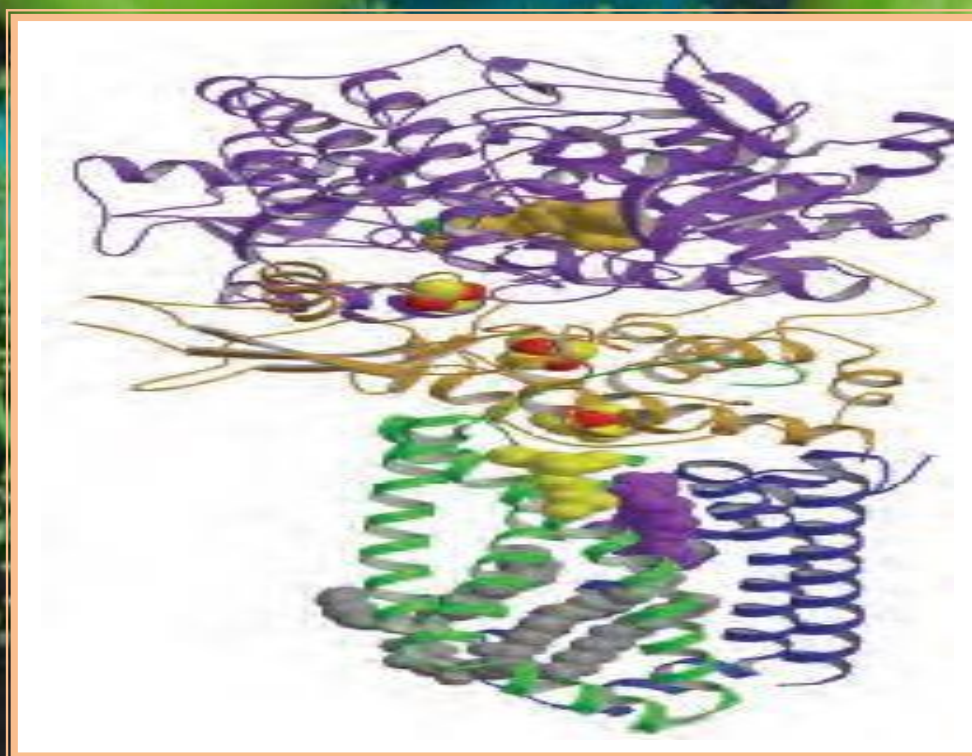


Université Ferhat Abbas –Sétif- 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie
Département des études de base



Polycopié de cours pour les
étudiants de la deuxième année
tronc commun (LMD)

BIOCHIMIE STRUCTURALE



Elaboré par :
Dr. SOUFANE SIHEM

Année 2020-2021

Semestre:3ème Semestre

UE : Unité d'Enseignement Fondamentale 2

Matière 1: Biochimie

Objectifs de l'enseignement

Cette matière consiste à assurer un enseignement sur les bases fondamentales de la biochimie et les notions d'enzymologie, et de familiariser les étudiants avec les techniques biochimiques.

Connaissances préalables recommandées (descriptif succinct des connaissances requises pour pouvoir suivre cet enseignement – Maximum 2 lignes).

L'étudiant doit avoir certaines notions sur les liaisons chimiques (faibles et fortes) et sur propriétés physicochimiques des molécules organiques.

Contenu de la matière

1. Liaisons chimiques

1.1. Liaisons fortes

1.2. Liaisons faibles

2. Structure et propriétés physico-chimiques des glucides

2.1. Oses simples

2.2. Oligosides

2.3. Polyholosides, hétérosides.

3. Structure et propriétés physico-chimiques des lipides

3.1. Lipides simples

3.2. Lipides complexes

4. Structure et propriétés physico-chimiques des acides aminés, peptides et protéines

4.1. Les acides aminés, les peptides, les protéines

4.2. Structure (primaire et secondaire, tertiaire et quaternaire)

4.3. Propriétés et effet des traitements (solubilité, comportement électrophorétique, dénaturation.)

4.4. Séparation des protéines

5. Notions d'enzymologie

5.1. Définition, classification

5.2. Mécanismes d'action

5.3. Site actif

5.4. Cinétique enzymatique et types de représentation

5.5. Inhibition enzymatique

5.6. Phénomène d'allostérie

6. Notions de bioénergétique

6.1. Types de réaction chimique

6.2. La chaîne respiratoire et la production d'énergie

6.3. Phosphorylation et réaction d'oxydoréduction

7. Métabolisme des glucides

7.1. Catabolisme (glycolyse, glycogénolyse, voie des pentoses phosphate, cycle de Krebs, bilan énergétique)

7.2. Anabolisme (néoglucogénèse et glycogénogénèse)

7.3. Régulation

8. Métabolisme des lipides

8.1. Catabolisme des acides gras (Béta-oxydation)

8.2. Catabolisme des stérols

8.3. Biosynthèses des acides gras et des triglycérides

8.4. Biosynthèse des stérols

8.5. Régulation

9. Métabolisme des peptides et des protéines

9.1. Catabolisme des groupements aminés

9.2. Catabolisme des groupements carboxyliques

9.3. Catabolisme de la chaîne latérale

9.4. Les acides glucoformateurs et cétoènes

9.5. Biosynthèse des acides aminés indispensables

9.6. Élimination de l'azote, cycle de l'urée

9.7. Exemple de biosynthèse de peptides (cas de peptides à activité biologique)

9.8. Exemple de biosynthèse de protéines

9.9. Régulation

10. Structure et métabolisme d'autres composés d'intérêt biologique

10.1. Vitamines

10.2. Hormones

Avant propos

Ce modeste polycopié, conçu comme un recueil de plusieurs références, a pour objectif de présenter les bases de la biochimie structurale aux étudiants de deuxième année de sciences de la nature et de la vie.

Tout au long de sa réalisation, j'ai essayé de présenter les informations de la manière la plus simple et didactique que possible. Cinq chapitres fondamentaux de la biochimie structurale ont été traités à savoir : les liaisons chimiques, les glucides, les lipides, les acides aminés, peptides et protéines ainsi que les enzymes. Dans les propriétés physicochimiques de ces différents constituants de la matière vivante, j'ai essayé de donner et d'insister sur la finalité de l'existence de telles réactions dans l'organisme et leurs utilisation à des fins analytiques.

Sihem SOUFANE

SOMMAIRE

Introduction à l'étude de la biochimie	01
--	----

CHAPITRE I : Les liaisons chimiques

I.1. Liaisons chimiques	02
I.1.1. Liaison covalente.....	02
I.1.2. Liaison de coordination ou liaison dative ou donneur –accepteur	03
I.1.3. Liaison métallique.....	03
I.1.4. Liaison ionique	03
I.1.5. Liaison hydrogène	04
I.1.6. Forces de Van der Waals.....	04
I.1.7. Interaction hydrophobe	05

CHAPITRE II : Glucides. Structure et propriétés physicochimiques

II.1. Définition.....	07
II.2. Classification	07
II.3. Oses (sucre simples ou monosaccharides)	08
II.3.1. Structure linéaire.....	08
II.3.2. Représentation en projection de Fisher.....	08
II.3.3. Stéréoisomérie et chiralité.....	09
II.3.3.1. Stéréoisomérie.....	09
II.3.3.2. Formes d'isomérie.....	10
II.3.4. Filiation des oses	11
II.3.4.1. Synthèse cyanhydrique de KILIANI-FISCHER	11
II.3.4.2. Dégradation de WOHL-ZEMPLEN.....	12
II.3.4.3. Filiation des aldoses et des cétooses.....	13
II.3.5. Objections à la forme linéaire.....	14
II.3.5.1. Structures cycliques, anomérie et conformations.....	14
II.3.5.1.1. Structure cyclique des oses.....	14
II.3.5.1.2. Projection de HAWORTH.....	16
II.3.5.1.3. Conformation des structures cycliques.....	19
II.3.6. Propriétés physiques des oses.....	20
II.3.6.1. Pouvoir rotatoire.....	20
II.3.6.2. Phénomène de mutarotation.....	21
II.3.6.3. Propriétés optiques.....	22
II.3.6.4. Propriétés spectrales.....	22
II.3.6.5. Solubilité.....	23
II.3.7. Propriétés chimiques des oses.....	23
II.3.7.1. Propriétés dues à la fonction carbonyle	23
II.3.7.1.1. Réduction des oses : obtention d'alditols (ositolis).....	23
II.3.7.1.2. Oxydation des oses.....	24
II.3.7.1.2.1. Oxydation en milieu alcalin et à froid (Oxydation douce ou ménagée)	24
II.3.7.1.2.2. Oxydation par les sels de métaux lourds.....	24
II.3.7.1.2.3. Oxydation par l'acide nitrique (Oxydation poussée, en milieu acide à chaud)	25
II.3.7.1.2.4. Oxydation par l'acide périodique (HIO ₄).....	26
II.3.7.1.3. Réaction d'addition et de substitution.....	27

II.3.7.2. Propriétés dues à la fonction alcool.....	28
II.3.7.2.1. Déshydratation en milieu acide.....	28
II.3.7.2.2. Formation d'esters.....	30
II.3.7.2.3. Formation d'éthers.....	30
II.3.7.2.4. Oxydation de la fonction alcool primaire.....	30
II.3.7.3. Propriétés dues à un groupement alcool et un groupement carbonyle voisins.....	31
II.3.7.3.1. Action de la phényl hydrazine (Formation d'osazones)	31
II.3.7.3.2. Isomérisation alcaline.....	32
II.3.8. Oses et dérivés d'oses d'intérêt biologique.....	33
II.3.8.1. Oses neutres.....	33
II.3.8.1.1. Trioses.....	33
II.3.8.1.2. Tétroses.....	33
II.3.8.1.3. Pentoses.....	33
II.3.8.1.4. Hexoses.....	33
II.3.8.1.5. Heptoses.....	33
II.3.8.2. Quelques dérivés d'oses.....	35
II.3.8.2.1. Dérivés déshydroxylés d'ose.....	35
II.3.8.2.2. Osamines	36
II.3.8.2.3. Dérivés acides d'oses	36
II.3.8.2.4. Polyols.....	38
II.4- Osides.....	38
II.4.1. Oligosides.....	39
II.4.1.1. Liaison osidique ou glycosidique.....	39
II.4.2. Diholosides.....	39
II.4.3. Autres oligosides.....	42
II.4.4. Polysaccharides.....	43
II.4.4.1. Homopolysaccharides (polyosides homogènes)	43
II.4.4.1.1. Polyosides de réserve.....	43
II.4.4.1.2. Polyosides de structure.....	47
II.4.4.2. Polyosides hétérogènes.....	49
II.4.4.3. Hétérosides.....	51

CHAPITRE III : Lipides. Structure et propriétés physicochimiques

III. 1- Présentation générale.....	55
III. 2. Classification.....	55
III. 2.1. Lipides simples ou homolipides.....	55
III. 2.2. Lipides complexes ou hétérolipides.....	55
III. 2.3. Composés à caractère lipidique.....	55
III. 3- Acides gras.....	57
III. 3.1. Classification des acides gras.....	57
III. 3.1.1. Acides gras volatils.....	57
III. 3.1.2. Acides gras saturés.....	58
III. 3.1.3. Acides gras insaturés.....	58
III. 3.1.4. Acides gras atypiques.....	62
III. 3.1.4.1. Acides gras hydroxylés.....	62
III. 3.1.4.2. Acides gras ramifiés.....	62
III. 3.1.4.3. Prostaglandines et leukotriènes.....	63
III.4. Propriétés physiques.....	63

III.4.1. Point de fusion.....	63
III.4. 2. Densité et solubilité.....	65
III.4. 3. Propriétés spectrales.....	65
III.5. Propriétés chimiques des acides gras.....	66
III.5.1. Propriétés dues à la fonction carboxylique.....	66
III.5.1.1. Formation de sels avec les bases (saponification)	66
III.5.2. Propriétés dues à la présence de doubles liaisons.....	67
III.5.2.1. Réactions d'addition.....	67
III.5.2.2. Oxydation en présence du KMnO ₄	69
III.6. Classes des lipides.....	69
III.6.1. Lipides simples.....	70
III.6.1.1. Glycérides.....	70
III.6.1.2. Cérides.....	73
III.6.1.3. Stérides.....	74
III.6.2. Lipides complexes.....	75
III.6.2.1. Glycérophospholipides.....	76
III.6.2.2. Les sphingolipides.....	80
III.7. Composés à caractère lipidique.....	83
III.7.1. Dérivés de l'acide arachidonique (eicosanoïdes)	83
III.7.2. Lipides isopréniques.....	85
III.7.2.1. Terpènes et composés terpéniques.....	85
III.7.2.2. Stérols et composés stéroïdes	86

CHAPITRE IV : Aminoacides, peptides, protéines. Structure et principales propriétés

IV .1 Les acides aminés communs des protéines.....	89
IV.1.1. Structure générale.....	89
IV.1.2. Classification.....	89
IV.1.2.1. En fonction de la nature chimique de la chaîne latérale R	89
IV.1.2.2. En fonction de la polarité de la chaîne latérale.....	93
IV.1.2.3. En fonction de l'essentialité de l'acide aminé.....	94
IV.1.2.4. Selon qu'ils soient glucoformateurs ou cétoènes.....	94
IV.1.2.5. Acides aminés particuliers.....	95
IV.1.3. Propriétés des acides aminés.....	95
IV.1.3.1. Propriétés physiques.....	95
IV.1.3.1.1. Solubilité.....	95
IV.1.3.1.2. Propriétés optiques.....	96
IV.1.3.2. Propriétés chimiques et dosage.....	98
IV.1.3.2.1. Ionisation, propriétés acido-basique.....	98
IV.1.3.2.2. Titration des acides aminés.....	100
IV.1.3.3. Réactions dues à la présence du carboxyle.....	102
IV.1.3.4. Réactions dues à la présence du groupement amine.....	104
IV.1.3.5. Réactions liées au groupe COOH et NH ₂	108
IV.1.3.6. Réactions dues aux chaînes latérales.....	108
IV.1.4. Méthodes de dosage et d'analyse des acides aminés.....	110
IV.1.4.1. Dosage des acides aminés totaux.....	110
IV.1.4.1.1. Méthode de Kjeldahl.....	110
IV.1.4.1. 2. Méthode de Sørensen	111
IV.1.4.1.3. Dosage spectrophotométrique à la ninhydrine.....	111

IV.1.4.2. Techniques de séparation des acides aminés	111
IV. 2. Les peptides.....	116
IV. 2.1. Définition.....	116
IV. 2.2. Propriétés des peptides.....	117
IV. 2. 2.1. Propriétés physiques.....	117
IV. 2. 2.2. Propriétés biologiques des peptides.....	117
IV.2.2.2.1. Peptides à rôle physico-chimique.....	117
IV.2.2.2.2. Peptides à activité de médiateur.....	118
IV.2.2.2.3. Les peptides hormonaux.....	118
IV.2.2.2.4. Les neuropeptides.....	119
IV.2.2.2.5. Les molécules de l'inflammation.....	119
IV.2.2.2.6. Peptides antibiotiques.....	119
IV.2.2.2.7. Les peptides bactériens.....	119
IV.2.2.2.8. Les peptides fongiques.....	119
IV.2.2.2.9. Peptides immunomodulateurs.....	120
IV.2.3. Etude des séquences peptidiques.....	120
IV. 3- Les protéines.....	128
IV. 3.1. Structure tridimensionnelle des protéines.....	129
IV.3.1.1. Structure primaire des protéines.....	129
IV.3.1.2. Structure secondaire des protéines.....	129
IV.3.1.2.1. Hélice α	130
IV.3.1.2.2. Feuillet β	130
IV.3.1.3. Structure tertiaire des protéines.....	131
IV.3.1.4. Structure quaternaire des protéines.....	132
IV.3.2. Dénaturation des protéines.....	133
IV.3.3. Isolement, fractionnement et purification des protéines.....	134

CHAPITRE V : Enzymes

V.1. Définition.....	135
V.2. Nature et structure des enzymes.....	135
V.2.1. Enzymes purement protéiques.....	135
V.2.2. Holoenzymes.....	135
V.2.3. Substrat	135
V.2.4. Ligands	135
V.3. Notions de spécificité.....	136
V.3.1. Spécificité de substrat.....	136
V.3.2. Spécificité de réaction.....	136
V.3.3. Régulation de l'activité catalytique.....	136
V.4. Le site actif.....	138
V.5. Nomenclature et classification.....	138
V.6. Unités de mesure de l'activité catalytique des enzymes.....	139
V.6.1. Unité internationale d'activité (UI).....	139
V.6.2. Katal.....	139
V.6.3. Activité spécifique (AS).....	139
V.6.4. Activité spécifique moléculaire (ASm).....	139
V.6. Cinétique enzymatique.....	139
V.6.1. Notion de « vitesse initiale »	140
V.6.2. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale.....	140
V.6.3. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale.....	141

V.6.4. Modèle de Michaëlis-Menten.....	141
V.6.4.1. Équation de Michaelis-Menten.....	141
V.6.4.2. Vitesse maximale $V_{\max}$	142
V.6.4.3. Signification physique de la constante de Michaelis K_M	143
V.6.4.4. Signification physique de la constante catalytique k_{cat}	144
V.6.4.5. Représentation de Lineweaver et Burk.....	144
V. 7. Effecteurs de l'activité enzymatique.....	145
V. 7.1. Effets des agents physiques.....	145
V. 7.1.1. Effets de la température.....	145
V. 7.1.2. Effets du pH.....	146
V.7.2. Inhibition enzymatique.....	146
V.7.2.1. <i>Les inhibiteurs compétitifs</i>	147
V.7.2.2. <i>Les inhibiteurs non compétitifs</i>	149
V.7.2.3. <i>Les inhibiteurs incompétitifs</i>	150
V.7.2.4. Exemples d’Inhibiteurs anti-compétitifs.....	152
V.7.2.5. Inhibition irréversible.....	152
V.7.2.5.1. Agents alkylants.....	152
V.7.2.5.2. Inhibiteurs suicide.....	152
V.7.2.5.3. Analogues de l’état de transition.....	153
V.7.2.5.5. Inhibiteurs protéiques.....	154
V. 8. Les enzymes allostériques.....	154
V. 8. 1. Considérations générales.....	154
V. 8. 1. 1. L’allostérie.....	154
V. 8. 1. 2. Effet de coopérativité.....	154
V. 8. 2. Cinétique des enzymes allostériques.....	155
V. 8. 3. Importance physiologique des enzymes allostériques.....	156
Bibliographie.....	159
Annexe.....	

SOMMAIRE DES FIGURES

Fig. 1. Exemple de liaison covalente Cl_2	02
Fig. 2. Exemple de liaison de coordination HCl (A), la liaison métallique (B).....	03
Fig. 3. Formation d'une liaison ionique entre le sodium et le chlore.....	04
Fig. 4. Interactions de 2 dipôles permanents (A) et dipôle induit – dipôle permanent (B)...	05
Fig. 5. Classification des glucides.	07
Fig. 6 . Structure du glycéraldéhyde et du dihydroxyacétone.	08
Fig. 7. Représentation des oses en projection de Fisher.	09
Fig. 8. Les énantiomères du glycéraldéhyde.....	10
Fig. 9. Voie de synthèse de KILIANI-FISCHER.	12
Fig. 10. Voie de dégradation de WOHL-ZEMPLEN.	12
Fig. 11. Structure et stéréochimie des D-aldoses	13
Fig. 12. Structure et stéréochimie des des D-cétoles.	13
Fig. 13. Passage du D-glucose selon TOLLENS de la forme linéaire à la forme glucopyranose (isomères α et β).....	14
Fig. 14. Cyclisation des aldoses.	17
Fig. 15. Cyclisation des cétoles.	18
Fig. 16. L'énantiomère d'un ose cyclique.	19
Fig. 17. Conformation spatiale des structures cycliques.	20
Fig. 18. Schéma d'un polarimètre.	21
Fig. 19. Le phénomène de mutarotation.	22
Fig. 20. Formation d'alditol à partir d'un aldose (A) et d'alditols épimères à partir d'un cétole (B) au cours des réactions de réduction.....	23
Fig. 21. Oxydation d'un aldose en milieu alcalin et à froid.	24
Fig. 22. Action de la liqueur de Fehling avec les sels cuivriques (à chaud en présence d'un ose réducteur).....	25
Fig. 23. Action de la liqueur de Fehling en présence d'un cétole.....	25
Fig. 24. Action de l'acide nitrique sur les aldoses et les cétoles.....	26
Fig. 25. Exemple de l'action de l'acide périodique sur la molécule de glucose.....	27
Fig. 26. Action du méthanol sur le glucose.	27
Fig. 27. Action des amines sur les oses.	28
Fig. 28. Combinaison du groupement aldéhydique des aldoses avec des thiols et formation d'un S-Hétéroside.	28
Fig. 29. Formation d'un furfural et d'un dérivé du furfural par action d'un acide concentré à chaud sur un ose.	29
Fig. 30. Formation des esters d'oses.....	30
Fig. 31. Réaction de méthylation du glucose.	30
Fig. 32. Formation d'acide glucuronique par oxydation de la fonction alcool primaire du glucose.	31
Fig. 33. Action de la phényl hydrazine sur un ose.	31
Fig. 34. Les produits de la réaction du D-glucose avec une molécule de phénylhydrazine à chaud et à froid.	31
Fig. 35. Les différents cristaux d'oses mélangés avec la phénylhydrazine observés à l'aide d'un microscope.....	32
Fig. 36. Phénomène d'interconversion des oses.	32
Fig. 37. Les dérivés phosphorylés du glycéraldéhyde.	33
Fig. 38. Principaux monosaccharides et leurs dérivés rencontrés dans la nature.....	35
Fig. 39. Structures de quelques hexoamines.....	36

Fig. 40. Structures de l'acide sialique: NeuNAc acide N-acétylneuraminique.....	37
Fig. 41. Structure de la vitamine C.	37
Fig. 42. Structure des deux acides glucuronique et galacturonique.	38
Fig. 43. Les différentes possibilités pour lier l' α D-glucopyranose par son -OH hémiacétalique à l' α D-galactopyranose.	39
Fig. 44. Structure du raffinose et du gentianose.	43
Fig. 45. Structure de l'amylose.	44
Fig. 46. Structure de l'amylopectine.	45
Fig. 47. Structure du glycogène.	46
Fig. 48. Structure de la cellulose.	47
Fig. 49. Structure de la chitine.	48
Fig. 50. Structure des alginates.....	49
Fig. 51. Structure des différents types de carrabioses.	50
Fig. 52. Structure des polysaccharides bactériens.	51
Fig. 53. Structure de certains protéoglycannes.	53
Fig. 54. Structure du peptidoglycanne formant la paroi des bactéries.	54
Fig. 55. Classification des lipides.....	56
Fig. 56. Structure d'un acide gras.	57
Fig. 57. Structure et nomenclature d'un acide gras saturé.	58
Fig. 58. Structure et nomenclature d'un acide gras insaturé.	59
Fig. 59. Les configurations cis et trans d'un acide gras.	59
Fig. 60. Les deux nominations possibles d'un acide gras.	60
Fig. 61. Structure de l'acide ricinoléique.....	62
Fig. 62. Structure de l'acide phytanique (A) et des acides mycoliques (B).....	62
Fig. 63. Structure des prostaglandines et leukotriènes.....	63
Fig. 64. Déviation de la chaîne aliphatique par la présence d'une double liaison.	64
Fig. 65. Température de fusion des acides gras saturés.....	64
Fig. 66. Comportement des lipides dans un milieu aqueux.....	65
Fig. 67. Réaction de saponification.	66
Fig. 68. La réaction d'estérification des lipides.	67
Fig. 69. Hydrogénation totale d'un acide gras insaturé.....	68
Fig. 70. Hydrogénation partielle d'un acide gras insaturé avec production d'un AG trans.....	68
Fig. 71. Fixation de l'iode sur une double liaison.	68
Fig. 72. Action du permanganate de potassium sur un acide gras insaturé.	69
Fig. 73. Structure du glycérol.....	70
Fig. 74. Nomenclature des acides gras liés au glycérol dans la structure des glycérides.....	71
Fig. 75. Nomenclature des acides gras dans la structure d'un glycéride.	72
Fig. 76. L'hydrolyse acide d'un triglycéride.....	73
Fig. 77. L'hydrolyse enzymatique d'un triglycéride.....	73
Fig. 78. La saponification d'un triglycéride.	73
Fig. 79. Structure d'un cériide.	74
Fig. 80. (A) le noyau stérane. (B) Structure d'un stéride : le palmitate de cholestéryle.....	75
Fig. 81. Structure générale d'un lipide complexe.	75
Fig. 82. Formation d'un glycérophospholipide par association de l'acide phosphatidique et un alcool.	76
Fig. 83. Structure des différents types de glycérophospholipides azotés.....	77
Fig. 84. Structure des différents types de glycérophospholipides non azotés.....	77
Fig. 85. Action des phospholipases A1, A2, C et D.	78

Fig. 86. Génèse du DAG et de l'IP ₃ à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate par la phospholipase C.....	79
Fig. 87. Structure d'un étherphospholipide : le plasmalogène.	79
Fig. 88. Structure du PAF (Platelet-activating-factor).	80
Fig. 89. Structure de la sphingosine.	80
Fig. 90. Biosynthèse des éicosanoïdes (prostaglandines et leucotriènes): à partir de l'acide arachidonique sous l'action de la phospholipase A ₂	84
Fig. 91. Structure de l'unité isoprène.	85
Fig. 92. Condensation des unités isoprènes : Liaison « tête à queue » ou « tête à tête».....	85
Fig. 93. (A) Rétinol (une des formes majeures de la vitamine A, dérive de la coupure du β- carotène. (B) Structure du β- carotène.	86
Fig. 94. Structure du cholestérol.	81
Fig. 95. Structure générale d'un acide aminé : (a) Structure théorique : n'existe pas en réalité. (b) Forme zwitterionique : présente aux valeurs de pH physiologique.....	89
Fig. 96. La sélénocystéine et certains acides aminés non protéinogènes.....	95
Fig. 97. Les stéréoisomères d'acides aminés.....	96
Fig. 98. Les diastéréoisomères d'acides aminés.....	96
Fig. 99. Spectres d'absorption des aminoacides dans l'ultra-violet.....	97
Fig. 100. Fluorescence du tryptophane (spectres d'émission et d'excitation).	98
Fig. 101. Equation de déprotonation d'un aminoacide.	98
Fig. 102. Equilibre protonique d'un aminoacide neutre.	100
Fig. 103. Courbe de titration d'un acide aminé neutre (la glycine) par la soude.	100
Fig. 104. Etat ionique d'un aminoacide acide en fonction du pH.	101
Fig. 105. Courbe de titration d'un acide aminé acide (l'acide glutamique) par la soude.....	101
Fig. 106. Etat ionique d'un aminoacide basique en fonction du pH.....	102
Fig. 107. Courbe de titration d'un acide aminé basique (l'histidine) par la soude.....	102
Fig. 108. Réaction d'un aminoacide avec une base.	103
Fig. 109. Réaction d'un aminoacide avec un alcool.	103
Fig. 110. Réactions d'amidification d'un aminoacide.	103
Fig. 111. Réactions de réduction d'un aminoacide.	104
Fig. 112. Réactions de désamination d'un aminoacide.	104
Fig. 113. Réactions de transamination d'un aminoacide.	105
Fig. 114. Réaction d'un aldéhyde avec un aminoacide.	105
Fig. 115. La méthylation de la Glycine.	106
Fig. 116. Réaction du chlorure du dinitro-fluoro-benzène avec un aminoacide.....	106
Fig. 117. Réaction de N-acylation.	106
Fig. 118. Réaction avec le chlorure de dansyl.	107
Fig. 119. Réaction du phénylisothiocyanate avec un aminoacide.	107
Fig. 120. Réaction de substitution du α-NH ₂ d'un aminoacide par le formol.	107
Fig. 121. Réaction des aminoacides avec la ninhydrine.....	108
Fig. 122. Iodation de la tyrosine.	109
Fig. 123. Formation d'un pont disulfure.	110
Fig. 124. Réactions impliqués dans la méthode de dosage des acides aminés totaux selon Kjeldahl.....	111
Fig. 125. La technique d'électrophorèse. (a) L'appareil d'électrophorèse horizontale sur papier. (b) Représentation de l'électrophorégramme obtenu. (c) L'appareil d'électrophorèse verticale sur gel.	112
Fig. 126. Dispositif expérimental pour chromatographie ascendante sur papier.....	113
Fig. 127. Matériel pour chromatographie ascendante sur couche mince.....	114

Fig. 128. (a) Les groupements chargés greffés sur une résine synthétique d'une colonne de chromatographie. (b) Dispositif et principe de la chromatographie échangeuse d'ions. (c) Chromatogramme des acides aminés après chromatographie échangeuse d'ion.....	115
Fig. 129. Formation de la liaison peptidique.	116
Fig. 130. Distances et angles d'une liaison peptidique.	117
Fig. 131. Structure du glutathion.	118
Fig. 132. La pénicilline (R dépend de la souche de <i>Penicillium</i>).	120
Fig. 133. Scission de ponts disulfures au β -mercaptoéthanol et substitution par l'iodoacétate.....	121
Fig. 134. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de Sanger.....	123
Fig. 135. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode d'Edman.....	124
Fig. 136. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de chlorure de dansyle.....	125
Fig. 137. Détermination de l'acide aminé C-terminal par réduction (a) et grâce à l'hydrazinolyse (b).	126
Fig. 138. Site de coupure de la chaîne peptidique par le bromure de cyanogène (BrCN)	127
Fig. 139. Méthodes d'hydrolyse spécifiques de la liaison peptidique.....	128
Fig. 140. Structure d'une hélice α droite.	130
Fig. 141. Structure en feuillet plissé β	131
Fig. 142. Les liaisons ou interactions entre chaînes latérales des résidus, impliquées dans la structure tertiaire des protéines.	132
Fig. 143. Les quatre niveaux de structure d'une protéine.	133
Fig. 144. La réaction de transformation d'un substrat en produit catalysée par une enzyme.....	136
Fig. 145. Représentation schématisée d'une enzyme.	137
Fig. 146. Nomenclature des enzymes.....	138
Fig. 147. Détermination de la vitesse initiale d'une réaction.	140
Fig. 148. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale.	140
Fig. 149. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale.	141
Fig. 150. Représentation de Michaelis montrant la vitesse en fonction la concentration du substrat.	143
Fig. 151. Représentation de Lineweaver-Burk.....	145
Fig. 152. Influence de la température sur la vitesse d'une réaction enzymatique.....	146
Fig. 153. Influence du pH sur la vitesse d'une réaction enzymatique.....	146
Fig. 154. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition compétitive.....	147
Fig. 155. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver- Burk (B) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition compétitive.	148
Fig. 156. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition non compétitive.	149
Fig. 157. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver-Burk (B, C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition non compétitive. Km inchangée, Vmax est abaissée.	150
Fig. 158. Schéma réactionnel en cas d'inhibition incompétitive.	151
Fig. 159. Représentation de Michaelis-Menten (B), de Lineweaver-Burk (C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition incompétitive.	151
Fig. 160. Effets de l'iodoacétate sur la papaine.	152
Fig. 161. Effets du <i>di</i> -isopropylfluorophosphate (DIFP) sur l'activité de la trypsine.....	153
Fig. 162. Allure des courbes dans le cas d'une enzyme Michaélienne et allostérique.....	155

Fig. 163. Les deux formes R et T des enzymes allostériques.....	155
Fig. 164. Cinétique $v_i = f([S])$ pour une enzyme allostérique, à effet coopératif du substrat en absence d'effecteur et en présence d'un activateur ou d'un inhibiteur allostérique.....	156
Fig. 165. L'effet de rétrocontrôle négatif.....	156
Fig. 166. La première réaction de la voie de biosynthèse des nucléotides pyrimidiques catalysée par l'aspartate transcarbamylase ATCase.....	157
Fig. 167. Cinétique résultante de l'ATCase en présence de l'ATP, du CTP, et sans effecteur allostérique.....	158

SOMMAIRE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les différents types de liaisons chimiques.....	06
Tableau 2: Les différents types d'isoméries d'oses.	10
Tableau 3: Les diverses objections à la structure linéaire des oses.	15
Tableau 4: Mode de coupure des oses par l'acide périodique HIO ₄ et produits de la réaction libérés.	26
Tableau 5 : Quelques réactions de caractérisation et de dosage colorimétrique des oses issues.....	29
Tableau 6 : Liste de certains oses ayant des fonctions dans l'organisme.....	34
Tableau 7 : Les principaux diholosides.	40
Tableau 8 : Les principaux homopolysaccharides.	43
Tableau 9: Les acides gras saturés et insaturés.....	61
Tableau 10: de l'insaturation sur le point de fusion de certains acides gras.....	64
Tableau 11 : Origine et site d'action des différents types de phospholipases.....	78
Tableau 12 : Principales classes des sphingolipides.	81
Tableau 13 : Principaux effets biologiques des prostanoïdes.	84
Tableau 14: Classification des terpènes.	86
Tableau 15: Les différents types de composés stéroïdes.	87
Tableau 16 : Structure chimique des 20 acides aminés protéinogènes.	91
Tableau 17 : Les acides aminés glucoformateurs et cétoformateurs.	95
Tableau 18 : Constantes caractéristiques des différents acides aminés.....	99
Tableau 19 : Principales amines biogènes.	104
Tableau 20 : Exemples d'exopeptidases avec leurs spécificités.	126
Tableau 21 : Exemples de la classification des enzymes.....	139
Tableau 22 : Valeurs de Km de certaines enzymes.....	144

Liste des abréviations

β -D-ManUA : Acide β -D-mannuronique.
 α -L-GulUA : Acide α -L-gulonique.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
AG : Acide gras.
AMP : Adénosine monophosphate.
ANP : Peptides natriurétiques atriaux.
AS : Activité spécifique.
ASM : Activité spécifique moléculaire.
ATCase : Aspartate transcarbamylase.
ATP : Adénosine triphosphate.
Br₂ : Brome.
BrCN : Bromure de cyanogène.
COX : Cyclooxygénase.
CTP : Cytidine monophosphate.
DAG : Diacyl glycérol.
DNFB : 2, 4-dinitro-fluoro-benzène.
DNP-aa : 2,4- dinitrophényl aminoacide.
DOPA : 3,4-dihydroxyphénylalanine.
DTT : Dithiothréitol.
EC : Enzyme Commission number.
EI : Complexe enzyme inhibiteur.
ES : Complexe enzyme substrat.
Ez : Enzyme.
FAD : Flavine adénine dinucléotide.
FMN : Flavine adénine mononucléotide.
Forme R : Forme relâchée d'enzyme allostérique.
Forme T : Forme tendue d'enzyme allostérique.
GAG : Glycosaminoglycane.
Gal : Galactose.
GalNAc : N-acétylgalactosamine.
Glc Nac : N-acétylglucosamine.
HCN : Acide cyanhydrique.
HIO₄ : Acide périodique.
HPLC : Chromatographie liquide sur colonne de haute pression.
I₂ : Iode.
IAA : Industries agroalimentaires.
K_{cat} : constante catalytique.
K_m : Constante de Michaelis.
K_{mapp} : valeur apparente de K_m.
KOH : Hydroxyde de potassium.
LiBH₄ : Borohydrure de lithium.
LPS : Lipopolysaccharides.
MAG : Monoacyl glycerol.
Mur : Acide muramique.
MurNAc : Acide N-acétyl muramique.
NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide.
NADP⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
NaOH : Hydroxyde de sodium.
Neu5Ac ou NANA : Acide N-acétylneuraminique.
NTCB : 2 –nitro-5-thiocyanobenzoate.

PCR : Réaction de polymérisation en chaines.
PFK1 : phosphofructokinase-1.
PGE : Prostaglandines E.
PGF₂ : Prostaglandines F₂.
PGI₂ : Prostaglandines I₂.
pHi : pH isoélectrique.
pI : point isoélectrique.
PITC : Phénylisothiocyanate.
PLA₂ : Phospholipase A₂.
PTH aa : Phénylhydantoine d'acide aminé.
R_f : Rapport frontal.
sn : Numérotation spécifique ou *stereospecifically numbered*.
SO₂ : Dioxyde de soufre.
TAG : Triacyl glycerol.
TXA₂ : Thromboxanes A₂.
UI : Unité internationale.
UMP : Uridine monophosphate.
UTP : Uridine triphosphate.
UV : lumière Ultraviolet.
Vi : vitesse initiale.
Vit. D : Vitamine D.
V_{max} : Vitesse maximale.
XTP : Nucléotides triphosphates.

INTRODUCTION A L'ETUDE DE LA BIOCHIMIE

La **biochimie** est la discipline scientifique qui étudie les réactions chimiques du vivant au sein des cellules. Elle se divise en deux groupes : la biochimie statique (étudie la composition et les propriétés physico-chimiques) et la biochimie dynamique (étudie les transformations et les réactions chimiques).

Le terme a été créé en 1903 par Carl Neuberg d'après la racine grecque *Βιοχημεία* (biochēmeia). Les principales catégories de molécules étudiées en biochimie sont les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Ces molécules sont constituées principalement de carbone, d'oxygène et d'azote. Ces classes de molécules représentent les éléments fondamentaux de l'édification et du fonctionnement de la cellule.

L'étude de la structure de ces molécules, de leurs propriétés, du mode d'enchaînement et des propriétés des molécules constitutives est le domaine de la **biochimie structurale**.

La **biochimie métabolique** s'intéresse à l'étude des voies de formation ou de synthèse (anabolisme) et de dégradation (catabolisme) des macromolécules dans la cellule vivante.

CHAPITRE I

Les liaisons chimiques

Les atomes ont tendance à acquérir la structure électronique la plus stable qui est celle du gaz rare le plus proche dans la classification périodique. Pour acquérir cette structure électronique, les atomes peuvent soit gagner ou perdre des électrons pour former des ions ou former des liaisons chimiques par la mise en commun d'une ou plusieurs paires d'électrons, qui sont appelées doublets de liaisons, on les représente par un tiret entre les deux atomes.

I. 1. Liaisons chimiques

La liaison chimique est une interaction attractive entre des atomes, à une distance permettant la stabilisation du système et la formation d'un agrégat ou d'une nouvelle entité chimique. Cette liaison est très forte. Pour être brisées, les liaisons chimiques fortes nécessitent le recours à des énergies de quelques centaines de kilojoules par mole (un traitement thermique ou chimique, grâce à des enzymes par exemple).

