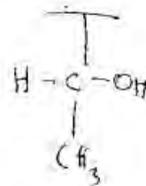
Ces trois acides aminés sont responsables d'interactions hydrophobes, ils se trouvent donc à l'intérieur des protéines où ils contribuent à stabiliser la structure spatiale.

d) les acides aminés hydroxylés

SERINE SER S



THREONINE THR T



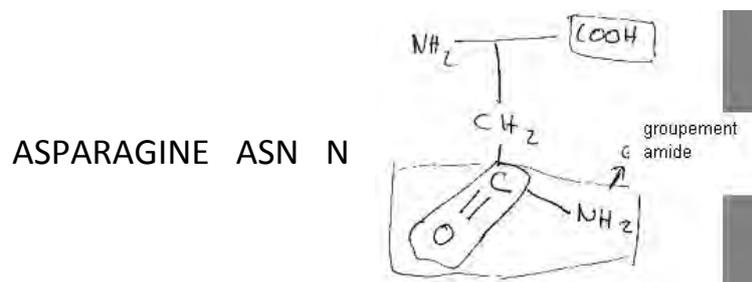
Ces acides aminés participent à l'établissement de liaison hydrogène

### e) Acides aminés soufrés

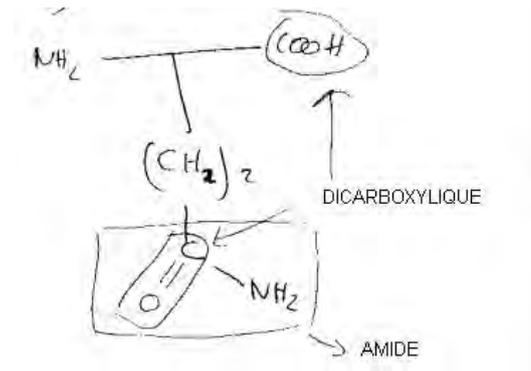


Avec l'atome de soufre, ils vont pouvoir établir des liaisons covalentes entre eux: pont disulfure entre deux cystéines. Le pont va stabiliser la structure de la protéine.

### f) Les acides aminés dicarboxyliques amides

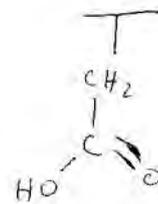


GLUTAMINE GLN Q

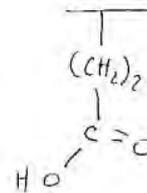


g) Les acides aminés dicarboxyliques

ACIDE ASPARTIQUE ASP D

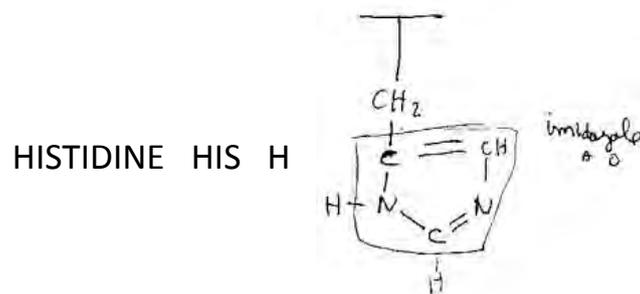
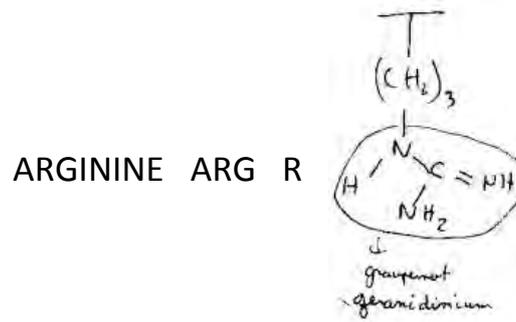


ACIDE GLUTAMIQUE GLU E



Ces acides aminés peuvent établir des liaisons hydrogène car ils sont donneurs de protons mais également accepteur de protons. Et lorsqu'ils portent des charges ils peuvent former des liaisons ioniques. Ces acides aminés participent à la réaction de catalyse.

### h) Les acides aminés possédant deux groupements basiques

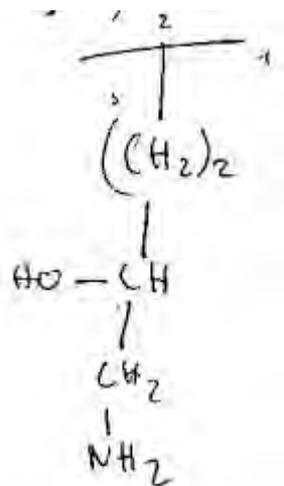


LYSINE et ARGININE possèdent une longue chaîne latérale ; de ce fait, ils sont flexibles. Ils se trouvent à la surface des protéines, ils sont hydrophiles et peuvent donner des liaisons hydrogènes.

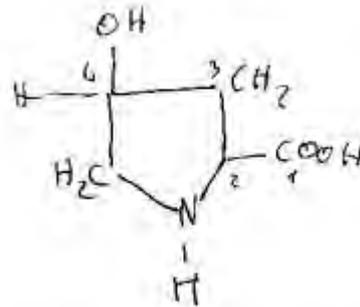
## 2) Les acides rarement rencontrés dans les protéines

Quelques rares acides aminés ont été isolés à partir de protéines, mais tous dérivent d'acides aminés normaux. Exemple :

5-hydroxylysine



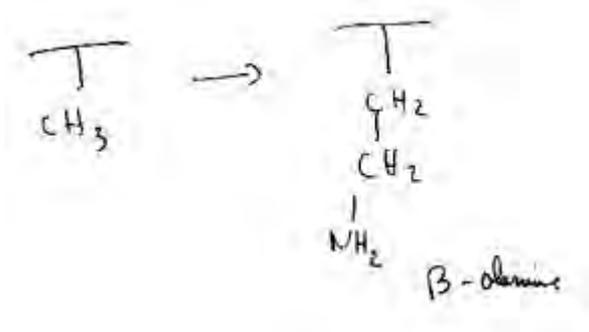
4-hydroxyproline



Ces deux acides aminés ont été trouvés dans le collagène, qui est une protéine fibreuse du muscle. Dans tous les cas connus, ces acides aminés apparaissent par modification d'un acide aminé précurseur, après incorporation dans la chaîne protéique. Les acides aminés rares jouent un rôle biologique important dans la fonction de la protéine dans laquelle ils se trouvent.

## 3) Les acides aminés n'existant pas dans les protéines

Environ 150 acides aminés apparaissent dans différentes cellules et dans divers tissus, sous forme libre ou combinée. Mais ils n'existent pas dans les protéines, la plupart d'entre eux sont des dérivés, des  $\alpha$  acides aminés mais des  $\beta$  (bêta),  $\gamma$  (gamma),  $\delta$  (delta) sont aussi connus. L'alamine peut donner la  $\beta$ -alamine :



La  $\beta$ -alamine est un précurseur d'une vitamine de l'acide pantothénique. Ces acides aminés jouent un rôle de précurseur et d'intermédiaire métabolique, les champignons et les plantes supérieures contiennent une extraordinaire variété d'acides aminés. Les fonctions métaboliques de ces acides aminés spécialisés ne sont pas encore bien connues.

### C) Propriétés physico-chimiques des acides aminés

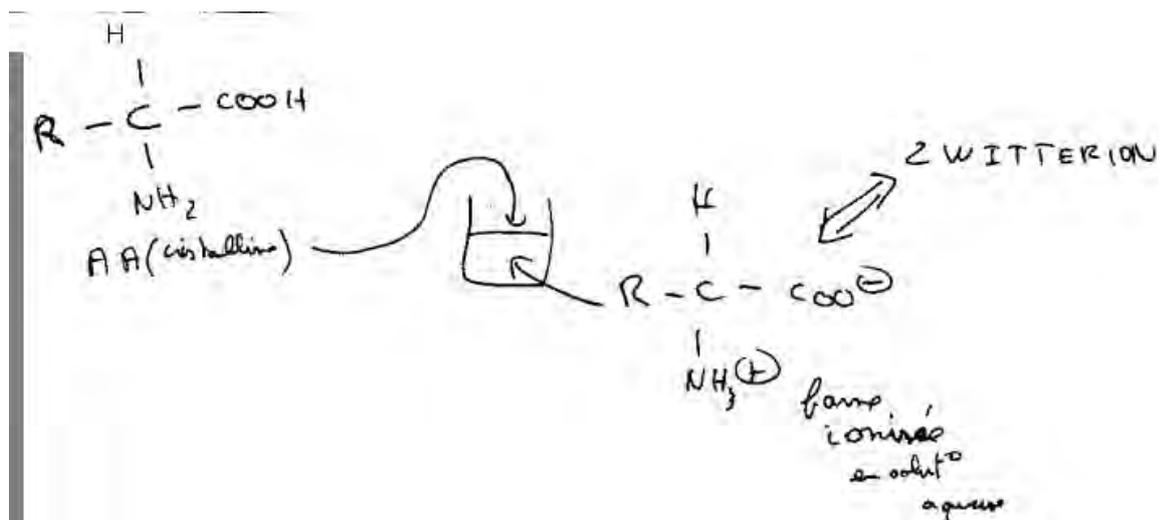
#### 1) Les propriétés physiques

Les acides aminés sous forme de cristaux ont un point de fusion élevé (au-dessus de 200°C), ils sont beaucoup plus solubles dans l'eau que dans d'autres solvants moins polaires tel que l'alcool, à l'exception de la proline qui se dissout bien dans l'alcool.

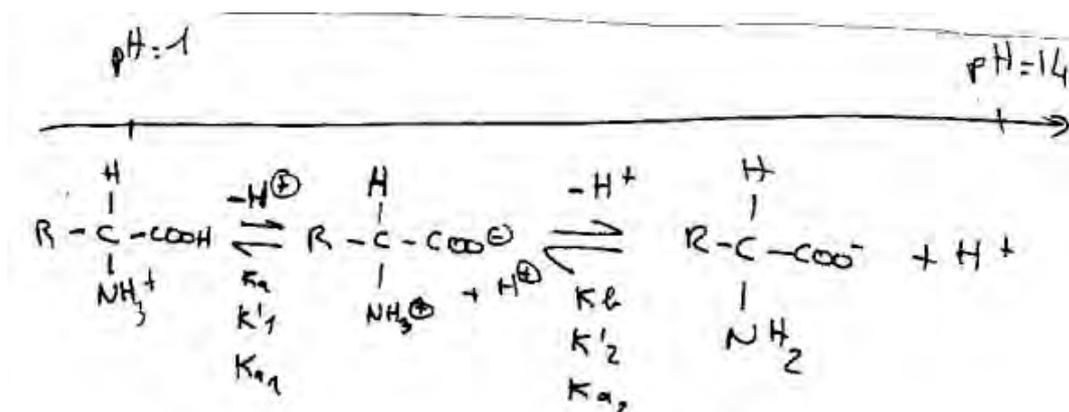
#### 2) Les propriétés chimiques : comportement acido-basique des acides aminés en solution aqueuse

##### a) L'ionisation des acides aminés en solution aqueuse

On utilise plus l'acide aminé sous forme cristalline mais sous forme ionisée.



En solution aqueuse, l'acide aminé s'ionise, et a une forme dissociée appelée « zwitterion. » Le zwitterion a la possibilité d'avoir des charges positives ou négatives à un pH donné. Cette forme dipolaire peut accepter un proton en milieu acide sur le groupement  $\text{COO}^-$ , elle peut perdre un proton en milieu basique provenant de  $\text{NH}_3^+$ . L'acide aminé en milieu aqueux se comporte donc comme un acide ou comme une base. Ces substances sont dites « amphotères. » On peut représenter le comportement acido-basique des acides aminés en terminologie de Bronsted.



On peut considérer l'acide aminé comme un diacide. L'acide aminé se caractérise par deux « constantes d'ionisation » ou « constantes de dissociation » ou encore « constantes d'équilibre. » A ces constantes, on associe un  $\text{pK} : \text{pK} = -\log K$ .

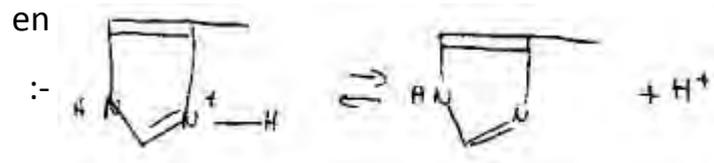
## 1-Cas des acides aminés dont la chaîne ne s'ionise jamais

Il y a 13 acides aminés qui rentrent dans ce cas :

- Tous les aliphatiques: GLYCINE, ALANINE, VALINE, LEUCINE, ISOLEUCINE,
- TRYPTOPHANE,
- METHIONINE,
- ASPARAGINE,
- THREONINE,
- PHENYLALANINE,
- SERINE,
- PROLINE,
- GLUTAMINE.

## 2-Cas des acides aminés dont la chaîne latérale s'ionise

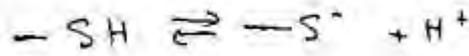
n  
dénombré 7  
HISTIDINE



- TYROSINE

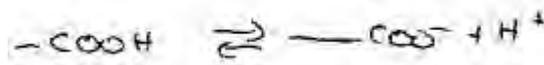


- CYSTEINE



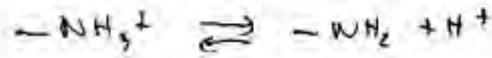
- ACIDE

ASPARTIQUE,

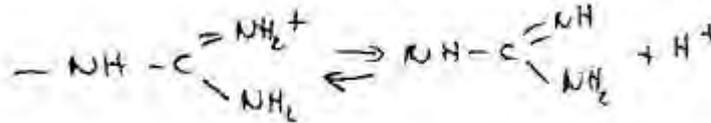


ACIDE GLUTAMIQUE

- LYSINE



- ARGININE



b) Classification des acides aminés suivant la polarité de la chaîne latérale

Une chaîne apolaire est une chaîne qui ne s'ionise pas, et qui ne porte pas de charge ni partielle ni entière. Une chaîne polaire est une chaîne qui s'ionise et qui peut porter des charges partielles ou entières.

On dit qu'une molécule est hydrophobe lorsqu'elle n'a pas d'affinité pour l'eau et qu'elle y est insoluble. Une molécule est hydrophile lorsqu'elle interagit avec l'eau, cette molécule est soluble dans l'eau grâce à la formation de liaison hydrogène.

Suivant l'environnement dans lequel se trouve l'acide aminé, celui-ci va ou non s'ioniser, d'où cette nouvelle classification.

1- Les acides aminés à chaîne latérale apolaire qui ne s'ionise jamais

Il y a 9 : glycine, alanine, valine, isoleucine, leucine, méthionine, phénylalanine et tryptophane et la proline. Ils ont hydrophobes, parce qu'ils ont une chaîne apolaire.

2- Les acides aminés qui ne s'ionise jamais qui vont donner des liaisons hydrogènes

Il y a en 2 : asparagine et glutamine.

3-Les acides aminés à chaîne latérale polaire qui s'ionise dans un environnement exceptionnel

Ils sont au nombre de 4 : tyrosine, sérine, thréonine, cystéine. Possibilité de former des liaisons hydrogènes.

4-Les acides aminés à chaîne latérale polaire qui s'ionise et porte des charges entières

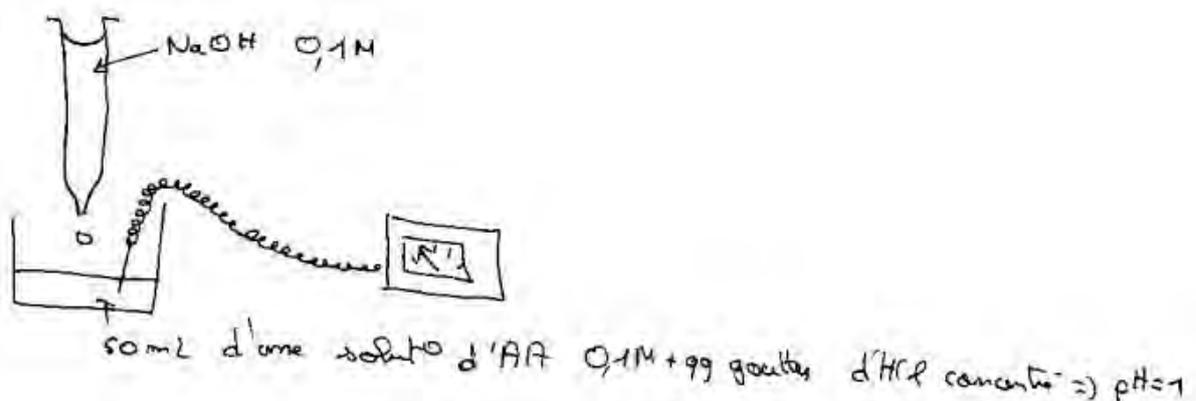
3 acides aminés basiques (car charge positive peuvent accepter des doublets d'électrons) : arginine, lysine, histidine.

2 acides aminés acides : l'aspartate, glutamate.

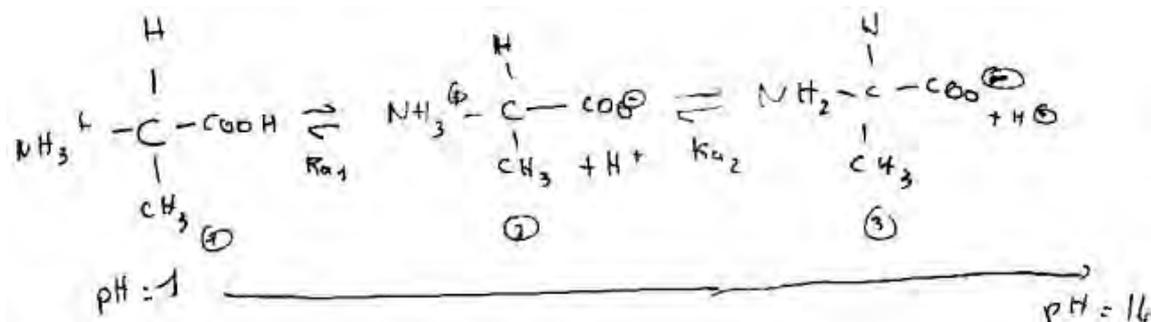
Dans les deux cas, ils sont dits hydrophiles.

c) Courbe de titration des acides aminés

On peut étudier le comportement dipolaire des acides aminés en examinant leur titrage.



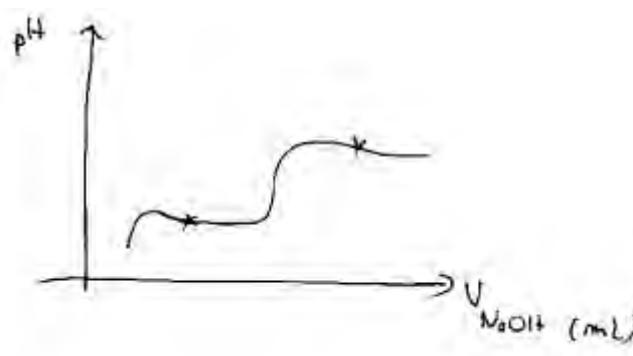
Exemple : alanine



### 1-Cas des acides aminés apolaires

Ce sont ceux qui ont une fonction acide et une fonction basique et une chaîne latérale qui ne s'ionise pas : mono-carboxylique et mono-aminé.

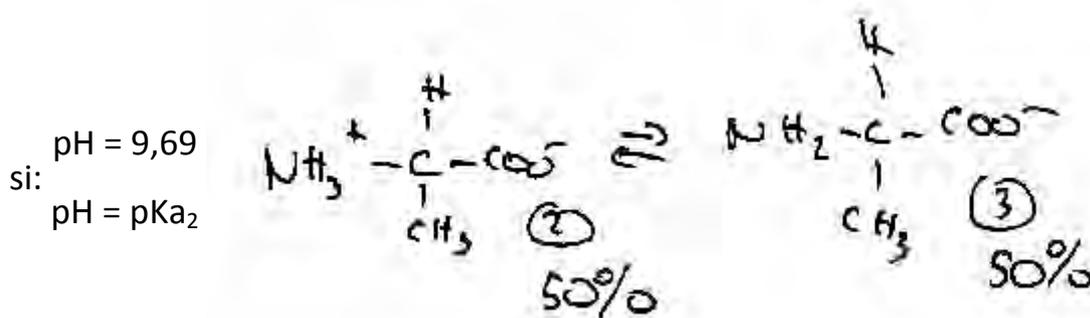
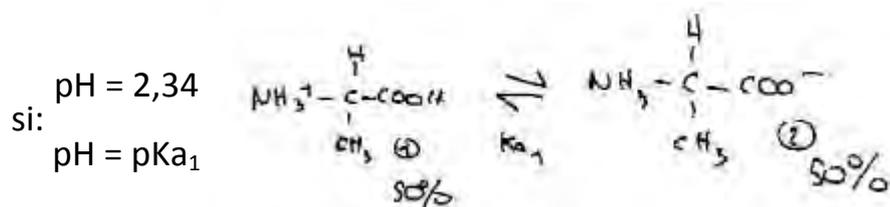
Il y a en a 9. C'est une courbe qui peut être comparée à une courbe de dosage des acides faibles par une base forte. C'est une courbe diphasique avec deux segments de courbe nettement séparés.



Chaque segment de courbe possède un point médian qui correspond à une modification de pH lorsqu'on ajoute de petite quantité de NaOH.

Ce point médian correspond au pK.

PK : c'est le point de demi-titration de chaque étape de dissociation, il correspond à la présence en quantité équimolaire des donneurs de proton et des accepteurs de proton. Exemple : l'alanine :



## 2-Cas des acides aminés polaires

Dans ce cas, la courbe est plus complexe, car la dissociation de la chaîne latérale est superposée à la dissociation de la fonction  $\alpha$  carboxylique, soit à la dissociation de la fonction  $\alpha$  aminé. Exemple : l'acide glutamique.

Dans le cas de la courbe de titration de l'acide glutamique, le premier segment est beaucoup plus long que le deuxième car ils sont superposés ; la dissociation du groupement  $\alpha$  COOH et la dissociation du groupement COOH de la chaîne latérale.

Exemple : la lysine.

Dans ce cas, le second segment est beaucoup plus long que le premier car, sont superposées la dissociation du groupement  $\text{NH}_3^+$  et la dissociation du groupement  $\text{NH}_3^+$  de la chaîne latérale.

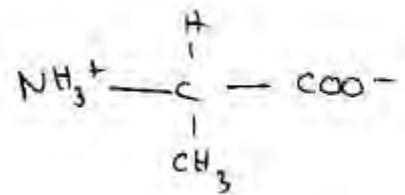
d) Valeurs des pK des acides aminés

Ces valeurs sont obtenues expérimentalement par l'analyse des courbes de titration. (voir tableau)

e) Le pHi des acides aminés

1-Cas des acides aminés dont la chaîne latérale ne s'ionise jamais

Sur la courbe de titration de ces acides aminés, il existe un point d'inflexion, situé entre les deux segments de courbes, ce point est le pH isoélectrique ou  $\text{pH}_i$ . En ce point, il n'y a pas de charge électrique nette sur la molécule donc celle-ci ne pourrait pas migrer dans un champ électrique.

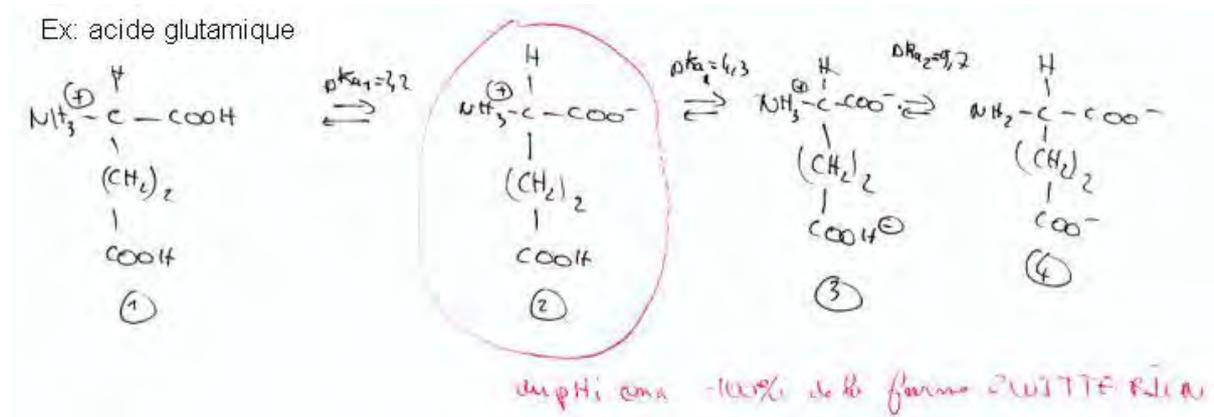


Exemple : l'alanine :

A  $\text{pH}_i$ , l'acide aminé se trouve 100% sous la forme :  
La valeur du  $\text{pH}_i$  est la moyenne arithmétique des pKs qui encadrent la forme électriquement neutre.

Ici :  $\text{pH}_i =$

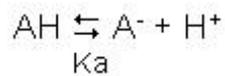
## 2-Cas des acides aminés dont la chaîne latérale s'ionise



$\text{pH}_i = 3,25$

### f) Équation d'HENDERSON-HASSELBACH

Chacun des deux segments de la courbe de titration peut être exprimé mathématiquement avec une très bonne approximation par cette équation :



$$K_a = \frac{[A^-] \cdot [H^+]}{[AH]} = \frac{[\text{produits finaux}]}{[\text{Produits initiaux}]}$$

$$\log K_a = \log [A^-] + \log [H^+] - \log [AH]$$

$$-\log K_a = -\log [A^-] - \log [H^+] + \log [AH]$$

$$\text{or } -\log K_a = pK_a \quad \text{et} \quad -\log [H^+] = \text{pH}$$

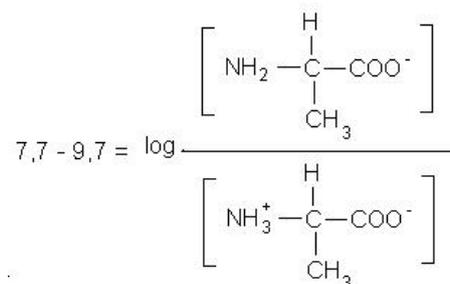
$$pK_a = \text{pH} + \log \frac{[AH]}{[A^-]}$$

$$\boxed{\text{pH} = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]}}$$

Cette équation permet à tout moment, et quelque soit le pH, de calculer le pourcentage des espèces ioniques présentes en solution.

g) Application de l'équation d'HENDERSON-HASSELBACH

Exemple : l'alanine. Calcul du pourcentage des espèces ioniques à pH = 7,7.



$$-2 = \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

$$\frac{[A^-]}{[AH]} = 0,01 = \frac{1}{100}$$

⇒ Une forme A- pour 100 formes non dissociés AH.

$$[A^-] + [AH] = 101$$

$$\% [A^-] = \frac{1}{101} * 100 = 0,99\%$$

$$\%[AH] = \frac{100}{101} * 100 = 99,01\%$$

### 3) La stéréo-isométrie des acides aminés

#### a) Configuration absolue

Tous les acides aminés, à l'exception du glycolle, présentent une dissymétrie dans leur édifice moléculaire, c'est-à-dire qu'ils ont au moins un carbone asymétrique, c'est-à-dire un carbone qui porte quatre substituants différents. Ils peuvent donc exister sous deux formes dont les images dans un miroir ne sont pas superposables après rotation de 180° en restant dans le même plan. Il y a trois façons de pouvoir les représenter:

- Formule en perspective,
- Formule en projection,
- Projection de Fisher.

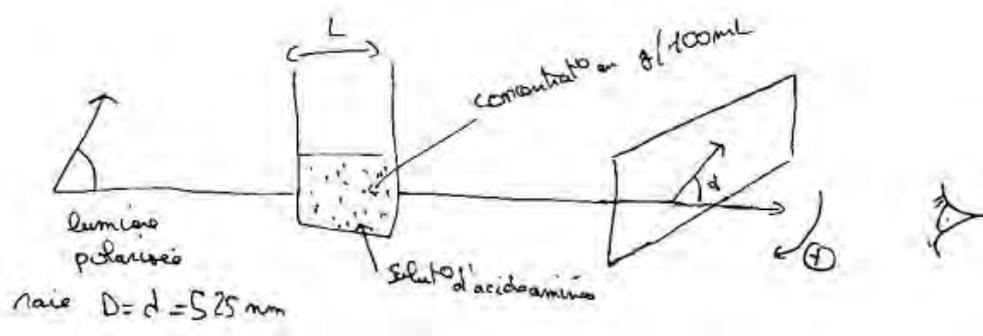
On a montré que ces deux formes pouvaient être reliées à deux standards : le D-Glycéraldéhyde et L-Glycéraldéhyde.

Quand le OH est à droite, sa configuration est dite D, et quand OH est à gauche, elle est dite L. Ce sont des sucres qui servent de standard pour les acides aminés.

On note que tous les acides aminés trouvés dans les protéines naturelles sont de la série L. On trouve dans la nature des acides aminés D par exemple dans les parois des bactéries et dans certains peptides antibiotiques.