Les liaisons sont classées en deux catégories : Liaison de forte énergie et liaison de faible énergie. Les liaisons (covalente, coordination, métallique et ionique) sont de fortes énergies. Les liaisons (Van der Waals, hydrogène, hydrophobe etc..) sont de faibles énergies.

I. 1. 1. Liaison covalente

Les électrons de la couche externe d'un atome sont appelés électrons de valence. Une liaison covalente entre deux atomes A et B non métalliques voisins résulte de la mise en commun de ces électrons. Cette liaison peut être non polarisée, si les atomes ont pratiquement la même électronégativité, ou polarisée si la différence entre leurs électronégativités reste inférieure à 1,7 (valeur conventionnelle). Au-delà de cette valeur, l'interaction est dite ionique. Une liaison covalente (polarisée ou non) peut être simple (Fig. 1), double ou triple. Pour simplifier la représentation des molécules, on représente la liaison covalente par un simple trait (qui est double pour une double liaison).

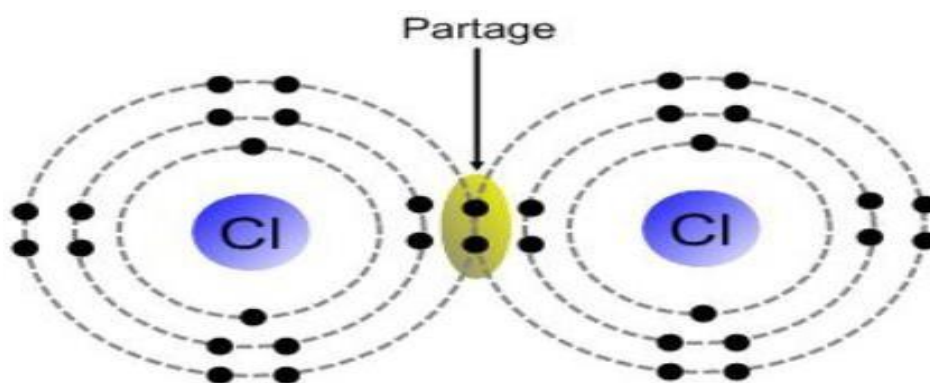


Fig. 1. Exemple de liaison covalente Cl₂.

La formation de liaisons covalentes aboutit à une occupation de la couche externe comparable à celle du gaz rare le plus proche dans la même période. Le nombre correspondant d'électrons est égal à 2 pour l'hydrogène qui adopte donc la configuration électronique de l'hélium. Tous les autres gaz rares présentent 8 électrons sur leur couche externe; les éléments ont tendance à peupler leur couche externe avec 8 électrons (**règle de l'octet**), ce qui se vérifie avec le carbone, l'azote et l'oxygène. Les éléments constitutifs des molécules biologiques courantes peuvent contracter de 1 à 6 liaisons covalentes.

I. 1. 2. Liaison de coordination ou liaison dative ou donneur-accepteur

C'est la mise en commun de deux électrons entre deux atomes A et B. Un des atomes fournit les deux électrons.

I. 1. 3. Liaison métallique

C'est la mise en commun dans le métal de tous les électrons de valence. On obtient alors une bande de conduction. C'est la raison pour laquelle, un métal est capable de transporter de l'énergie électrique.

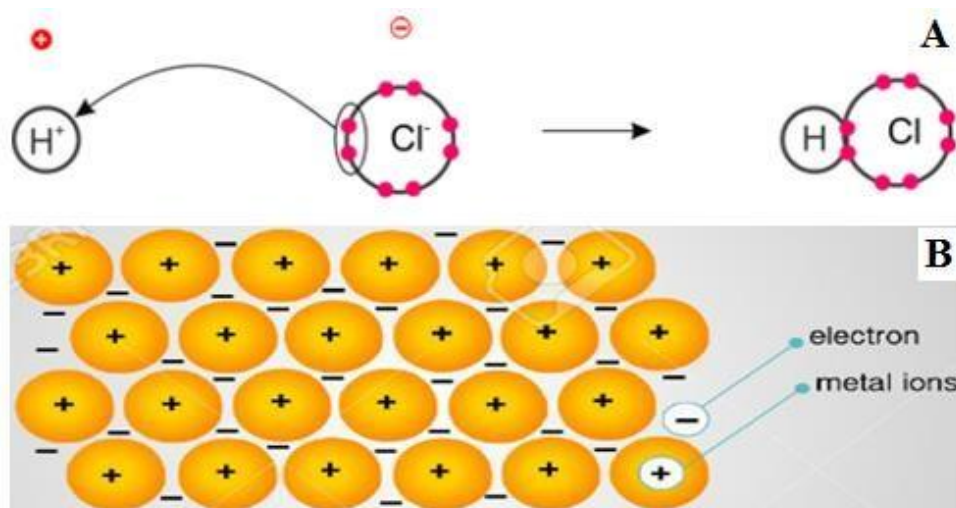


Fig. 2. Exemple de liaison de coordination HCl (A), la liaison métallique (B).

I. 1. 4. Liaison ionique

Certains atomes ne mettent pas en commun une paire d'é, comme dans la liaison covalente, mais perdent ou gagnent un ou plusieurs é pour compléter leur couche électronique de valence. Du coup, la somme des protons n'est plus égale à la somme des électrons. L'atome présente alors une charge électrique nette. C'est un ion.

En perdant un ou plusieurs é, il devient **un cation** (atome ou groupement d'atome chargé positivement), En gagnant un ou plusieurs é, il devient **un anion** (atome ou groupement d'atome chargé négativement). Selon le principe élémentaire d'électricité, les charges de signe opposé s'attirent alors que celles de signe identique se repoussent. Ainsi, un

cation pourra s'associer à un anion par une liaison dite ionique. C'est le cas du chlorure de sodium (NaCl), c'est-à-dire le sel de cuisine (Fig. 2).

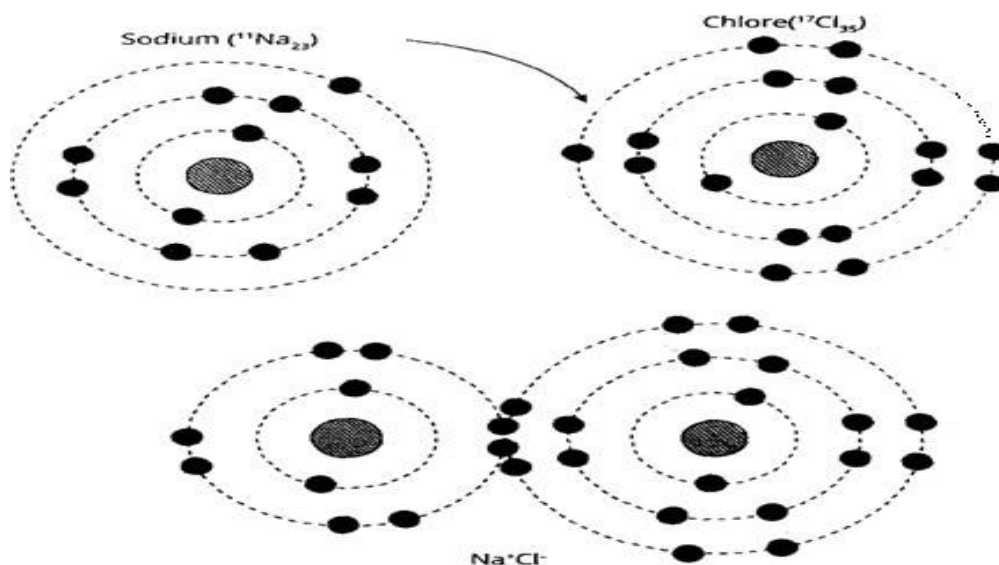


Fig. 3. Formation d'une liaison ionique entre le sodium et le chlore.

Quand l'ion porte une charge unique (Na⁺, Cl⁻ il est dit monovalent). S'il en porte deux (Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, Cu²⁺), il est dit divalent.

I. 1. 5. Liaison hydrogène

Cette interaction se rencontre lorsqu'un atome d'hydrogène, lié par covalence à un atome électronégatif (D pour « donneur »), se trouve à proximité d'un second atome électronégatif (A pour « accepteur »). En raison de son électronégativité, l'atome donneur (le plus souvent O ou N) attire les électrons de la liaison covalente et porte une charge négative partielle (d⁻), compensée par une charge positive partielle au niveau de l'hydrogène (d⁺) : on dit que cette liaison est polarisée.

I.1. 6. Forces de Van der Waals

Les liaisons de Van der Waals doivent leur nom au physicien théoricien néerlandais Johannes Diderik Van der Waals (1837-1923). Il s'agit d'une liaison de type intermoléculaire qui s'exerce entre les molécules d'une substance (contrairement aux liaisons de covalence qui sont des liaisons intramoléculaires car elles s'établissent entre les atomes d'une même molécule). Cette liaison est plus précisément une interaction électrique de faible intensité qui s'exerce entre les molécules présentant un moment dipolaires. Par définition ces molécules sont globalement neutres mais présentent un pôle positif (centre des charges partielles positives localisées sur les atomes les moins électronégatifs) et un pôle négatif (centre des charges partielles négatives). Il s'exerce une force électrique globalement attractive entre les

pôles de signes opposés des différentes molécules. Les forces de Van der Waals sont de trois types :

- **Des interactions dipôle permanent - dipôle permanent** : Il existe des forces électrostatiques entre deux molécules polaires. Le pôle + d'une molécule attire le pôle - d'une molécule voisine. Ces interactions participent à la cohésion des systèmes (Fig. 4A).
- **Des interactions dipôle permanent – dipôle induit** : Ce type d'interaction peut également exister entre une molécule polaire et une molécule non polaire. La molécule polaire crée un champ électromagnétique autour d'elle. Le pôle + de la molécule polaire attire les charges négatives de la molécule non polaire (voisine) de son côté (Fig. 4B).

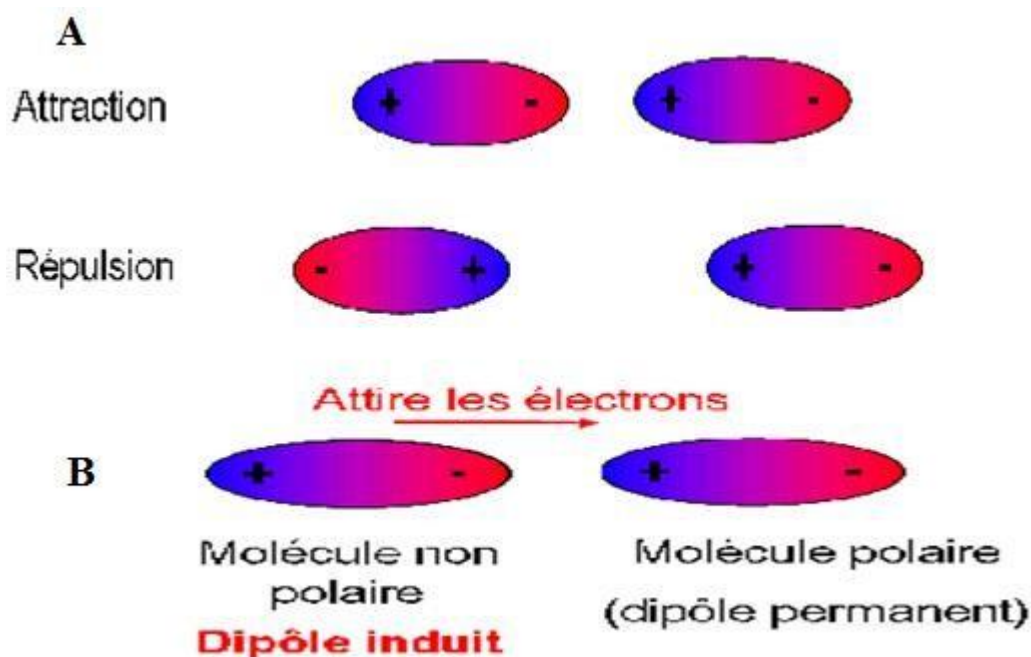


Fig. 4. Interactions de 2 dipôles permanents (A) et dipôle induit – dipôle permanent (B).

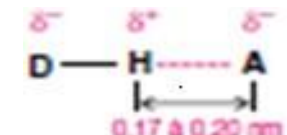
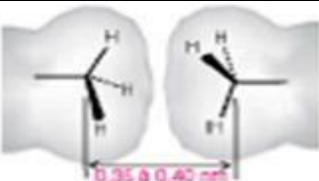
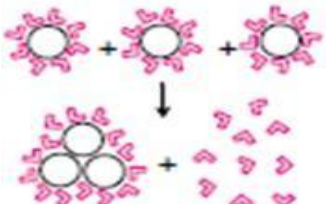
Des interactions dipôle instantané - dipôle instantané : Dans les atomes et les molécules neutres et non polaires, les électrons « se déplacent », créant ainsi des dipôles instantanés. Des interactions peuvent exister entre ces dipôles et participer à la cohésion de la molécule.

I. 1. 7. Interaction hydrophobe

Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Il s'agit d'interactions entre molécules ou groupements qui ont très peu d'affinité pour le solvant dans lequel elles sont dissoutes (eau). Les groupements vont se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'eau.

En effet, en agitant bien fort une vinaigrette, au repos, l'huile se sépare progressivement du vinaigre : ce phénomène de séparation de phase est la conséquence de l'interaction hydrophobe qui se manifeste à l'échelle moléculaire. L'agitation disperse les groupes apolaires (tableau 1) dans un milieu polaire dans lequel ils ne sont pas solubles (exemple : de l'eau) : les molécules d'eau s'organisent (liaisons H) autour des groupes apolaires. Cette situation évolue spontanément vers un état plus stable, où les molécules apolaires se rassemblent (liaisons de van der Waals) et, petit à petit, forment une phase distincte. Dans le même temps, des molécules d'eau initialement figées autour des groupes apolaires se trouvent libérées dans le milieu.

Tableau 1 : Les différents types de liaisons.

Interaction	Exemples	Δ, G° (kJ.mol ⁻¹)	Intervention
Liaison H		-10 à -40	Acides nucléiques (appariement des bases) Protéines (structures secondaires)
Force de van der Waals		-4	Membranes biologiques Repliement des protéines ADN (empilement des paires de bases)
Liaison ionique		-40	Protéines (ponts salins)
Interaction hydrophobe		-4 à -13	Protéines (stabilisation du repliement) Membranes biologiques

CHAPITRE II

Glucides. Structure et propriétés physicochimiques

II. 1. Définition

Les glucides (du latin *glucis* : « doux ») anciennement appelés hydrates de carbone à cause de leur formule générique de base $C_n(H_2O)_n$, sont des molécules organiques caractérisées par la présence de chaînons carbonés porteurs de groupements hydroxyles, de fonctions aldéhydes ou cétoniques, et éventuellement de fonctions carboxyle ou amine.

Ces molécules jouent au sein des êtres vivants des rôles très divers. Chez les animaux et les plantes, des polymères glucidiques (glycogène, amidon) servent de réserve énergétique. D'autres polymères (cellulose, chitine...) sont aussi trouvés dans les parois cellulaires (rôle de Protection). Des dérivés de glucides se retrouvent dans un grand nombre de molécules biologiques comme les acides nucléiques, ADN et ARN.

II. 2. Classification : Sur le plan structural, les glucides peuvent être divisés en oses et osides (Fig. 5).

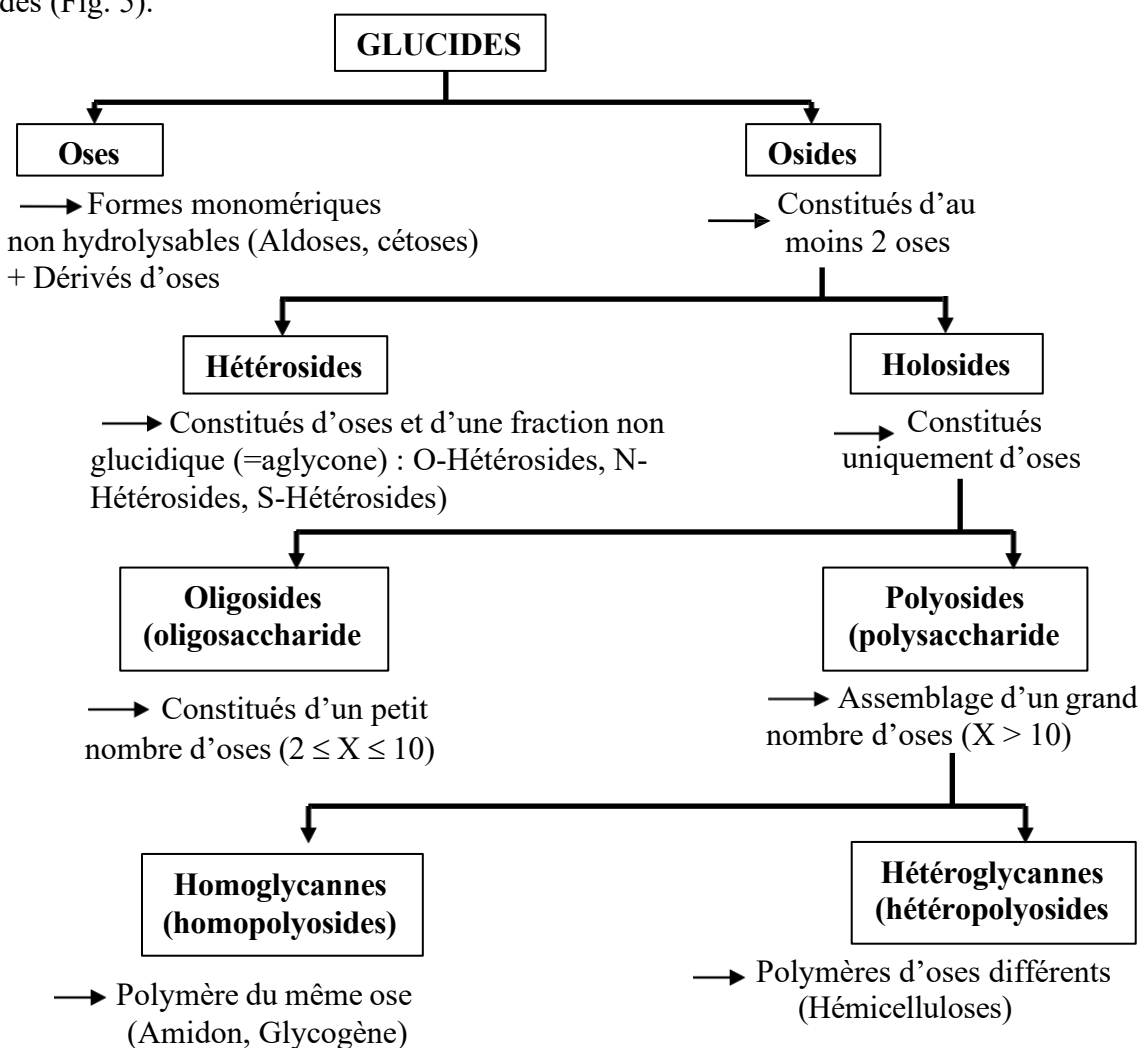


Fig. 5. Classification des glucides.

Sur le plan physiologique, les glucides peuvent également être classés selon leur digestibilité (sur le fait qu'ils soient assimilables ou pas) en deux catégories :

- **Les glucides assimilables** (digestibles par nos propres enzymes) : ce sont les disaccharides (maltose, isomaltose, saccharose, lactose) et certains polyholosides (amidon, glycogène).

- **Les glucides non assimilables** (non digestibles par nos propres enzymes) : souvent regroupés sous le terme de fibres alimentaires. Ce sont la cellulose, les hémicelluloses, la pectine...

II. 3. Oses (sucre simples ou monosaccharides)

Les oses peuvent être divisés en deux catégories : les oses simples et les dérivés d'oses (osamines, acides uroniques, acide sialique).

II. 3. 1. Structure linéaire

Les oses simples (monosaccharides) constituent l'unité structurale des glucides. Ils présentent une chaîne carbonée non ramifiée, avec des liaisons simples entre les atomes de carbone, une fonction aldéhyde en C₁ (**aldoses**) ou cétone en C₂ (**cétooses**) et une fonction alcool sur chacun des autres carbones. On les nomme également trioses, tétroses, pentoses, hexoses, etc., en fonction du nombre de carbones (respectivement 3, 4, 5 et 6). La qualification d'un ose combine les deux préfixes : aldopentose, cétohexose, etc.

II. 3. 2. Représentation en projection de Fisher

Les oses les plus simples sont constitués de trois atomes de carbone (trioses). Il en existe deux qui sont des isomères de fonction : le glycéraldéhyde et le dihydroxyacétone (Fig. 6). Les atomes de carbone d'un ose sont numérotés à partir du carbone le plus oxydé.

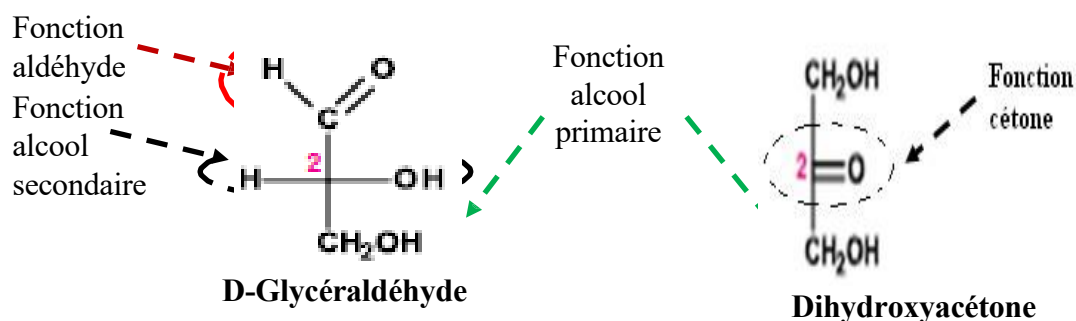


Fig. 6. Structure du glycéraldéhyde et du dihydroxyacétone.

Pour les oses comportant une plus longue chaîne carbonée et donc un plus grand nombre de carbones asymétriques, l'usage a consacré la représentation de Fisher. Selon cette représentation, la plus longue chaîne carbonée est alignée verticalement et emplaçant en haut le carbone terminal le plus oxydé (porteur de la fonction carbonyle) et les substituants non carbonés à l'horizontale. Le carbone asymétrique est placé dans le plan de projection (Fig. 7). La configuration de l'avant dernier carbone (C_{n-1}) définit l'appartenance de l'ose à la série D ou L. L'ose appartient à la **série D** de Fischer si sur le C^* ($n-1$) le OH est à droite et il appartient à la **série L** si sur le C^* ($n-1$) le OH est à gauche. Les oses naturels appartiennent presque tous à la série D (La série L se rencontre rarement, chez certains végétaux et micro-organismes).

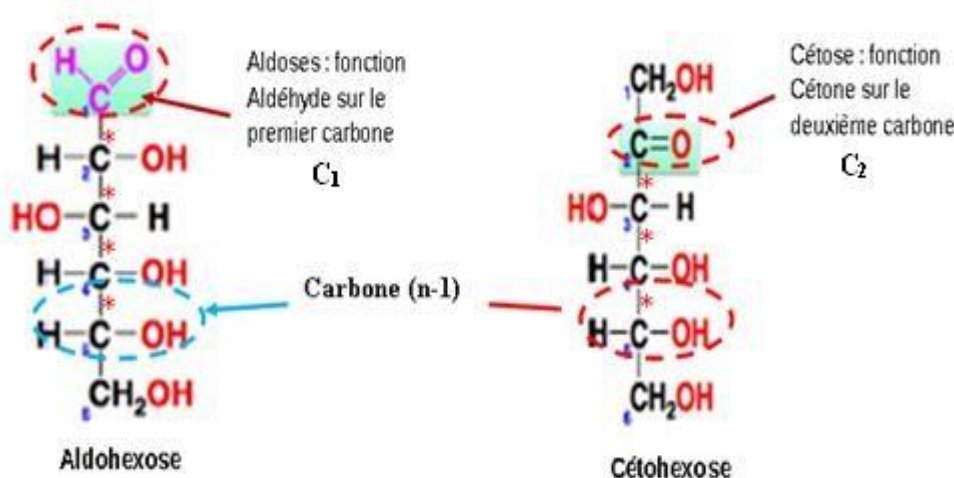


Fig. 7. Représentation des oses en projection de Fisher.

II. 3. 3. Stéréoisomérie et chiralité

II. 3. 3. 1. Stéréoisomérie (isomérisie de configuration)

Ce terme désigne les isomères de disposition dans l'espace, c'est-à-dire les molécules de constitution identique (elles ont la même formule semi-développée) mais dont l'organisation spatiale des atomes est différente.

Une molécule est dite **chirale** si et seulement si elle n'est pas superposable à son image dans un miroir. C'est une molécule possédant un seul centre asymétrique (atome « A » lié à 4 substituants tous différents), noté A^* .

Dans la molécule de glycéraldéhyde (Fig. 8), le carbone C_2 portant quatre substituants différents est dit **asymétrique** (souvent noté C^*). Seule la dihydroxyacétone ne possède pas de carbone asymétrique.

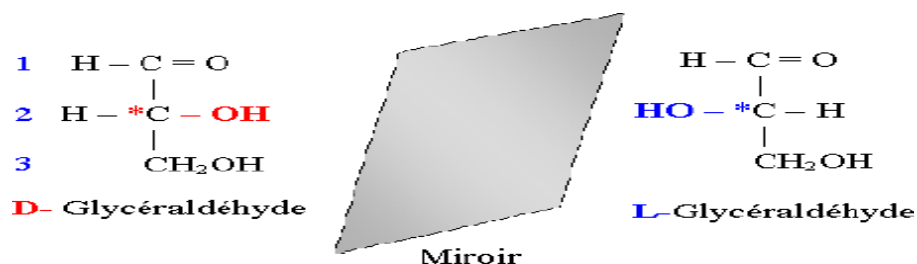


Fig. 8. Les énantiomères du glycéraldéhyde.

II. 3. 3. 2. Formes d'isomérisation

a. Enantiomérisation : Les énantiomères sont des isomères non superposables qui diffèrent par la configuration absolue de tous leurs carbones asymétriques et sont images l'un de l'autre dans un miroir. C'est le cas par exemple du D et du L glucose (tableau 2). Les propriétés chimiques et physiques des énantiomères sont en général identiques à l'exception du pouvoir rotatoire.

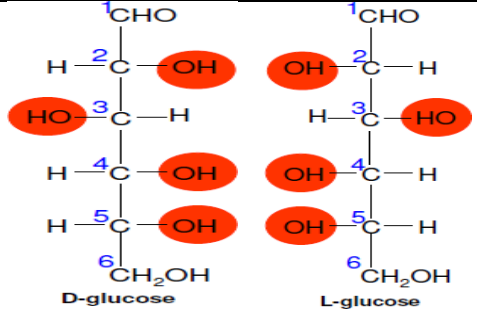
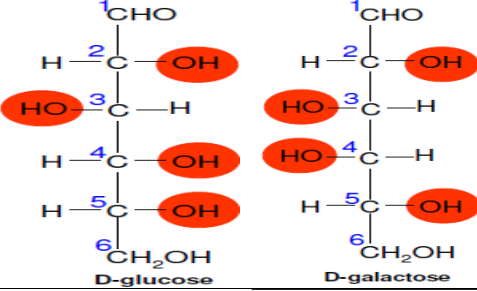
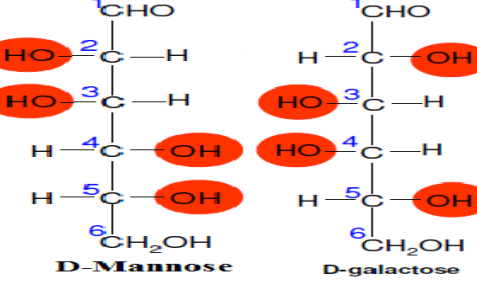
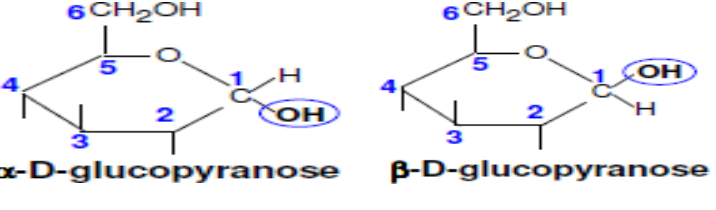
b. Epimérisation : Deux oses qui diffèrent par la configuration d'un seul C asymétrique sont des épimères. En effet, le D-galactose et le D-glucose sont des épimères en position 4 (tableau 2).

c. Diastéréoisomérisation : deux isomères sont dits diastérisomères si la différence porte sur un nombre de C* compris entre 1 et leur nombre total n de C*. Exemple : le mannose et le galactose (Tableau 2) sont diastéréoisomères car ils diffèrent par les configurations de 2 sur 4 de leurs C*.

De façon générale pour **n** carbones asymétriques, nous aurons **2ⁿ** stéréoisomères. Pour les aldoses à **n** atomes de carbone on a **(n-2)** C* et donc **2⁽ⁿ⁻²⁾** stéréoisomères. Pour les cétones à **n** atomes de carbone on a **(n-3)** C* et donc **2⁽ⁿ⁻³⁾** stéréoisomères.

Tableau 2: Les différents types d'isomérisation d'oses.

Isomérisation	Exemple
Stéréoisomères : Composés ayant des formules chimiques identiques, mais des structures dans l'espace différentes.	D-glucose D-galactose D-Mannose D-Fructose
Isomères de fonction : Même formule chimique avec des fonctions différentes (aldéhyde/cétone)	D-glucose D-Fructose

Enantiomères : 2 stéréo-isomères image l'un de l'autre dans un miroir et non superposables.	 D-glucose L-glucose
Epimères : Même formule chimique mais différent par la configuration d'un seul C asymétrique.	 D-glucose D-galactose
Diastéréoisomères : Même formule chimique mais la différence porte sur un nombre de C* inférieur au nombre total des C* et supérieur à un C*.	 D-Mannose D-galactose
Anomères : Même formule chimique mais différent par la position dans l'espace du OH du C anomérique.	 α-D-glucopyranose β-D-glucopyranose

II. 3. 4. Filiation des oses

La filiation des oses est établie en rajoutant des atomes de carbone à la chaîne carbonée des deux trioses précurseurs d'oses (le glycéraldéhyde et la dihydroxyacétone). On obtient différents oses avec des fonctions alcools secondaires de positions différentes.

II. 3. 4. 1. Synthèse cyanhydrique de KILIANI-FISCHER

C'est une succession de plusieurs réactions chimiques d'addition. Elle consiste à rajouter à la chaîne carbonée d'un aldose (n carbones) un atome de carbone asymétrique porteur d'une fonction alcool lui permettant de passer à son homologue supérieur (n+1) (Fig. 9).

Cette synthèse passe par les étapes suivantes (Fig. 9) : L'aldose à (n carbones) réagit avec l'acide cyanhydrique (HCN) grâce à sa fonction aldéhyde conduisant à la formation de deux molécules de cyanhydrines épimères. En présence d'eau, la molécule de cyanhydrine adopte

une fonction carboxyle et elle se transforme en acide aldonique. L'acide aldonique subit une réduction par le borohydrure de lithium (LiBH_4) ou l'amalgame de Na, qui transforme la fonction carboxyle en une fonction aldéhyde et ainsi, on obtient un aldose à (n+1) carbone.

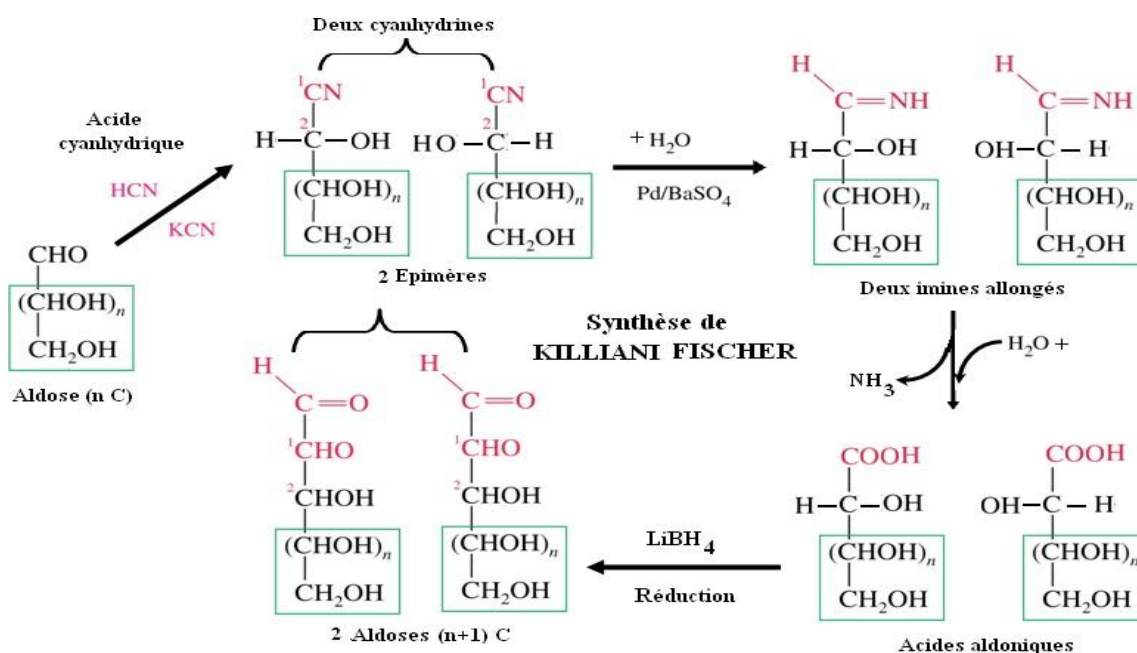


Fig. 9. Voie de synthèse de KILLIANI-FISCHER.

II. 3. 4. 2. Dégradation de WOHL-ZEMPLÉN

Il existe à l'inverse de la méthode synthèse cyanhydrique, une méthode de dégradation appelée dégradation de WOHL qui permet d'obtenir à partir d'un ose, son homologue inférieur (à 1C de moins). On passe d'un ose à n atomes de C à un ose à (n-1) atomes de C. Le réactif utilisé est l'hydroxylamine (NH_2OH) (Fig. 10).

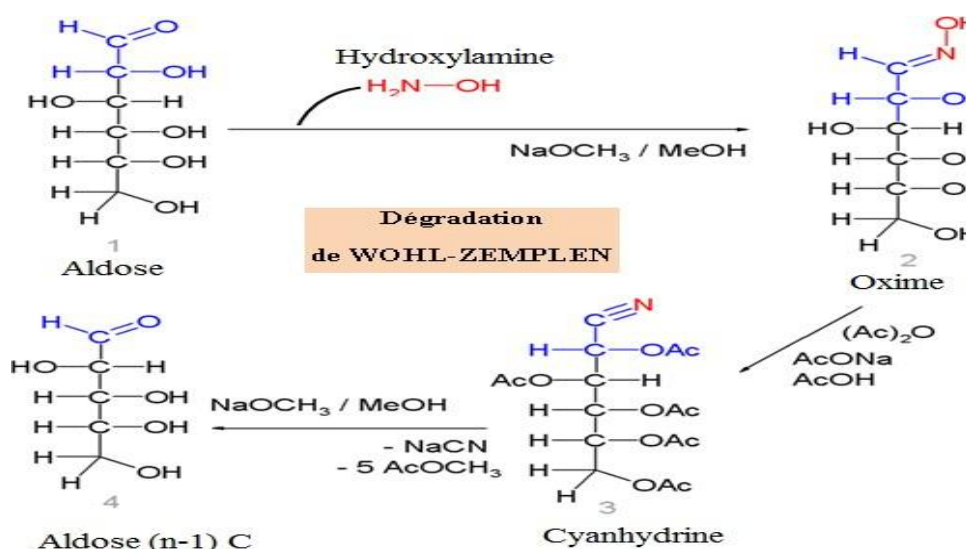


Fig. 10. Voie de dégradation de WOHL-ZEMPLÉN.

Le principe est le suivant (Fig. 10) : Dans la première étape, le D-glucose (1) est converti en oxime de glucose, (2) par réaction avec l'hydroxylamine et le méthanolate de sodium. Dans une deuxième étape, l'oxime est mise à réagir avec l'anhydride acétique dans l'acétate de sodium avec chauffage. Cela produit une acétylation de tous les groupes alcools (estérification) ainsi que du groupe oxime (3), produisant un composé instable. Finalement, l'acétate d'oxime se convertit en un nitrile, le glycononitrile de penta acétyle (4).

II. 3. 4. 3. Filiation des aldoses et des cétooses

Les figures 11 et 12 présentent respectivement les D-aldoses et les D-cétooses et indiquent leurs relations stéréochimiques. On passe du D-glycéraldéhyde ou de la dihydroxyacétone aux tétroses puis aux pentoses et enfin aux hexoses en additionnant, à chaque étape, juste en dessous de l'atome de carbone du groupe carbonyle, un atome de carbone tétraédrique porteur d'un groupe hydroxyle et d'un atome d'hydrogène. Ce carbone est donc un nouveau centre de chiralité, avec deux orientations relatives possibles des substituants, ce qui crée un nouveau couple de stéréoisomères.