## b) Pouvoir rotatoire

A la seule exception du glycolle, tous les acides aminés obtenus à partir des protéines ont une activité optique, c'est-à-dire qu'ils peuvent provoquer la rotation de la lumière polarisée. Pour cela utilise un polarimètre :



Si l'acide aminé fait tourner la lumière d'un angle dans le sens des aiguilles d'une montre, il est dit « dextrogyre. » Dans le sens inverse, il est dit « lévogyre. »

$$\text{Rotation spécifique} = [\alpha]_D^{25} = \frac{\text{Rotation observée} \times 100}{L(\text{cm}) \times \text{concentration}(\text{g}/100\text{ml})}$$

Elle est toujours mesurée avec une lampe à sodium avec une solution à 25°C. Cette valeur de la rotation spécifique varie avec la température, avec la longueur d'onde de la lumière utilisée, et avec le pH. En comparant avec les mêmes paramètres, la rotation spécifique de plusieurs acides aminés, on constate que la rotation spécifique varie en fonction de la chaîne. Il n'existe pas de relation entre la configuration absolue et le pouvoir rotatoire, c'est-à-dire que si une molécule présente une configuration D, je ne peux pas en déduire si cette molécule va dévier ou non la lumière sans faire d'expérience. Si,

expérimentalement, je trouve que mon acide aminé de configuration D est lévogyre, automatiquement j'en déduis que l'autre de configuration L est dextrogyre. Si on mélange dans des quantités égales des formes D et L d'une même molécule, le mélange est optiquement inactif, on appelle cela un « racémique. » Lorsqu'un acide aminé est synthétisé chimiquement en laboratoire, c'est la forme optiquement inactive qui est obtenue.

#### 4) Les propriétés spectrales des acides aminés

##### a) Absorption de la lumière

Dans ce cas, on utilise un appareil appelé un spectrophotomètre. Il y a la possibilité d'y mettre une cuve en plastique ou en verre, dans laquelle on met une solution d'acides aminés, on sélectionne une longueur d'onde que l'on fait arriver sur la cuve cette lumière a une certaine intensité  $I_0$ . Y-a-t-il absorption ou pas de la lumière ? Il y a absorption de la lumière si l'intensité qui en ressort, l'intensité émergente  $I$ , est inférieure à  $I_0$ .

##### b) Loi de BEER - LAMBERT

Cette loi est fondamentale en biologie, car elle permet de quantifier la concentration d'une solution de biomolécules, parce que l'absorption de la lumière est proportionnelle à la concentration de la solution, c'est-à-dire que plus la solution dans la cuve est concentrée, plus la lumière qui va en sortir sera faible.

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon * L * C$$

Cette loi est-elle que:

Sans dimension, la densité optique est :  $DO = \epsilon * L * C$

L représente le trajet optique,

C = concentration de la solution en mol/L,

$\epsilon$  = coefficient d'extinction molaire.

### c) Spectres d'absorption des acides aminés aromatiques

Dans la zone des ultraviolets, il n'y a que trois acides aminés qui absorbent : les acides aminés aromatiques : chaque acide aminé présente un spectre d'absorption spécifique. Si l'on mélange ces trois acides aminés en concentration égale, on obtient un spectre d'absorption qui présente un maximum à 280nm.

## 5) Les propriétés spectrales des protéines

### a) Spectre d'absorption des protéines

Les protéines sont formées d'un enchaînement d'acides aminés, quand on met une solution de protéine dans un spectrophotomètre et que l'on fait varier la longueur d'onde dans le domaine de l'UV, on obtient un spectre d'absorption avec un maximum à 280nm.

### b) Méthodes de dosage des protéines

Ces méthodes sont utilisées quand la concentration de protéines est très faible. Dans ce cas : pas de spectre, il est nécessaire de mettre en œuvre des méthodes colorimétriques. Il y a trois méthodes :

#### 1-Dosage du biuret

Il est utilisé quand la concentration est comprise entre 1 à 20 mg/ml. Il se fait en ajoutant le réactif de biuret, qui est composé de cuivre, qui forme un complexe avec la protéine. Ce complexe est bleu, et est d'autant plus bleu que la concentration en protéine est élevée.  $\lambda = 540\text{nm}$

## 2-Le dosage de Folin-Ciocalteu

Utilisé dans le cas où la concentration de protéine est comprise entre 0,1 à 1mg/ml. On utilise le réactif de Folin qui réagit spécifiquement avec les acides aminés aromatiques. Il donne une coloration bleue qui absorbe à une longueur d'onde caractéristique de 750nm.

## 3-Le dosage de Folin-Lowry

Ce dosage permet de pouvoir déterminer la concentration d'une solution de protéines entre 0,05 à 0,1 mg/ml. Cette méthode utilise la combinaison des deux autres méthodes, on ajoute le réactif de biuret et le réactif de Folin, la longueur d'onde est 750nm.

## III) Analyse d'un mélange d'acides aminés

L'analyse d'un mélange de molécules, quel qu'il soit, nécessite quatre étapes :

- Séparation des molécules,
- Détection de la molécule spécifique à étudier,
- Identification de la molécule, analyse qualitative de la molécule,
- Évaluation, analyse quantitative.

### A) Les techniques de séparation : la chromatographie

#### 1) Définition - principe

La chromatographie permet la séparation de molécules dans un mélange, à condition que ces molécules soient différentes entre elles par au moins un critère ; c'est-à-dire que les molécules doivent différer soit par leur taille, leur forme, leur poids moléculaire, ou leur charge. Le principe de la chromatographie est basé sur les interactions entre trois acteurs :

- Le mélange à séparer qu'on appelle soluté,
- Une phase stationnaire, c'est un solide,
- Une phase mobile, qui est un solvant (liquide ou gaz.)

Chaque molécule du mélange est soumise à une force de rétention du fait de l'affinité du soluté pour la phase fixe stationnaire et à une force de mobilité qui dépend de la solubilité de la molécule dans la phase mobile. La résultante de ces deux forces, rétention et mobilité, est variable selon chaque molécule et chacune migrera à une vitesse qui lui est propre.

## 2) Le matériel utilisé

### a) Le support de la phase stationnaire : la colonne de verre

La colonne de verre dans laquelle on va y mettre un solide, on place le mélange de molécules à tester et au-dessous une ampoule à décanter avec le solvant. Et on laisse couler gouttes à gouttes le solvant. Et chaque molécule va migrer à sa vitesse en fonction de son affinité avec la phase solide et mobile. Au fur à mesure, la phase mobile va sortir puis on la collecte dans des petits tubes de façon que le volume soit identique pour tous les tubes.

### b) Le support de la phase stationnaire : la feuille de plastique ou la plaque de verre ou chromatographie en couche mince

Le support de la phase stationnaire est une couche mince, on y dépose le mélange à étudier et les témoins, on plonge cette plaque dans une cuve en verre dans le solvant.

### 3) Les différents types de chromatographie

Chaque technique se réfère à une propriété qui doit être différente pour les molécules à séparer. (Voir tableau) Si les molécules se différencient par la taille, forme et masse : on effectue un tamisage moléculaire. Si différenciées par absorption : chromatographie d'absorption.

#### a) La chromatographie d'exclusion d'ions (tamisage moléculaire ou perméation de gel)

Pour pouvoir mettre en œuvre un tel type de technique, il faut que le soluté, c'est-à-dire les molécules que l'on veut séparer, soit d'une taille, soit d'une forme, soit d'une masse molaire différentes. On utilise comme phase stationnaire, c'est-à-dire phase solide, des gels séphadex.

Un gel séphadex est un sucre, formé de longues chaînes  $\Rightarrow$  polyside, et on va fabriquer comme des microbilles, synthétisées à partir du polyside. La taille des pores est la même dans une microbille. Si j'achète un gel séphadex G-10, cela veut dire que je pourrais tamiser des molécules ayant un poids moléculaire (sans unité) compris entre 0 et 700. G-200  $\Rightarrow$  entre 2000 et 50000.



Pour la phase mobile, elle est un tampon. Un tampon, c'est de l'eau dans laquelle on met une certaine proportion d'un acide et d'une base d'une telle façon que le pH soit bien précis.

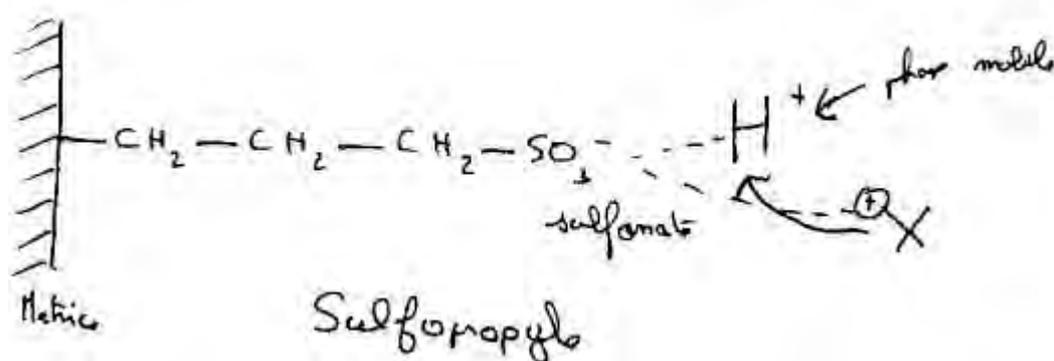
Principe de la séparation : (Cf. page 13)

Domaines d'utilisation et d'application : on utilisera la chromatographie pour la séparation de peptides, de protéines, de glucides et dans le cas des triglycérides. Elle permet de pouvoir déterminer la masse molaire ou poids moléculaire des molécules inconnues, à condition d'utiliser des témoins de masse molaire connue.

b) La chromatographie d'échanges d'ions

Cette chromatographie sera utilisée pour la séparation de molécules ionisées, c'est-à-dire des molécules qui vont s'ioniser en fonction du pH et qui porteront des charges nettes différentes. La phase solide est constituée de molécules chargées attachées à une matrice, les groupements chargés définissent la nature et la force de l'échangeur d'ions.

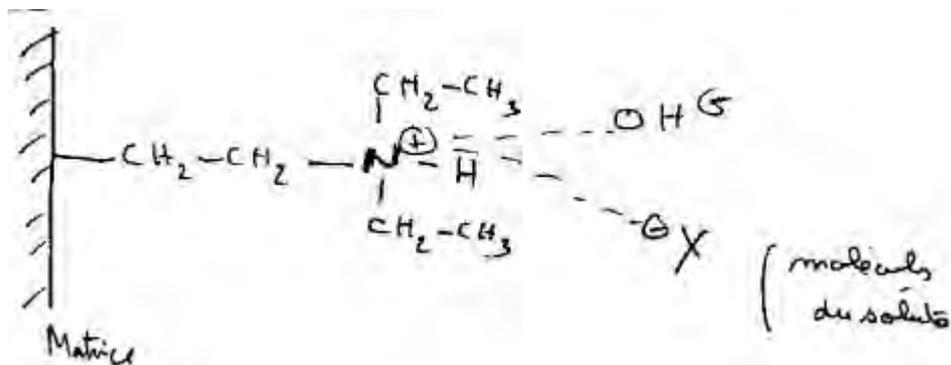
Groupement anionique :



Cette phase stationnaire s'appelle une résine polystyrénique sulfonate.

A pH acide, il va y avoir liaison ionique entre les  $H^+$  de la phase mobile et les  $SO_3^-$  de la phase stationnaire. (t = 0) Quand on ajoute le soluté, on le met à un tel pH qu'il porte une charge positive, et va se substituer à la place du  $H^+$ . On appelle cette résine une résine anionique échangeuse de cations.

Groupement cationique :



Cette phase stationnaire s'appelle résine polystyrène ammonium ou Résine D.E.A.E. polyoside : diéthyle aminoéthyle.

Au départ, pH basique, donc ions  $OH^-$  de la phase mobile. Introduction d'un soluté chargé négativement qui va se substituer à la place de  $OH^-$ . On l'appelle résine cationique échangeuse d'anions. Au départ, le tampon est à un pH bien précis, que je ferai varier au cours de la chromatographie.

Principe de la séparation :

**Échangeurs de cations** : lorsque j'ai un mélange d'acides aminés et que j'augmente le pH de la phase mobile, ce sont les acides aminés les plus acides qui vont sortir en premier : acide glutamique, aspartique puis après les

neutres : alanine, valine, leucine, isoleucine et en dernier les basiques : arginine et lysine.

**Échangeurs d'anions** : ceux qui vont sortir en premier sont les plus basiques : lysine et arginine, ensuite les neutres et enfin les plus acides.

Domaine d'utilisation :

On l'utilise lorsqu'on a un mélange d'acide aminé, lorsqu'on a des peptides, des protéines et dans le cas des acides nucléiques: ADN ARN. Ainsi que dans le cas de lipides ionisés: phospholipides, et les glucides.

- c) La chromatographie d'affinité
- d) La chromatographie d'adsorption
- e) La chromatographie de partage

#### 4) Détection des acides aminés

Les acides aminés, les peptides, les protéines sont incolores. Ils présentent au moins un groupement  $\alpha$ -aminé libre qui va former un composé bleu, avec un réactif spécifique appelé la « ninhydrine. » La ninhydrine va former, en présence de protéines, un composé bleu qui absorbe à la longueur d'onde de 570nm.

#### 5) Identification

Cela correspond à une analyse qualitative. L'analyse qualitative doit être faite avec des témoins et avec la même manipulation à chaque fois. On la refait 20 fois.

## 6) Évaluation : analyse quantitative

L'absorption est basée sur la loi de BEER-LAMBERT, c'est-à-dire que la densité optique de l'absorption est d'autant plus grande que la concentration est plus forte. C'est-à-dire que la hauteur des pics représente la plus ou moins grande quantité d'acides aminés. Je mesure la hauteur de mon pic et, grâce à l'échelle, peux déterminer la concentration de l'acide aminé.

Dans les appareils automatiques, des quantités inférieures à 50 nmol ( $50 \cdot 10^{-9}$  M) peuvent être mises en évidence avec précision en quelques heures. L'analyse peut aussi être faite par une machine appelée H.P.L.C. (High Performance Lipid Chromatography), on travaille sous pression et on peut détecter des molécules en quelques minutes et pouvant descendre à la picomol ( $10^{-12}$  M.)

## B) Les techniques de séparation : l'électrophorèse

### 1) Définition

Cette technique permet la séparation de molécules porteuses de groupements ionisables qui présentent des charges nettes qui varient en fonction du pH. Si elles sont placées dans un champ électrique, il y a présence d'un déplacement ou d'une migration. Acides aminés, peptides, protéines, acides nucléiques.

### 2) Principe

Ce déplacement ou migration :  $d = U * \vec{E} * t$

d : déplacement,

U : mobilité,

t : temps d'électrophorèse,

$\vec{E}$  : intensité du champ électrique.

La mobilité dépend de la charge de la molécule, des forces ioniques du tampon, et des forces de frottements.

### 3) Technique de l'électrophorèse

On prend une bande de papier, on dépose le mélange avec une micro-pipette et cette bande est placée de telle façon que les extrémités trempent dans un tampon à un pH bien précis.