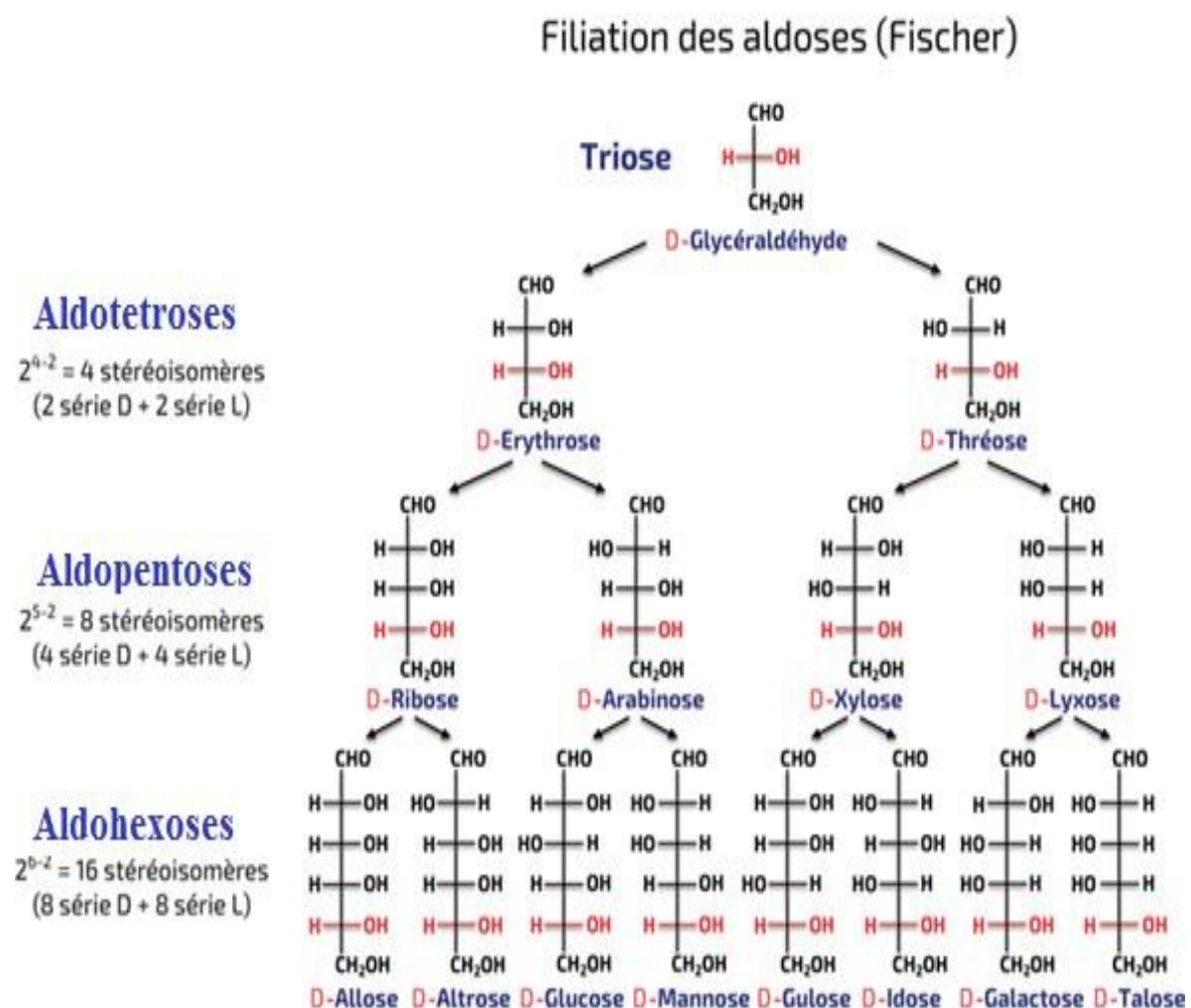


Fig. 11. Structure et stéréochimie des D-aldoses

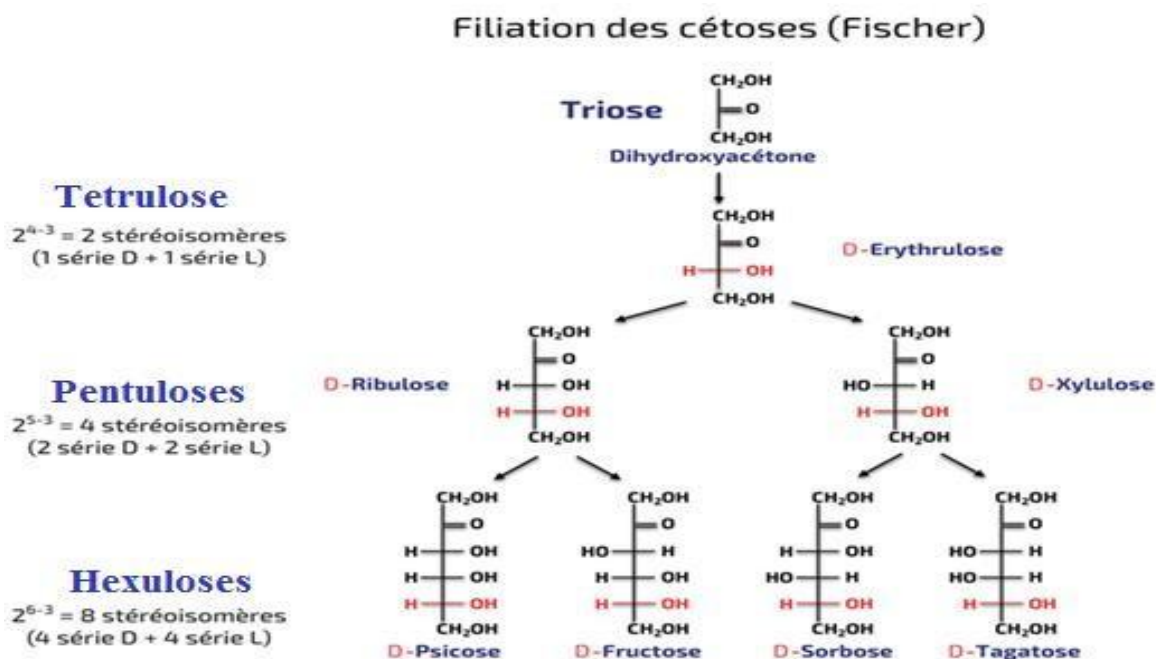


Fig. 12. Structure et stéréochimie des D-cétooses.

II. 3. 5. Objections à la forme linéaire

La structure des oses a été décrite sous forme d'une chaîne carbonée linéaire mais cette représentation n'est pas satisfaisante car elle ne permet pas d'expliquer un certain nombre d'observations (Tableau 3).

II. 3. 5. 1. Structures cycliques, anomérie et conformations

II. 3. 5. 1. 1. Structure cyclique des oses

Pour interpréter les anomalies décrites dans le paragraphe précédent, Tollens a émis en 1883 une hypothèse pour les expliquer et arriver à une représentation cyclique des oses : un pont osidique s'établit par formation d'une liaison *hémiacétalique interne* entre le C₁ (fonction aldéhyde) et une des fonctions alcool du même ose, formant ainsi un cycle et créant un nouveau C* (Fig. 13).

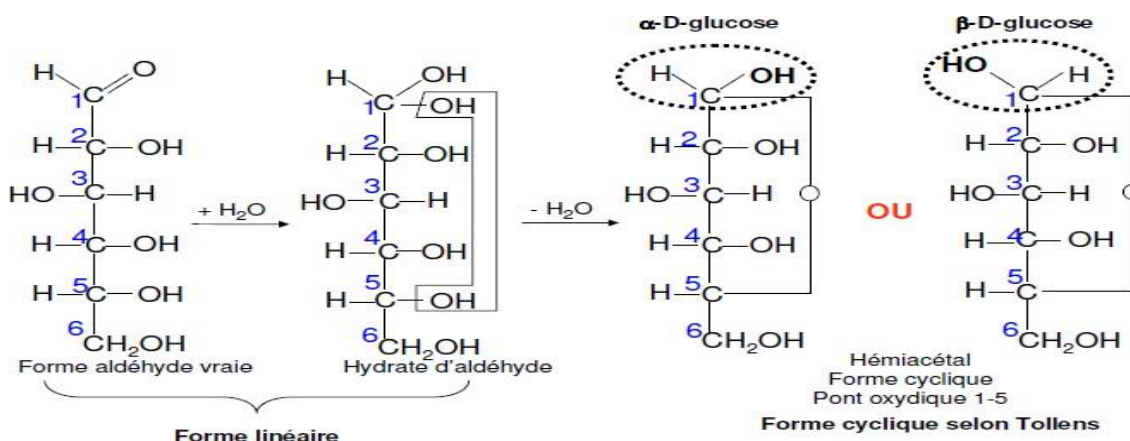
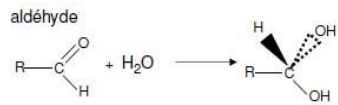
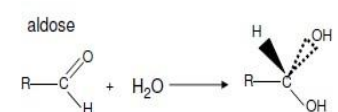
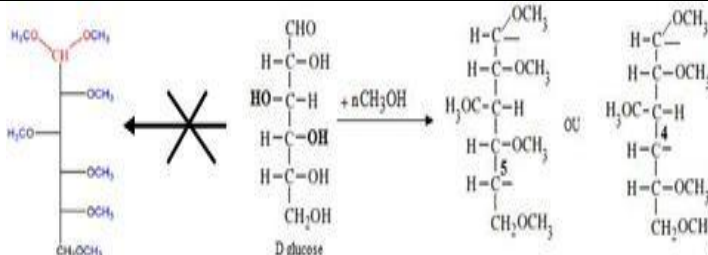
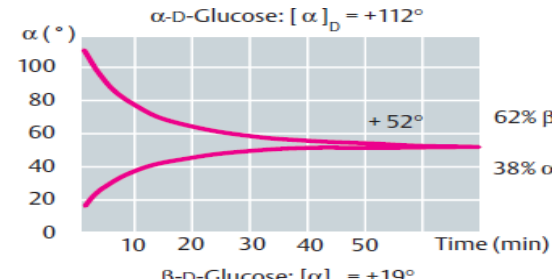


Fig. 13. Passage du D-glucose selon TOLLENS de la forme linéaire à la forme glucopyranose (isomères α et β).

Tableau 3: Les diverses objections à la structure linéaire des oses.

Objections à la forme linéaire	Remarques expérimentales et explications
1- Les aldéhydes et des cétones se colorent avec la fuchsine décolorée par le réactif de Schiff (Fuchsine décolorée par le SO₂) en donnant un produit de couleur rouge.	 + Fuchsine décolorée par le SO₂ → Produit de couleur rouge Ose (N≥4) + Fuchsine décolorée par le SO₂ → Les oses ne se colorent pas.
2- Les aldéhydes et les cétones sous forme hydratée, réagissent avec deux molécules d'alcool pour donner des acétals alors que les oses se combinent seulement avec une seule molécule d'alcool pour donner un Hémiacétal.	L'objection à l'obtention d'un acétal indique que la fonction aldéhyde serait donc indisponible pour ces réactions et donc l'existence d'un nouveau C* au niveau du carbonyle.  
3- En tenant compte de la structure linéaire des oses, un aldohexose (ex : Glucose n=6) hydraté peut fixer théoriquement 7 groupements méthyles -CH₃ (n+1 méthyles) et former une molécule heptaméthylée.	Expérimentalement, les molécules d'aldohexoses hydratées ne peuvent se fixer qu'avec 5 groupements méthyles (n-1 méthyles) et former une molécule pentaméthylée. 
4- Le pouvoir rotatoire est une constante caractéristique d'une substance.	Le pouvoir rotatoire d'une solution fraîchement préparée de glucose change lorsqu'on l'observe au polarimètre (phénomène de mutarotation). Ce changement traduit une modification de structure. 

II. 3. 5. 1. 2. Projection de HAWORTH

La représentation en perspective de Haworth facilite la représentation des diverses formes cycliques. Le cycle est perpendiculaire au plan de la feuille, ses liaisons en avant sont épaissies. Le carbone le plus oxydé est positionné à l'extrémité droite. La position des groupements hydroxyle est fonction de leur position dans la représentation de Fisher. Les H et OH se trouvant à **droite** dans la représentation de Fisher se retrouveront **au-dessous** du plan du cycle et les groupements OH qui se trouvent à **gauche** sont au dessus du plan du cycle dans la représentation de Haworth.

Cette cyclisation rend le carbone C₁ asymétrique. Les positions relatives dans l'espace des 4 substituants définissent 2 configurations de stéréoisomères, les **anomères** α et β . Le carbone C₁ est désigné sous le nom de **carbone anomérique**. Pour l'anomère α : le nouveau groupe (-OH) du carbone anomérique et le carbone 6 sont en configuration **Trans** (se projette de part et d'autre du plan du cycle dans la projection de Haworth). Dans le cas de l'anomère β : le nouveau groupe (-OH) du carbone anomérique et le carbone 6 sont en configuration **Cis** (se projettent du même côté du plan).

a. Mécanisme de cyclisation

La réactivité du carbonyle est suffisante pour que, mis à proximité d'un hydroxyle, la réaction aldéhyde/alcool se produise. Le début de la cyclisation commence par une rotation de 90° de l'hydroxyle porté par le carbone 5 (au-dessous du cycle) autour de la liaison entre le carbone 4 et le carbone 5, par conséquent, le carbone 6 subit une rotation équivalente et se retrouve au-dessus du cycle. Cette rotation permet un rapprochement entre l'hydroxyle du carbone 5 et le groupement aldéhyde du carbone 1, ce qui conduit à la formation d'un pont oxydique (Fig. 14, 15).

Pour un aldose, cette hémi-acétalisation intra-moléculaire peut avoir lieu avec les paires de carbone C₅-C₁ ou C₄-C₁ pour former un hétérocycle mono-oxygéné qualifié de **pyrane** à 6 atomes (5 carbones et 1 oxygène) ou **furane** à 5 atomes (4 carbones et 1 oxygène) (Fig. 14). Seuls les oses à 5 ou 6 carbones donnent des formes cycliques stables. Les tétroses existent en solution sous la forme ouverte.

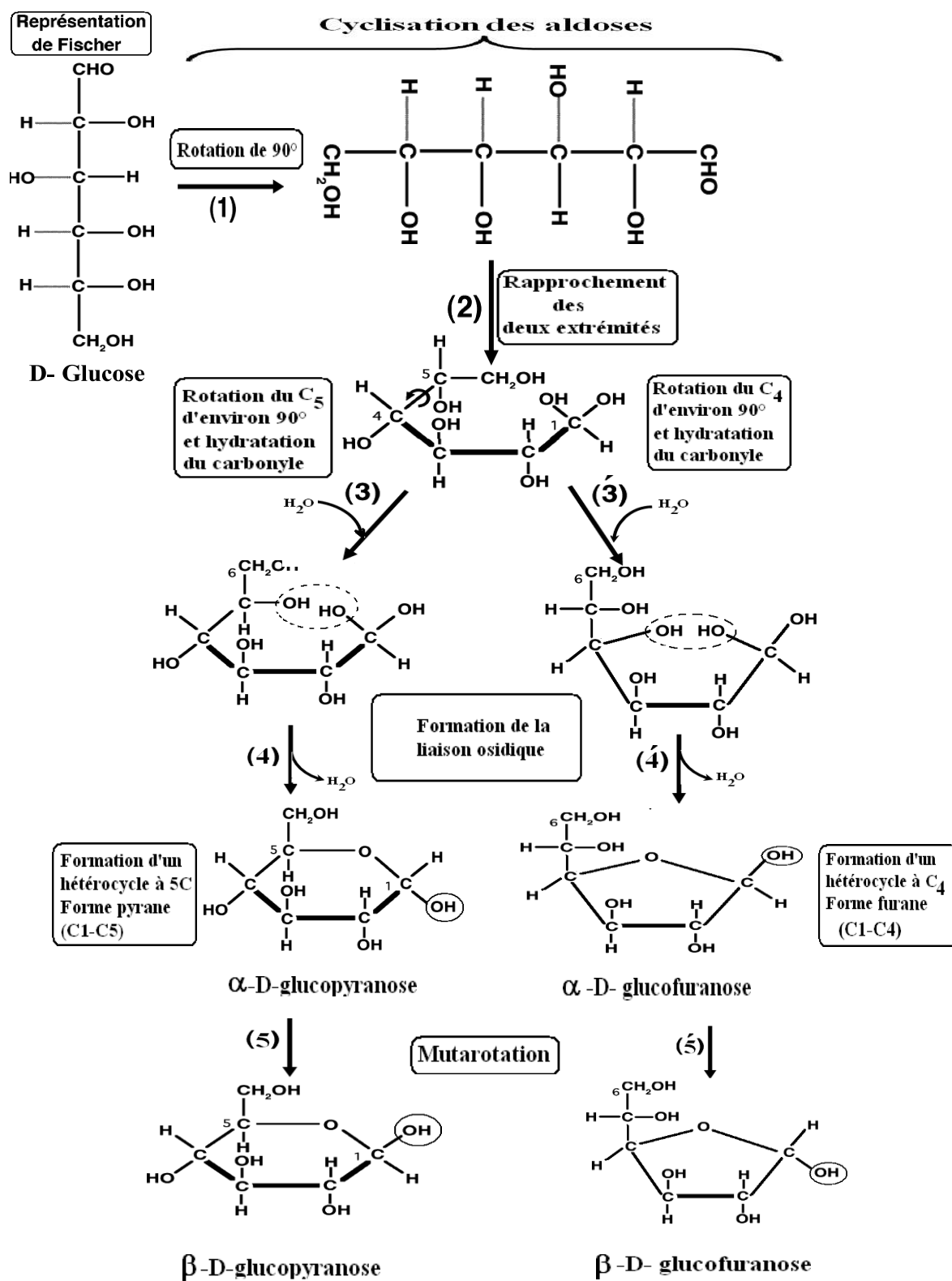


Fig. 14. Cyclisation des aldoses.

Dans le cas des cétooses, le carbone **C2** est le carbone anomérique. L'hemi-acétalisation intra-moléculaire peut avoir lieu avec la paire de carbone **C2-C6** pour former un hétérocycle à 6 sommets ou avec la paire de carbone **C2-C5** pour former un hétérocycle à 5 sommets (Fig. 15).

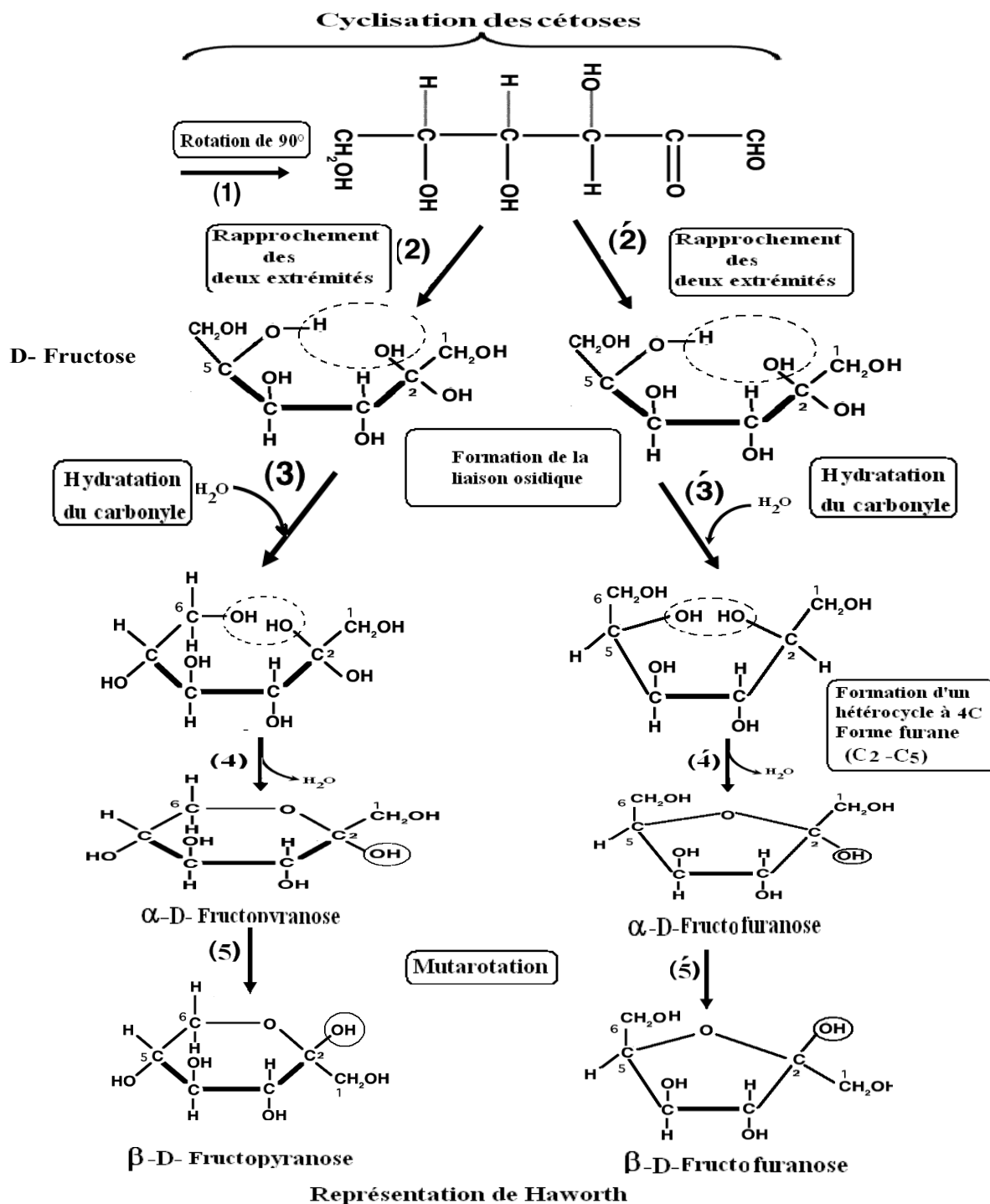


Fig. 15. Cyclisation des cétooses.

Pour un aldohexose, c'est la configuration du C₅ qui détermine la série **D** ou **L** dans la représentation de Fisher. Donc, dans la représentation de Haworth, l'obtention de l'énantiomère d'un ose cyclique (Fig. 16) peut être réalisée par à un miroir horizontal ou vertical. L'énantiomère obtenu diffère dans la série (D ou L) mais pas dans l'anométrie (α ou β). La forme L obtenue après utilisation d'un miroir vertical est caractérisée par une rotation verticale de 180° des liaisons chimiques en gardant la position des groupements hydroxyles (OH) et (CH₂OH). La forme L obtenue avec un miroir horizontal change la position des groupements hydroxyles (OH) et (CH₂OH) et garde la même position des atomes formant le cycle de la forme D.

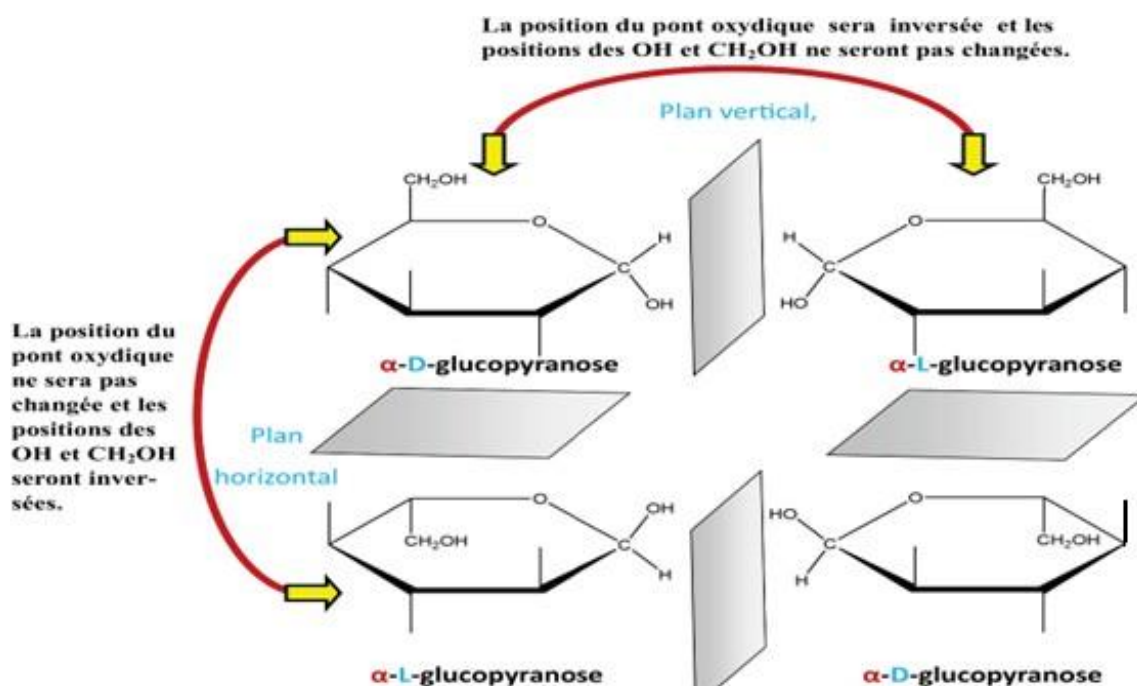


Fig. 16. L'énantiomère d'un ose cyclique.

II. 3. 5. 1. 3. Conformation des structures cycliques

La conformation des hétérocycles à 6 ou 5 atomes ne sont pas planaires. Les atomes des cycles pyraniques et furaniques adoptent des conformations variées à la faveur des rotations de liaisons C–C ou C–O. Les pyranoses peuvent adopter des conformations « chaise », ou « bateau » (Fig, 17), les premières étant les plus stables ; exemple : β -D-glucopyranose chaise (A) et bateau (B).

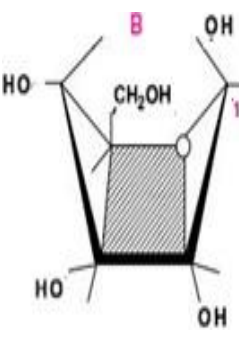
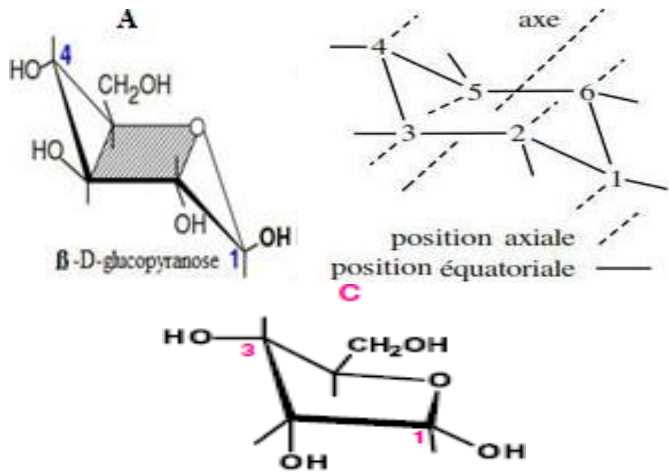
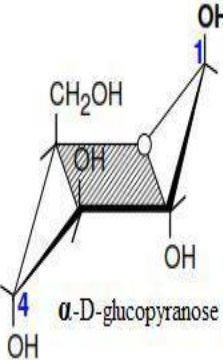
Forme bateau	Formes chaises	
		
Instable	Stable	Encombrante

Fig. 17. Conformation spatiale des structures cycliques.

Elles seront d'autant plus stables que les substituants encombrants des carbones asymétriques seront en positions équatoriales. Dans le β -glucopyranose, l'OH du carbone anomérique (C_1) est en position équatoriale tandis que dans l' α -glucopyranose il est en position axiale : le β -glucopyranose sera une molécule plus stable que l' α -glucopyranose. Dans les conformations les plus stables des furanoses, quatre atomes, dont l'oxygène, se retrouvent dans un même plan ; exemple : le β -D-ribofuranose (C).

II. 3. 6. Propriétés physiques des oses

II. 3. 6. 1. Pouvoir rotatoire

En solution, les formes énantiomères d'une molécule portant un carbone asymétrique sont douées d'une activité optique. Chacune d'entre elles dévie de manière spécifique le plan de polarisation d'une onde monochromatique polarisée. Le plan de polarisation est dévié d'un angle α égal en valeur absolue mais de sens inverse. Si la rotation a lieu dans le sens d'une aiguille d'une montre (droite $\alpha > 0$) : la molécule est **dextrogyre** (du latin *dexter* : droit) notée (+). Si la rotation s'effectue en sens inverse, (gauche $\alpha < 0$) : elle est **lévogyre** (du latin *laevus* : gauche) notée (-). Ces deux énantiomères sont aussi appelés **isomères optiques**. Un mélange équimolaire de deux énantiomères est optiquement inactif : il est noté **racémique**.

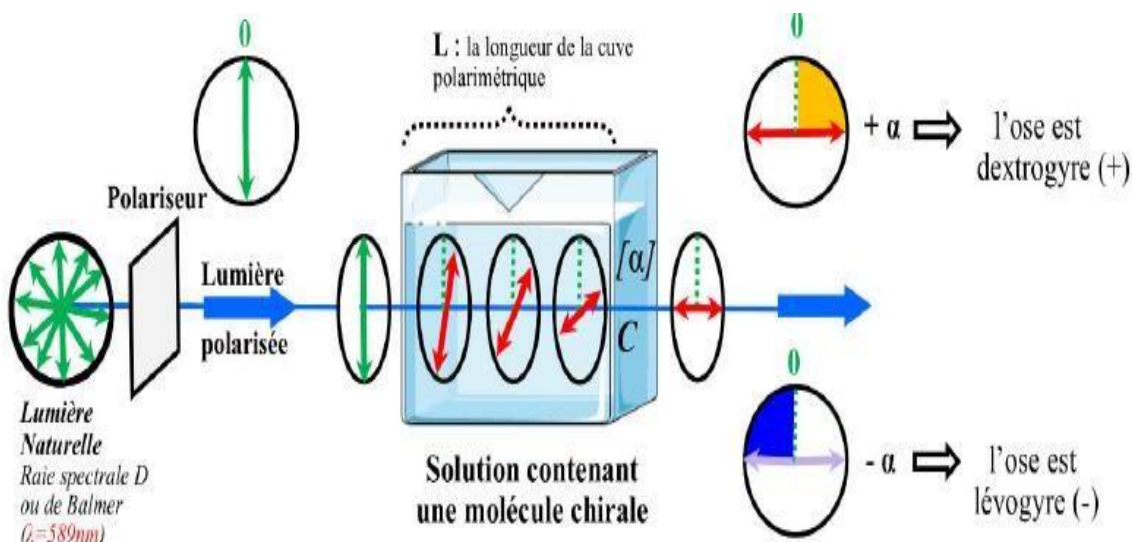


Fig. 18. Schéma d'un polarimètre.

L'angle α peut être mesuré grâce à un dispositif appelé le polarimètre (Fig. 18). Elle est fonction de la nature de la substance, de sa concentration et de la longueur du trajet optique (cuve plarimétrique). Il répond à une loi linéaire appelée la loi de **Biot**.

$$\alpha_{\text{d'une solution}} = [\alpha]_{20^\circ\text{Csoluté}}^D \times l \times C$$

α : est l'angle de déviation de la lumière polarisée (en°).

$[\alpha]_{20^\circ\text{Csoluté}}^D$: est le **pouvoir rotatoire spécifique** du soluté optiquement actif (en °. Kg⁻¹. L. dm⁻¹). C'est une constante caractéristique du soluté mesuré à une température de 20°C en utilisant une longueur d'onde de lumière polarisée appartenant à la raie spectrale D ou de Balmer ($\lambda = 589\text{nm}$).

l : est la longueur de la cuve polarimétrique ou longueur du trajet optique (en dm).

C : la concentration de la solution optiquement active (en Kg. L⁻¹).

En présence d'un mélange d'oses différents, le pouvoir rotatoire est la somme des pouvoirs rotatoires de chaque ose :

$$\alpha_{\text{mélange}} = \alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3 + \dots \alpha_n \text{ ou } \alpha = \sum(\alpha_i \times l \times C_i)$$

II. 3. 6. 2. Phénomène de mutarotation

La cristallisation du D-glucose dans des solvants différents (éthanol, pyrimidine) conduit non pas à un seul produit mais à 2 produits dont les pouvoirs rotatoires sont différents. Ces 2 formes dites **anomères** ont été qualifiées de **forme α** (+112°), cristallisation dans l'éthanol, et de **forme β** (+19°), cristallisation dans la pyrimidine.

Pour chacune des formes mises en solution aqueuse, en fonction du temps, une évolution du pouvoir rotatoire est observée (Fig. 19) qui atteint pour chacune des formes la même valeur $+52.5^\circ$ où 64 % de la molécule de glucose est sous la forme β -D-glucopyranose (la plus stable) et 36 % sous la forme α -D-glucopyranose, et une très faible quantité se trouve sous la forme ouverte (0,01 %). La modification du pouvoir rotatoire qui accompagne les transformations entre cycles pyranes et furane et entre l'anomère α et β s'appelle phénomène de **mutarotation**, décrit par le chimiste Augustin-Pierre Dubrunfaut en 1846.

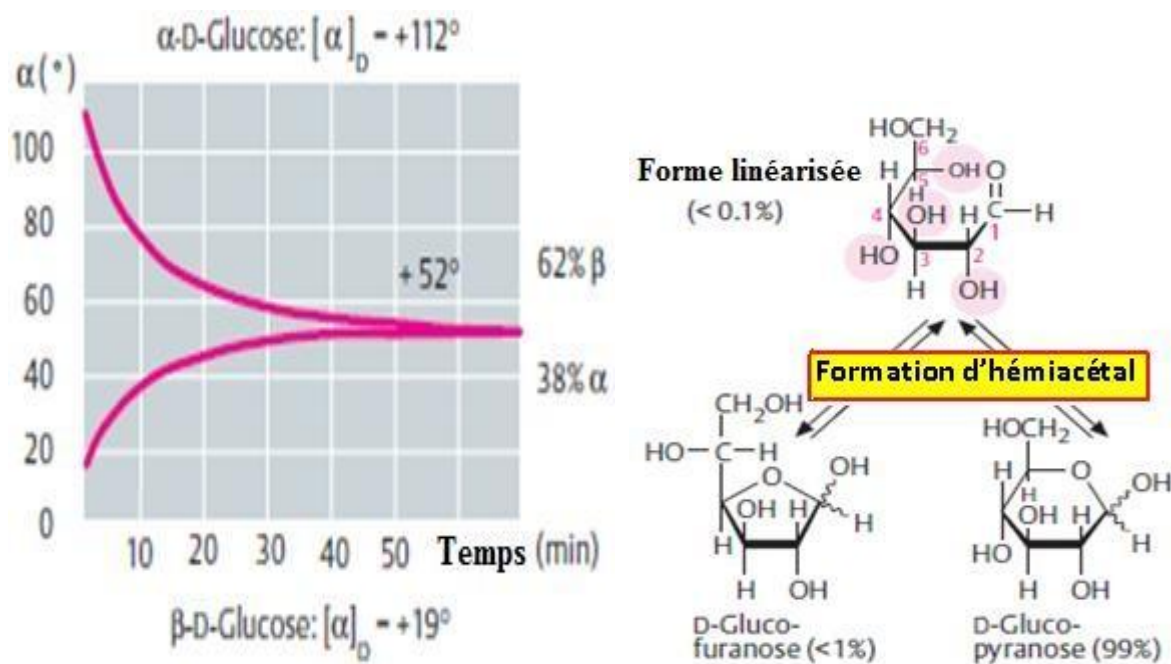


Fig. 19. Le phénomène de mutarotation.

II. 3. 6. 3. Propriétés optiques

Elles se limitent au pouvoir rotatoire et à l'indice de réfraction. Ainsi, chaque ose a un pouvoir rotatoire spécifique qui permet de son identification et son dosage. Pour le glucose, le pouvoir rotatoire est une valeur positive de $+52,5^\circ$ (molécule dextrogyre) ; pour le fructose le pouvoir rotatoire est de -92° (molécule lévogyre).

L'indice de réfraction de l'eau par rapport à l'air est de 1,333 à 20°C . En présence d'un ose ou un oside dissout, cet indice augmente avec l'augmentation de la concentration de la solution glucidique.

II. 3. 6. 4. Propriétés spectrales

Les oses absorbent les rayonnements du spectre infrarouge, mais n'absorbent pas ceux du spectre UV ni ceux du spectre visible. C'est pour cette raison qu'ils se présentent généralement sous la forme de cristaux blancs.

II. 3. 6. 5. Solubilité

Les oses sont des molécules qui présentent plusieurs groupements hydroxyles (OH), ce qui leur confère des propriétés polaires capable de multiples liaisons hydrogènes avec l'eau et d'autres biomolécules (les protéines). Ce sont des molécules très hydrosolubles jusqu'à 3M (Glucose masse molaire =180g/L soit 540 g/l) ce qui donne des solutions aqueuses très visqueuses appelées des sirops.

La solubilité des glucides dans les solvants organique est variable. Cependant, ils sont solubles dans la pyridine, peu solubles dans l'éthanol et insolubles dans l'éther. Donc, ils peuvent être séparés par chromatographie de partage sur couche mince.

II. 3. 7. Propriétés chimiques des oses

Leurs propriétés chimiques sont caractéristiques des groupements hydroxyles alcooliques et des groupements carbonyles.

II. 3. 7. 1. Propriétés dues à la fonction carbonyle

II. 3. 7. 1. 1. Réduction des oses : obtention d'alditols (ositol)

Les aldoses et les cétooses sont irréversiblement réduits par les borohydrures alcalins (NaBH_4 , LiBH_4) par voie chimique, ou par voie enzymatique, en donnant des polyalcools qu'on appelle glycitols ou alditols à partir de 4C. Les noms des alditols s'obtiennent en remplaçant le suffixe -ose par le suffixe -itol. Par exemple, le D-glucose donne le D-glucitol (D-sorbitol) et le D-mannose donne le D-mannitol, etc...

La formation d'alditol à partir d'un aldose implique exclusivement la forme ouverte de l'aldose. La réduction du D-fructose (un cétoose) par le NaBH_4 donne un mélange équimoléculaire de D-glucitol et de D-mannitol, des alditols épimères en C_2 (Fig. 20).