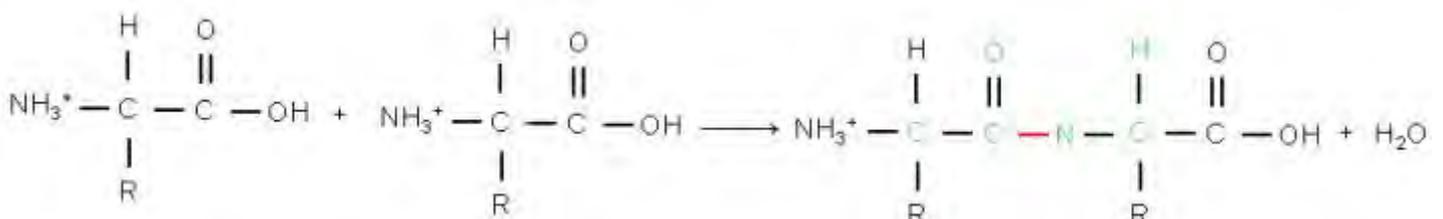
Dans la cuve, il y a des électrodes reliées à un générateur, on applique une différence de potentiels, le courant va de l'électrode négative à l'électrode positive. Donc, en fonction de la charge nette des molécules, elles vont se déplacer différemment. Les molécules chargées positivement (cations) vont vers la cathode (-), celles qui ont une charge nulle n'ont pas de déplacement, et celles chargées négativement (anions) vont vers l'anode (+.)

## IV) Étude de la structure primaire d'une protéine

### A) La liaison peptidique

#### 1) Définition

La réaction du groupe carboxylique d'un acide aminé avec le groupe aminé d'un autre acide aminé permet à ces deux acides aminés de s'unir par la formation d'une amine secondaire, cette liaison s'appelle la liaison « peptidique. »



Si on a deux acides aminés  $\Rightarrow$  dipeptide.

Trois acides aminés  $\Rightarrow$  tripeptide.

On parle de « peptide » jusqu'à 10 acides aminés, d' « oligopeptide » jusqu'à 50 acides aminés, et de « protéine » pour un total supérieur à 50 acides aminés.

## 2) Caractéristiques de la liaison peptidique

Les six atomes (vert) sont situés dans un même plan. Les acides aminés sont situés en position *trans* par rapport à la liaison peptidique. Dans une proportion de 1 pour 1000 on peut aussi trouver des liaisons *cis*. En position *trans*, l'encombrement est minimum.

Cette liaison peptidique évolue entre deux structures de résonance, c'est-à-dire à 70% cette liaison est sous forme simple et à 30% sous forme double. Ce caractère de double liaison entraîne une certaine rigidité et empêche la libre rotation. Du fait de ces deux structures de résonance, la fonction amine n'est pas une fonction qui s'ionise. Dans un peptide ou dans une protéine, le seul composé qui va s'ioniser sera la première fonction amine, appelée extrémité N-terminale et le dernier groupement carboxylique, appelé extrémité C-terminale.

## B) La structure primaire d'une protéine

### 1) Définition

On appelle « structure primaire d'une protéine », la séquence des acides aminés dans la chaîne peptidique, c'est-à-dire le nombre des acides aminés, leur nature, et la position exacte dans la chaîne. Une protéine porte un nom : exemple : insuline, qui a 51 acides aminés, la ribonucléase, 124 acides aminés, c'est-à-dire que chaque protéine comporte un nombre précis d'acides aminés

qui se succèdent dans un ordre bien déterminé et c'est cela qui différencie les diverses protéines.

## 2) Représentation d'une séquence peptidique

Quand on représente une séquence peptidique, on doit obligatoirement commencer à gauche par le groupement amine de telle façon que tout soit écrit horizontalement, et d'une façon verticale on place les groupements R.

## C) Étude chimique de la structure primaire d'une protéine

### 1) Étapes préliminaires

- Il faut broyer le tissu, l'organe, la cellule à étudier : on parle d'hydrolyse (ajout d'un tampon + broyage),
- Détecter s'il y a des protéines, on ajoute un réactif spécifique tel que le réactif de Biuret ou Folin-Lowry,
- Séparer les protéines : chromatographie ou électrophorèse.

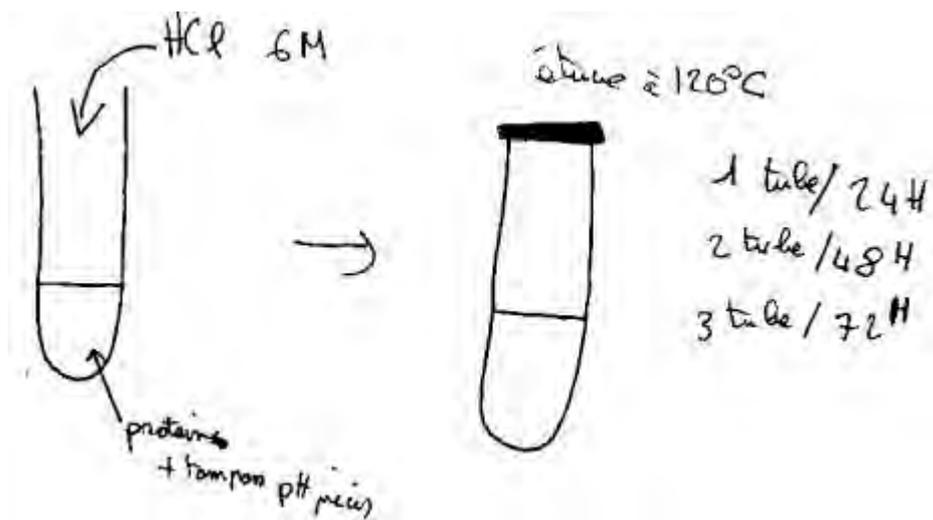
### 2) Détermination de la composition en acide aminé

C'est-à-dire comment passer d'un peptide ou d'une protéine à la somme d'acides aminés.

#### a) Hydrolyse totale des liaisons peptidiques

##### 1-Hydrolyse chimique

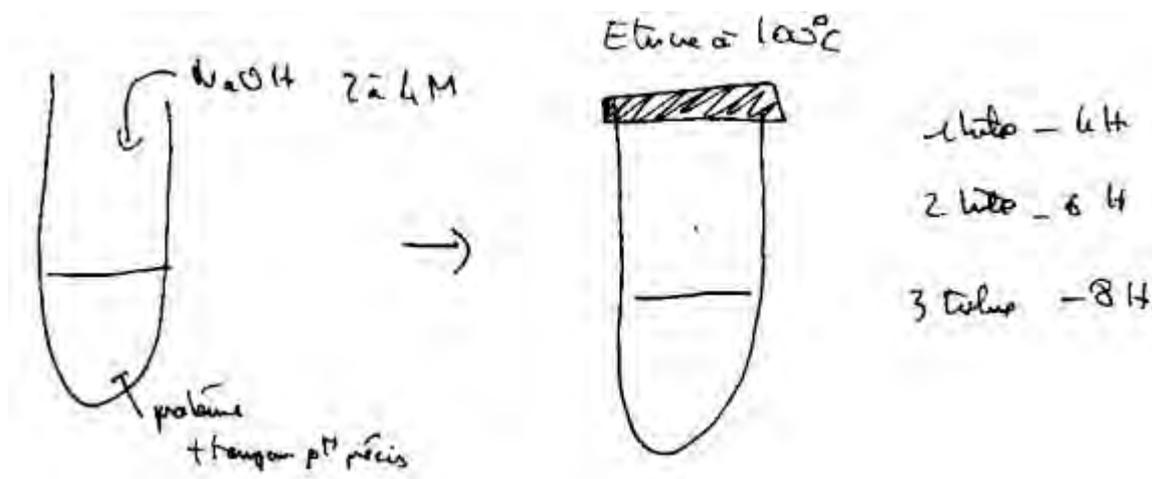
- Hydrolyse acide



On veut couper toutes les liaisons peptidiques on veut faire une hydrolyse totale.

Inconvénient : on sait que certains acides aminés sont détruits ou partiels. Exemple : MET, SER, THR qui sont détruits partiellement. Dans ce cas, il faut faire un traitement protecteur pour éviter leur destruction. Le TRP, lui, est complètement détruit.

• Hydrolyse alcaline



Avantage : le TRP résiste. Par contre, d'autres acides aminés peuvent être

détruits : CYS, SER, THR. A la fin de ces temps d'hydrolyse, on se retrouve avec un mélange d'acides aminés.

#### b) Séparation, analyse qualitative et quantitative des acides aminés

Après élimination de l'acide chlorhydrique ou de la soude, on utilise les techniques de séparation vues précédemment. Après cela, on connaît le nombre et la nature des acides aminés qui entrent dans la composition de votre peptide ou protéine.

#### 3) Détermination de la séquence des acides aminés

C'est-à-dire dans quel ordre les acides aminés sont enchaînés les uns aux autres.

La première séquence à être déterminée est celle de l'insuline en 1955 par SANGER. Insuline : 51 acides aminés.

#### a) Généralités sur la séquence des acides aminés

Les acides aminés qui entrent dans la composition d'un peptide ou d'une protéine peuvent se lier entre eux dans n'importe quel ordre, il n'existe aucune règle théorique ou empirique déterminant cet enchaînement. Le nombre des arrangements possibles de  $n$  acides aminés différents est égal à  $n!$  (Factorielle  $n$ )

La détermination des séquences des acides aminés dans les peptides ou protéines naturels est d'ordre strictement génétique.

#### b) Principes généraux de détermination d'une séquence primaire

1-Détermination des acides aminés N et C terminaux.

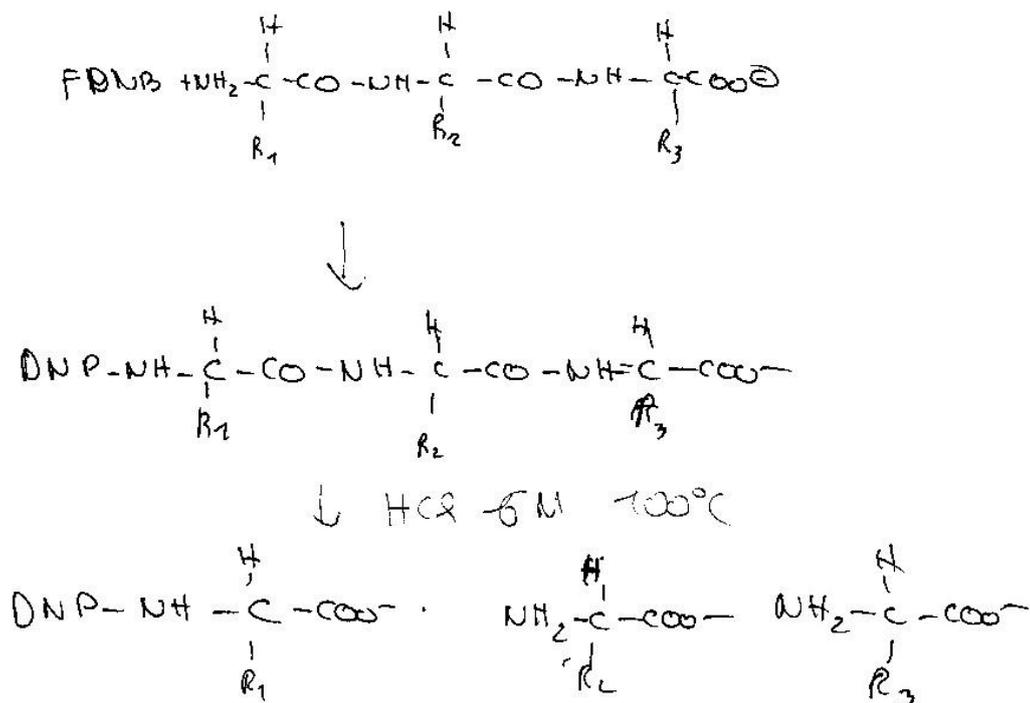
(page 23)

## Détermination de l'acide aminé N terminal

### Méthode de SANGER

Il a inventé le réactif de Sanger : FDNB : 1-FLUORO-2,4-DINITROBENZENE.

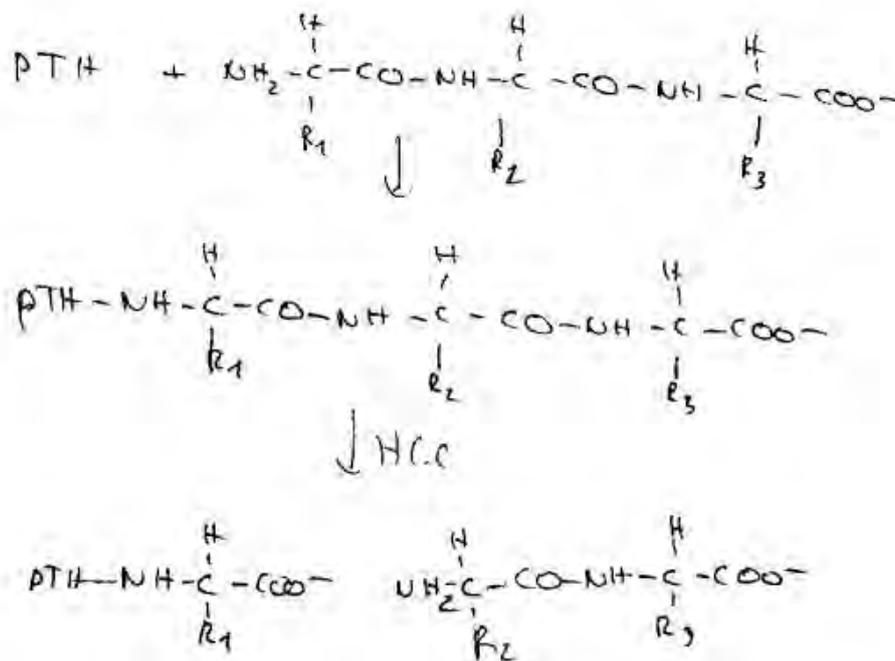
Une fois la réaction faite, le réactif DNP-acide aminé est jaune et absorbe des longueurs d'onde de 360.



Puis on fait une chromatographie par résine échangeuse d'ions, on sépare les protéines, on les passe au spectrophotomètre calé à la longueur d'onde 360, et on trouvera le DNP-acide aminé terminal.

## Méthode d'EDMAN

(Page 24) L'intérêt de ce réactif est qu'il permet de détacher les acides aminés les uns après les autres. C'est ce type de réactif qui est utilisé dans les appareils automatiques appelés « Séquenceurs. Mais on ne peut pas dépasser les peptides de 50 acides aminés, dans le séquenceur, car il se produit des erreurs au fil du cycle.



Ici longueur d'onde = 259.

Détermination de l'extrémité C-terminale

Méthode chimique

Principe de l'hydrazinolyse. L'hydrazide va couper tous les groupements sauf le dernier qui se trouve sous forme libre.

### Méthode enzymatique

On utilise un enzyme appelé la carboxypeptidase A, elle a la particularité d'attacher l'extrémité C-terminale.