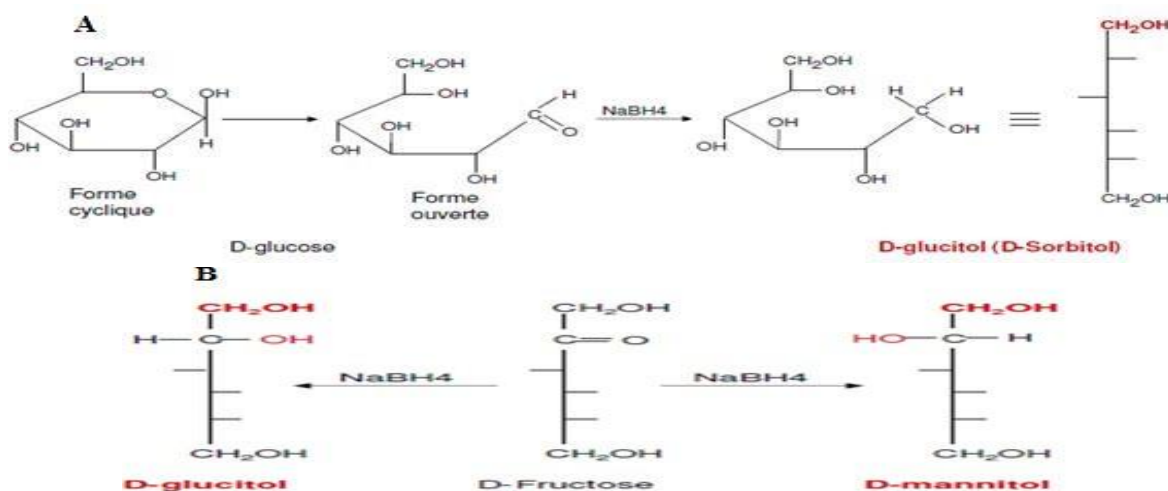


Fig. 20. Formation d'alditol à partir d'un aldose (A) et d'alditols épimères à partir d'un cétoose (B) au cours des réactions de réduction.

II. 3. 7. 1. 2. Oxydation des oses

II. 3. 7. 1. 2. 1. Oxydation en milieu alcalin et à froid (Oxydation douce ou ménagée)

La fonction aldéhydique R-CHO des aldoses s'oxyde en groupement carboxyliques R-COOH en présence des oxydants doux comme le Brome (Br₂), l'iode (I₂) et l'acide nitrique dilué (HNO₃) en milieu alcalin conduisant à la formation **d'acides aldoniques**. Si la réaction a lieu avec le D-glucose, on obtient l'acide D-gluconique (Fig. 21).

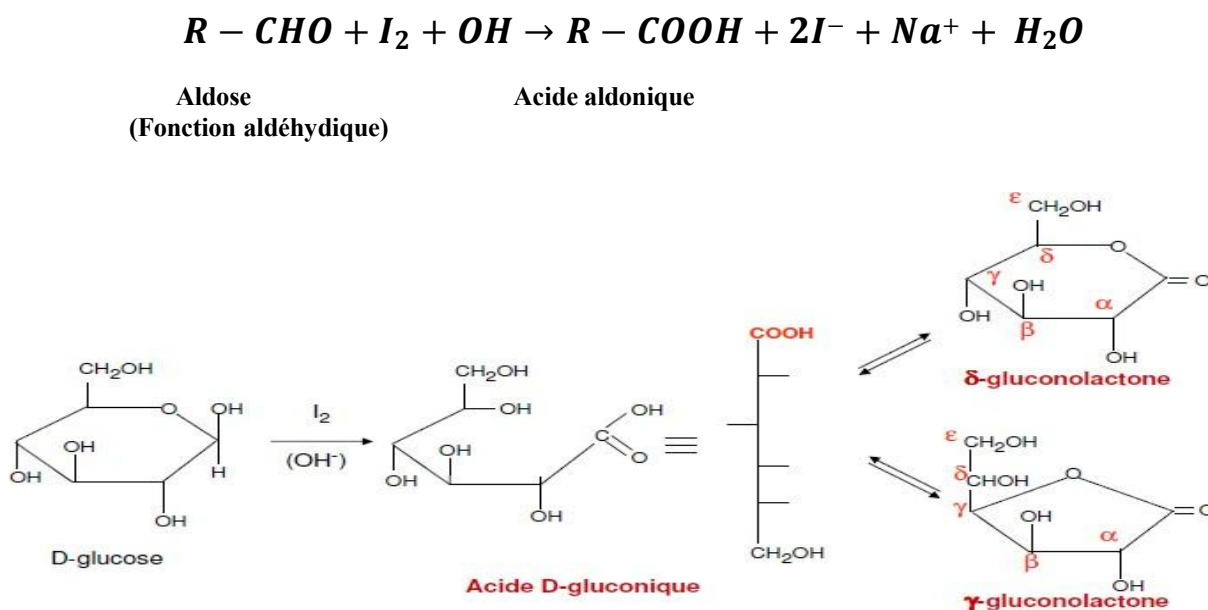


Fig. 21. Oxydation d'un aldose en milieu alcalin et à froid.

Lorsque l'on fait ensuite évaporer le solvant, les acides aldoniques se condensent en ester cyclique ou lactones. Selon la forme du cycle, on obtient un γ-lactones (furane) ou δ-lactones (pyrane). Pour connaître le nom de la lactone formé, il suffit de remplacer le suffixe -ose d'un aldose par le suffixe -onolactone.

Le groupement **cétone** n'est pas oxydé par l'iode en milieu basique.

II. 3. 7. 1. 2. 2. Oxydation par les sels de métaux lourds

Pouvoir réducteur des aldoses (Réaction d'oxydation des aldoses par la liqueur de Fehling)

Certaines molécules d'oses possèdent un pouvoir réducteur (fournisseur d'électrons e^- et de protons H^+). En milieu alcalin, les sels métalliques (cuivre, fer, argent, mercure, etc.) sont réduits par la fonction pseudo-aldéhydique. À chaud et en milieu alcalin, l'oxyde cuivrique (bleu) est réduit en oxyde cuivreux (rouge brique) insoluble, tandis que l'aldose s'oxyde en

acide aldonique (Fig. 22). Pour connaître le nom du produit de l'oxydation douce, il suffit de remplacer le suffixe -ose par le suffixe -onique ou -onate. Exemple : le glucose donne l'acide gluconique, le mannose donne l'acide mannonique et le galactose donne l'acide galactonique...ect

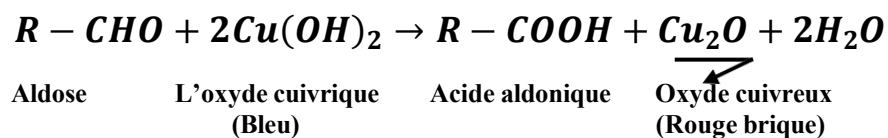


Fig. 22. Action de la liqueur de Fehling avec les sels cuivriques (à chaud en présence d'un ose réducteur).

Les cétones, qui ne peuvent pas subir d'oxydation ménagée, ne réagissent pas avec la liqueur de Fehling (Fig. 23).

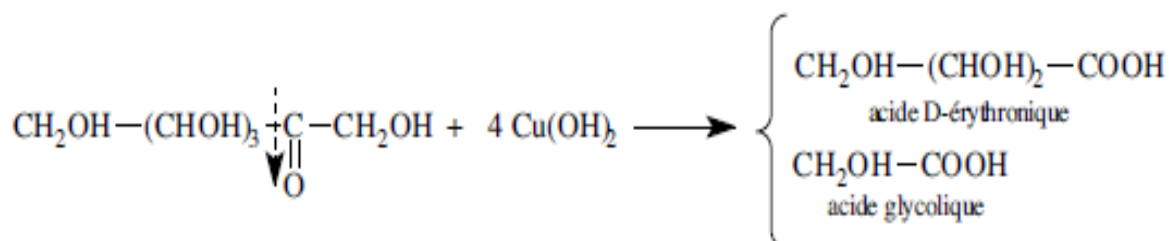


Fig. 23. Action de la liqueur de Fehling en présence d'un cétose.

II. 3. 7. 1. 2. 3. Oxydation par l'acide nitrique (Oxydation poussée, en milieu acide à chaud)

L'oxydation forte d'un aldose conduit à l'attaque simultanée de l'alcool primaire et de l'aldéhyde. On obtient un diacide carboxylique appelé acide aldarique. Le nom d'un acide aldarique s'obtient en remplaçant le suffixe -ose par -arate ou -arique dans le nom de l'aldose d'origine. Par exemple, le glucose donne l'acide glucarique (ou glucarate, également nommé acide saccharique), le galactose l'acide galactarique (ou galactarate), etc...

La même réaction d'oxydation provoque la coupure oxydante du squelette carboné des cétones au niveau de la fonction cétone et formation d'un mélange d'acides carboxyliques (Fig. 24).

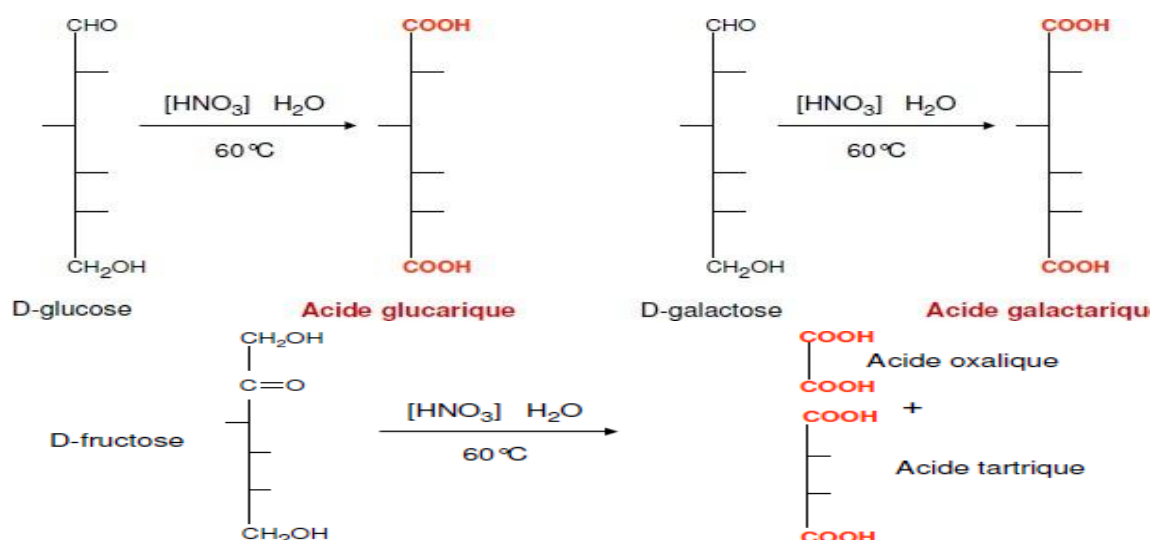


Fig. 24. Action de l'acide nitrique sur les aldoses et les cétoses.

II. 3. 7. 1. 2. 4. Oxydation par l'acide périodique (HIO_4)

L'oxydation par l'acide périodique HIO_4 (méthode de *MALAPRADE* et *FLEURY*) est utilisée pour localiser l'emplacement du pont oxydique ainsi que la structure du cycle. Elle consiste à couper la liaison covalente entre deux carbones juxtaposés porteurs de fonction glycol libre. Les fonctions alcools secondaires (II^{aire}) donnent soit des aldéhydes soit de l'acide formique et les fonctions alcools primaires (I^{aire}) donnent du formol (Tableau 4).

Tableau 4: Mode de coupure des oses par l'acide périodique HIO_4 et produits de la réaction libérés.

$\begin{array}{c} \text{H} \quad \updownarrow \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{R}-\text{C}-\text{C}-\text{R}' \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \text{OH} \end{array} \xrightarrow{\text{IO}_4^-} \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{R}-\text{C}=\text{O} + \text{O}=\text{C}-\text{R}' \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array} + \text{IO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$ ion iodate	
Les carbones porteurs de fonction alcool primaire se transforment en aldéhyde formique (formol = HCHO).	Alcool primaire → Aldéhyde formique
Tandis que les carbones porteurs de fonction alcool secondaire se transforment en acide formique (HCOOH)	Alcool secondaire → Acide formique

L'ose est d'abord méthylé pour protéger l'hydroxyle anométrique en C₁ puis soumis à l'action de l'HIO₄. En étudiant les produits de la réaction et le nombre d' HIO₄ consommés, on peut déduire le nombre, la nature et la position des groupements hydroxyles libres (Fig. 25).

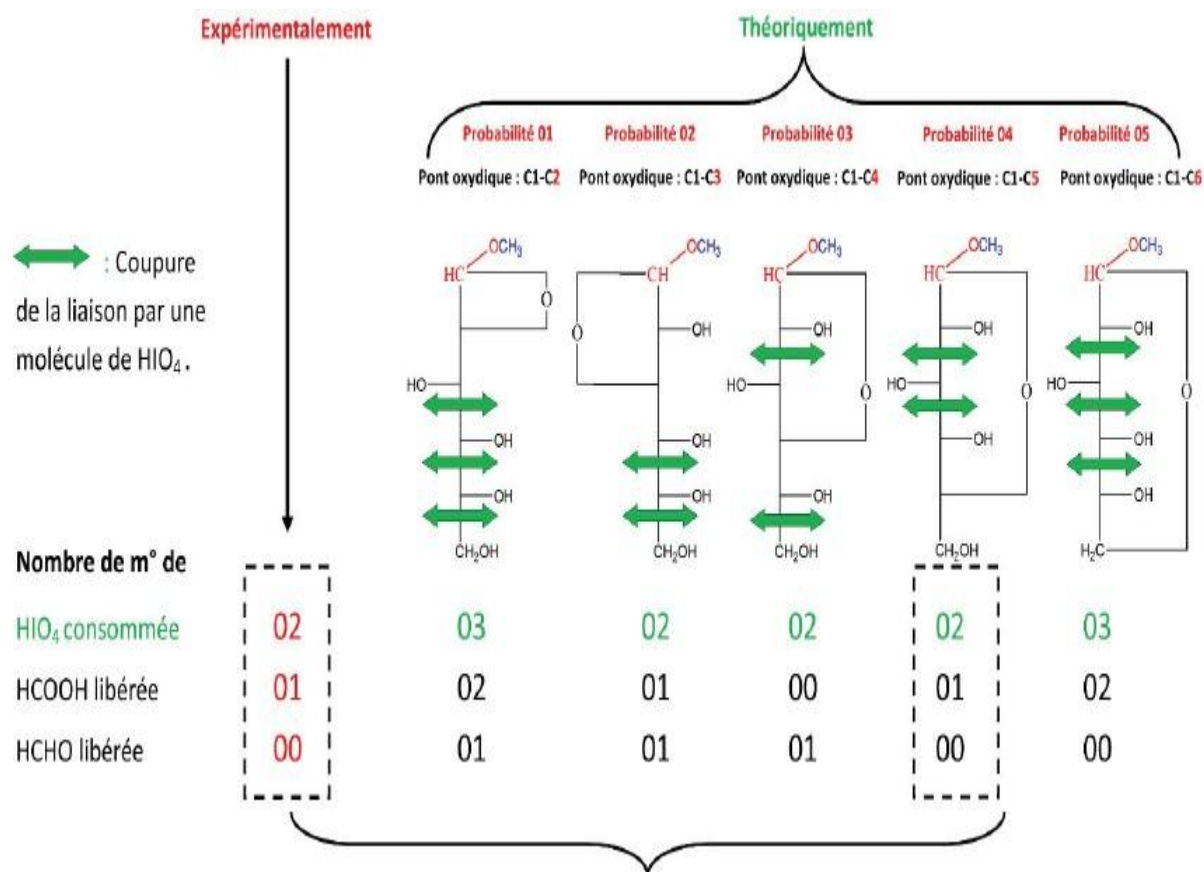


Fig. 25. Exemple de l'action de l'acide périodique sur la molécule de glucose. Ces résultats permettent de conclure que le pont d'oxydation est localisé entre le C₁ et le C₅.

II. 3. 7. 1. 3. Réaction d'addition et de substitution

- Réaction avec les alcools et les phénols (addition) : formation d'oside

L'action des alcools conduit à la formation de méthyloses appelés les **O-Hétérosides** (Fig. 26).

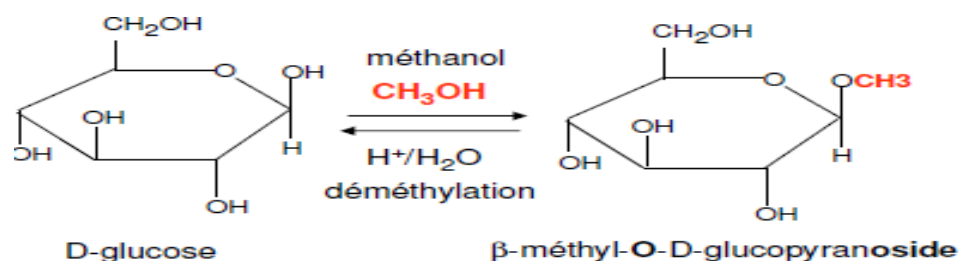


Fig. 26. Action du méthanol sur le glucose.

Un *O*-glycoside n'a **pas de pouvoir réducteur** (il ne réduit pas les oxydes métalliques) et ne présente pas de phénomène de mutarotation.

– **Action des amines (substitution)**

Les aldoses et les cétones se condensent avec les amines primaires pour donner des imines cycliques ou des **N-Hétérosides** (Fig. 27).

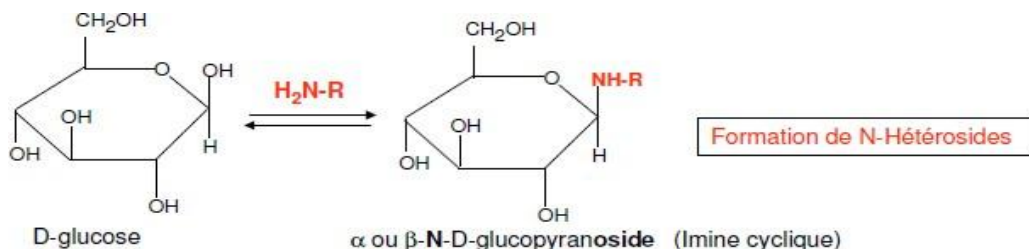


Fig. 27. Action des amines sur les oses.

Les imines formées par les oses tendent vers un **équilibre anomérique** (mutarotation), avec des formes α et β .

Les imines cycliques ou glycosylamines *N*-substituées, ou encore ***N*-glycosides**. Comme les *O*-glycosides, les *N*-glycosides entrent dans la composition de nombreuses molécules biologiques, dont les plus connues sont les **nucléosides** et les **nucléotides**, constitutifs des acides nucléiques

- **Action des thiols (substitution)**

En milieu acide, le groupement aldéhydique des aldoses se combine avec des thiols ($R-SH$) pour donner naissance à des **S-Hétérosides** (Fig. 28). Le groupement cétonique des cétones par contre ne se combinent pas.

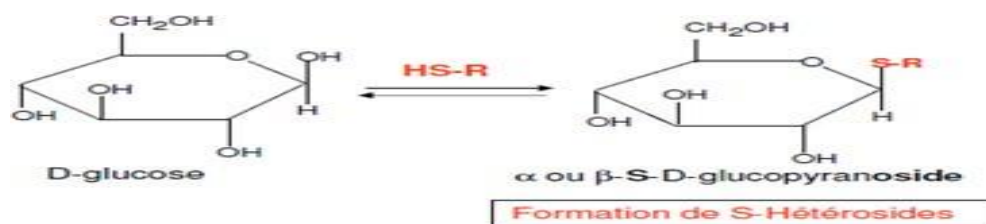


Fig. 28. Combinaison du groupement aldéhydique des aldoses avec des thiols et formation d'un S-Hétéroside.

II. 3. 7. 2- Propriétés dues à la fonction alcool

II. 3. 7. 2. 1 – Déshydratation en milieu acide

En milieu acide concentré et à chaud, les oses (à partir de 5 C) sont déshydratés en furfural ou dérivé du furfural (Fig. 29).

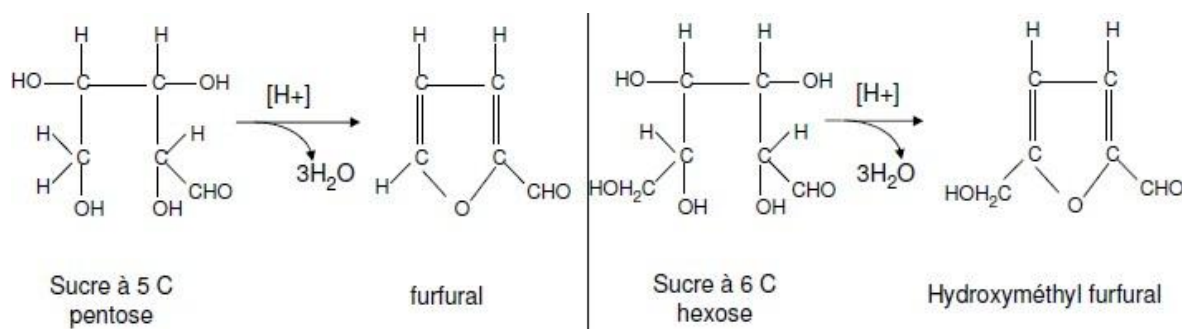
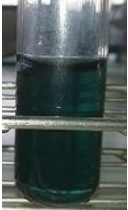
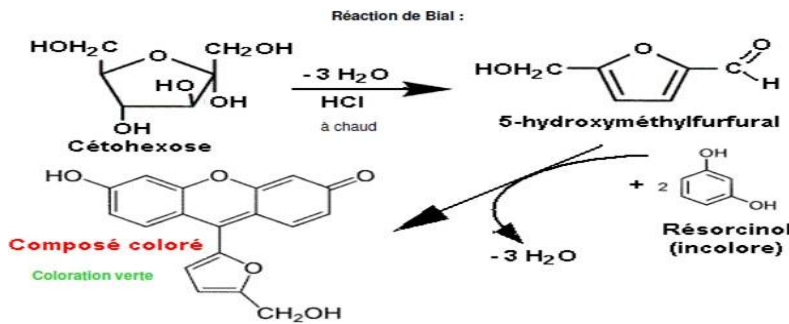
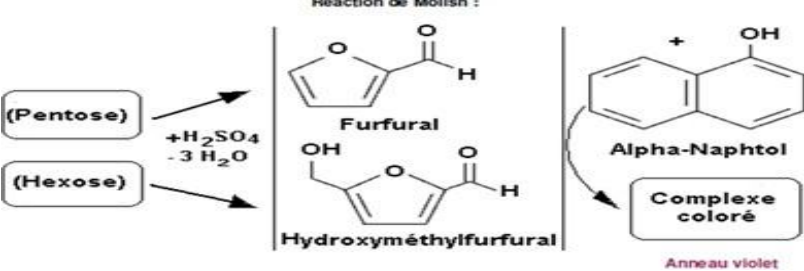
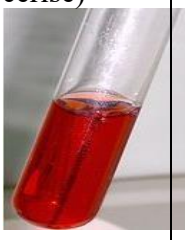
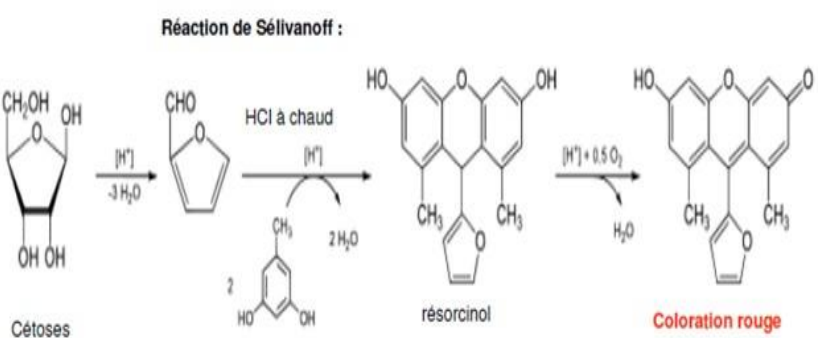


Fig. 29. Formation d'un furfural et d'un dérivé du furfural par action d'un acide concentré à chaud sur un ose.

Les furfurals et leurs dérivés se condensent avec des phénols pour donner des produits colorés utilisés pour la caractérisation et le dosage colorimétrique des oses (Tableau 5).

Tableau 5 : Quelques réactions de caractérisation et de dosage colorimétrique des oses issues.

Réaction	Oses concernés	La réaction
Réaction de Bial	Pentoses (Vert bouteille) 	Réaction de Bial :  Cétose 5-hydroxyméthylfurfural Composé coloré Coloration verte Résorcinol (incolore)
Réaction de Molish	Tous les oses 	Réaction de Molish :  (Pentose) (Hexose) + H_2SO_4 - $3\text{H}_2\text{O}$ Furfural Hydroxyméthylfurfural Alpha-Naphtol Complexe coloré Anneau violet
Réaction de Sélivanoff	Cétoses (Rouge cerise) 	Réaction de Sélivanoff :  Cétoses Furfural Résorcinol Coloration rouge

II. 3. 7. 2. 2. Formation d'esters : Des esters d'oses existent à l'état naturel. Des oses mono- et diphosphate sont essentiels dans le métabolisme énergétique (Fig. 30).

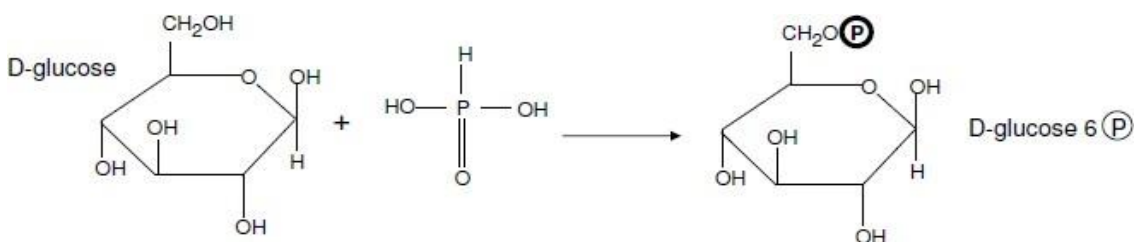


Fig. 30. Formation des esters d'oses.

II. 3. 7. 2. 3. Formation d'éthers : Au cours d'une réaction de méthylation un groupement CH_3 est fixé sur un OH d'un ose pour donner des éthers ($\text{R}-\text{O}-\text{CH}_3$). Au laboratoire, la méthylation des oses se fait par des agents méthylants tels que l'iodure de méthyle (ICH_3) avec l'oxyde d'argent (Ag_2O) ou bien avec du sulfate de diméthyle $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ en milieu alcalin (NaOH) (Fig. 31).

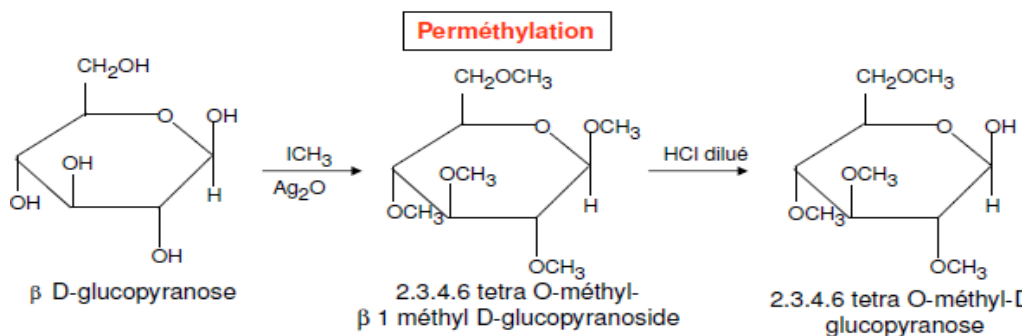


Fig. 31. Réaction de méthylation du glucose.

La méthylation peut être **ménagée** (seul le OH de l'hémiacétal est méthylé) ou **complète** (**totale, prolongée**) appelée également **perméthylation** où tous les OH libres de l'ose sont méthylés. Les éthers méthyliques sont utilisés pour la détermination de la structure des cycles et les enchaînements des holosides.

II. 3. 7. 2. 4. Oxydation de la fonction alcool primaire : En protégeant la fonction aldéhyde pendant l'oxydation, on obtient les acides uroniques oxydés uniquement sur la fonction alcool primaire en C_6 . Pour connaître le nom de l'acide uronique formé, il suffit de remplacer le suffixe -ose d'un aldose par le suffixe -uronique. Exemple : le glucose donne l'acide glucuronique (Fig. 32), le galactose donne l'acide galacturonique...ect. Les acides uroniques entre dans la composition des glycosaminoglycanes, un constituant essentiel de la matrice extracellulaire.

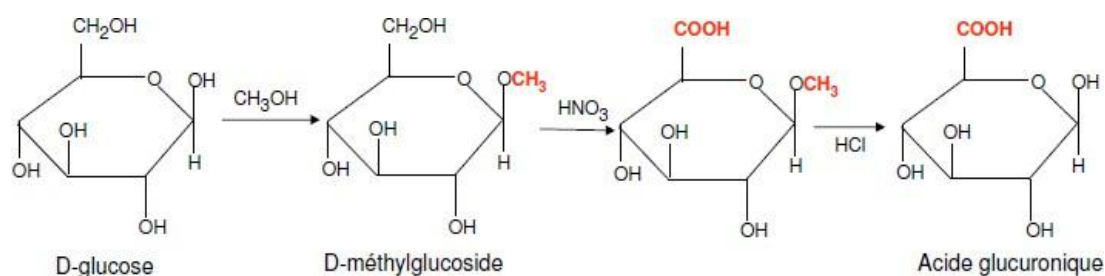


Fig. 32. Formation d'acide glucuronique par oxydation de la fonction alcool primaire du glucose.

II. 3. 7. 3. Propriétés dues à un groupement alcool et un groupement carbonyle voisins

II. 3. 7. 3. 1. Action de la phényl hydrazine (Formation d'osazones)

L'ose peut réagir avec une molécule de phénylhydrazine à froid conduisant à la formation d'une phénylhydrazone. A chaud, l'ose peut réagir avec deux molécules de phénylhydrazine et former une molécule d'osazone (Fig. 33).

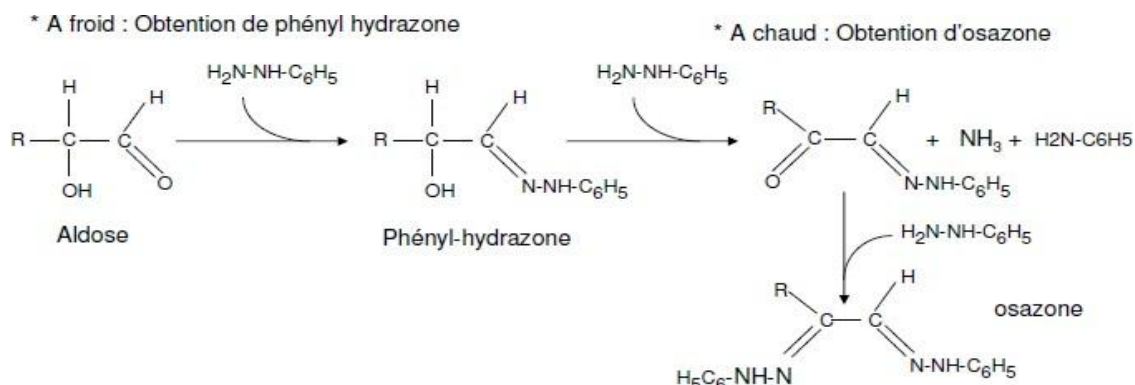


Fig. 33. Action de la phényl hydrazine sur un ose.

Exemple : le D-glucose réagit avec une molécule de phénylhydrazine à froid conduisant à la formation de phénylhydrazone de glucose. A chaud, le D-glucose réagit avec deux molécules de phénylhydrazine en formant un glucosazone (Fig. 34).

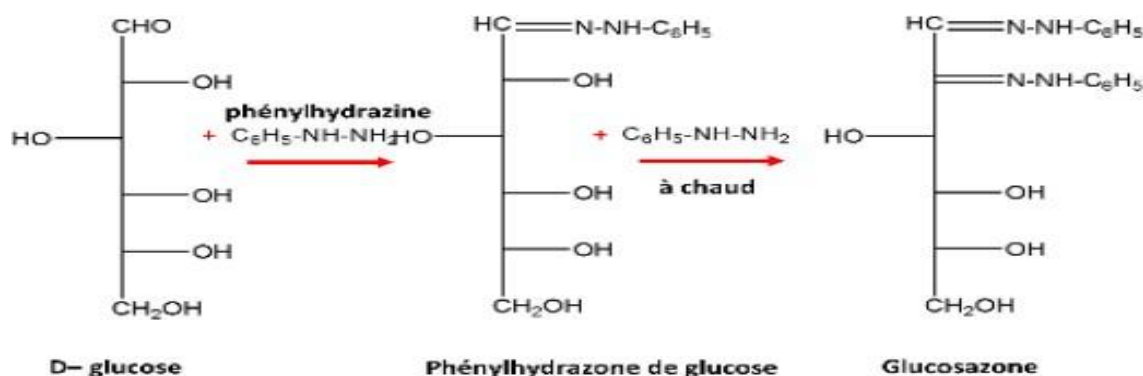


Fig. 34. Les produits de la réaction du D-glucose avec une molécule de phénylhydrazine à chaud et à froid.

A chaud, les solutions d'ose mélangées avec la phénylhydrazine précipitent. L'observation de la forme des cristaux à l'aide d'un microscope permet l'identification de ces oses mis en solution (Fig. 35).



Fig. 35. Les différents cristaux d'oses mélangés avec la phénylhydrazine observés à l'aide d'un microscope.

II. 3. 7. 3. 2. Isomérisation alcaline

Les cétooses, par un phénomène de **tautomérisation** (énediol) qui a lieu **en milieu basique** sont en équilibre avec l'aldose correspondant par l'intermédiaire d'un trans-énediol. Le phénomène est une **interconversion** (aldose -> cétose) (Fig. 36).

Dans le trans-énediol, le carbone C₂ n'est plus asymétrique, il peut subir un réarrangement pour donner un cis-énediol (épimère pour la fonction OH), lequel pourra donner un aldose épimère. La conversion D-glucose / D-mannose est une **épimérisation** (une inversion de la configuration des substituants d'un seul carbone asymétrique). L'épimérisation est une réaction biologique importante catalysée par une enzyme.

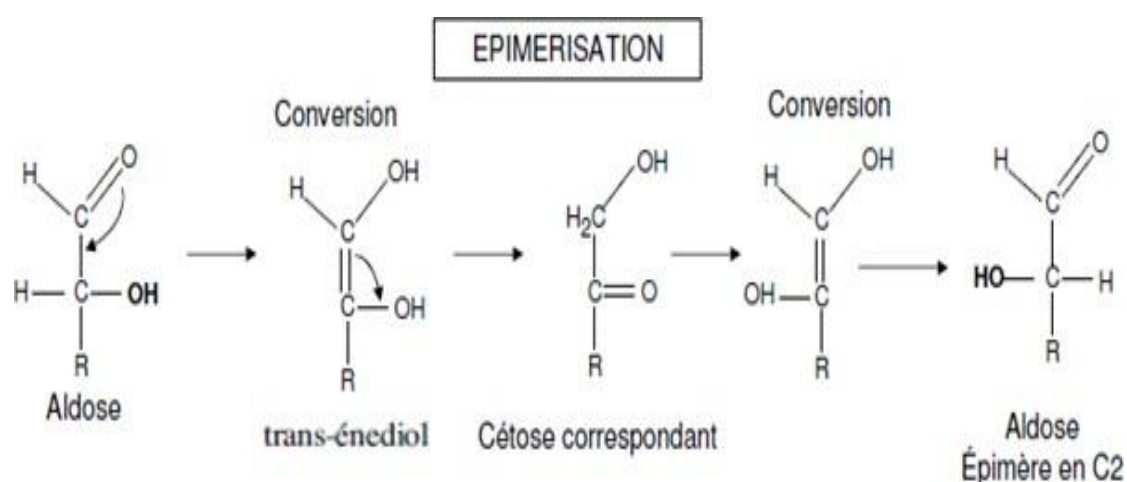


Fig. 36. Phénomène d'interconversion des oses.

II. 3. 8. Oses et dérivés d'oses d'intérêt biologique

II. 3. 8. 1. Oses neutres

II. 3. 8. 1. 1. Trioses

Les formes **D et L du glycéraldéhyde** sont présentes dans la nature. Les formes les plus importantes des trioses sont des dérivés phosphorylés que l'on trouve dans les premières étapes de la glycolyse (catabolisme oxydatif) : le glycéraldéhyde 3-phosphate et le dihydroxyacétone phosphate obtenus à partir de la dégradation du fructose 1-6 bisphosphate (Fig. 37). Cette réaction est catalysée par l'enzyme aldolase.

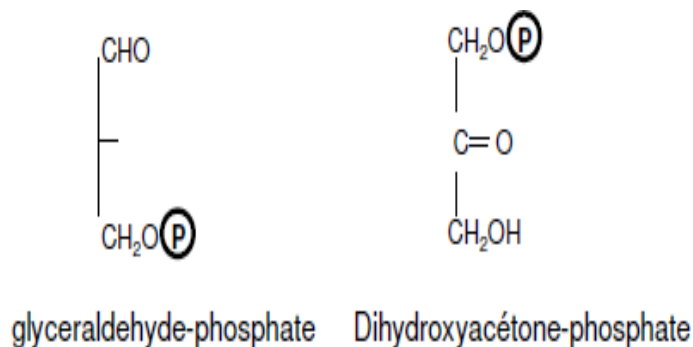


Fig. 37. Les dérivés phosphorylés du glycéraldéhyde.

II. 3. 8. 1. 2. Tétroses

Le seul tétrose d'intérêt est l'aldose **D(-)érythrose**. Son ester-4-phosphate est l'un des nombreux intermédiaires de la photosynthèse et d'une voie de dégradation du glucose branchée sur son produit aldonique d'oxydation : l'acide phospho-gluconique. Il est aussi le précurseur de la biosynthèse par les microorganismes d'acides aminés aromatiques.

II. 3. 8. 1. 3. Pentoses : Ils sont classés selon les fonctions qu'ils remplissent dans les cellules
Tableau 6.

II. 3. 8. 1. 4. Hexoses : Les hexoses les plus importants sont : le glucose, le galactose, le mannose, le fructose (Tableau 6, Fig. 38).

II. 3. 8. 1. 5. Heptoses

Ce sont des intermédiaires importants du métabolisme glucidique sous leur forme phosphorylée (voie des pentoses).

Tableau 6: Liste de certains oses ayant des fonctions dans l'organisme.