### 2-Hydrolyse des séquences peptidiques intra-chaînes

Il faut faire des hydrolyses partielles :

### Méthodes enzymatiques

Nous avons à notre disposition un certain nombre d'enzymes qui vont agir de façon spécifique sur certains acides aminés et l'on va ainsi se retrouver avec un petit nombre de peptides. D'autres par, la spécificité de ses enzymes est que les coupures sont très localisées dans la protéine. Enzymes utilisées avec son site d'action :

Enzyme	Site d'action :	Spécificité :
TRYPSINE	Extrémité C-terminale	LYS , ARG (sauf si PRO est à droite)
Ex:		
CHYMOTRYPSINE	Extrémité C-terminale	PHE TYR TRP (sauf PRO est à droite)
Ex:		

PEPSINE	Extrémité N-terminale	PHE, TYR, TRP, LEU, ASP, GLU (sauf si PRO est à gauche)
THERMOLYSINE	Extrémité N-terminale	LEU, ILE, VAL (sauf si PRO est à gauche)

Méthodes chimiques

Enzyme	Site d'action :	Spécificité :
Br -CN	Extrémité C-terminale	MET
EX		

Voir page 25

3-Détermination des acides aminés N et C terminaux de chaque oligopeptide

4-Dégradation récurrente d'EDMAN

5-Dégradation et même étude avec un autre enzyme

Reprendre un nouveau peptide et reprendre un autre enzyme qui va couper en un autre endroit un autre peptide.

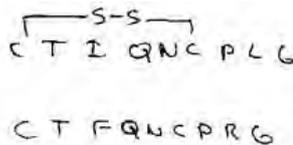
6-Recoupement général des différents résultats = SEQUENCE

#### 4) Applications

La connaissance des séquences permet la synthèse des peptides par voies chimiques, ce qui est la base de toute l'industrie pharmaceutique. Exemple de quelques peptides d'intérêts biologiques :

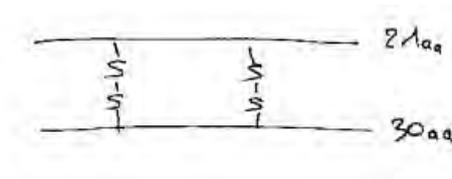
- Première synthèse chimique en 1953 : deux hormones :

- L'OCYTOCINE (9 acides aminés): C T I Q N C P L G
- La VASOPRESSINE (9 acides aminés)



L'ocytocine est un vasoconstricteur qui est utilisé pour déclencher les accouchements. La vasopressine est un antidiurétique qui règle la pression en eau.

- Synthèse en 1953 : hormone : Insuline (51 acides aminés) Elle est constituée de deux chaînes : l'une de 20 (chaîne A) et l'autre de 31 acides aminés (chaîne B) reliées par deux ponts disulfure.



Il faut 89 étapes de synthèse pour la chaîne A et 132 étapes pour la chaîne B.

## V) Conformation tridimensionnelle des protéines

### A) Introduction

Une protéine à l'état naturel n'existe jamais sous une forme complètement linéaire. En effet, sous l'influence des nombreuses forces attractives ou répulsives qui se manifestent tout au long de la chaîne, la protéine subit une mise en pli automatique avec une évolution tridimensionnelle. Une protéine présente donc une structure en 3D.

### B) Relation structure primaire - forme spatiale

C'est la séquence primaire d'une protéine qui détermine sa structure dans l'espace (y compris son activité biologique.) Ribonucléase (124 acides aminés) : protéine douée d'activité biologique, car c'est une enzyme dont la spécificité est de couper les liaisons phosphodiester dans les ARN. C'est une protéine dite « compacte » et qui a une structure bien précise.



Si l'on ajoute de l'urée (8M), elle coupe les liaisons H et du  $\beta$  Mercaptoéthanol qui coupe les liaisons disulfures (4 S-S dans la ribonucléase.)

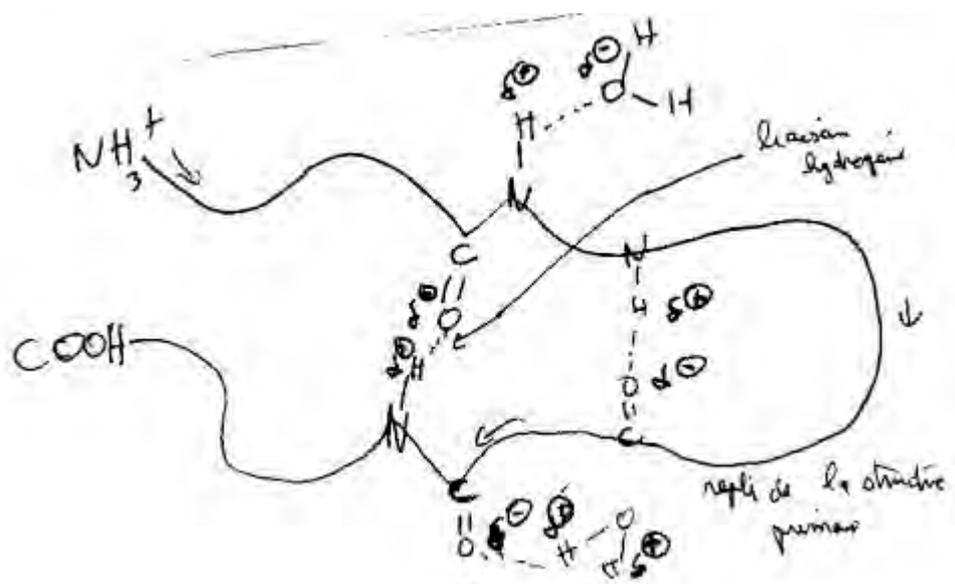
Dans le cas de dénaturation réversible, on retrouve la forme initiale. La structure tridimensionnelle est due à la séquence primaire. Et ceci s'appuie sur le principe selon lequel la molécule tend à prendre spontanément l'énergie libre la plus basse possible, c'est-à-dire l'état thermodynamique le plus stable. Dans certains cas, on ne retrouve pas la forme initiale, on parle alors de « dénaturation irréversible. » Cela serait dû à une perte d'un cofacteur indispensable ou bien au fait que la protéine ait subi des dégâts non-détectables par l'expérimentateur.

## C) Les structures secondaires

### 1) Définition

Les structures secondaires répondent à deux critères :

- Elles sont dues à des liaisons hydrogène à l'intérieur même de la chaîne,
- Les liaisons hydrogènes établissent exclusivement entre les groupements peptidiques COOH de la chaîne principale donc selon ce schéma :



## 2) Caractéristiques des liaisons hydrogènes dans les structures secondaires

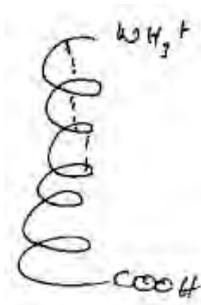
Chacune des liaisons hydrogènes C=O-NH met en jeu une énergie de 20 à 25 kCal/mol, ce qui représente moins d'une liaison covalente alors que les liaisons hydrogènes avec l'eau constituent une énergie plus faible (de 11 kcal/mol.) Il y a toujours compétition entre la formation de liaisons hydrogènes soit CONH soit avec H<sub>2</sub>O. Deuxième particularité, le nombre de liaison hydrogène s'explique par le caractère double de la liaison CONH qui empêche la rotation autour de cette liaison. Les six atomes du groupe peptidique se situe dans un même plan. La chaîne peptidique va donc se comporter comme une succession de plans articulés entre eux au niveau du carbone  $\alpha$ .

La disposition des deux plans successifs l'un par rapport à l'autre se définit par deux angles variables :  $\phi$  et  $\psi$ .

## 3) Les différents types de structures secondaires ordonnées

### a) L'hélice $\alpha$

Lorsque les deux angles  $\phi$  et  $\psi$  prennent une même valeur tout au long de la chaîne ; tel que  $\psi = 123^\circ$  et  $\phi = 132^\circ$ , la structure est une hélice.



Hélice droite : tous les acides aminés sont de série L.

Hélice gauche : tous les acides aminés sont de la série D.

Donc cette conformation en hélice  $\alpha$  est très répandue dans les protéines. Mais une protéine ne se présente pas exclusivement sous forme d'hélice  $\alpha$ , on définit un taux d'hélicité.

b) Les feuillets plissés ou types  $\beta$

1-Le type  $\beta$ -parallèle

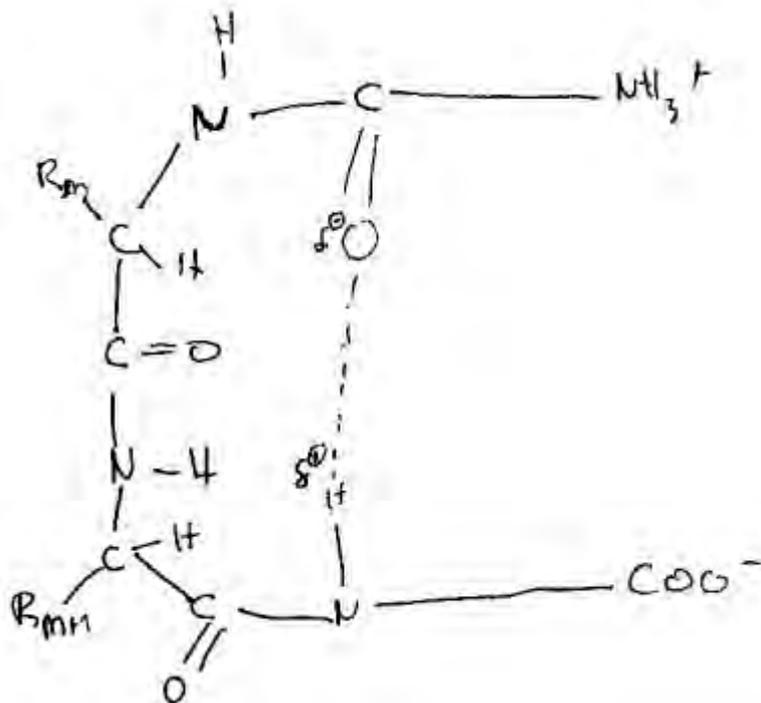
Page 20,

2-Le type  $\beta$ -antiparallèle

Page 20.

4) La structure secondaire non-ordonnée

Dans ce genre de structure, les angles  $\psi$  et  $\phi$  changent de valeur d'un acide aminé à un autre dans la chaîne. La chaîne peptidique prend dans l'espace une forme qui n'est pas régulière. Exemple : un coude :



## D) La structure tertiaire

### 1) Définition

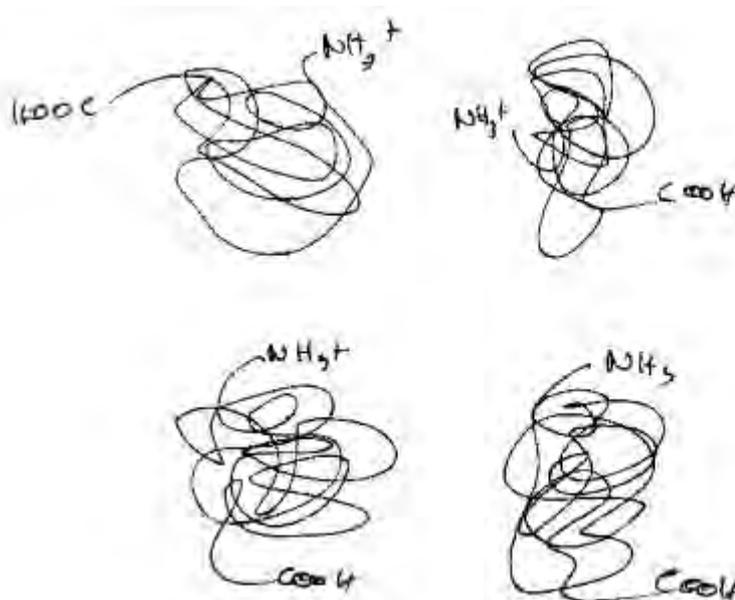
Cette structure tertiaire va être déterminée par l'assemblage dans l'espace des formes de types  $\alpha$  ou  $\beta$  ou des structures non-ordonnées, selon les trois directions de l'espace. Le tout étant stabilisé par des interactions qui s'établissent entre les groupements des chaînes latérales.

### 2) Interaction responsable de la structure tertiaire

Page 21. La seule liaison forte covalente.

## E) Structure quaternaire

Dans le cas où une protéine comporterait plusieurs chaînes peptidiques, le mode d'assemblage définirait sa structure quaternaire. Exemple : 4 chaînes :



## F) Résultats

Il existe 20573 protéines dont on connaît la structure tridimensionnelle exacte.

### 1) Les protéines globulaires

Elles se trouvent sous une forme compacte. On y trouve les enzymes, des hormones et des anticorps. Les plus étudiées sont la myoglobine et l'hémoglobine.

Toutes les deux transportent de l'oxygène.

### 2) Les protéines fibreuses

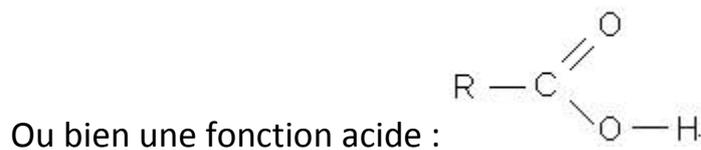
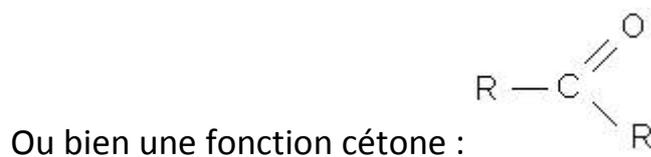
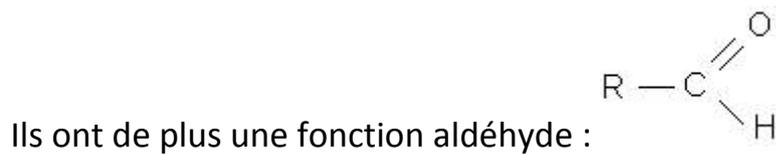
Elles ont la particularité d'être rigides et forment des bâtonnets : Kératines, les soies, et le collagène...

## LES GLUCIDES

### I) Introduction

#### A) Caractères généraux

Ce sont des polyols (plusieurs fonctions *alcool*.)

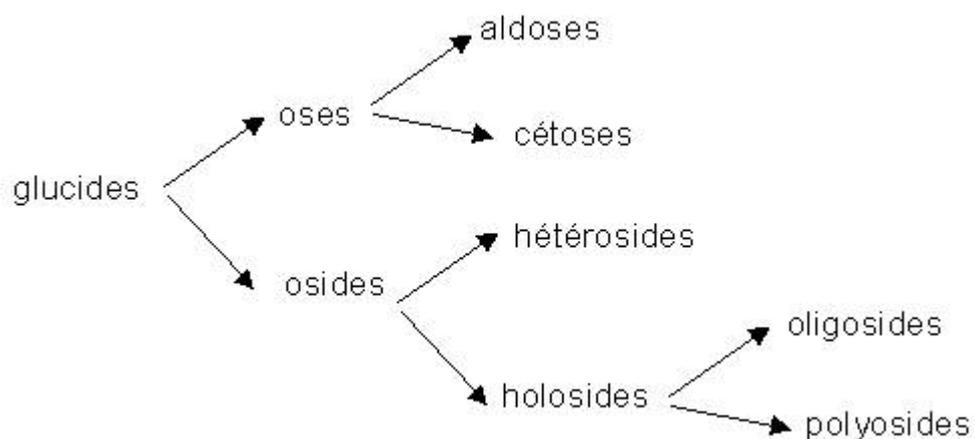


Lorsque les glucides sont associés par liaison covalente avec d'autres macromolécules, ils sont dits « glyco-conjugués », c'est-à-dire que des glucides associés à des protéines donneront une glycoprotéine, avec un lipide  $\Rightarrow$  glycolipide.

#### B) Répartition dans la nature

Les glucides sont des composés naturels largement répandus chez les êtres vivants, soit comme des éléments de structures : exemple : la cellulose des végétaux, la kitine des invertébrés, les polysaccharides des parois cytoplasmiques des bactéries, soit comme des réserves énergétiques : exemple : le glycogène des animaux, l'amidon des végétaux, le granuloose des bactéries. Ce sont aussi des composants fondamentaux, ils entrent dans la composition des acides nucléiques et dans la composition de co-enzymes. On sait d'autre part qu'ils sont impliqués dans la reconnaissance intercellulaire, dans les mécanismes de la différenciation, ainsi que dans l'expression et dans la réception des déterminants antigéniques.

### C) Classification



Un ose est un composé de formule brute  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , il comprend une fonction carboxylique et  $n-1$  fonction alcool.

On classe les oses selon deux critères:

- Le nombre d'atomes de carbones, exemple : 3 atomes carbones à triose ; à 7 : heptose, etc.
- La nature de la fonction carboxylique, elle peut être une fonction aldéhyde (aldoses) ou une fonction cétone (cétooses.)

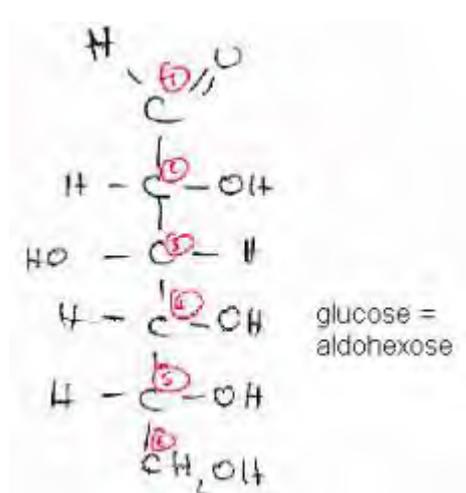
On fait une combinaison de ces deux critères. Exemple : aldohexose (glucose), cétohexose (fructose.)

Un oside : ce sont des molécules qui vont résulter de l'association de plusieurs molécules d'oses avec éventuellement une substance non glucidique. On va avoir des hétérosides et des holosides. Les hétérosides vont résulter de la condensation de plusieurs molécules d'oses avec une fraction non glucidique appelée « aglycone. » Dans les holosides, on trouve les oligosides qui sont constitués de l'association de 2 à 10 molécules d'oses et les polysides quand c'est supérieur à 10.

## II) Les oses

### A) Structure linéaire des oses

#### 1) Nomenclature des oses

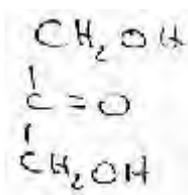


La nomenclature est telle qu'on numérote les carbones de sorte que le carbone 1 soit le plus oxydé et on écrit la molécule de haut en bas.

#### 2) Le pouvoir rotatoire des oses

Si on fait traverser une solution d'ose par une lumière polarisée, la lumière est déviée d'un certain angle : si c'est dans le sens des aiguilles d'une montre, cette molécule est dite « dextrogyre » d(+) et si elle dévie vers la gauche alors elle est « lévogyre » : l(-) Donc tous les oses, sauf un, ont la propriété de dévier la lumière polarisée, elles sont dites « chirales. »

L'exception est la dihydroxyacetone :

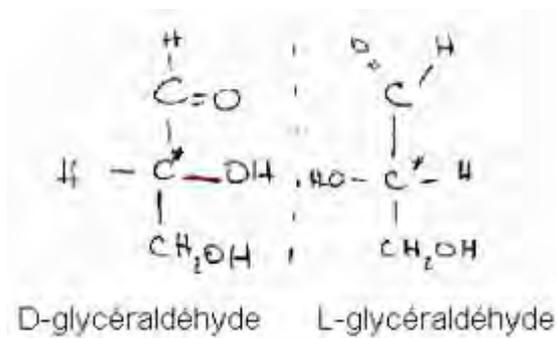


Tout ose peut exister sous deux formes.

#### 3) La configuration D et L

La propriété de pouvoir rotation est due au fait qu'il existe sur cette molécule au moins un carbone asymétrique, c'est-à-dire un carbone qui porte quatre

constituants différents ; dans ce cas, il va exister sous deux formes : image l'une de l'autre dans un miroir.



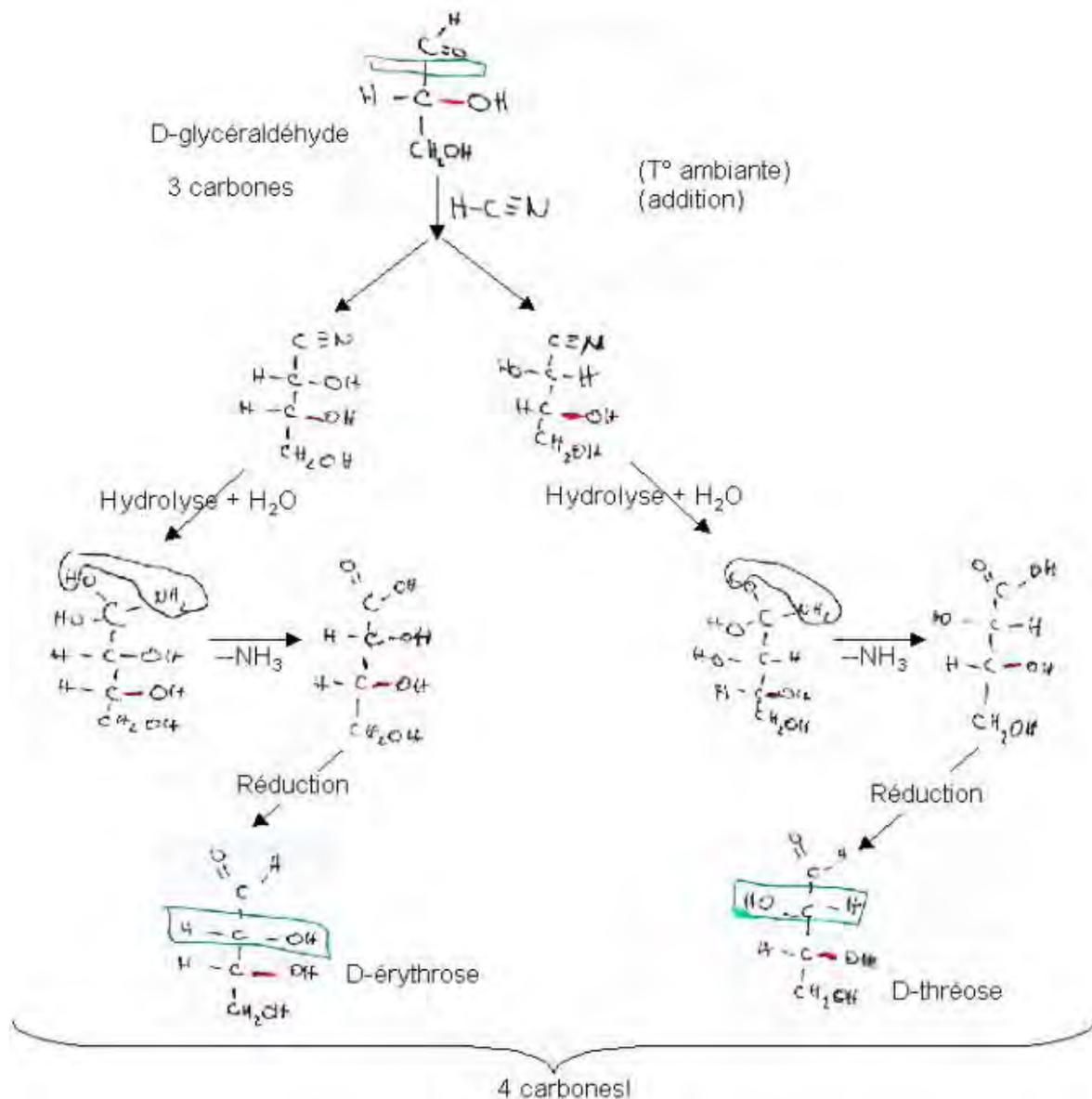
Quand le groupement OH du carbone asymétrie est à droite, la molécule est dite D et quand il est à gauche, elle est dite L.

Par rayon X, on a isolé et déterminé la structure de ce qu'on avait appelé D-glycéraldéhyde et on a trouvé que c'était le groupement OH à droite qui faisait dévier de  $14^\circ$  ( $[\alpha]_D^{20} = +14^\circ$ ) et que l'autre L :  $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$ .

#### 4) Filiation des oses

##### a) Synthèse cyanhydrique de KILIANI-FISCHER

Il est possible, par cette synthèse chimique, de passer d'un ose qui a n carbone(s) à un ose à n+1 carbone(s.)





### b) Dégradation de WOHL-ZAMPLEN

Chimiquement, il est possible en partant par un ose à n carbones de passer à un ose à n-1 carbone(s.)

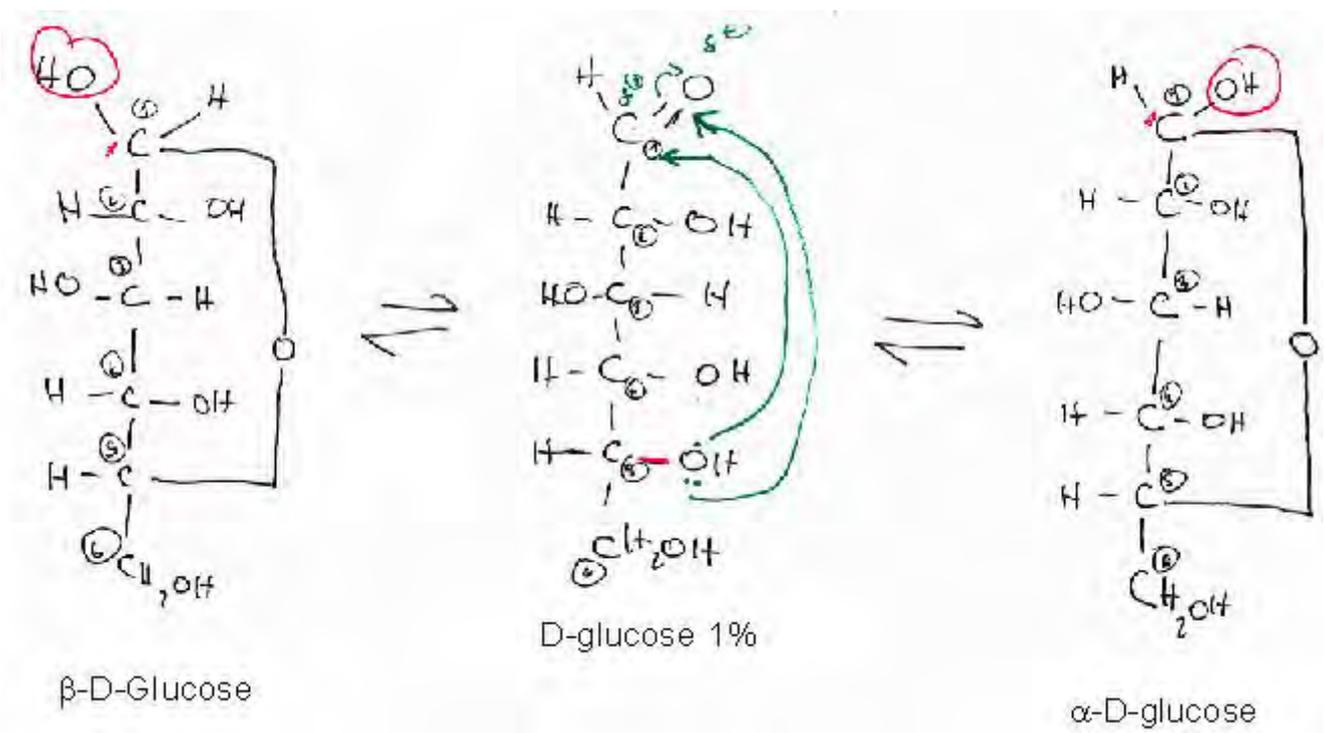
### c) Conséquences de la filiation des oses

Chaque ose peut être rattaché à un triose initial D ou L glycéraldéhyde suivant la configuration spatiale de la fonction OH portée par le carbone n-1. On distinguera donc les oses de la série D dont le groupement OH sur le carbone n-1 se trouve à droite et les oses de la série L dont le carbone n-1 est à gauche. D'où table de filiation.

## B) Structure cyclique des oses

### 1) La représentation de FISCHER

Les oses en solution aqueuse n'existent qu'à 1% sous forme linéaire. En fait, ils subissent une cyclisation.



On aboutit à deux formes en solution aqueuse car apparaît un nouveau carbone asymétrique : deux formes anomères. Ces trois formes existent. Le passage  $\beta$  à  $\alpha$  se fait toujours par la forme centrale, jusqu'à équilibre avec 90%  $\beta$ , 1% central et 9%  $\alpha$ . Si on mesure le pouvoir rotatoire de l' $\alpha$ -D-glucose sous forme de cristal. Son pouvoir rotatoire est  $[\alpha]_D^{20} = +159^\circ$ .

Pour le  $\beta$ -D-glucose :  $[\alpha]_D^{20} = -34^\circ$ .

Si le  $\alpha$ -D-glucose dans l'eau:  $[\alpha]_D^{20} = +52^\circ$ .