Pentose	Localisation et rôle
D-xylose	Il est retrouvé dans le xylème du bois. Il intervient aussi dans les polysides de matrices extracellulaires animales, ou comme ose de branchement des glycaniques sur une protéine (Fig. 38)
D et L-Arabinose	C'est l'un des rares oses naturels de la série L. Ils sont retrouvés dans tous les végétaux. Le D-Arabinose (Fig. 38) est le précurseur immédiat du D-glucose et du D-mannose. Il n'est pas métabolisé par l'homme et est éliminé directement dans les urines.
D-ribose (et son dérivé le D-2-déoxyribose)	Il entre dans la composition des nucléotides qui peuvent être utilisés dans la synthèse des acides ribonucéiques ARN (et désoxyribonucléiques ADN), ou bien comme coenzyme (Fig. 38).
D-ribulose	Ce cétopentose est trouvé à l'état de ribulose-1,5-diphosphate qui est un élément fondamental dans le "cycle des pentoses" et des réactions de photosynthèse (Fig. 38).
D-Ribulose et D-Xylulose	Ces cétopentoses sont des intermédiaires du métabolisme glucidique sous forme phosphorylée (cycle des pentoses et photosynthèse) (Fig. 38).
D(+) glucose	C'est la "molécule carburant" du monde vivant et par là le prototype des études de structure et propriétés des oses. Il est abondant à l'état libre dans le miel, les fruits. Il est hydrosoluble dans les liquides biologiques. Sous forme polymérisée à partir de l' α -D-glucopyranose, il constitue les réserves énergétiques (amidon végétal, glycogène animal) de la plupart des organismes supérieurs. Le polymère formé à partir de l'anomère β donne un polyside aux propriétés physiques et biologiques radicalement différentes des polymères α : la cellulose.
D(+)galactose	Le plus répandu après le glucose, il entre dans la constitution du lactose du lait des mammifères. On le trouve combiné dans certains oligosides, hétérosides et glycoprotéines (Fig. 38).
D(+) mannose	Il est peu abondant à l'état libre (écorce d'orange), il est retrouvé dans des polymères comme les mannanes ou dans des glycoprotéines (Fig. 38).
D(-) fructose	On le trouve à l'état naturel dans les fruits et le miel auquel il donne sa consistance à cause de sa cristallisation difficile. Il peut également être retrouvé sous forme : phosphorylé (intermédiaire important du métabolisme glucidique) ou condensé sous forme de diholoside dans le saccharose ou d'autres osides (Fig. 38).

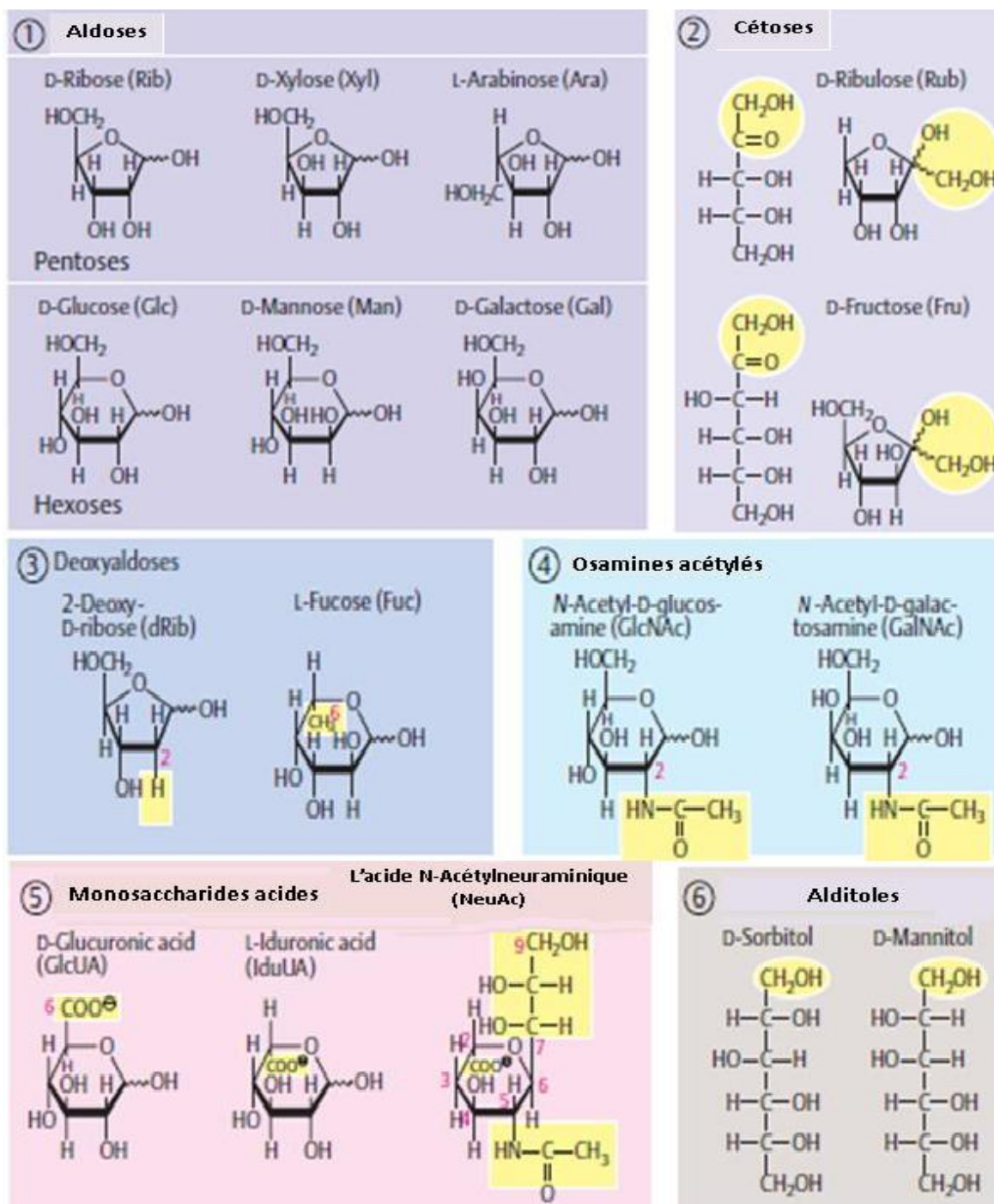


Fig. 38. Principaux monosaccharides et leurs dérivés rencontrés dans la nature.

II. 3. 8. 2. Quelques dérivés d'oses

II. 3. 8. 2. 1. Dérivés déshydroxylés d'ose

La déshydroxylation consiste à remplacer un hydroxyle par hydrogène. L'exemple le plus connu des oses déshydroxylés est celui du ribose. **Le ribose** cyclisé en furanose peut subir une déshydroxylation au niveau du C₂ conduisant à la formation de désoxyribose rencontré dans la constitution de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

Il existe dans la nature d'autres exemples de la déhydroxylation tels que :

- *Le fucose ou le 6-désoxy-L-galactose* présent dans les polysides des cellules d'insectes, des mammifères et des plantes.
- *Le rhamnose ou le 6-désoxy-L-mannose*, présent dans les plantes sous forme d'hétéroside et dans les membranes externes de certaines bactéries.
- *Le quinovose est le 6-désoxy-D-glucose*, présent dans les plantes et certaines bactéries.

II. 3. 8. 2. 2. Osamines

Ces molécules dérivent des oses par remplacement d'un hydroxyle (généralement celui porté par le carbone 2) par une fonction amine (NH_2). Les plus importantes sont des hexosamines, dérivés du glucose ou du galactose par substitution sur le C_2 . Les osamines ont les mêmes propriétés que les oses (propriétés réductrices, formes cycliques,...) et les propriétés des amines (basique : fixation d'un proton).

La glucosamine dérivant du glucose et la galactosamine dérivant du galactose constituent les deux osamines de la famille des hexosamines les plus étudiés (Fig. 39). Leur groupement amine est souvent acétylé pour donner une N-acétylglucosamine ou une N-acétylgalactosamine.

Ils sont présents essentiellement sous forme polymérisée, par exemple dans la chitine (squelette des arthropodes), dans la confection de la muréine (paroi des bactéries) et dans les glycoprotéines.

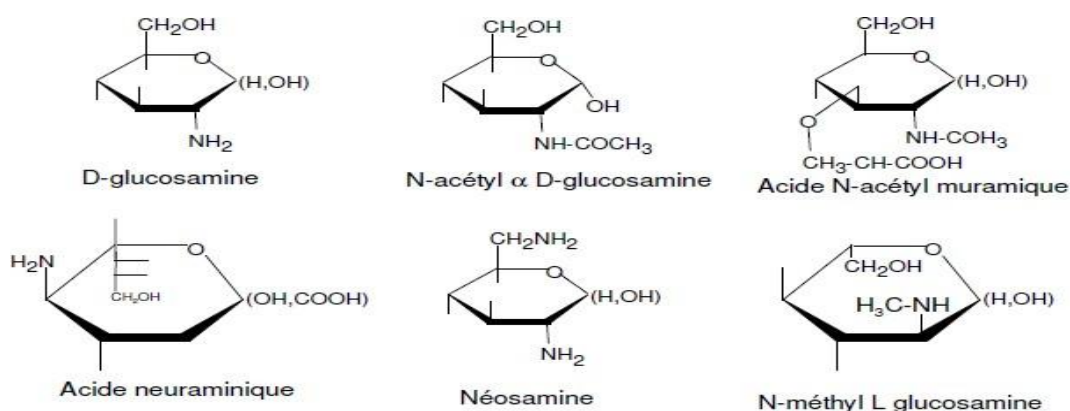


Fig. 39. Structures de quelques hexoamines.

II. 3. 8. 2. 3. Dérivés acides d'oses

a- Acide sialique

L'acide sialique est un terme générique désignant une famille de plus de 50 dérivés de l'**acide neuraminique**, un sucre (ose) acide (fonction acide carboxylique en C_1) à squelette de neuf atomes de carbone (Fig. 40).

La différence entre les molécules constituant cette famille réside principalement dans le nombre et la position des acétylations. Le plus connu est l'acide N-acétylneuraminique (**Neu5Ac** ou NANA), formé par condensation de l'acide pyruvique avec le D-mannosamine.

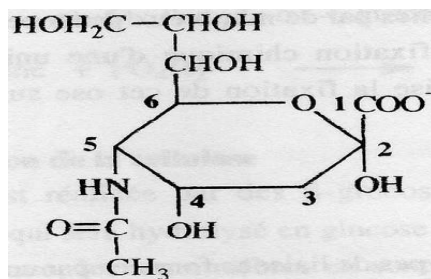


Fig. 40. Structures de l'acide sialique:
NeuNAc acide N-acétylneuraminique

Ce sont des composés caractéristiques des glycoprotéines et sphingolipides des membranes cellulaires. La partie glucidique est dirigée vers la face extracellulaire de la membrane et joue un rôle essentiel dans les phénomènes de reconnaissance cellulaire.

b- Acide L-ascorbique (ou vitamine C)

Contrairement à la majorité des primates (dont l'être humain), la plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C (Fig. 41) dans leur foie où dans leurs reins. Elle est donc indispensable à l'Homme et sa carence conduit au scorbut (maladie du tissu conjonctif). Seule la forme L de l'acide ascorbique constitue la vitamine C. Sa structure est caractérisée par la présence de la fonction ène-diol (2 OH portés sur deux carbones voisin unis par une double liaison). C'est une lactone qui dérive de l'acide 2-céto L-gulonique. Son pouvoir réducteur lui permet d'être facilement oxydable en acide déhydroascorbique.

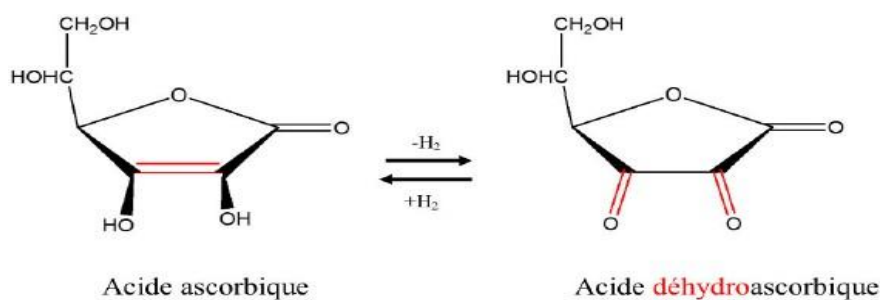


Fig. 41. Structure de la vitamine C.

c- Acides uroniques

Ce sont des dérivés d'oses dans lesquels la fonction alcool primaire a été oxydée en fonction acide carboxylique. Ces dérivés sont retrouvés essentiellement sous forme polymérisés

dans les glycoconjugués (glycoprotéines, mucopolysaccharides). Parmi ces molécules, on peut citer :

- l'acide glucuronique (Fig. 42) qui peut se condenser au niveau hépatique avec de nombreuses substances hydroxylées favorisant ainsi leur solubilité et leur élimination urinaire ; on parle de détoxification par glucuroconjugaison (élimination de certaines hormones thyroïdiennes et sexuelles, pigments biliaires, certains médicaments ou toxines...),
- l'acide galacturonique (Fig. 42) qui est un constituant des gommages, mucilages et pectines des végétaux.

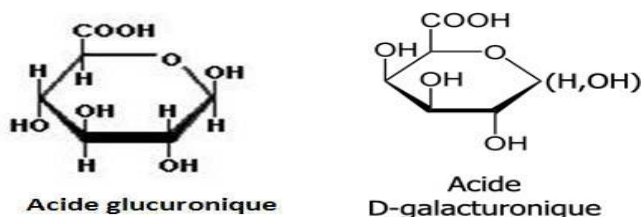


Fig. 42. Structure des deux acides glucuronique et galacturonique.

II. 3. 8. 2. 4. Polyols

Ils résultent de la réduction de la fonction aldéhyde ou cétone d'un ose en fonction alcool: on obtient alors un polyol, molécule dont chaque carbone porte une fonction alcool. Parmi les plus importants, on peut citer : le glycérol (constituant des glycérides et des glycérophospholipides obtenu à partir du glyceraldéhyde), le ribitol (obtenu à partir du ribose), le sorbitol (obtenu à partir du glucose), le galactitol (obtenu à partir du galactose), le mannitol (obtenu à partir du mannose) ...

Ces polyols peuvent être contenus dans certains milieux de culture utilisés en bactériologie car ils peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par certaines bactéries. Certains polyols (mannitol, sorbitol, xylitol...) sont également utilisés comme additifs alimentaires en substitution du sucre classique (saccharose). Certains polyols peuvent être cycliques comme l'inositol (hexa-alcool cyclique) qui est un constituant des inositides (ou phosphatidylinositols) qui sont des glycérophospholipides membranaires.

II. 4. Osides

Les osides sont des polymères d'oses parmi lesquels on distingue les hétérosides dont l'hydrolyse libère des oses et des composés non glucidiques (aglycone), les holosides dont l'hydrolyse ne libère que des oses et parmi ceux-ci les oligosides et les polysides dont la différence se situe au niveau du nombre de monomères formant le polymère.

Le règne végétal abonde d'hétérosides variés dont les aglycones sont douées de propriétés pharmacodynamiques. Les nucléosides et les nucléotides sont des hétérosides.

II. 4. 1. Oligosides

Les oligosides ou oligoholosides sont des holosides qui résultent de la condensation de 2 à 10 molécules d'oses ou de dérivés d'ose.

II. 4. 1. 1. Liaison osidique ou glycosidique

Les liaisons qui assurent les liens entre les oses ou entre les oses et les aglycones sont appelées **liaisons osidiques**. La liaison osidique se fait entre l'hydroxyle réducteur (OH semi-acétalique) d'un ose porté par le carbone anomérique (C_1 pour les aldoses, C_2 pour les cétones), en position α ou β , avec un hydroxyle d'un autre ose (Fig.43).

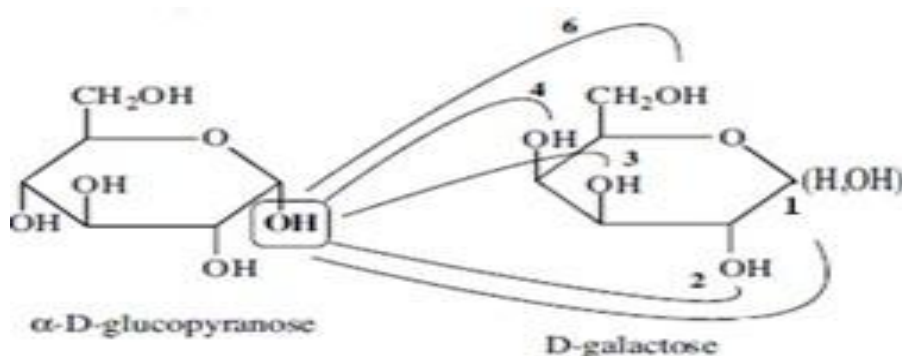


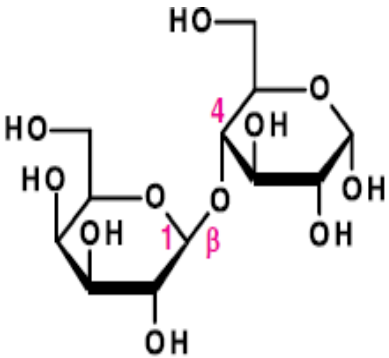
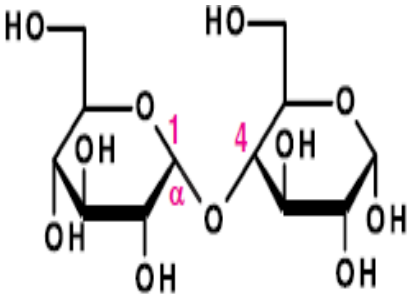
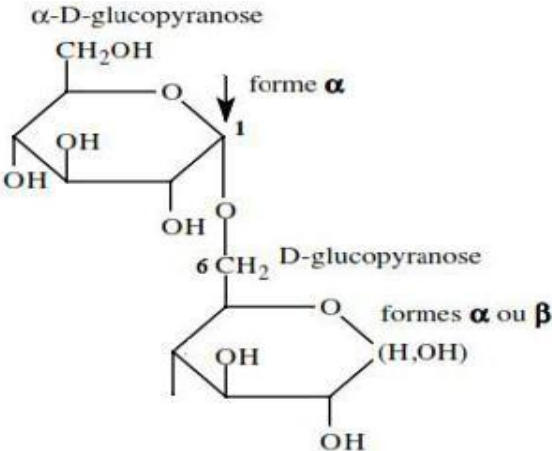
Fig. 43. Les différentes possibilités pour lier l' α D-glucopyranose par son –OH hémiacétalique à l' α D-galactopyranose.

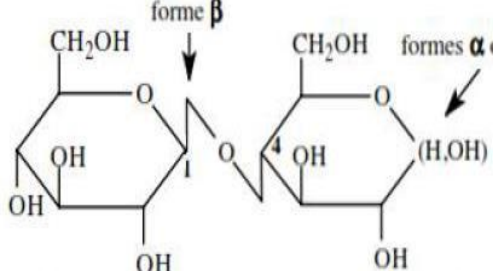
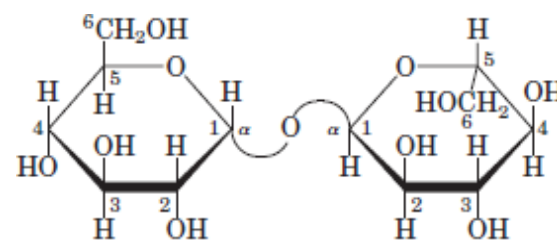
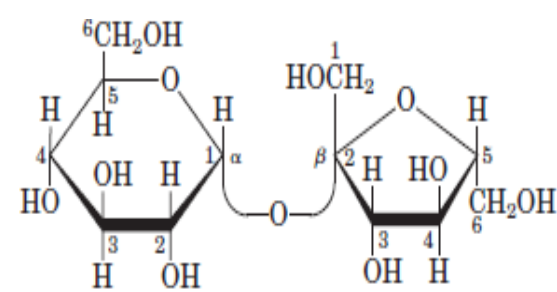
La liaison osidique d'un holoside est caractérisée par l'anométrie, la série, les types d'oses et la forme de leurs cycles (pyrane ou furane) tout en commençant par l'ose qui est le plus à gauche ou en haut par rapport à la molécule. Le nom du 1^{er} ose et ceux qui sont en position intermédiaire se termine par le suffixe osido ou osyl. Le nom du dernier ose se termine par **ose** s'il est réducteur, ou **oside** s'il n'est pas réducteur. Si l'holoside est ramifié, une ligne verticale est rajoutée au niveau du point de ramification. Le numéro des carbones des OH engagés dans la liaison glycosidique, mentionné entre parenthèse pour chaque deux noms d'oses voisins.

II. 4. 2. Diholosides

Un diholoside est le résultat de la formation d'une liaison osidique entre deux oses. Si un seul carbone anomère est engagé dans la liaison, le second carbone anomère est libre, on parle de **diholoside réducteur** (**maltose**, **lactose**). Si les deux carbones anomères sont engagés dans la liaison osidique, il s'agit d'une liaison **diosidique**, et le diholoside est **non réducteur** (Tableau 7) et ne présente pas de phénomène de mutarotation (**saccharose**, **tréhalose**).

Tableau 7 : Les principaux diholosides.

Structure du disaccharide	Composition et liaison	Remarque
Lactose (sucre réducteur)  (O-β-D-galactopyranosyl(1→4)-glucopyranose) Gal(β1→4)Glc	β-D galactose + α ou β D-glucose β (1→4)	C'est le sucre du lait des mammifères. Une lactase intestinale, ancrée dans la membrane des entérocytes, l'hydrolyse en glucose et galactose qui peuvent être absorbés. L'intolérance au lactose est liée à un déficit en lactase. Le lactose est le substrat de fermentation en acide lactique par des lactobacilles à la base des fermentations fromagères.
Maltose (sucre réducteur)  (O-α-D-glucopyranosyl(1→4)-α-D-glucopyranose)	α-D-glucose + α ou β D-glucose α (1→4)	Il est peu abondant à l'état libre. Il est obtenu lors de la digestion des polyholosides (amidon) par action des amylases. En condition physiologique, il peut s'hydrolyser en 2 glucose par la maltase.
Isomaltose (sucre réducteur)  D-glucopyranosido (α1 → 6) D-glucopyranose,	α-D-glucose + β-D-glucose α (1→6)	C'est un produit de dégradation de l'amidon et du glycogène.

Cellobiose (sucre réducteur) β-D-glucopyranose $\beta 1 \rightarrow 4$ D-glucopyranose  D-glucopyranosido ($\beta 1 \rightarrow 4$) D-glucopyranose	β-D-glucose + α ou β D-glucose $\beta(1 \rightarrow 4)$	C'est un produit de dégradation de la cellulose. Par hydrolyse, il donne 2 molécules de glucose. Non hydrolysé dans l'organisme par la maltase en raison de sa liaison
Tréhalose (sucre non réducteur)  Trehalose α-D-glucopyranosyl α-D-glucopyranoside Glc($\alpha 1 \leftrightarrow 1 \alpha$)Glc	α-D-glucose + α-D-glucose $\alpha(1 \rightarrow 1)$	C'est un osido-oside que l'on trouve dans les champignons, les bactéries ou encore dans l'hémolymphe d'insectes. De nombreux organismes l'accumulent en réponse à des chocs thermiques (froid) ou à la dessiccation.
Saccharose (sucre non réducteur)  Sucrose α-D-glucopyranosyl β-D-fructofuranoside Glc($\alpha 1 \leftrightarrow 2 \beta$)Fru	α-D-glucose + β-D-fructose $\alpha(1 \rightarrow 2)$	C'est un sucre alimentaire provenant de la canne à sucre ou de la betterave.

Hydrolyse chimique

L'hydrolyse des osides peut être réalisée par voie chimique. Elle est réalisée à pH acide (HCl N/10) et à chaud (60°C) en 1 heure. Cette hydrolyse n'a aucune spécificité et toutes les liaisons glycosidiques sont rompues et les produits obtenus sont les unités d'oses.

Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse des liaisons glycosidiques se fait par des catalyseurs enzymatiques d'hydrolyse (hydrolases), spécifiques des liaisons glycosidiques (glycosidases). La spécificité

est telle qu'une glycosidase peut agir uniquement sur un seul substrat (spécificité principale) et sur un seul anomère et même un seul type de liaison (spécificité secondaire). Par exemple, nous aurons des glycosidases, des α ou β -glycosidases, des α ou β -glucosidases, etc... Quelques exemples peuvent être cités :

Action des osidases (disaccharidases)

Dans les conditions cellulaires, l'hydrolyse de la liaison osidique est catalysée par des enzymes, appelées osidases, qui présentent une spécificité du type de liaison. Ces enzymes hydrolysent uniquement les diholosides et n'ont aucune action sur des polyosides d'ordre supérieur. Citons quelques dissaccharidases :

Tréhalase : enzyme intestinale qui est une α -glycosidase spécifique des liaisons ($\alpha 1 \rightarrow \alpha 1$).

Saccharase ou sucrase : enzyme intestinale, α -glucosidase, qui hydrolyse la liaison ($\alpha 1 \rightarrow \beta 2$) du saccharose mais aussi la liaison ($\alpha 1 \rightarrow 4$) du maltose.

Invertase : c'est une β -fructosidase spécifique de la liaison ($\alpha 1 \rightarrow \beta 2$). Elle hydrolyse le saccharose mais n'hydrolyse pas le maltose.

Maltase : enzyme intestinale qui est une α -glucosidase spécifique de la liaison ($\alpha 1 \rightarrow 4$) du maltose et de la liaison ($\alpha 1 \rightarrow \beta 2$) du saccharose.

Isomaltase : enzyme intestinale qui est une α -glycosidase spécifique de la liaison ($\alpha 1 \rightarrow 6$) de l'isomaltose.

Lactase : enzyme intestinale qui est une β -galactosidase spécifique de la liaison ($\beta 1 \rightarrow 4$) du lactose. Elle n'hydrolyse pas le cellobiose.

Cellobiase : une β -glucosidase spécifique de la liaison ($\beta 1 \rightarrow 4$) du cellobiose. Elle n'hydrolyse pas le lactose.

II. 4. 3. Autres oligosides

Deux triholosides sont trouvés à l'état naturel : le raffinose et le gentianose (Fig. 44). Le **raffinose** est présent dans la betterave est éliminé lors du raffinage du sucre. Il est noté Gal ($\alpha 1 \rightarrow 6$) **Saccharose** ou encore : D-galactopyranosido ($\alpha 1 \rightarrow 6$) D-glucopyranosido ($\alpha 1 \rightarrow \beta 2$) D-fructofuranoside. Le **gentianose** est présent dans la gentiane. Il est noté Glc ($\alpha 1 \rightarrow 6$) Saccharose.

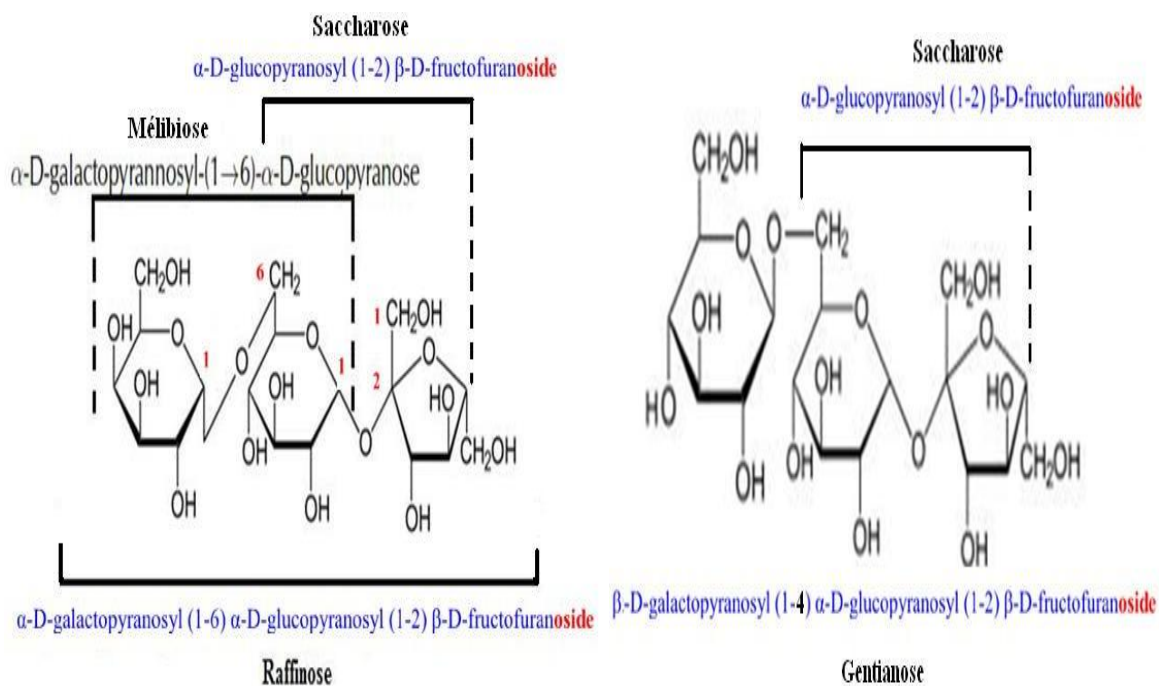


Fig. 44. Structure du raffinose et du gentianose.

II. 4. 4. Polysaccharides

II. 4. 4. 1. Homopolysaccharides (polyosides homogènes)

Appelés aussi homoglycanes, ils sont formés d'un seul type d'oses ou dérivés d'oses (Tableau 8). Ils sont formés par la condensation répétitive d'un ose par liaison glycosidique dépassant 10 unités pour atteindre plusieurs centaines ou milliers. Les homopolysaccharides peuvent être **linéaires** (amylose, cellulose, chitine) ou **ramifiés** (amylopectine, glycogène). On peut les subdiviser en deux catégories par rapport à leurs fonctions :

Tableau 8 : Les principaux homopolysaccharides.

Nom	Structure	Monomère	Liaison	Type
Amylose	linéaire	D-Glcp	α1→4	Glucane
Cellulose	linéaire	D-Glcp	β1→4	Glucane
Chitine	linéaire	D-GlcpN(Ac)p	β1→4	Chitosane
Amylopectine	ramifiée	D-Glcp	α1→4	Glucane
Glycogène	ramifiée	D-Glcp	α1→4	Glucane

II. 4. 4. 1. 1. Polyosides de réserve

Il s'agit essentiellement des glucosanes (amidon et glycogène) et d'un fructosane (inuline).

Amidon

L'amidon est un haut polymère insoluble dans l'eau froide bien qu'hydrophile avec toutefois une capacité de rétention d'eau d'environ 40%. C'est sous cette forme condensée que les végétaux accumulent les glucides photosynthétisés sous forme de réserve glucidique (blé, pomme de terre, riz, maïs...). Ce homoglycane se présente sous forme de grains avec 2 constituants : **l'amylose** qui représente 15 à 30% de l'amidon est soluble dans l'eau tiède et cristallise par refroidissement et **l'amylopectine** qui représente 70 à 95% de l'amidon donne à chaud un empois visqueux gel).

Amylose

L'amylose (Fig. 45) est un enchaînement linéaire parfaitement répétitif de 1000 à 4000 monomères de D-glucose sans branchement, liés par une liaison glycosidique ($\alpha 1 \rightarrow 4$). Sa masse moléculaire varie de 150 000 à 600 000.

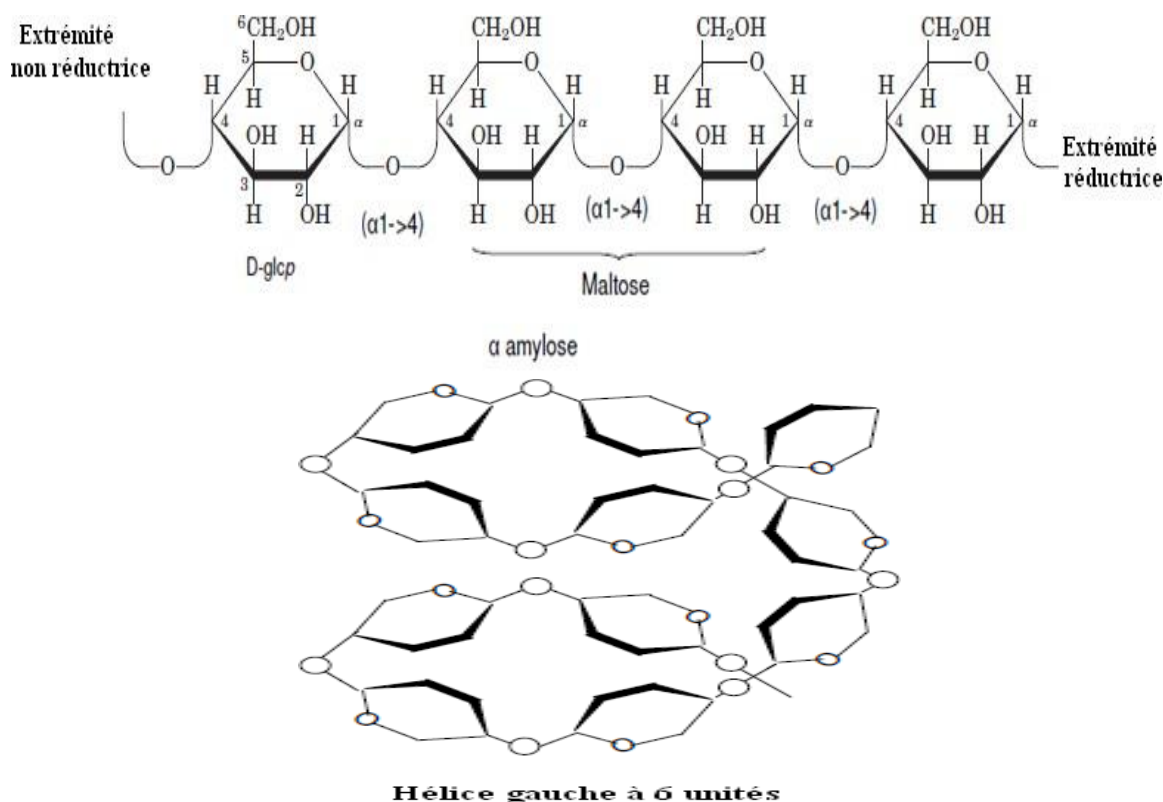


Fig. 45. Structure de l'amylose.

L'analyse des cristaux aux rayons X révèle une structure en hélice gauche par rotation autour de la liaison glycosidique ($\alpha 1 \rightarrow 4$) et maintenue par une liaison hydrogène entre les hydroxyles en C₂ du premier cycle et C₃ du deuxième cycle, hélice à 6 glucoses par tour.

L'action de l'amylose sur l'amylose conduit à la libération de diholoside maltose qui peut être scindé en deux molécules de glucose par hydrolyse acide ou par la maltase.

Amylopectine

L'amylopectine (Fig. 46) se distingue par un nombre de glucose supérieur mais surtout par une structure ramifiée. Sur la chaîne principale ($\alpha 1 \rightarrow 4$) des points de branchement, se répétant environ tous les 20 à 30 résidus, sont formés par une liaison ($\alpha 1 \rightarrow 6$) où le carbone anomérique appartient à la ramification. La totalité de la molécule peut atteindre plus de 40000 résidus glucosidyls et des masses moléculaires de l'ordre de 1 million de g/mol.

Au contraire de la molécule étirée en hélice de la molécule d'amylose, l'amylopectine prend une structure arborescente compactée.

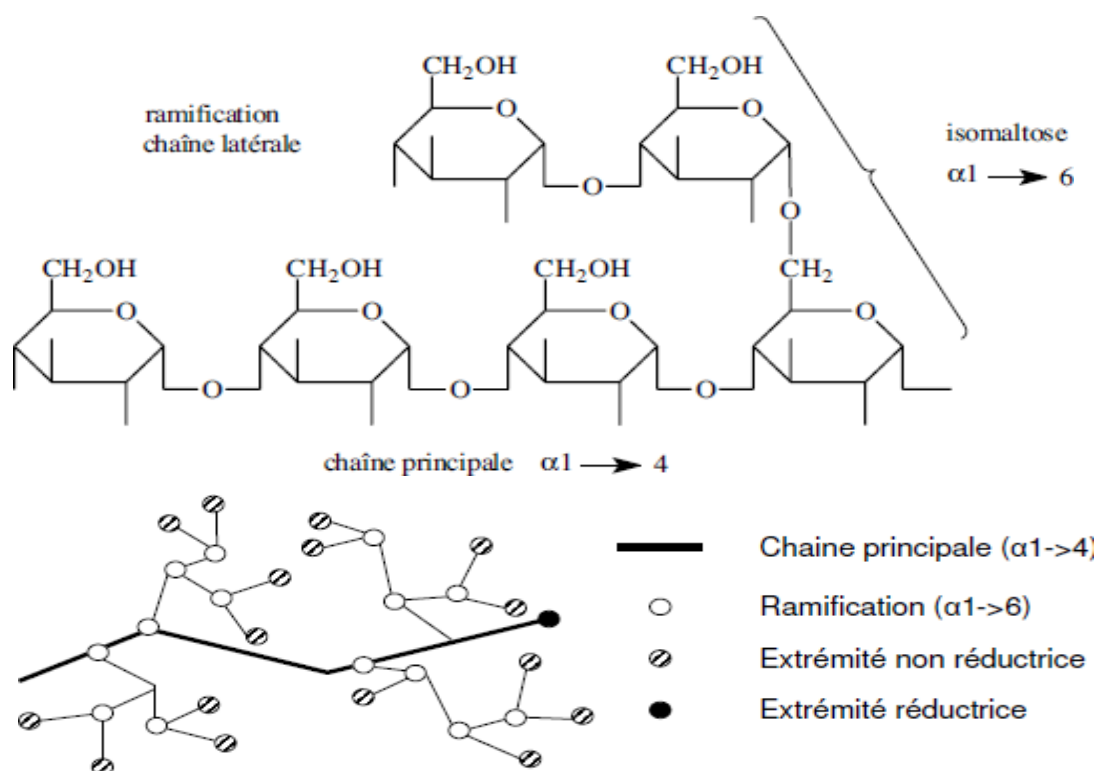


Fig. 46. Structure de l'amylopectine.

Les amylases peuvent libérer, comme pour l'amylose, des maltoses à partir de l'amylopectine précisément en coupant les liaisons $\alpha (1 \rightarrow 4)$. La liaison $\alpha (1 \rightarrow 6)$ est scindée avec une autre enzyme appelée : amylo- α -1,6-glucosidase (enzyme débranchante).