Si le  $\beta$ -D-glucose dans l'eau:  $[\alpha]_D^{20} = +52^\circ$

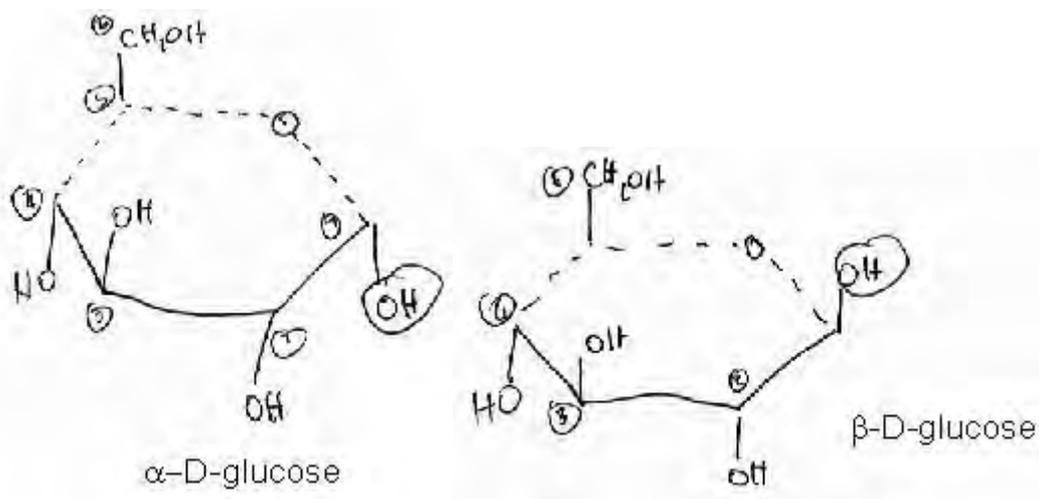
Une forme pyranose : si pont oxydique entre le carbone n°1 et n°5. (5C et 10)

Une forme furanose : cyclisation entre le carbone n°1 et n°4.

## 2) La représentation de HAWORTH

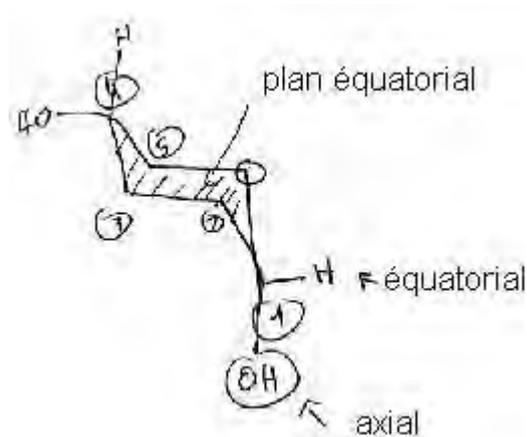
Convention :

- Écrire le cycle de telle façon que le cycle traverse le plan du tableau.
- On met dans le plan du tableau en haut pour la série D le groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$ . Tout ce qui est écrit à droite de la représentation de FISCHER sera écrit en dessous du cycle et à gauche au-dessus.
- On ne met pas les hydrogènes.
- Par convention, pour la forme  $\alpha$ , on écrit le groupement OH du carbone 1 à l'opposé du groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$ .



### 3) La conformation spatiale des oses

Les oses peuvent exister sous deux formes : la forme chaise ou la forme bateau. C'est la forme chaise qui est la plus représentée d'un point de vue de la stabilité maximale et au niveau thermodynamique. Cette conformation va faire qu'il y a un plan équatorial.



La forme la plus fréquente sera la forme où l'accommodement sphérique sera minimum.

### C) Propriétés chimiques des oses

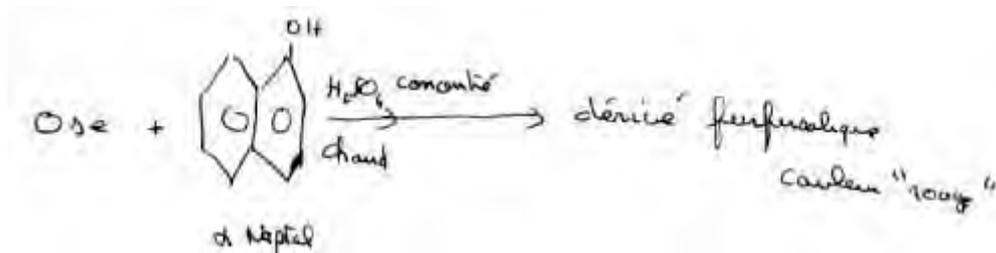
#### 1) Stabilité chimique des oses

##### a) En milieu acide fort et à chaud

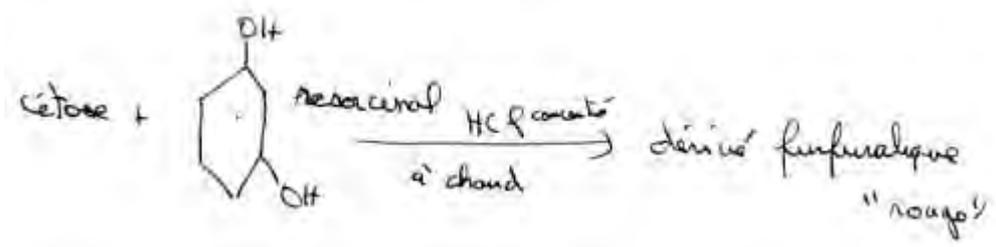
Acide fort : c'est-à-dire milieu d'acide chlorhydrique ou sulfurique fortement concentré. Dans ce milieu, la molécule d'ose va subir une déshydratation interne avec cyclisation. Dans le cas d'un pentose donne un furfural.

Pour un hexose → hydroxyfurfural. Ces deux composés furfural et hydroxyfurfural, ont la propriété de se condenser avec des phénols qui donneront naissance à des matières colorantes. Les différentes colorations varient avec la nature de l'ose utilisé. Si ces colorations sont suffisamment stables, elles peuvent servir au dosage de l'ose.

Exemple : réaction de Molish :



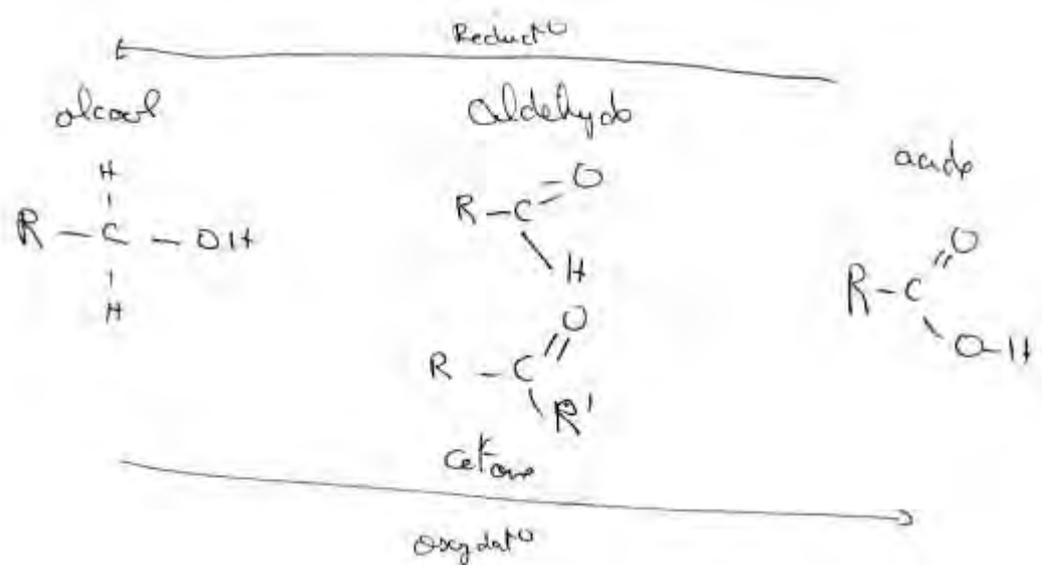
Réaction de SELIWANOFF:



b) En milieu alcalin et à froid

Les oses vont subir soit une réaction d'interconversion : passage d'un aldose à un cétose et inversement ; ou bien une réaction d'épimérisation : l'ose obtenu ne diffère que par la stéréochimie d'un seul carbone asymétrique. En milieu alcalin et à chaud, on a une dégradation totale.

## 2) Propriétés chimiques dues à la fonction carboxylique



### a) Réduction des oses

#### 1-A partir d'un aldose

A partir d'un aldose, pour faire une réduction, on se sert du  $\text{NaBH}_4$  (hydrure de bore et de sodium.) On ajoute le suffixe "OL" au nom du glucose.

#### 2-A partir d'un cétose

On obtient deux alcools. On passe d'un aldéhyde ou cétone à un alcool.

### b) Oxydation des oses

### 1-Oxydation chimique douce

Dans ce cas là, on utilise du brome, de l'iode en milieu alcalin ou de l'acide nitrique dilué. Dans le cas des aldoses : exemple : D-glucose. On ajoute un suffixe "-onique" au nom de l'ose. C'est l'acide aldonique en solution aqueuse. La forme aldonique est en équilibre avec les formes lactones.

### 2-Oxydation chimique énergétique

On utilise de l'acide nitrique concentré. On obtient des acides glucariques. On ajoute le préfixe "arique-". Dans le cas des cétooses, cela conduit à une coupure de la molécule.

### 3-Oxydation chimique par des ions métalliques

Réaction avec la liqueur de Fehling, cela rend un mélange de sulfate de cuivre et de tartrate double de sodium et de potasse. Quand c'est rouge, c'est qu'il y a eu réduction.

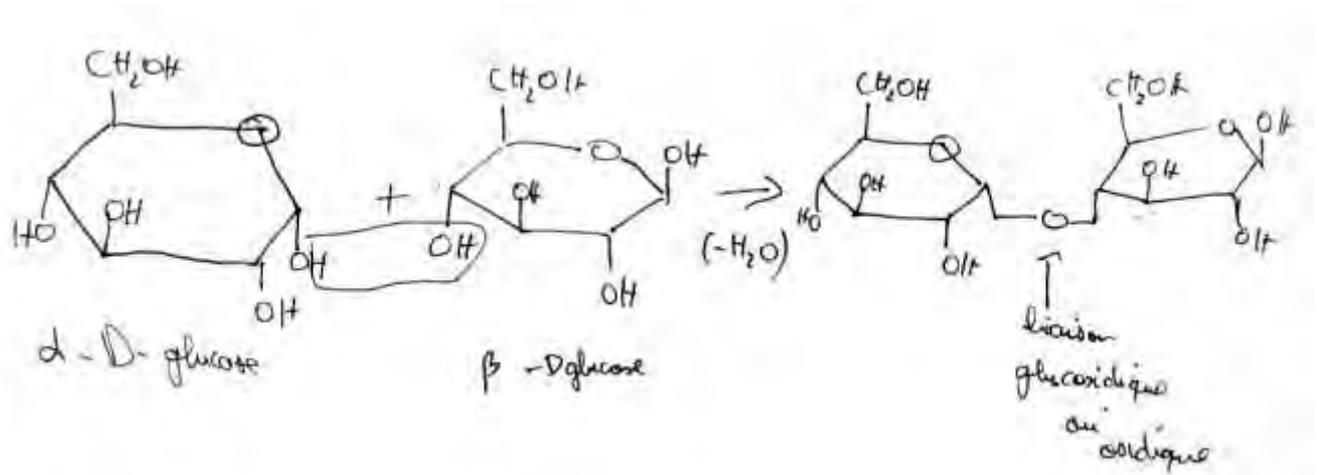
## D) Étude descriptive des oses d'intérêt biologique et de leurs dérivés

Page 9 à 16. A savoir 9 à 12 + acide uronique.

## III) Les oligosides

### A) Introduction

Ce sont des oligosides qui résultent de la condensation de 2 à 10 molécules d'oses par formation entre ces molécules d'une liaison appelée « liaison glycosidique. »



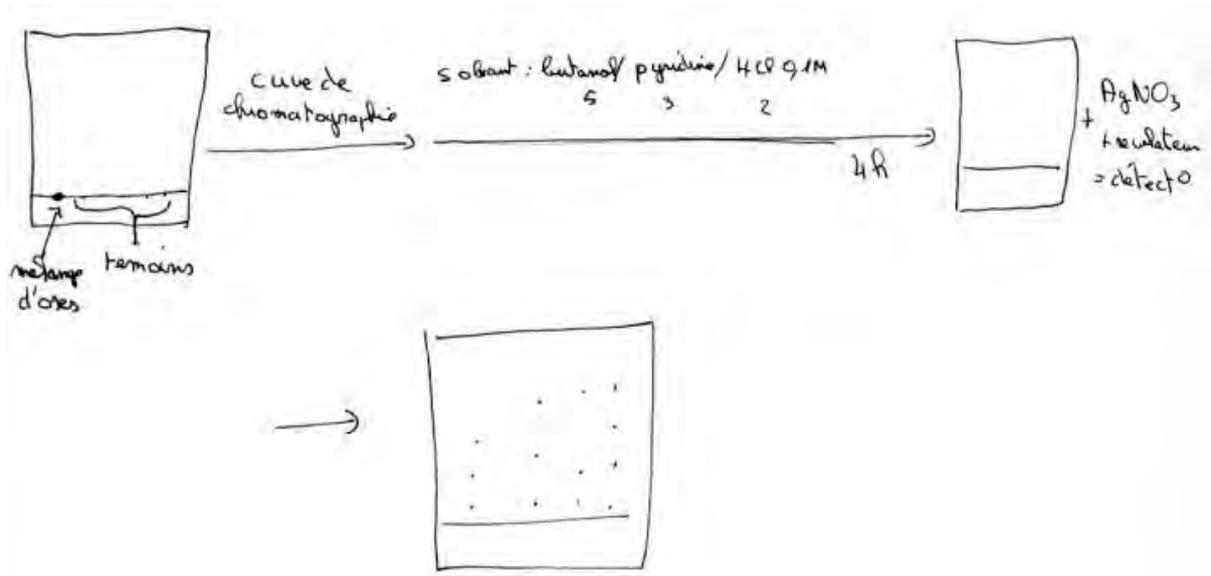
Cette liaison est stable en milieu alcalin mais peut être (difficilement) rompue en milieu acide, ou bien en utilisant des enzymes spécifiques qui peuvent couper cette liaison appelée « osidase. » On classe les oligosides en fonction du nombre de molécules d'oses qui entrent dans sa constitution, donc on aura des diholosides, triholosides,... jusqu'à 10.