Glycogène

C'est la principale forme de réserve énergétique glucidique des animaux (foie et muscles). C'est un polymère ramifié de glucose (Fig. 47): les résidus glucose sont associés en chaînes

linéaires par des liaisons osidiques de type ($\alpha 1 \rightarrow 4$), avec des ramifications par branchement entre chaînes par des liaisons de type ($\alpha 1 \rightarrow 6$).

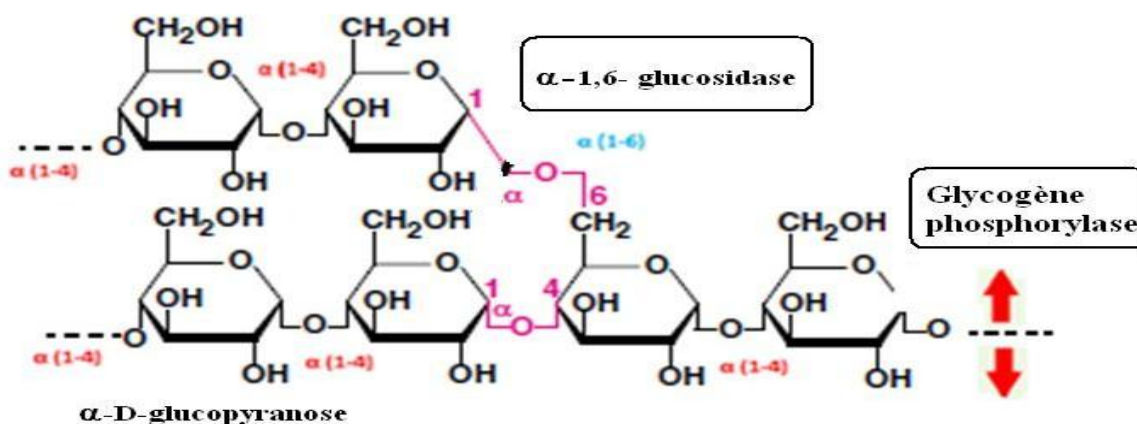


Fig. 47. Structure du glycogène.

La structure du glycogène est analogue à celle de l'amylopectine, mais avec des ramifications plus fréquentes (les branchements ont lieu tous les 8 à 12 résidus et même de 3 à 5 au centre de la molécule et la longueur moyenne des chaînes ramifiées est plus courte), d'où un aspect plus compact et plus dense que l'amylopectine. Le glycogène a une masse molaire encore plus importante pouvant atteindre 100 millions de g/mol.

Le glycogène alimentaire est dégradé comme l'amylopectine. Dans le foie et le muscle, le mécanisme est différent. Une glycogène-phosphorylase activée par les hormones, glucagon dans le foie, adrénaline dans le muscle, fait subir une dégradation séquentielle du glycogène en libérant un résidu d'une extrémité non réductrice, résidu phosphorylé. Cette dégradation séquentielle, pour être complète, a besoin d'un enzyme "débranchant" pour hydrolyser la liaison ($\alpha 1 \rightarrow 6$) : l'amylo α 1-6 glucosidase (Fig. 47).

Inuline

De la famille des fructosanes, c'est un composé de réserve, polymère de β -D-fructofuranose de 30 à 100 unités liés par des liaisons ($\beta 2 \rightarrow 1$) que l'on trouve chez certains végétaux : dahlias, artichauts, topinambours. C'est le seul composé de configuration β connu.

Dextranes

Réserves des bactéries et levures, ce sont des polymères d' α -D-glucose liés par des liaisons ($\alpha 1 \rightarrow 6$), avec d'occasionnels branchements sur les C3 ou C4.

Ils sont un composant de la plaque dentaire, produit de la prolifération bactérienne buccale.

Ils sont utilisés :

- comme substituts du plasma en thérapeutique
- comme phase pour la chromatographie liquide en basse pression, par greffage de groupes fonctionnels ionisés pour les échangeurs d'ions.

II. 4. 4. 1. 2. Polyosides de structure

En général extracellulaires, ils construisent les armatures des exosquelettes d'algues, de végétaux (cellulose), et d'animaux (carapace de chitine des arthropodes). Ce sont des polymères de glucose ou d'un dérivé qui ne sont pas ramifiés et dont la liaison entre unité est une liaison avec l'anomère β .

Cellulose

Présente chez certaines bactéries, elle est le constituant majeur des fibres de parois végétales. La cellulose (Fig. 48) représente la moitié du carbone disponible sur terre, mais il ne constitue pas une source de glucose sauf pour les ruminants.

C'est un polymère linéaire dont la liaison glycosidique est du type : ($\beta 1 \rightarrow 4$). Cette liaison est bloquée dans une configuration "tête-bêche" stabilisée par les liaisons hydrogène entre l'oxygène hétérocyclique d'un monomère et la fonction OH porté par le C₃ du monomère suivant.

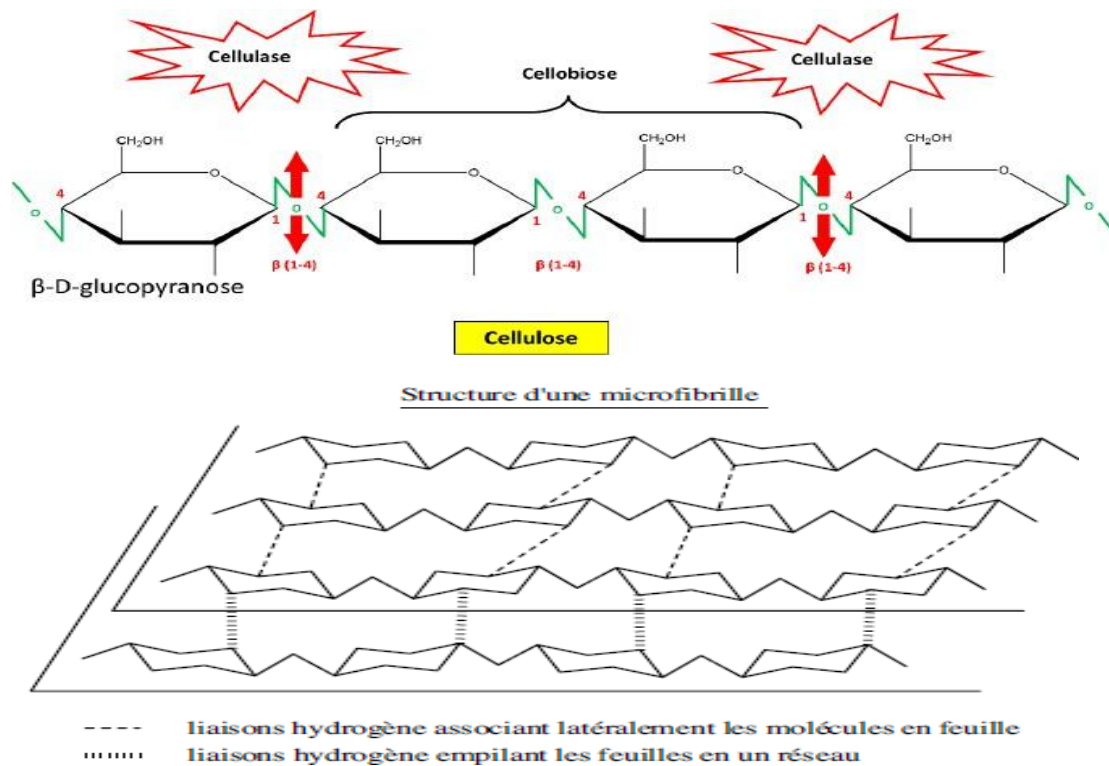


Fig. 48. Structure de la cellulose.

Ces polymères s'organisent en feuilles toujours par l'intermédiaire de liaisons hydrogène entre les différentes chaînes qui se "collent" latéralement. Ces feuilles s'empilent parallèlement avec un décalage constant en microfibrilles (de quelques centaines à 2000 unités et d'épaisseur comprise entre 10 et 25 nm), conformation toujours stabilisée par des liaisons hydrogène entre les unités des différentes feuilles. Ces microfibrilles s'associent en fibres ou en couches croisées. L'édifice ainsi formé est d'une remarquable solidité mécanique et résistance à toute dégradation. La cellulose est employée dans de nombreux produits :

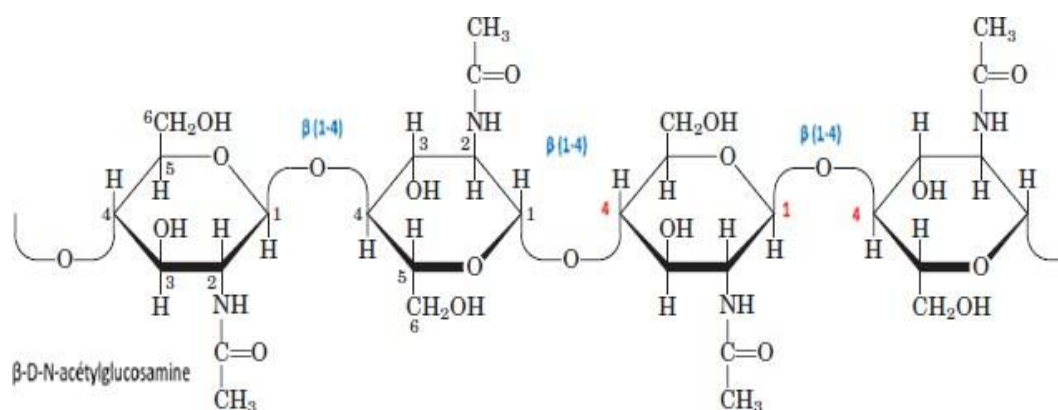
- le coton contient environ 95% de cellulose
- la cellulose est utilisée pour la fabrication du papier, des papyrus
- elle est un support pour des chromatographies d'adsorption et, par greffage de groupes fonctionnels ionisés pour les échangeurs d'ions.

Dégradation de la cellulose

Celle-ci est réalisée par des β -glucosidases, les cellulases. Cette hydrolyse conduit au cellobiose qui sera hydrolysé en glucose par les cellobiases. L'escargot possède des cellulases en abondance, les mammifères en sont dépourvus et ne peuvent assimiler l'herbe sauf les herbivores qui abritent dans leur tube digestif des bactéries saprophytes qui produisent les β -glucosidases nécessaires.

Chitine Glc Nac ($\beta 1 \rightarrow 4$)

La chitine (Fig. 49) est un polymère non ramifié de résidus *N*-acétylglucosamine unis par des liaisons ($\beta 1 \rightarrow 4$). Elle diffère de la cellulose que par le C₂ du glucose : son hydroxyle est remplacé par le groupement acétylamine. Ce polymère a la même structure que la cellulose. Ce polymère constitue l'exosquelette des invertébrés (crustacés, mollusques, insectes).



La chitine

Fig. 49. Structure de la chitine.

II. 4. 4. 2. Polyosides hétérogènes

Appelés aussi hétéropolyosides ou hétéropolysaccharides, ils sont constitués de différents types d'oses ou de dérivés d'oses. On retrouve essentiellement des polymères de structure, constituants des parois cellulaires chez les végétaux et des constituants de la matrice extracellulaire cellulaire et du cell-coat chez les animaux.

a – Glycosaminoglycanes (GAG)

C'est un polymère présentant une répétition d'un motif constitué de deux oses dont l'un est un ose aminé, *N*-acétylglucosamine ou *N*-acétylgalactosamine et un autre ose, acide glucuronique, acide iduronique ou galactose. Les chaînes de GAG peuvent se lier à une protéine conduisant à la formation d'un protéoglycane.

Gommes, partie hydrophile des sécrétions des "gommiers" comme les acacias sont des galactoarabanes (polymères complexes constitués de galactose et d'arabinofuranose) très ramifiés.

Agar-agar ou gélose

Certaines algues rouges (Rhodophycées) synthétisent des polysaccharides qu'elles excrètent dans le milieu de culture et forment un gel d'Agar-agar. C'est un polyoside complexe de D et L-galactose irrégulièrement sulfaté (par hydrolyse la gélose donne Gal + GalNAc + SO₄⁻). Après extraction et purification on obtient l'agarose (appelé aussi gélose).

Ce polysaccharide acide sulfaté possède de grands intérêts par sa réticulation et son grand pouvoir de rétention d'eau (il est très hydrophile). Il permet la réalisation de milieux de culture en microbiologie, support d'électrophorèse (biologie moléculaire) et d'immuno-diffusion.

Alginates

Les algues brunes fournissent les **alginates**, polyuronides linéaires faits d'un dioside constitué de deux acides uroniques (Fig. 51), les acides β -D-mannuronique (β -D-ManUA) et α -L-guluronique (α -L-GulUA) liés par une liaison ($\alpha 1 \rightarrow 4$).

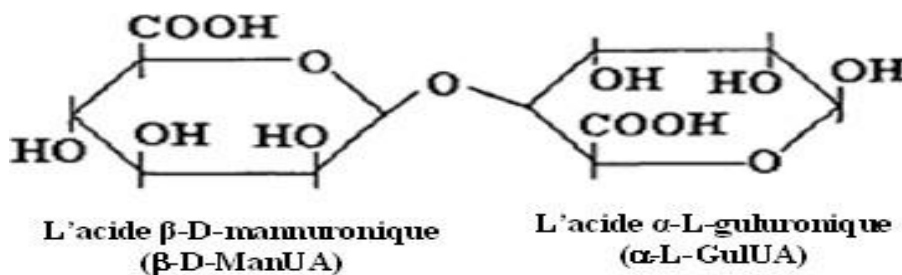


Fig. 50. Structure des alginates.

Carraghénates

Des algues rouges, sont extrait aussi des carraghénates, épaississants et gélifiants employés dans l'industrie alimentaire : ce sont des polymères linéaires d'unités (1000 résidus) diosidiques de galactose sulfaté (sous-unités appelées carrabiose) liés par une liaison ($\beta 1 \rightarrow 4$).

Ces carrabioses sont liés entre eux dans la chaîne par des liaisons ($\alpha 1 \rightarrow 3$). De plus, les galactoses sont soit estérifiés par de l'acide sulfurique, soit porteurs d'un pont oxygène entre les carbones 3 et 6 (anhydrogalactose). La présence d'acide sulfurique confère aux carraghénanes un caractère acide marqué. Il existe différents types de carrabioses dont trois principaux : Le kappa (k) carrabiose, Le iota (i) carrabiose, Le lambda (l) carrabiose (Fig. 50).

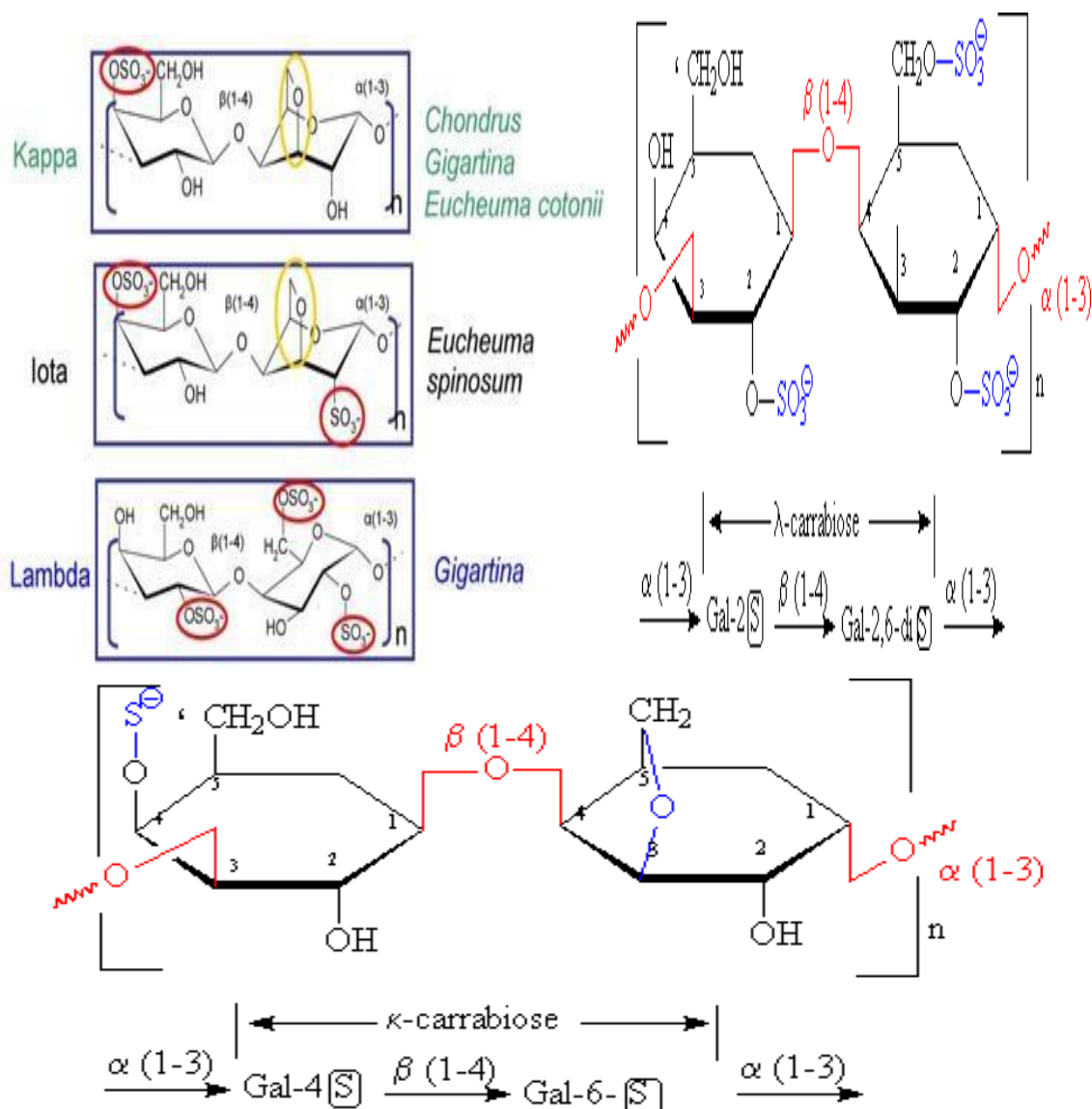


Fig. 51. Structure des différents types de carrabioses.

Polysaccharides bactériens

Ils sont constitués d'oses, d'osamines et d'acides uroniques (Fig. 52). Ce sont des polysaccharides caractéristiques des capsules, responsables de la virulence de la bactérie.

Ils possèdent certains sucres particuliers comme les didésoxy 3-6 hexoses (par ex. le Tyvélose) qui ont pour but de protéger les bactéries des glycosidases classiques. Ils contiennent de l'acide muramique dans leur paroi (un résidu d'acide lactique lié par une liaison éther sur l'OH en 3 de GlcNAc).

Les liaisons osidiques de l'acide muramique sont hydrolysées par le lysozyme. Le lysozyme possède ainsi un effet bactériolytique par destruction de la paroi des bactéries (on le trouve par ex. dans le blanc d'oeuf et dans le lait).

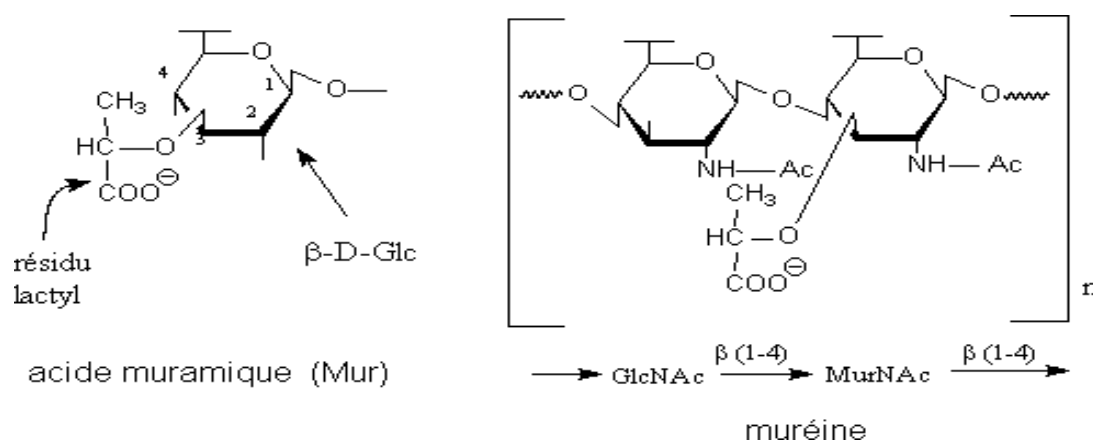


Fig. 52. Structure des polysaccharides bactériens.

II. 4. 4. 3. Hétérosides

La fonction semi-acétalique d'un ose peut réagir avec un composé qui n'est pas de nature glucidique. La copule non osidique est appelée aglycone. On obtient alors un hétéroside désigné très souvent sous le terme de **glycoconjugués**.

a- Glycolipides

Des lipides de membranes des cellules animales ou bactériennes portent des chaînes oligo ou polyosidiques : ce sont des **glycolipides**. Les glycolipides constituent un groupe très hétérogène de glycoconjugués définis par la liaison covalente de divers glycanes à différents groupes prosthétiques lipidiques. Dans les organismes supérieurs, on en distingue trois types principaux : les glyco-glycérolipides, les glycosphingolipides et les glycosyl-phosphoinositides. Ils sont essentiellement présents dans les membranes des cellules eucaryotes où leurs têtes polaires constituées d'oligosides plus ou moins complexes apparaissent au niveau de la surface externe.

b- Lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides (LPS) sont des constituants de la membrane externe des bactéries gram négatives. Ainsi, le LPS de *Salmonella typhimurium* est formé d'un lipide A, glycolipide où six acides gras sont fixés sur deux résidus glucosamine dont l'un est lié à un oligoside complexe. Ce dernier est lui-même formé d'un oligoside basal et d'une chaîne O-spécifique, dont la composition chimique varie d'une souche à l'autre. Certains LPS sont toxiques pour l'homme et les animaux ; ils peuvent alors être responsables du syndrome de choc toxique observé lors d'infections par des bactéries gram-négatives.

c- Glycoprotéines (GP)

Ce sont des protéines sur lesquelles sont greffées des chaînes glucidiques courtes dont la fraction varie en général de 1 à 20%. Les osides sont fixés sur les protéines par deux types de liaisons formées par condensation : la liaison **N-osidique** (qui s'établit en général entre le dérivé N-acétylamine du glucose et la fonction amide de l'**asparagine**) et la liaison **O-osidique** est plus diverse (établie par le dérivé N-acétylamine du galactose chez les mammifères (mannose pour les levures...) et la fonction alcool de la **sérine** ou de la **thrénine**).

d- Protéoglycannes (PG)

Ce sont des polysides souvent très longs (les glycosaminoglycannes ou GAG) sont associés à une protéine en restant très majoritaires (> 90%). Ils se présentent comme des protéines solubles ou sécrétées dans la matrice extracellulaire ou comme des protéines intrinsèques transmembranaires (Fig. 53).

Dans les protéoglycannes matriciels, les chondroïtines 4- ou 6-sulfate se trouvent dans les cartilages, les tendons, les ligaments et les parois de l'aorte ; le dermatane sulfate est présent dans la peau et certains vaisseaux ; les kératanes sulfate sont rencontrés dans certaines structures cornées : corne, griffe, ongle, mais aussi dans la cornée, les cartilages, les os (Fig. 53). Les hyaluronates, d'une masse moléculaire pouvant atteindre 10^7 , jamais liés à des protéines, donnent les solutions très visqueuses présentes dans le vitré de l'oeil et le liquide synovial des articulations. Les héparanes sulfate constituent une famille très hétérogène ; l'un de ses membres est l'héparine, anticoagulant synthétisé par les mastocytes et sécrété dans le sang circulant où il active l'antithrombine III (Fig. 53).

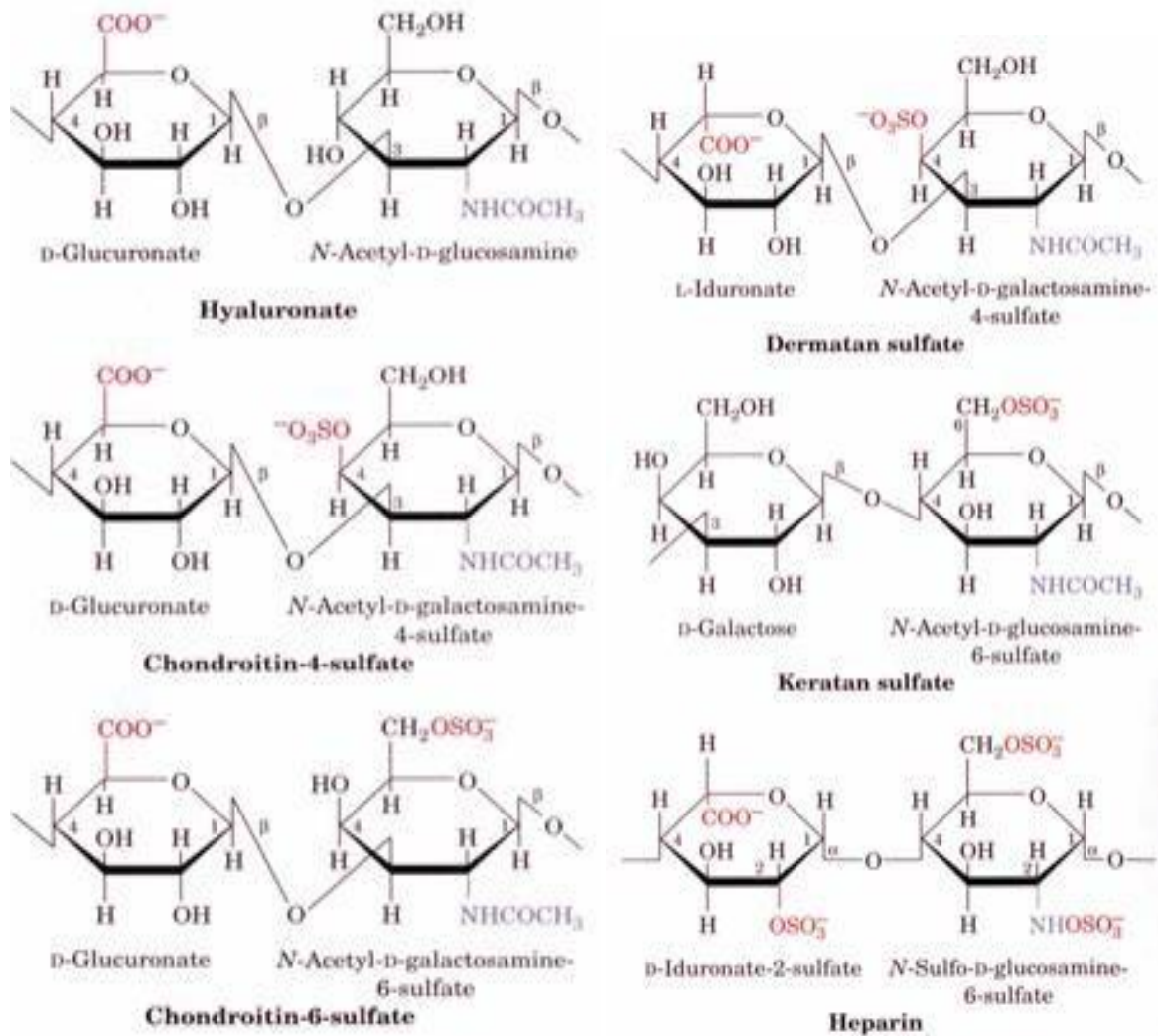


Fig. 53. Structure de certains protéoglycannes.

e- Peptidoglycannes

Ce sont des molécules très volumineuses, composées par l'association covalente de protéines et de polymères glucidiques appartenant à la famille des glycosaminoglycannes (GAG) (Fig. 54). Ces derniers résultent de la polycondensation linéaire d'unités d'osamines et d'acides uroniques qui peuvent être sulfatés. La majorité de ces composés se trouvent dans la matrice extracellulaire (tissu conjonctif), dans les membranes plasmiques et quelques-uns sont intracellulaires.

Les peptidoglycannes forment la paroi des bactéries qui leur donne leur forme et les protège. La structure de la muréine qui constitue la paroi de *Staphylococcus aureus*, est une association covalente de:

- **polyoside** : répétition par des liaisons β d'une séquence diosidique de N-acétylglucosamine, mais l'un des oses (MurNAc) est substitué par condensation sur la fonction alcool du C₃ avec

l'acide lactique (acide muramique) et de deux oligopeptides : un térapeptide et un pentapeptide. Le réticulage est formé par pontage grâce à des liaisons amide : chaque MurNAc lie par son bras carboxyle l'extrémité N-terminal du térapeptide. Le pentapeptide relie les térapeptides de deux chaînes par son extrémité N-terminal avec l'extrémité C-terminal d'un térapeptide et par son extrémité C-terminal avec le NH₂ de la lysine, 3^{ème} aminoacide de l'autre térapeptide.

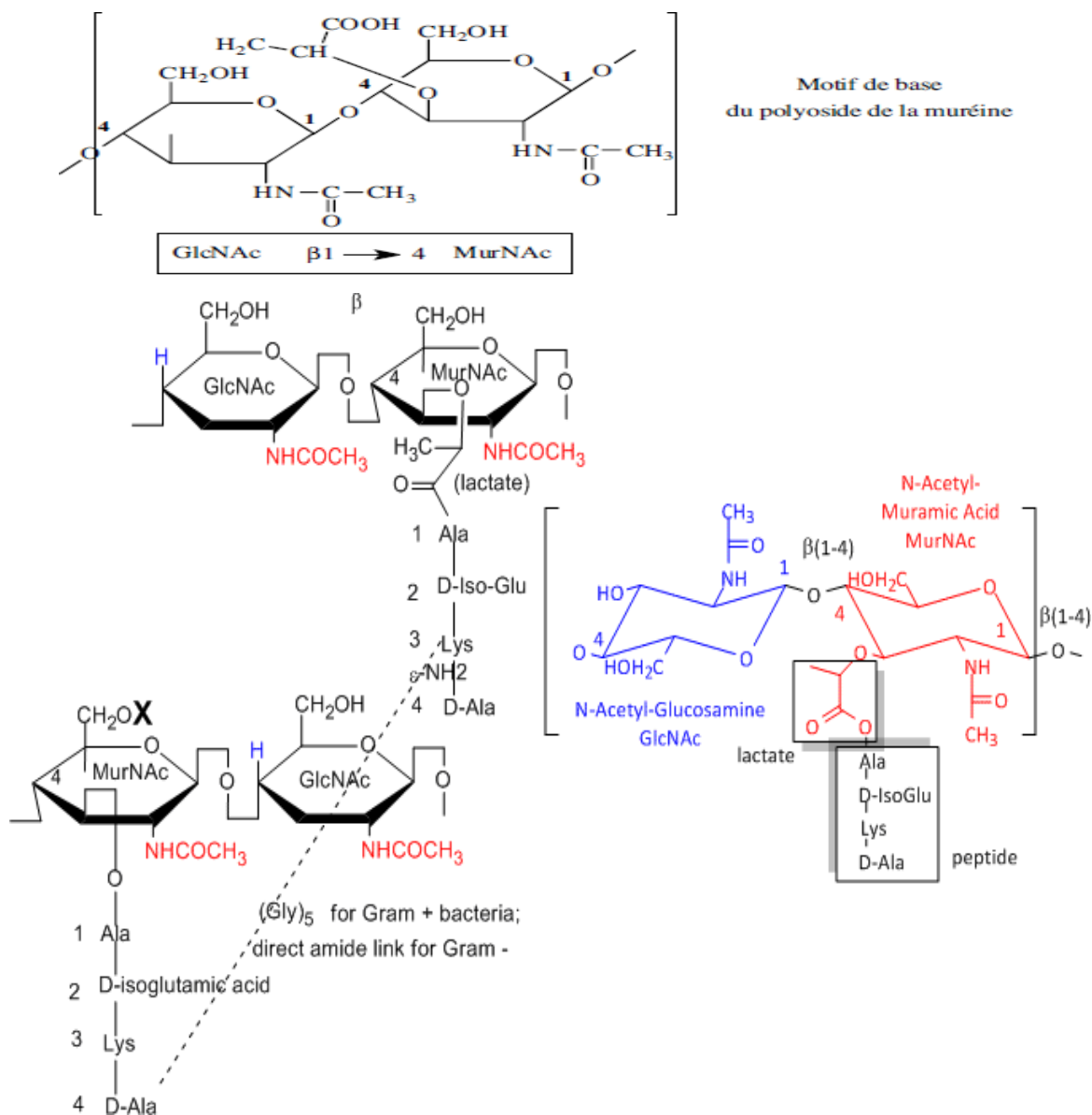


Fig. 54. Structure du peptidoglycane formant la paroi des bactéries.

**CHAPITRE
III****Lipides.
Structure et propriétés physicochimiques****III. 1. Présentation générale**

Les lipides (du grec *lipos*, graisse) constituent un groupe vaste et hétérogène de substances d'origine biologiques, qui se dissolvent aisément dans des solvants organiques (méthanol, chloroforme, cyclohexane, éther éthylique, acétone...) mais qui sont, au contraire, peu ou pas solubles dans l'eau (comportement hydrophobe).

Les lipides peuvent être classés en fonction de leur nature chimique et du rôle qu'ils tiennent dans la structure et le fonctionnement des organismes. On peut ainsi distinguer : Les lipides de structure (phospholipides ou encore des sphingolipides), les lipides de réserve (les triglycérides) et les lipides ayant une activité biologique (les eicosaonoides : prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes, leucotriènes).

III. 2. Classification

Il est possible de classer les lipides en trois grandes catégories (Fig. 55):

III. 2. 1. Lipides simples ou homolipides

Ces lipides sont constitués d'atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ce sont des lipides neutres, hydrolysables constitués d'acides gras liés par une liaison ester à un alcool qui peut être de 3 types : un glycérol (cas d'un glycéride ou glycérolipide), un stérol (cas d'un stéride) ou un alcool gras (cas d'un céride).

III. 2. 2. Lipides complexes ou hétérolipides

A la composition atomique précédente s'ajoute le phosphore, l'azote, le soufre ou un groupement glucidique (glycérophospholipides, sphingolipides et glycéroglycolipides). Ce sont des lipides hydrolysables polaires qui contiennent au moins un acide gras, qui peut être considéré comme l'élément de base commun à tous les lipides.

III. 2.3. Composés à caractère lipidique

Ce sont des composés non hydrolysables. L'absence d'acides gras dans leur structure fait qu'ils ne sont pas de vrais lipides. Toutefois, leur comportement hydrophobe (et liposoluble) fait qu'on les rattache aux lipides. Ils regroupent les dérivés des stérols et les vitamines liposolubles.

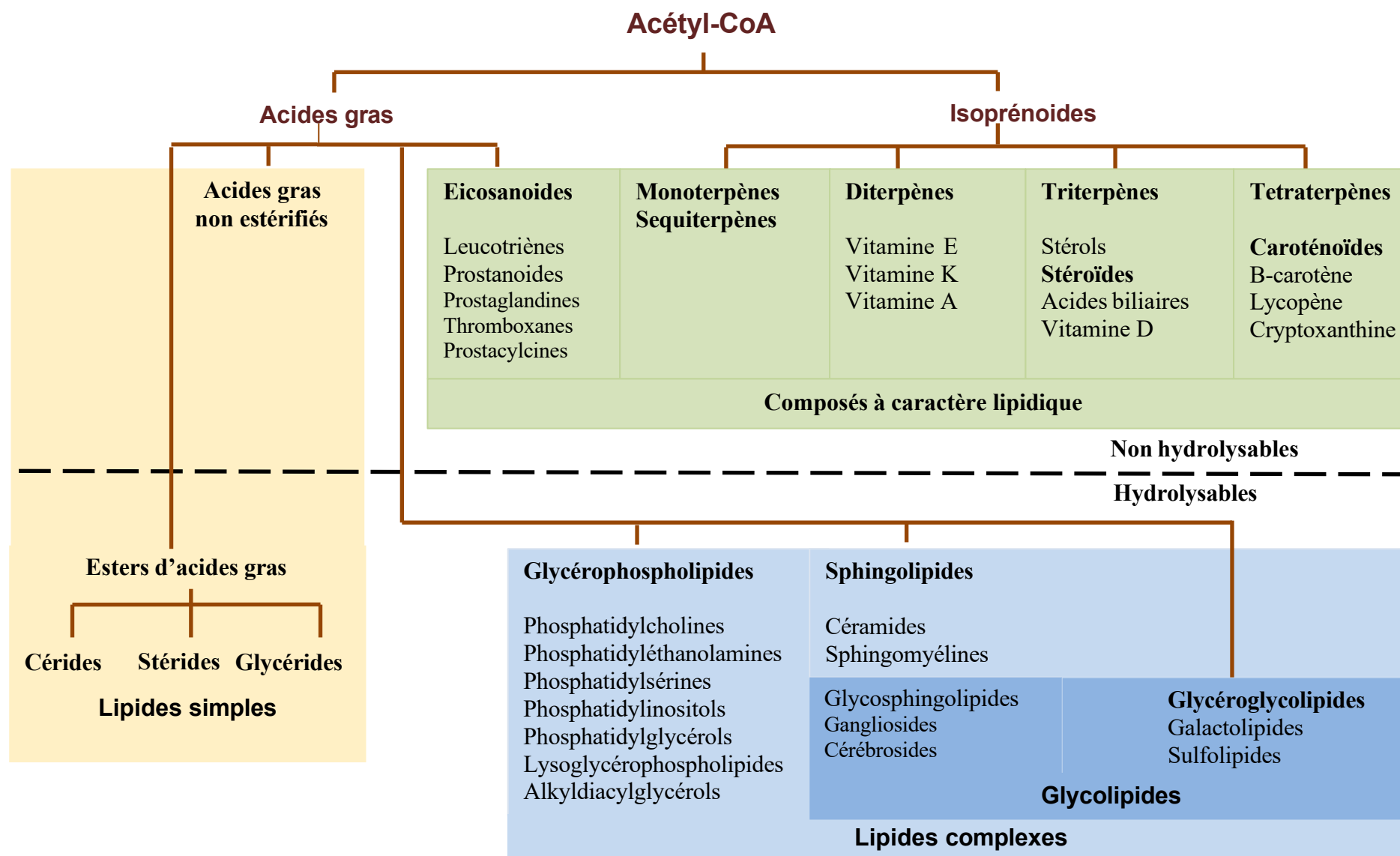


Fig. 55. Classification des lipides.

III. 3. Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques caractérisés par une répétition de groupements méthylènes $-CH_2-$ formant une longue chaîne aliphatique (Fig. 56), généralement constituée d'un nombre pair d'atomes de carbone (de 4 à 36 atomes de carbone). Ils sont rarement à l'état libre dans la nature, et se trouvent essentiellement sous forme estérifiée comme constituants majeurs des différents lipides. Ils présentent dans leur structure : un groupement carboxyle ($COOH$), à une extrémité, qui donne le caractère acide. Il est dissocié à pH 7, et de caractère hydrophile ; une chaîne linéaire hydrocarbonée à caractère hydrophobe.

On identifie les carbones par des numéros : C_1 est le carbone du carboxyle de tête, on a ensuite C_2 , C_3 , etc., jusqu'au C terminal du groupement méthyle. Une autre identification attribue la lettre α au C_2 et β au C_3 , le C terminal est noté oméga ω .

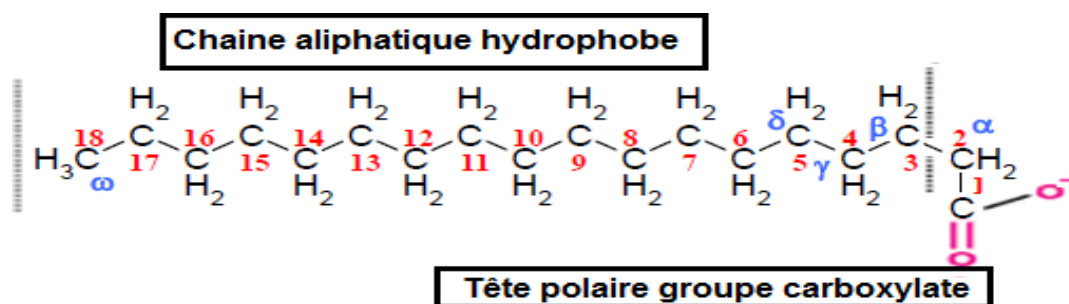


Fig. 56. Structure d'un acide gras.

Les différents acides gras se différencient d'une part par le nombre de carbones, d'autre part par la présence ou non d'insaturations (doubles liaisons).

III. 3. 1. Classification des acides gras

III. 3. 1. 1. Acides gras volatils

Ce sont des acides gras particuliers car ils sont très courts (2 à 4 carbones). De ce fait, ils passent facilement à l'état gazeux d'où leur nom générique. Cette singularité est encore renforcée par leur hydrosolubilité. On en distingue trois : L'acide acétique ($C_2 : 0$), nom usuel de l'acide éthanoïque ; l'acide propionique ($C_3 : 0$), également appelé acide propanoïque et l'acide butyrique ($C_4 : 0$) ou acide butanoïque.

Ces molécules peuvent être produites par la flore intestinale (microbiote), et être absorbées par la muqueuse intestinale à des fins énergétiques.

L'acide butyrique entre dans la composition du beurre. L'acide propionique se retrouve dans les fromages affinés. L'acide acétique est présent dans le vinaigre.

III. 3. 1. 2. Acides gras saturés

Ces molécules présentent une formule générale $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$. Leurs chaînes aliphatiques ne présentent pas de double liaison, d'où leur nom générique (Fig. 57). De ce fait, seule la fonction carboxylique est dotée de propriétés réactionnelles.

On représente leur symbole par C suivi du nombre de carbones et de 0 pour l'absence de double liaison puisqu'ils sont saturés. Par exemple l'acide palmitique, à 16 atomes de carbone, s'écrit **C₁₆:0**.

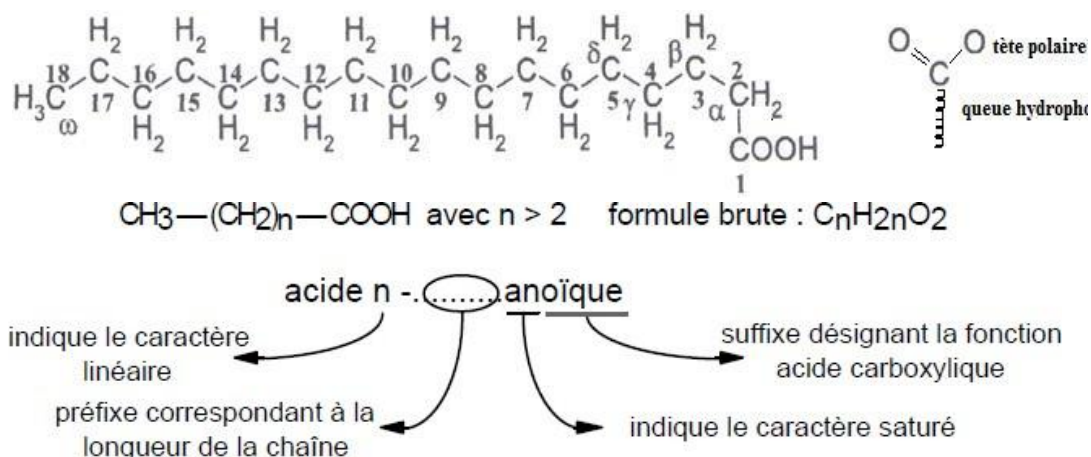


Fig. 57. Structure et nomenclature d'un acide gras saturé.

Les plus abondants sont l'acide palmitique à 16C et l'acide stéarique à 18C. Pour les plantes supérieures et les animaux, les acides gras les plus communs ont de 14 à 20 carbones, avec une nette prédominance de ceux à **16 ou 18 carbones** (Tableau 9).

Les acides dont le nombre de carbones est inférieur à 12, sont trouvés dans le lait des mammifères et bien sûr dans le beurre. Les acides gras dont le nombre de carbones est supérieur à 24, sont essentiellement des composants des cires protectrices fabriquées par des plantes, des bactéries et des insectes.

III. 3. 1. 3. Acides gras insaturés

Ils présentent dans leur molécule une ou plusieurs doubles liaisons entre deux atomes de carbone successifs $-\text{HC}=\text{CH}-$. On dit qu'ils sont mono ou poly-insaturés. Leur symbole comporte (Fig. 58) le nombre de carbones suivi du nombre de doubles liaisons, leurs configurations (**cis** ou **trans**) et la position des doubles liaisons est indiquée, en exposant, sur la lettre delta Δ . L'acide oléique s'écrit **C₁₈:1 Δ^9** . Exemple : l'acide oléique en C₁₈ possède une double liaison en position 9. La présence de ces doubles liaisons leur confère des propriétés physico-chimiques particulières.

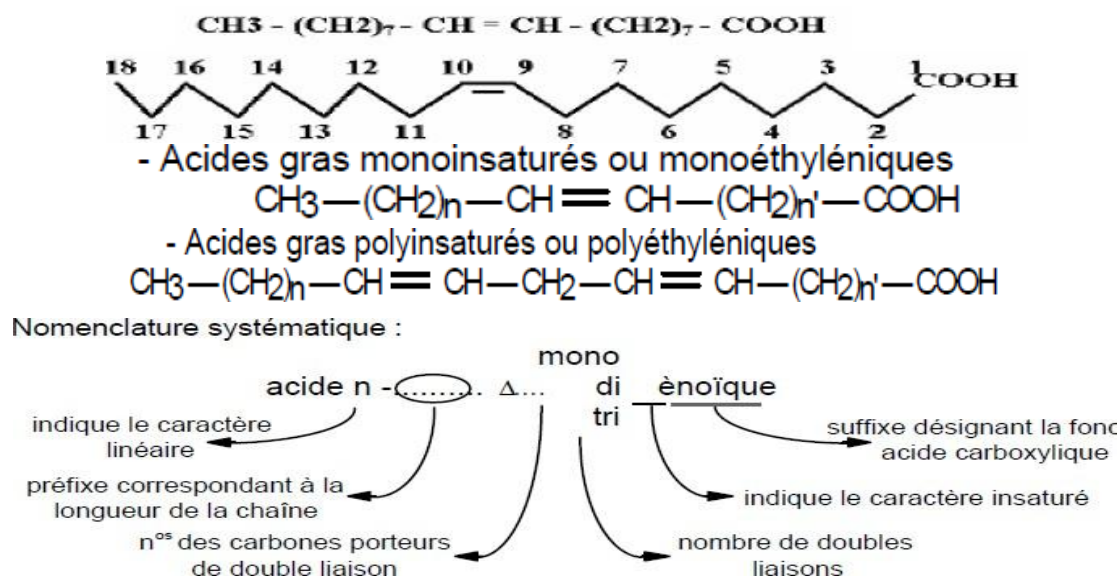


Fig. 58. Structure et nomenclature d'un acide gras insaturé.

Dans ces acides gras, les doubles liaisons sont en configuration isomérique *cis* où les substituants H sont localisés du même côté (Fig. 59). Cette configuration *cis* provoque une courbure de la chaîne d'un angle de flexion de 30°.

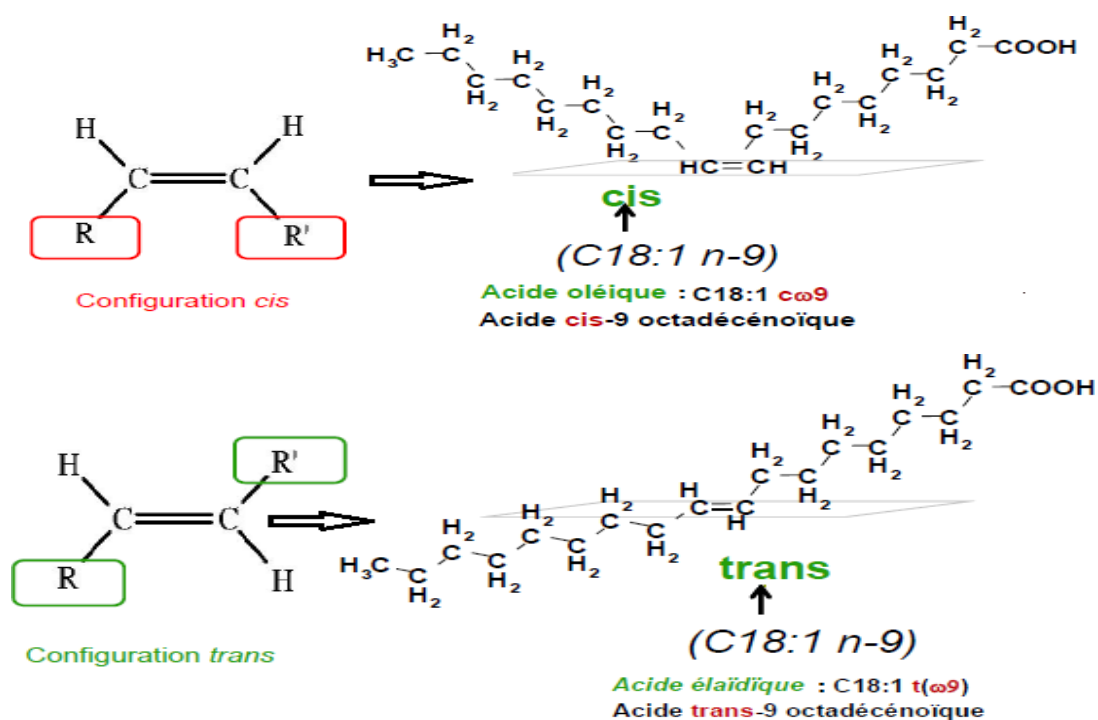


Fig. 59. Les configurations cis et trans d'un acide gras.

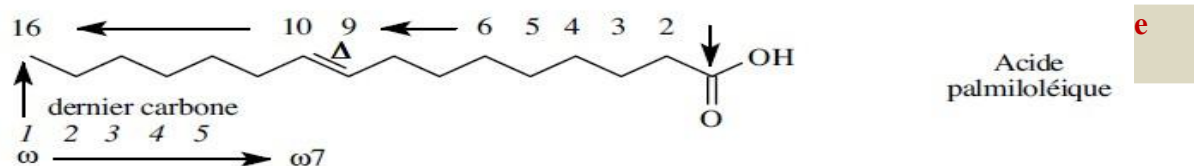
Dans la plupart des acides gras monoinsaturés (Tableau 9), la double liaison se situe entre les carbones C₉ et C₁₀ (Δ⁹). Les acides gras polyinsaturés comportent dans leurs chaînes plusieurs doubles liaisons toujours séparées par un ou plusieurs groupes méthylènes : -CH=CH-CH₂ - CH₂-CH=CH-CH₂-. Les doubles liaisons sont en configuration cis et

souvent en position C₉, C₁₂, C₁₅ (Δ^9 , Δ^{12} et Δ^{15}) ; l'acide arachidonique 20 : 4($\Delta^{5,8,11,14}$), précurseur des hormones eicosanoïdes, est une remarquable exception.

A côté de la numérotation systématique, les acides gras insaturés sont classés en diététique par série et non par la longueur de leur chaîne (Fig. 60), le groupement méthyle terminal est noté ω 1. Il existe 4 séries principales : ω 3, ω 6, ω 7 et ω 9.

Soit en partant du **carboxyle (1^{er} carbone)** : le symbole est : Δ^n

Dénomination systématique



Dénomination diététique

En partant du méthyl (dernier carbone) : le symbole est ω

Fig. 60. Les deux nominations possibles d'un acide gras.

Les ω 3 ont une double liaison sur le troisième carbone en partant de ω 1, ainsi 18:3 ω 3 est l'acide α linolénique. Les ω 6 ont une double liaison sur le sixième carbone en partant du méthyle ω 1 (18:2 ω 6 est l'acide linoléique). Les végétaux produisent ces acides gras, par contre les mammifères n'ayant pas l'enzyme qui permet l'introduction des doubles liaisons sur les atomes de carbone au-delà du carbone C₉, ne peuvent pas synthétiser ces deux acides gras appelés « **acides gras essentiels** ». L'homme doit trouver les acides gras ω 3 et ω 6 dans son alimentation. L'importance des ω 3 et ω 6 est due au fait qu'ils sont les précurseurs des prostaglandines et d'autres molécules indispensables ayant des activités biologiques.

Les acides gras insaturés représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux. La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones.

Les acides gras polyinsaturés peuvent perdre un hydrogène c'est l'auto-oxydation. Il y a formation d'un radical libre lipidique, toxique pour la cellule, qui en réagissant avec O₂ forme un radical peroxyde destructeur de la cellule. Pour supprimer ces radicaux toxiques, la cellule fait intervenir des enzymes de protection : la superoxyde dismutase et les peroxydases. Les vitamines C (acide ascorbique) et E (α -tocophérol) piègent ces radicaux libres).

Les familles les plus importantes des acides gras ont pour précurseurs l'acide oléique 18:1 Δ^9 , l'acide linolénique 18:3 $\Delta^{9,12,15}$, et l'acide linoléique 18:2 $\Delta^{9,12}$. À partir de ces trois composés les autres acides gras les plus courants, sont formés chez les animaux par une suite d'allongements et de désaturations.

Tableau 9: Les acides gras saturés et insaturés.

Longueur relative	Nbe de C	Nb de dl	Dénomination	Nom commun ou usuel	Formule abrégé et série	
Chaine courte	4	0	n-Butanoïque	Ac butyrique	C4 :0	Beurre, rumen
	6	0	n-Hexanoïque	Ac caproïque	C6 :0	Lait de vache
	8	0	n-Octanoïque	Ac caprylique	C8 :0	
	10	0	n-Décanoïque	Ac caprique	C10 :0	
Chaine moyenne	12	0	n- Dodécanoïque	Ac laurique	C12 :0	Laurier
	14	0	n-Tétradécanoïque	Ac myristique	C14 :0	Muscade
	16	0	n-Hexadécanoïque	Ac palmitique	C16 :0	Graisses animales et végétales (Huile de palme)
	16	1	Cis 9- Hexadécénoïque	Ac palmitoléique	C16 :1 Δ^9 ou C16 :1 ω^7	Graisses animales (poissons marins)
	18	0	n- Octadécénoïque	Ac stéarique	C18 :0	Graisses animales
	18	1	Cis 9- Octadécénoïque	Ac oléique	C18 :1 Δ^9 ou C18 :1 ω^9	Huile d'olive
	18	1	Cis 11- Octadécénoïque	Ac vaccénique	C18 :1 Δ^{11} ou C18 :1 ω^7	Bactéries
	18	2	<u>Cis, cis 9, 12- Octadécadiénoïque</u>	<u>Ac linoléique</u>	C18 :2 Δ^9 C18 :2 ω^6	Huiles végétales (tournesol, soja, maïs)
	18	3	<u>Tout Cis 9, 12, 15 - Octadécatriénoïque</u>	<u>Ac linoléique</u>	C18 :3 Δ^9 C18 :3 ω^3	Huiles végétales (colza, soja)
Chaine longue	20	0	n-Eicosanoïque	Ac arachidique	C20 :0	Arachide
	20	4	Toutes Cis 5, 8, 11, 14 Eicosatétraénoïque	Ac arachidonique	C20 :4 $\Delta^{5,8,11,14}$ ou C20:4 ω^6	Animaux
	20	5	Tts Cis 5, 8, 11, 14, 17 Eicosapentaénoïque	Ac EPA	C20 :4 $\Delta^{5,8,11,14,17}$ ou C20:5 ω^3	Huiles de poisson
	22	0	n-Docosanoïque	Ac béhénique	C22 :0	
	22	0	Cis 13 Docosanoïque	Ac érucique	C22 :1 Δ^{13}	Colza, Moutarde
	22	0	<u>Ttes Cis 4, 7, 10, 13, 16, 19 Docosa-hexadécénoïque</u>	<u>Ac cervonique ou DHA</u>	C22 :6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ C22:6 ω^3	Poissons gras
	24	0	n-Tetracosanoïque	Ac lignocérique	C24 :0	Cerveau
	24	1	Cis 15 Tetracosénoïque	Ac nervonique	C24 :1 Δ^{15} ou C24:1 ω^9	Cerveau
	26	0	n- Hexacosanoïque	Ac cérotique	C26 :0	Cires des plantes
	28	0	n- Octacosanoïque	Ac montanique	C28 :0	Bactéries
	30	0	n-Triacontanoïque	Ac mélissique	C30 :0	Insectes
	32	0	n- Dotriacontanoïque	Ac lacéroïque	C32 :0	

III. 3. 1. 4. Acides gras atypiques

III. 3. 1. 4. 1. Acides gras hydroxylés

Les végétaux sont capables de synthétiser une série d'acides gras hydroxylés comme par exemple l'acide ricinoléique (acide 12-hydroxy-9-cis-octadécénoïque) 18 : 1 ω ⁹ (Fig. 61). Certains des ces acides gras hydroxylés servent à la formation de la cutine.

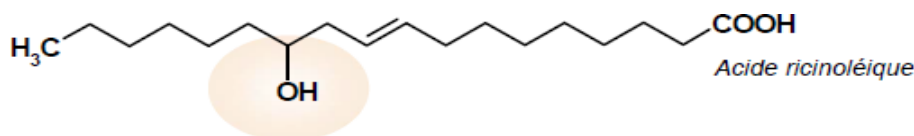


Fig. 61. Structure de l'acide ricinoléique : un acide gras hydroxylé présent chez les végétaux.

Chez les mammifères, d'autres types d'acides gras hydroxylés sont trouvés. Certains glycolipides renferment de grandes quantités d'acides α -hydroxylés (OH sur le carbone 2) à 22, 23, 24 et 25 atomes de carbone.

III. 3. 1. 4. 2. Acides gras ramifiés

Les acides gras les plus courants comportent une ramification (méthyl, éthyl) placée sur la chaîne carbonée. Un exemple est fourni par l'acide-15-méthylhexadécénoïque, particulièrement abondant chez les bactéries Gram⁺.

Dérivé du phytol, l'acide phytanique (l'acide 3, 7, 11, 15 méthyl hexadécanoïque) est un constituant des certains lipides bactériens, en particulier chez les bactéries halophiles et les thermophiles (Fig. 62). Cet acide est normalement catabolisé chez l'homme. L'absence de sa dégradation conduit à son accumulation dans les tissus (Maladie de Refsum).

Chez d'autres bactéries (mycobactéries, corynébactéries), les acides mycoliques sont des composés majeurs de la paroi cellulaire (Fig. 62). Ce sont des acides ramifiés à très longue chaîne. La chaîne principale peut avoir jusqu'à 70 carbones. Elle peut être ramifiée, hydroxylée, porteuse de groupe cétonique ou de cycle propanique.

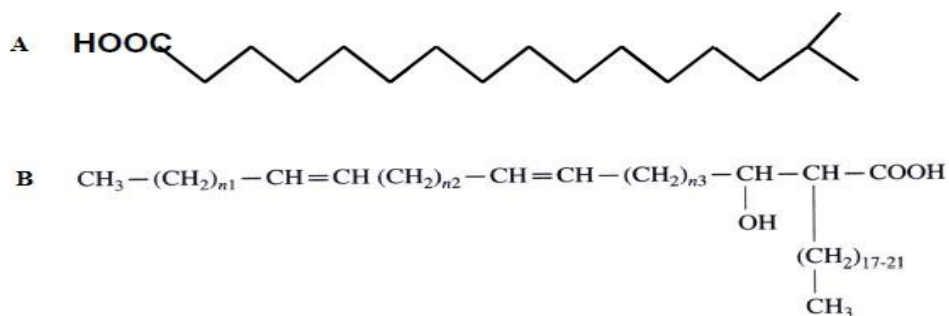


Fig. 62. Structure de l'acide phytanique (A) et des acides mycoliques (B).

III. 3.1.4.3. Prostaglandines et leukotriènes

Les prostaglandines et leukotriènes (Fig. 63) dérivent des acides gras polyinsaturés à 20 carbones $\omega 3$ et $\omega 6$ (d'où le nom d'eicosanoïdes) et plus particulièrement de l'acide arachidonique, sous l'action de la cyclooxygénase (prostaglandines) et de la liopoxygénase (leukotriènes). Chez les mammifères, ce sont des composés à actions hormonales diverses.

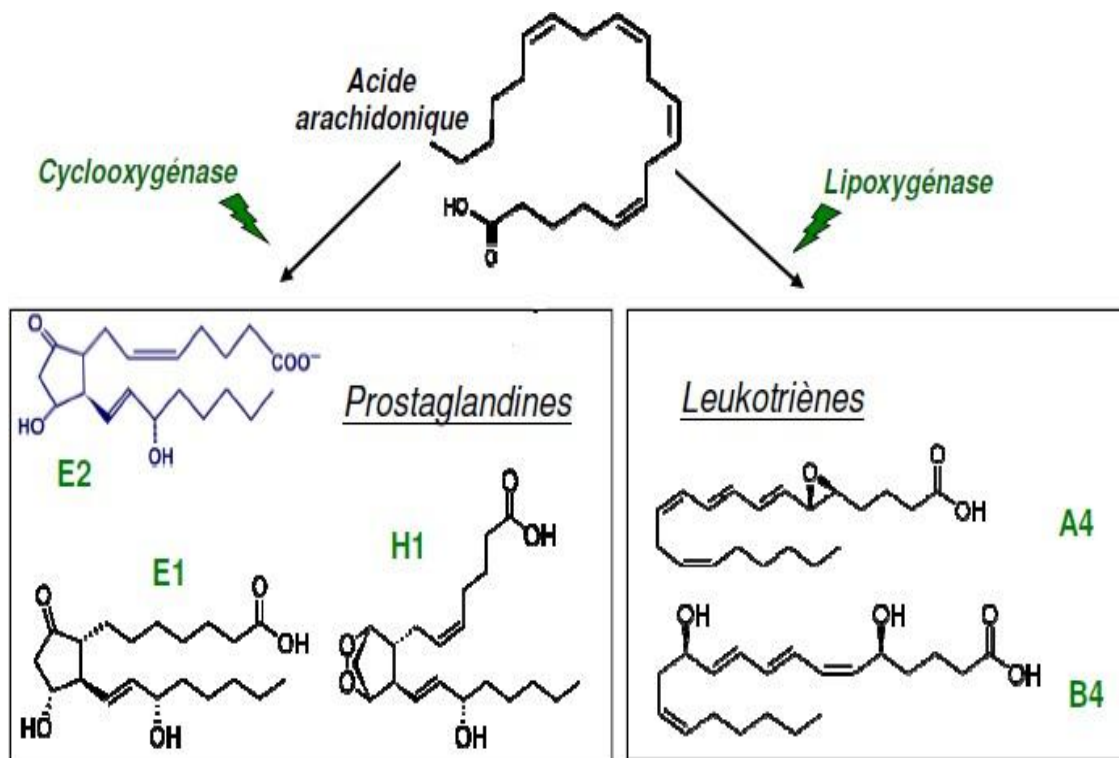


Fig. 63. Structure des prostaglandines et leukotriènes.

III.4. Propriétés physiques

III.4.1. Point de fusion

Le point de fusion est la température à laquelle l'acide gras change d'état, c'est-à-dire passe de l'état solide à l'état liquide.

Plus la chaîne carbonée est longue et saturée, plus la température de fusion est élevée (pour $C < 10$ les AG sont liquides à la température ordinaire, pour $C > 10$ ils sont solides à température ordinaire). En effet, plus la chaîne aliphatique est longue, plus les régions d'alignement où s'expriment des forces de Vander Waals sont importantes et donc plus il faut d'énergie thermique pour dissocier les molécules et les faire passer à l'état liquide (Fig. 64).

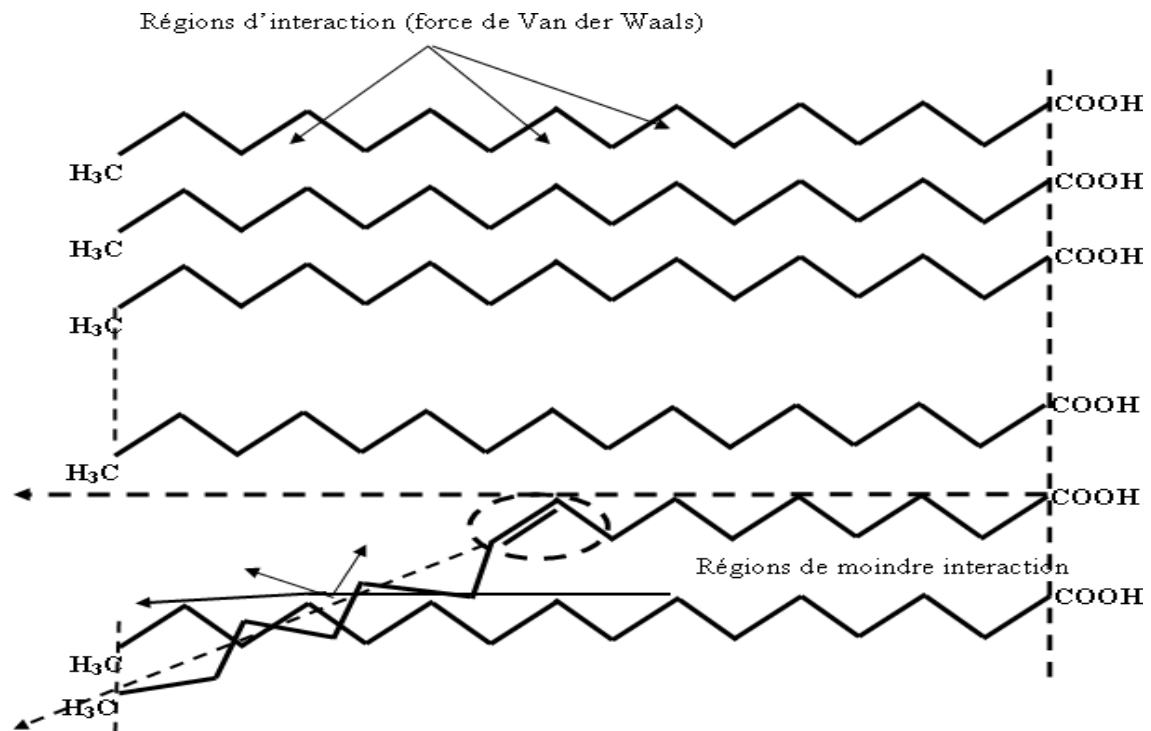


Fig. 64. Déviation de la chaîne aliphatique par la présence d'une double liaison.

En revanche, le point de fusion, diminue avec le degré d'insaturation de la chaîne carbonée (Fig. 65). On comprend mieux pourquoi les graisses animales (riches en acides gras saturés) sont encore solides à température ambiante, alors que les huiles végétales (riches en acides gras insaturés) sont déjà liquides.

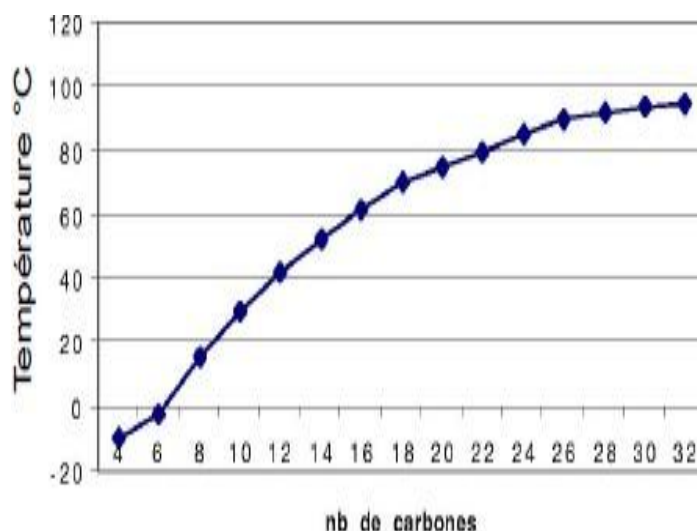


Fig. 65. Température de fusion des acides gras saturés

Tableau 10: Effet de l'insaturation sur le point de fusion de certains acides gras.

Acide gras	Point de fusion
Ac. butyrique	-6,5C°
Ac. palmitique	+63C°
Ac. stéarique	+70C°
Ac. oléique	+13,5C°
Ac. linoléique	-5C°
Ac. élaïdique	+ 46°C
Ac. linoléique	- 9°C
Ac. linoléinique	-17°C
Ac. arachidonique	- 50°C

III.4.2. Densité et solubilité

Densité

Les acides gras ont une densité inférieure à celle de l'eau (densité de référence), l'huile flotte à la surface de l'eau (ou du vinaigre).

Solubilité

Les solvants utilisés principalement pour l'extraction des lipides sont les alcools (méthanol, l'éthanol, l'isopropanol, le n-butanol), l'acétone, l'acétonitrile, les éthers (éther diéthylique, éther isopropylique, dioxane, tétrahydrofurane), des hydrocarbures halogénés (chloroforme, dichlorométhane), les hydrocarbures (hexane, le benzène, le cyclohexane, l'isooctane) ou leurs mélanges.

Les acides gras à courte chaînes jusqu'à 4 carbones sont miscibles avec l'eau (Ex: acide butyrique a 4C), puis leur solubilité baisse progressivement pour devenir insolubles à partir de 10 C. Les groupements carboxyliques polaires sont en contact avec l'eau. Le comportement global de la molécule dépend de la taille de la chaîne aliphatique. Ceci impliquera que la solubilité dans l'eau des acides gras diminuera lors de l'augmentation du nombre de carbones.

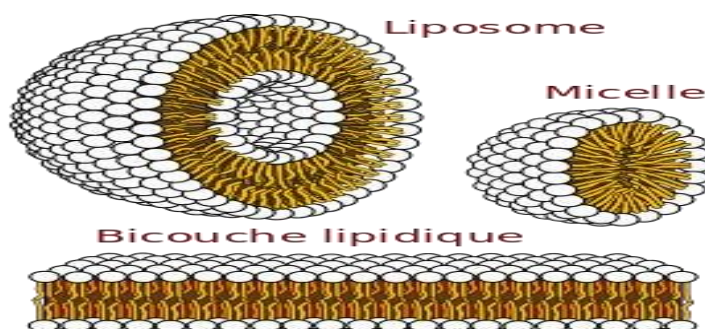


Fig. 66. Comportement des lipides dans un milieu aqueux.

D'une manière globale, les lipides sont des molécules **amphiphiles** : ils ont une **tête polaire (hydrophile)** qui aime l'eau et une **queue apolaire (hydrophobe)** qui pousse l'eau. Le caractère **amphiphile** est très accentué chez les *phospholipides*, les *acides gras* dans les *savons* et les *sphingolipides*. Il est moins accentué chez les *glycérides* et les *stérides*. C'est ce caractère **amphiphile** qui conditionne l'organisation des lipides dans l'eau en : **mono-couches**, **bi-couches (liposomes)** ou **micelles** (émulsion) (Fig. 66).

III.4. 3. Propriétés spectrales

A l'état pur les acides gras sont incolores. Les doubles liaisons conjuguées confèrent à l'acide gras un spectre caractéristique dans l'UV. Le maximum d'absorption dépend du

nombre de doubles liaisons conjuguées. Cette propriété permet le dosage des acides gras insaturés.

Cependant, les acides gras insaturés possédant des doubles liaisons en position malonique doivent être, au préalable, traités par la potasse alcoolique à 180°C° (chauffage en milieu alcalin) pendant une heure. Ce traitement convertit l'acide gras avec double liaison malonique en son isomère avec double liaison conjuguée. On aura ainsi un spectre UV caractéristique entre 316 et 332 nm.

III.5. Propriétés chimiques des acides gras

III.5.1. Propriétés dues à la fonction carboxylique

III.5.1.1. Formation de sels avec les bases (saponification)

Les **acides gras** sont des acides faibles (Fig. 67). En réagissant avec un hydroxyde métallique alcalin donnent un **sel** alcalin d'acide gras ou savons (sel solide avec le NaOH ou savons durs, liquide avec le KOH ou savons mous). Les savons sont solubles dans l'eau et possèdent des propriétés moussantes, mouillantes et émulsifiantes. Le **savon** est un **composé bipolaire** : une **tête hydrophile** COO⁻ et une **chaîne latérale hydrophobe** R. Les savons sont doués d'un pouvoir détergeant dû à leur propriété d'abaisser les forces d'adhésion entre la saleté et le linge ce qui la libère et la fait passer dans la phase aqueuse.

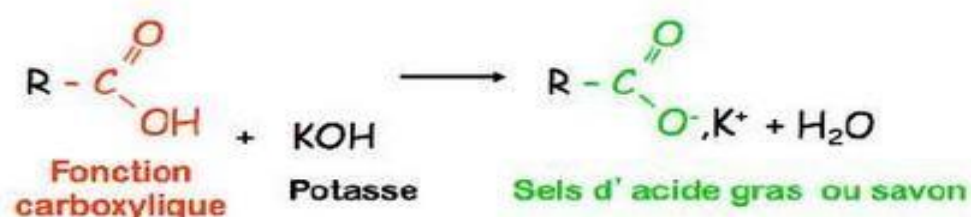


Fig. 67. Réaction de saponification.

Il est possible d'utiliser cette propriété pour calculer l'indice de saponification, Is. **L'indice de saponification** correspond à la masse (en mg) d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour saponifier (neutraliser) les acides gras contenus dans 1g de lipide.

b. Formation d'esters

La fonction carboxylique se caractérise également par son implication dans la réaction d'estérification (Fig. 68). Il s'agit d'une condensation avec une fonction alcool. On fabrique surtout des esters méthyliques (par action du méthanol CH₃OH, en présence d'un catalyseur) qui permettent le fractionnement des acides gras par distillation ou par chromatographie.

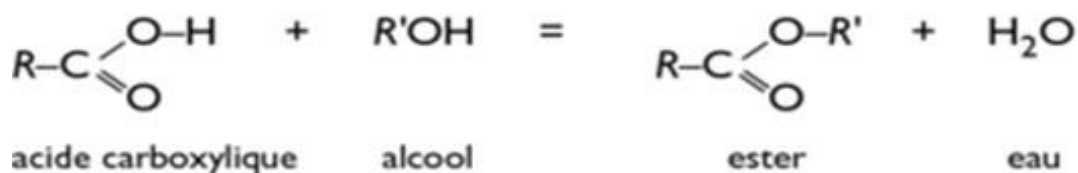


Fig. 68. La réaction d'estérification des lipides.

C'est une réaction importante pour l'utilisation des acides gras dans l'organisme. La **réaction d'estérification** est importante pour les raisons suivantes :

- Elle permet leur stockage (avec le glycérol, sous forme de triglycérides), essentiellement au niveau du tissu adipeux ;
- Elle permet leur utilisation métabolique (β -oxydation) lorsqu'elle a lieu avec la coenzyme A (notée CoA-SH). On forme alors un acylCoA qui présente une liaison thioester. Elle se caractérise par un haut potentiel énergétique permettant d'amorcer les réactions enzymatiques utilisant les acides gras (réaction d'activation des acides gras).
- Pour la séparation analytique des acides gras par chromatographie en phase gazeuse ou par distillation fractionnée (distillation en plusieurs étapes), on les transforme à l'état d'esters méthylique ou éthylique. Ces derniers ont un point d'ébullition de 30 à 40°C inférieure à celui de leurs acides gras non estérifiés.
- Dans les industries agroalimentaires (IAA), la **réaction d'estérification** est utilisée pour déterminer la composition en acides gras des huiles végétales et des graisses animales dans le but de déterminer les **mélanges frauduleux** (mélange avec d'autres huiles de nature différente). La réaction inverse de l'estérification est utilisée pour la production d'alcools à partir de matières grasses.

III.5.2. Propriétés dues à la présence de doubles liaisons

III.5.2.1. Réactions d'addition

Lorsque la chaîne carbonée est saturée, elle est très peu réactive ; elle exprime uniquement son comportement hydrophobe. A l'inverse, la présence de doubles liaisons confère à cette région de la molécule une certaine réactivité. En effet, les liaisons éthyléniques (insaturations) peuvent faire l'objet d'une réaction d'addition.

a. Hydrogénation

Ce procédé est utilisé pour transformer des huiles comestibles d'acides gras insaturés en margarine. Cette dernière est composée d'AG saturés qui sont solides à température ambiante et qui de plus ne s'oxydent pas (Fig. 69). Sous une pression de 100 à 200 bars, une

température de 200 à 400 °C et en présence de catalyseurs (platine, nickel, zinc ...), les acides gras insaturés fixent l'hydrogène pour donner des acides gras saturés.