## B) Détermination de la structure d'un oligoside

### 1) Détermination de la nature des oses

Il faut couper la liaison par hydrolyse acide et on se retrouve avec un mélange d'oses. Donc il faut faire une séparation des oses. La technique de séparation sera la technique de chromatographie :

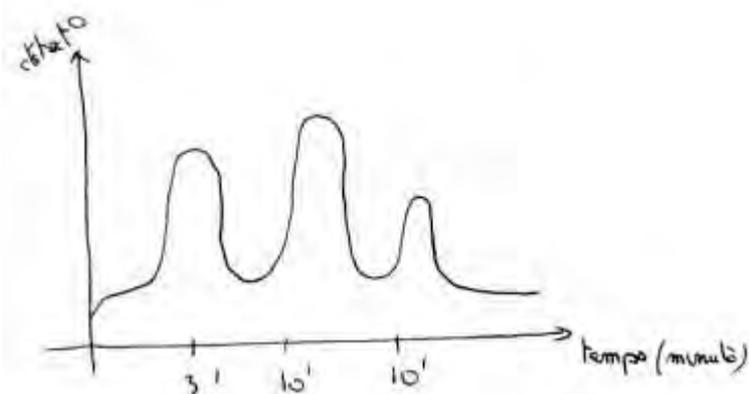
#### a) Chromatographie sur couche mince



## b) Chromatographie en phase gazeuse

Trois acteurs :

- Solvants : gaz (azote-argon),
- Phase stationnaire : silice dans la colonne,
- Un soluté.

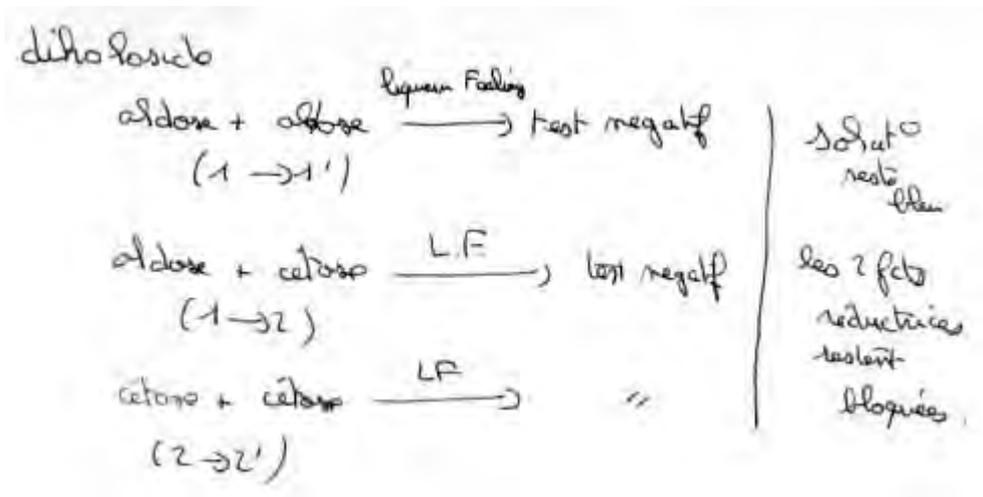


## 2) Détermination du mode de liaison des oses

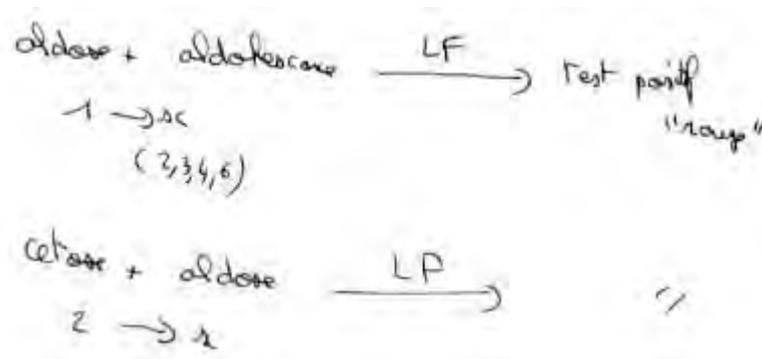
### a) Liaison oside-oside (diholoside)

Dans le cas d'un aldose, sa fonction réductrice est portée par le carbone 1.

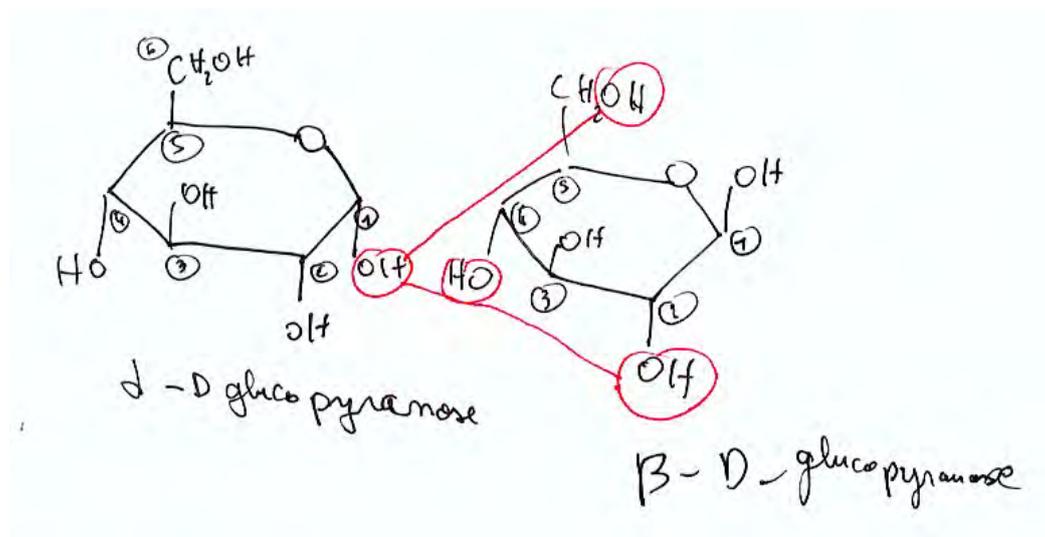
Dans le cas d'un cétose, sa fonction réductrice est portée par le carbone 2.



b) Liaison oside-ose



Il y a conservation des propriétés réductrices pour le deuxième ose.

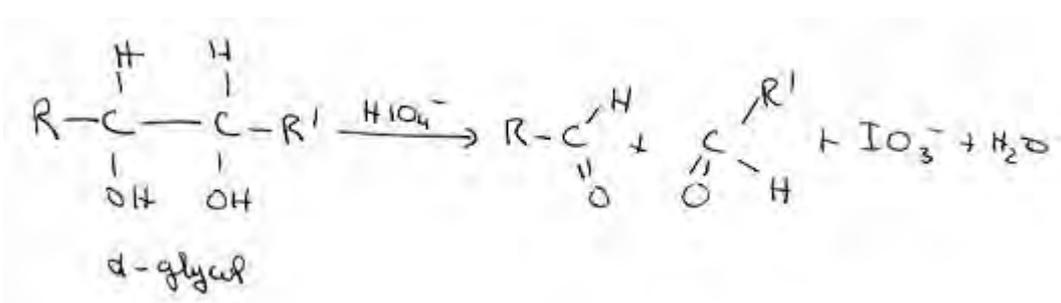


C) Détermination de la position de l'hydroxyle engagé dans la liaison osidique

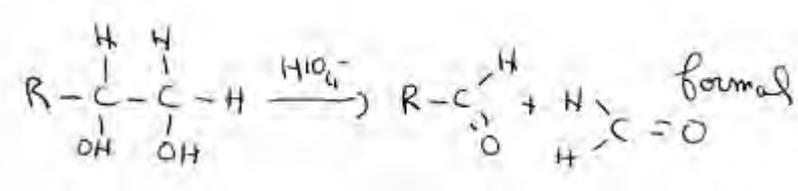
1) Oxydation par l'acide périodique (HIO<sub>4</sub>)

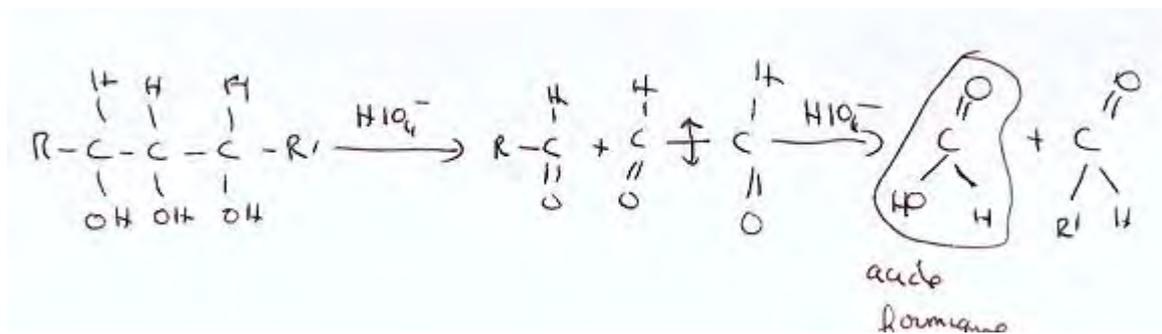
a) Propriétés de l'acide périodique

HIO<sub>4</sub><sup>-</sup> possède la propriété de couper les chaînes carbonées en provoquant la rupture de la liaison covalente entre deux atomes de carbones porteurs de fonction α-glycol.



Si on a deux fonctions adjacentes :





b) Application à un ose

Voir TD

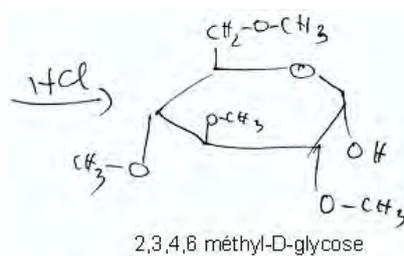
2) Réduction d'un ose par l'hydrure de bore et de sodium (NaBH4)

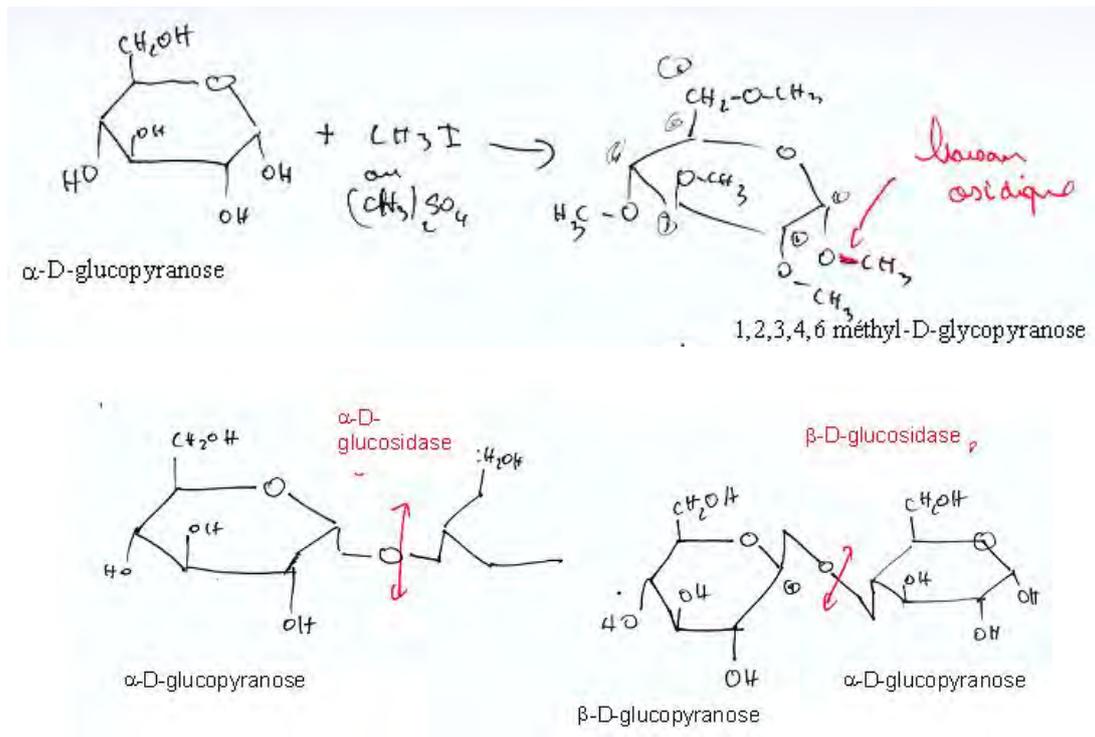
Méthode utilisée quand la méthode précédente ne nous permettra pas de connaître le mode de liaison. C'est quand on a deux hypothèses sans abouti.

Le carbone 1 → aldéhyde → alcool primaire.

3) Méthylation d'hydroxyles libres d'un ose

On utilisera des agents méthylants, tel le sulfate de méthyle ou l'iodure de méthyle.

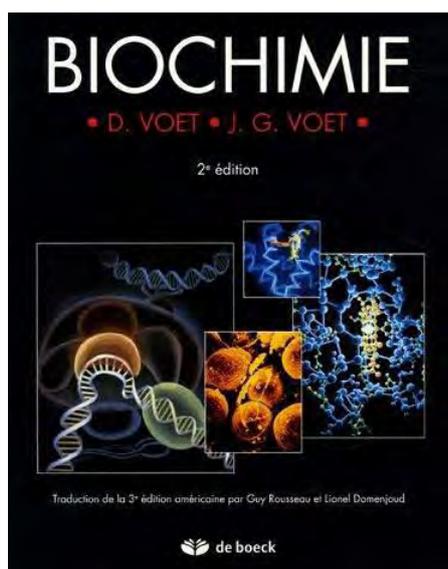




#### D) Détermination de la configuration anomérique a ou b de la liaison osidiques

### Biochimie - 137 pages

En près de 1600 pages abondamment illustrées et en couleurs, la deuxième édition française de cet ouvrage livre tous les secrets découverts à ce jour des biomolécules, des mécanismes d'action des enzymes, du métabolisme, de l'expression et de la transmission de l'information génétique. Dans cette nouvelle édition, les auteurs ont ajouté un grand nombre de notions nouvelles acquises au cours des huit dernières années, ce qui enrichit presque toutes les sections. Mais à ce renouvellement de contenu, ils ont également revu entièrement leur approche pédagogique, présentant la matière de manière aussi complète et précise que possible. Les auteurs ne se contentent pas d'exposer les connaissances mais ils attirent l'attention du lecteur sur la manière dont ces connaissances ont été acquises. Ils mettent par ailleurs en



évidence les conséquences concrètes des recherches, notamment leurs applications médicales. Les professeurs et les chercheurs en biochimie auront entre les mains une référence parfaitement à jour. Quant à l'étudiant en sciences de la vie et en sciences médicales, il pourra non seulement revoir les notions de base mais aussi s'initier à la démarche scientifique et approfondir des sujets à la pointe de la recherche. Il sera invité à la réflexion à la fin de chaque chapitre, par une série de problèmes de difficulté variable.

NOTE : Ce que vous pouvez télécharger (en cliquant sur l'image du livre tout en maintenant la touche Ctrl.) n'est qu'une partie du livre (137 pages), à savoir :

- La Partie 1 : Introduction et contexte
  - Chapitre 1 : La vie
  - Chapitre 2 : Les solutions aqueuses
  - Chapitre 3 : Principes de thermodynamique : vue d'ensemble
- La Partie 2 : Biomolécules
  - Chapitre 4 : Acides aminés
  - Chapitre 5 : Acides nucléiques