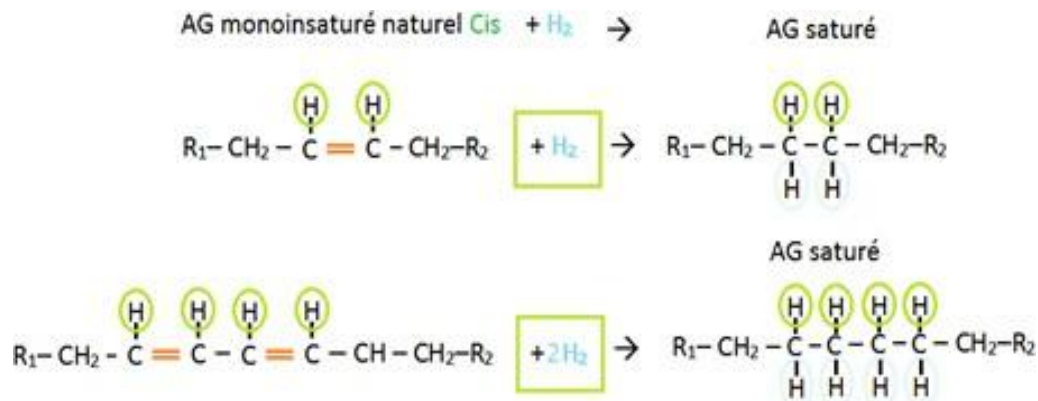


Fig. 69. Hydrogénation totale d'un acide gras insaturé

Lors de la phase d'hydrogénation industrielle, tous les acides gras insaturés de configuration **Cis** ne deviennent pas saturés (hydrogénation partielle d'un acide gras insaturé). Certains mutent en acides gras insaturés de configuration **Trans** (Fig. 70). Les acides gras insaturés **Trans** sont moins digestibles que les acides gras insaturés **Cis** naturels, et sont néfastes pour la santé.

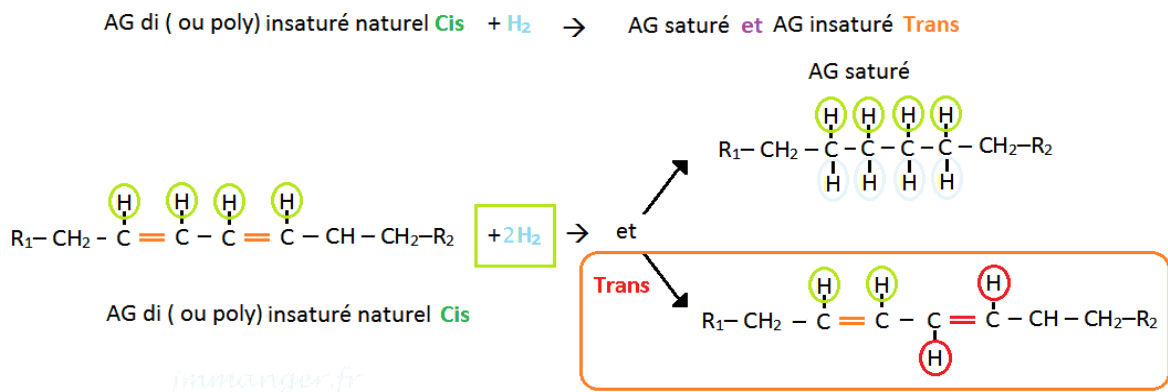


Fig. 70. Hydrogénation partielle d'un acide gras insaturé avec production d'un AG trans.

b. Halogénéation par le Br ou I₂

La réaction d'addition peut avoir lieu avec des halogènes, comme l'iode. L'acide gras monoinsaturé est transformé par halogénéation en un dérivé dihalogéné (Fig. 71). Cette réaction permet de définir l'indice d'iode (Ii).



Fig. 71. Fixation de l'iode sur une double liaison.

L'indice d'iode correspond à la masse d'iode moléculaire (en g) fixée sur les doubles liaisons pour 100 g de matière grasse. Il permet de connaître le degré d'insaturation. Cette valeur est précisément définie pour un acide gras donné. Il augmente avec le nombre d'insaturations. Il permet d'apprécier la pureté de la matière grasse utilisée dans une préparation alimentaire.

III. 5. 2. 2. Oxydation en présence du KMnO_4

Un AG **insaturé** traité par un oxydant puissant tel qu'une solution concentrée de KMnO_4 , par coupure du double liaison, conduit à la formation d'un **monoacide** et un ou plusieurs **diacides** (Fig. 72). Le nombre de diacide est équivalent au nombre de double liaison.

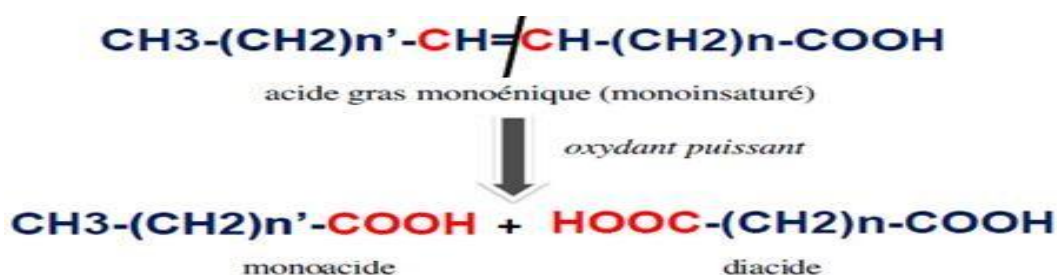


Fig. 72. Action du permanganate de potassium sur un acide gras insaturé.

Les principaux facteurs déterminant la durée de vie des lipides sont les **réactions d'oxydation** qui peuvent être classées, selon leur mécanisme, en : **autooxydation**, **photooxydation** et **oxydation enzymatique**. Les substrats des réactions d'oxydation sont principalement les acides gras insaturés. Ils s'oxydent en général plus vite lorsqu'ils sont libres et plus insaturés. Les acides gras saturés ne s'oxydent qu'à une température supérieure à 60°C, tandis que les acides polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé. Le principal problème posé par ces réactions réside dans la formation de composés volatils d'odeur désagréable (**rancissement**) et la formation des **peroxydes** qui sont des molécules cancérogènes.

III. 6. Classes des lipides

Les lipides ont fait l'objet de nombreuses classifications mais la plus usitée est celle basée sur la structure où on distingue : **Les lipides simples** (homo-lipides) qui englobent les acyl-glycérols (ou glycérides), les cériques et les stérides ; **Les lipides complexes** (hétéro-lipides) qui englobent les glycéro-phospholipides, les glycéro-glycolipides et les sphingolipides qui renferment dans leur structure respectivement des groupes phosphate, sulfate ou glucidique.

III. 6. 1. Lipides simples

Les lipides simples sont des homo-lipides composés de C, H, O. Ce sont des esters d'acides gras, classés en fonction de l'alcool : Acylglycérols (glycérides) : esters de glycérol, cérides (alcool gras) : esters d'alcools à longue chaîne et stérides (alcool polycyclique) : esters de stérol.

III. 6. 1. 1. Glycérides

Ce sont des lipides dont la structure est basée sur l'estérification d'acides gras et d'un trialcool : le glycérol qui est un liquide translucide, très visqueux, inodore, non toxique, au goût sucré (Fig.73).

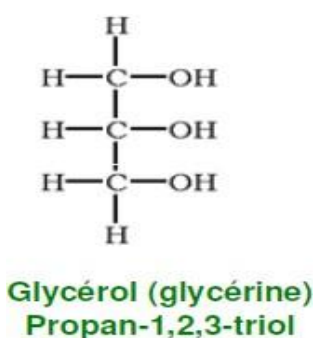


Fig. 73. Structure du glycérol.

Ces lipides simples, appelés aussi glycérides ou acylglycérols, sont insolubles dans l'eau, solubles dans l'acétone car très apolaires. Par estérification avec le glycérol, les acides gras peuvent donner des monoesters (**monoacylglycérol**= monoglycéride), des diesters (**diacylglycérol**= diglycéride), et des triesters (**triacylglycérol** = triglycéride). Lorsque les molécules d'acides gras constituant le di ou triester sont identiques, on parlera de diacylglycérol= triacylglycérol homogènes. Dans le cas contraire, il s'agira de diacylglycérol ou triacylglycérol mixtes (Fig. 74).

Les diacylglycérols sont des diesters du glycérol. L'acide gras en position 2 est très souvent insaturé. Les diacylglycérols sont formés lors de la digestion des triacylglycérols par les lipases.

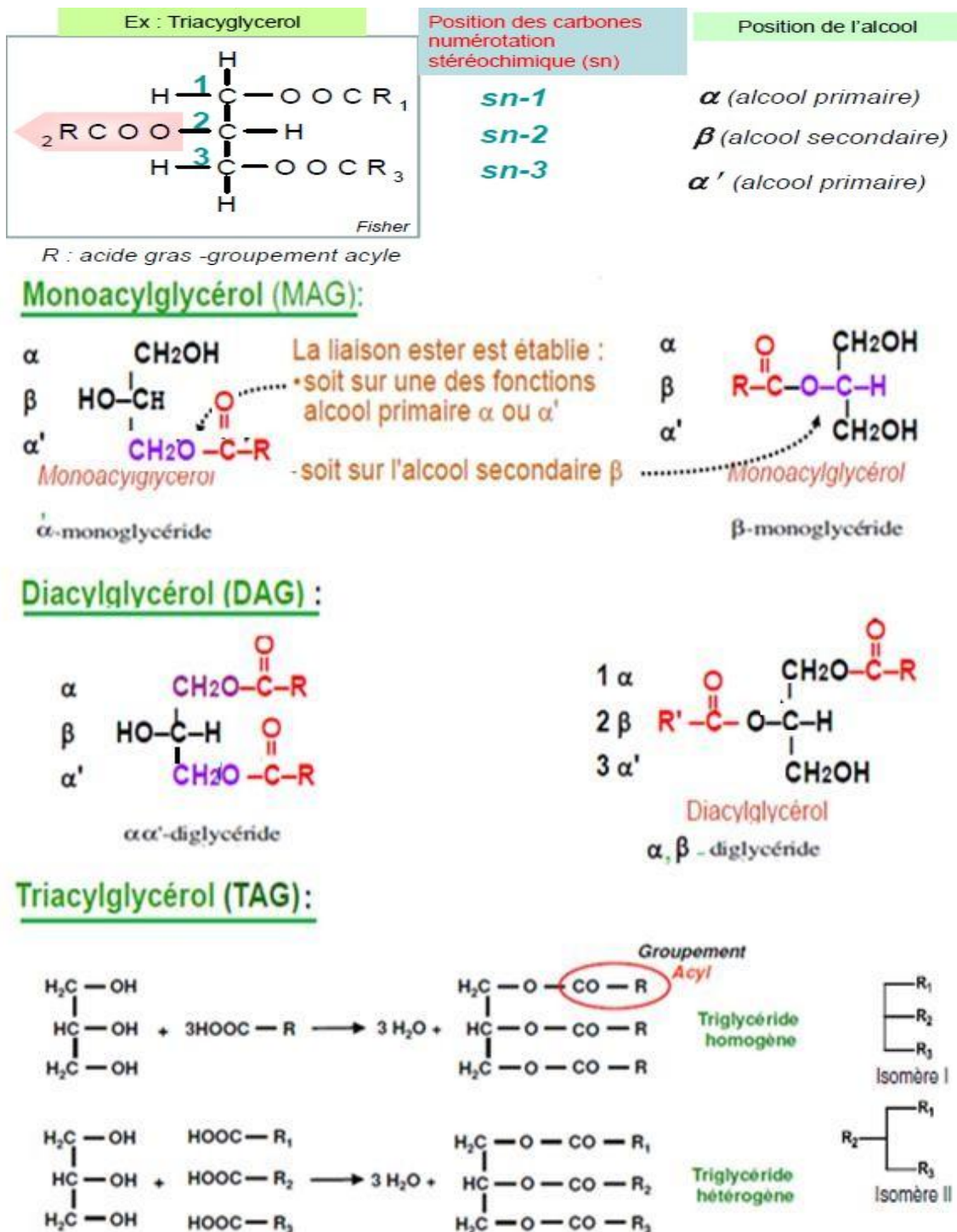


Fig. 74. Nomenclature des acides gras liés au glycérol dans la structure des glycérides.

Dans la cellule les diacylglycérols peuvent être produits à partir des phospholipides principalement les phosphatidyl-inositides de la membrane par action de la phospholipase C, le diacylglycérol libéré participe à la transmission des signaux cellulaires en activant la protéine kinase C.

Pour indiquer la position des acides gras, on numérote les 3 atomes de carbone du glycérol. La position de l'acide gras est indiquée par le préfixe *sn* (numérotation spécifique ou *stereospecifically numbered*) ou usuellement par le numéro du carbone (Fig. 74).

Jadis appelés triglycérides, les triacylglycérols sont des lipides neutres, hydrophobes (car les fonctions hydroxyle ou acide carboxylique ne sont plus libres) et de densité inférieure à celle de l'eau. Ce sont des lipides de réserve de notre organisme (90% du tissu adipeux) qui ne figurent pas au niveau des membranes cellulaires.

Dans les triacylglycérols les trois fonctions alcool du glycérol sont estérifiées par des acides gras R_1 , R_2 , R_3 . Dans le cas où les acides gras en position 1 et 2 sont différents, un centre d'asymétrie apparaît au niveau du C_2 , on peut avoir les isomères I et II. La majorité des triacyl-glycérols naturels sont des isomères II, l'acide gras en position 2 est le plus souvent insaturé.

a- Nomenclature

L'acide gras engagé dans la liaison ester devient un résidu "acyl" (Fig. 75). S'il s'agit d'acide palmitique il devient "palmityl", l'acide stéarique devient "stéaryl", l'acide oléique devient "oléyl" ...

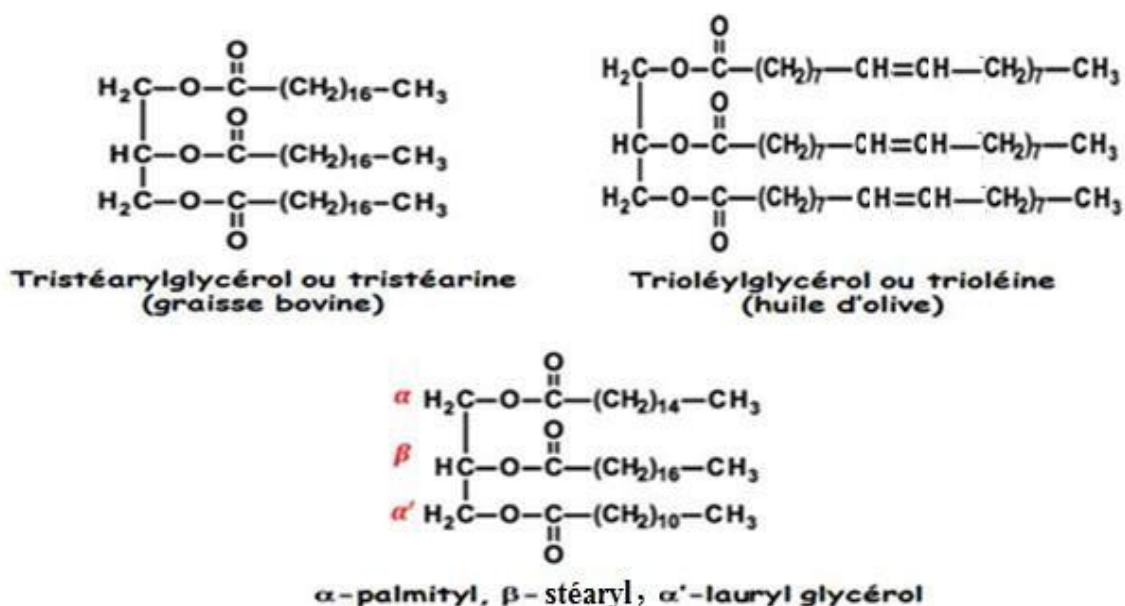


Fig. 75. Nomenclature des acides gras dans la structure d'un glycéride.

Hydrolyse chimique

Le traitement acide (H_2SO_4 à 5%) du triglycéride entraîne la rupture (en général de façon incomplète) des liaisons esters et la libération des constituants : acides gras et glycérol (Fig. 76).

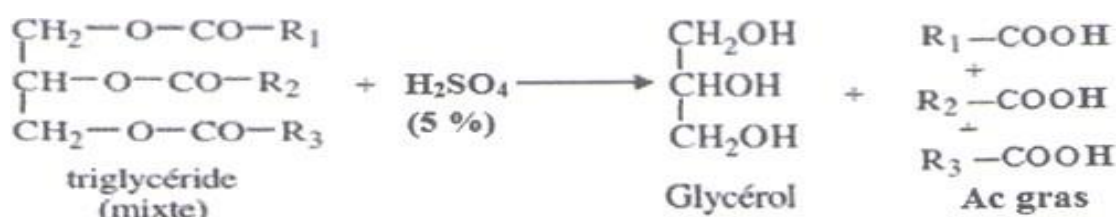


Fig. 76. L'hydrolyse acide d'un triglycéride .

b- Hydrolyse enzymatique

La lipase pancréatique, hydrolyse les TG alimentaires en mono glycéride et deux acides gras qui sont absorbés par l'intestin (Fig. 77).

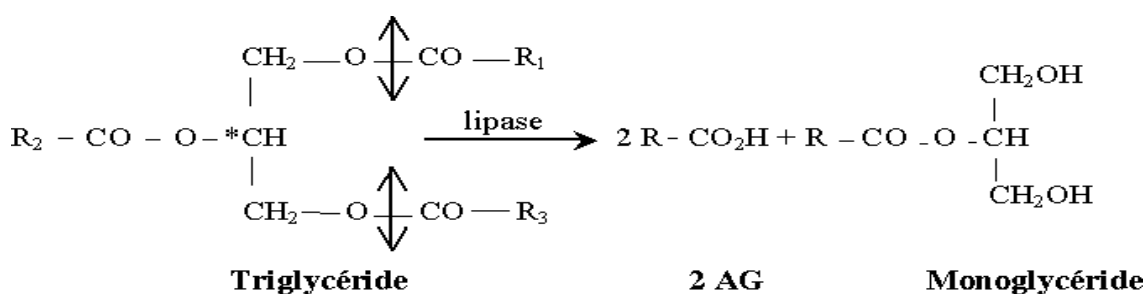


Fig. 77. L'hydrolyse enzymatique d'un triglycéride .

c- Saponification

Les bases en solution alcoolique (hydroxyde de sodium ou de potassium) et à chaud coupent les liaisons esters des glycérides en libérant les acides gras sous leurs formes de sels de sodium (savons durs) ou de potassium (savons mous). C'est une réaction rapide et totale (Fig. 78).

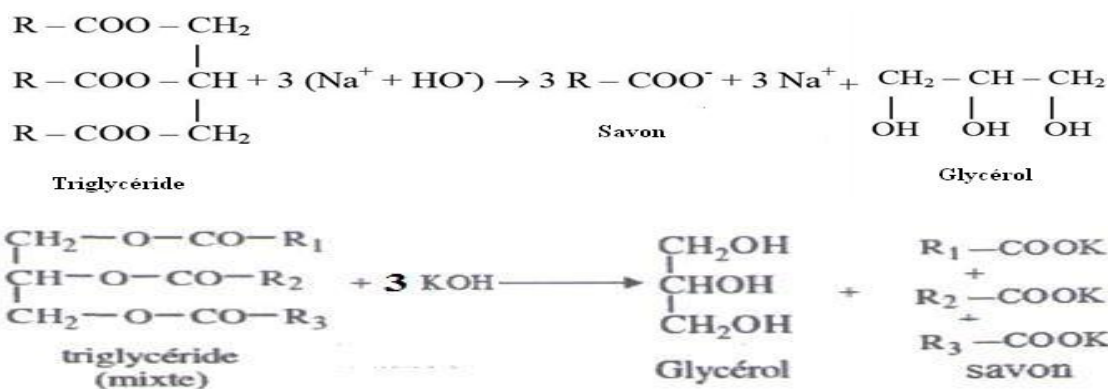


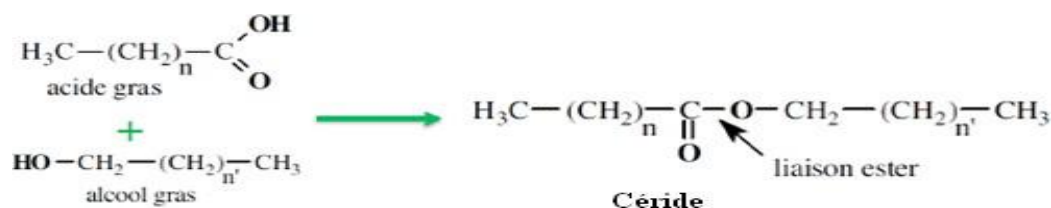
Fig. 78. La saponification d'un triglycéride.

III. 6. 1. 2. Cérides

Les cérides sont *des monoesters* d'acides gras (14 à 30 C) et d'alcools aliphatiques à longue chaîne qui sont en général des alcools primaires, à nombre pair de carbones (16 à 36 C), saturés et non ramifiés (Fig. 79). Des exemples d'alcool: alcool cétylique C₁₆ : 0 (présent

chez les Cétacés), alcool cérylique C₂₆ : 0 (présent dans les cires) et l'alcool myricylique C₃₀ : 0 (présent dans les myricas, arbres à cires et la myricine est la cire d'abeilles).

Ils sont inertes chimiquement car ils résistent aux acides et à la plupart des réactifs et sont difficilement saponifiables. Ils possèdent des points de fusion élevés, donc solides à température ambiante. Ils sont très apolaires mais solubles à chaud dans les solvants organiques.



Exemple : palmitate de cétyle

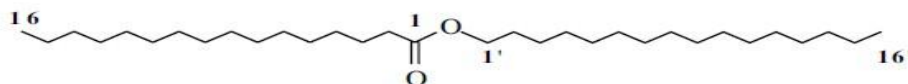


Fig. 79. Structure d'un céride.

Ils doivent leur nom générique au fait qu'ils sont les principaux constituants des cires animales (blanc de baleine), végétales (cuticules des feuilles) et bactériennes (bacilles de Koch). Les animaux supérieurs et l'homme ne peuvent métaboliser les cérides. La cire d'abeille de composition complexe est riche en palmitate de cétyle. Ce sont surtout des revêtements de protection : enduit imperméabilisant les plumes des oiseaux aquatiques, la peau des animaux marins, cuticule des feuilles brillantes (houx,...), pellicule des fruits qui prévient l'évaporation et s'oppose au développement de moisissures et à l'infestation par des parasites.

III. 6. 1. 3. Stérides

Ce sont des esters d'acides gras et d'alcool cycliques: **les stérols** (Fig. 80). Les stérols sont des alcools dérivant d'un alcane quadricyclique ou stérane (cyclo-pentano-perhydro-phénantrénique), une structure à 17 atomes de carbone et produit de la condensation de 4 cycles (3 cycles hexagonaux notés A, B et C, et un cycle pentagonal noté D).

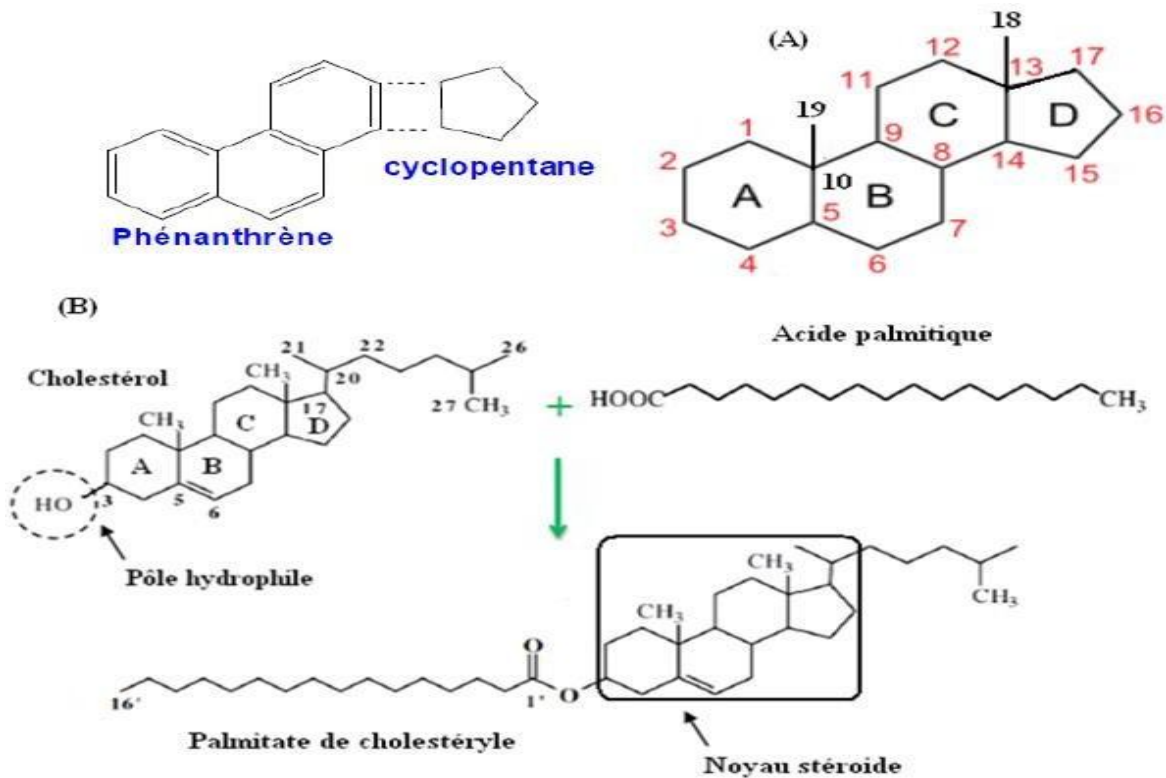


Fig. 80. (A) Le noyau stérane. (B) Structure d'un stéride : le palmitate de cholestéryle.

Les dérivés du stérane sont simplement appelés **stérane**s et comprennent notamment les stéroïdes et les stérols. Le stéride est formé par estérification d'un AG sur la fonction alcool en 3 du cholestérol.

III. 6. 2. Lipides complexes

Ces hétérolipides renferment en plus des éléments C, H, O : du phosphore (P), de l'azote (N), du soufre (S) ou un groupement glucidique. Ils sont classés selon la molécule qui fixe les acides gras : soit le glycérol qui se distingue des acylglycérols par l'hétérogroupe et qui sont subdivisés en: glycérophospholipides et glycéroglycolipides, soit une base sphingoïde (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides (Fig. 81).

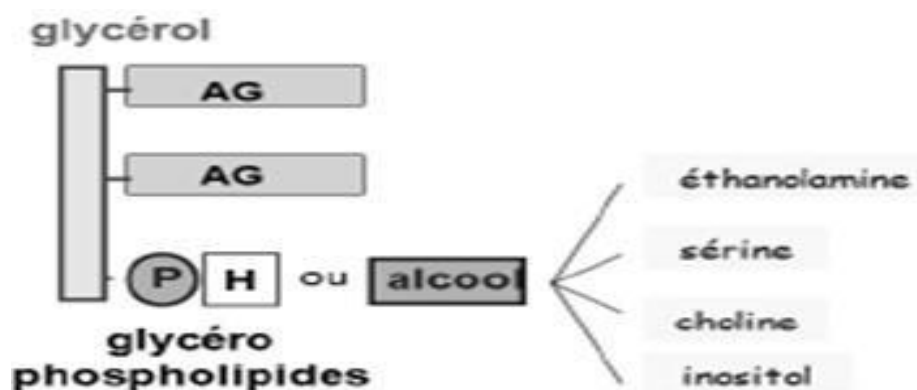


Fig. 81. Structure générale d'un lipide complexe.

III. 6. 2. 1. Glycérophospholipides

Appelés également les phosphatides, ce sont les lipides les plus nombreux et les plus représentés. Ce sont les principaux lipides des membranes des eucaryotes et des bactéries.

a- Acide phosphatidique (AP)

L'AP est l'élément de base des glycérophospholipides (Fig. 82). Il est composé d'un glycérol, de deux acides gras et d'un acide phosphorique (H_3PO_4). Les deux acides gras ont une chaîne hydrocarbonée longue ($\geq 14C$), l'acide gras en position 2 est souvent insaturé. L'acidité de la molécule provient des 2 H mobiles libres de l'acide phosphorique. Au pH sanguin (7,35 - 7,45), les 2 fonctions acides sont ionisées. L'acide phosphatidique est un second messager intracellulaire.

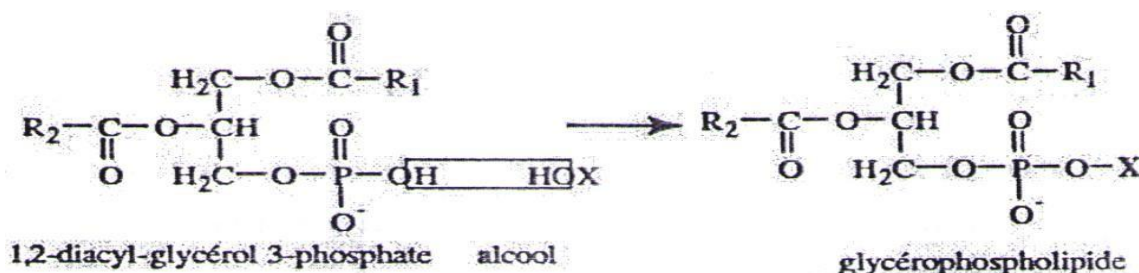


Fig. 82. Formation d'un glycérophospholipide par association de l'acide phosphatidique et un alcoool.

Les **AP** n'existent que très rarement à l'état naturel, ce sont leurs dérivés, où une fonction acide de l'acide phosphorique estérifiée par un alcoool (aminé ou sans azote), que l'on trouve. L'alcoool intervenant dans l'estérification de l'acide phosphorique peut être un alcoool aminé (la sérine, l'éthanolamine, la choline) ou un polyol sans azote (l'inositol, le glycérol).

b- Dérivés de l'acide phosphatidique

➤ Glycérophospholipides azotés

L'acide phosphorique est estérifié par un alcoool aminé qui peut être de la sérine, son produit de décarboxylation, l'éthanolamine ou la choline (dérivé N-triméthyle) (Fig. 83).

La phosphatidylsérine représentent 50 à 100% des glycérophospholipides du cerveau et ont un caractère acide marqué.

La phosphatidyléthanolamine (Céphaline) sont présents dans le cerveau sont plus acides que les lécithines.

La phosphatidylcholine (lécithine : racine grecque : jaune d'oeuf) : Les lécithines sont des substances jaunes, cirieuses et insolubles dans l'acétone. Elles sont particulièrement répandues dans le foie, le cerveau et le jaune d'oeuf.

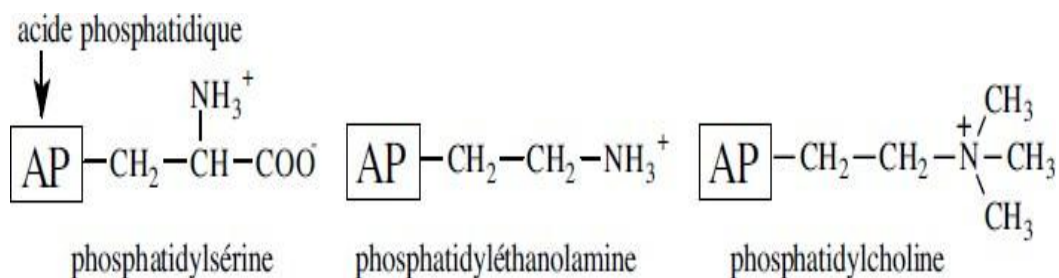


Fig. 83. Structure des différents types de glycérophospholipides azotés.

➤ Glycérophospholipides non azotés

L'acide phosphorique est estérifié par des polyols non azotés (Fig. 84) comme le glycérol, un stéréoisomère de l'inositol (le myo-inositol) ou de ses ester-phosphates (le biphosphatidylglycérol : cardiolipide).

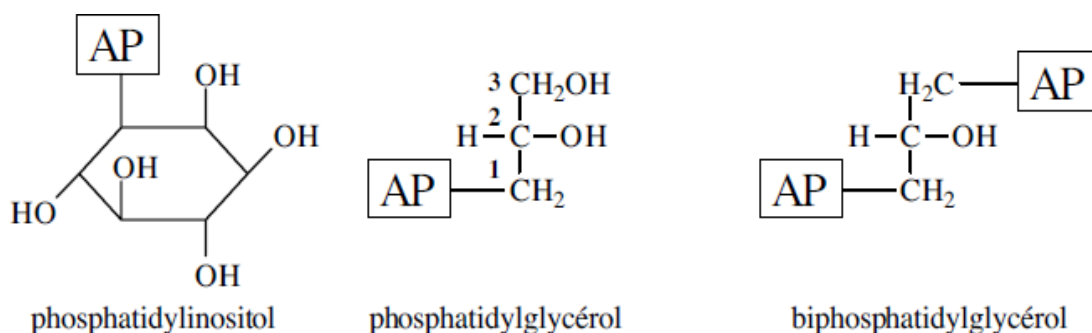


Fig. 84. Structure des différents types de glycérophospholipides non azotés.

Phosphatidylglycérol : Ils jouent plus particulièrement un rôle dans la dispersion du tensioactif pulmonaire.

Phosphatidylinositol : présents dans les tissus animaux (cerveau), végétaux (les graines de soja, arachides, blé), chez les bactéries (mycobactéries principalement)

Biphosphatidylglycérol (cardiolipide : isolé du muscle cardiaque) : constituants de la membrane des mitochondries, isolé des bactéries et du cœur de bœuf.

c- Propriétés des glycérophospholipides

Dans son ensemble, la molécule de phospholipide est amphiphile, présentant une partie apolaire qui est constituée des chaînes hydrocarbonées des acides gras et une partie polaire, le phosphoglycérol substitué. Elles ont donc des propriétés identiques à celles des savons (émulsionnants). Ce sont des molécules amphotères car elles possèdent à la fois une fonction acide apportée par H_3PO_4 ($pK_a=1-3$) et une fonction basique apportée par l'acide aminé alcool (sérine, thréonine) ou par la choline et l'éthanolamine.

Le groupement phosphoryl des phospholipides est ionisé et il porte donc une charge négative aux pH physiologiques (7,35-7,45). La charge globale de chaque phospholipide dépend de la nature du substituant X. Si ce dernier est neutre, la molécule de phospholipide est chargée négativement. Si le substituant X porte une charge positive, le phospholipide est électriquement neutre.

d- Hydrolyse enzymatique des glycérophospholipides

Les phospholipides peuvent être hydrolysés par l'action de quatre phospholipases A₁, A₂, C et D, spécifiques des liaisons (Fig. 85, Tableau 11). Les phospholipases A₁ (présente dans le pancréas, moisissures) et A₂ (présente dans les venins des serpents, abeilles, scorpions et suc pancréatique) conduisent à l'élimination des acides gras situés en position 1 et 2 et à la formation de lysophospholipides.

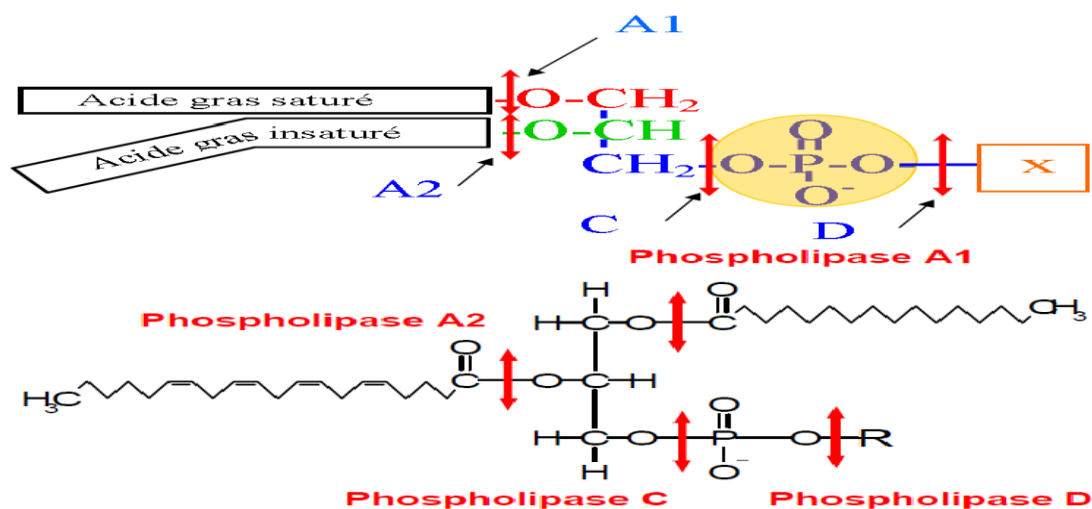


Fig. 85. Action des phospholipases A₁, A₂, C et D.

Tableau 11 : Origine et site d'action des différents types de phospholipases.

Enzyme	Origine	Site d'action	Libération
Phospholipase A ₁	Lysosome, membranes	Liaison ester en C ₁	Acide gras en 1+ lysophosphatide
Phospholipase A ₂	Venin de serpents, abeilles, scorpions	Liaison ester en C ₂	Acide gras en 2 + lysophosphatide
Phospholipase C		Liaison ester entre acide phosphorique et glycérol	Alcool phosphorylé + diglycéride
Phospholipase D		Liaison ester entre acide phosphorique et alcool azoté ou non	Alcool + acide phosphatidique

La phospholipase A₂ libère des acides gras insaturés qui sont utilisés par la cellule. Il est impliquée dans la biosynthèse des éicosanoïdes (prostaglandines et leucotriènes): l'AG en position 2 est souvent l'acide arachidonique, qui est le précurseur des éicosanoïdes.

- La phospholipase C (présente chez les bactéries) intervient sur la fonction ester liant le glycérol et le phosphate, libérant un diglycéride et un phosphoalcool. C'est l'enzyme qui génère les DAG et l'IP₃ à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate (Fig. 86).

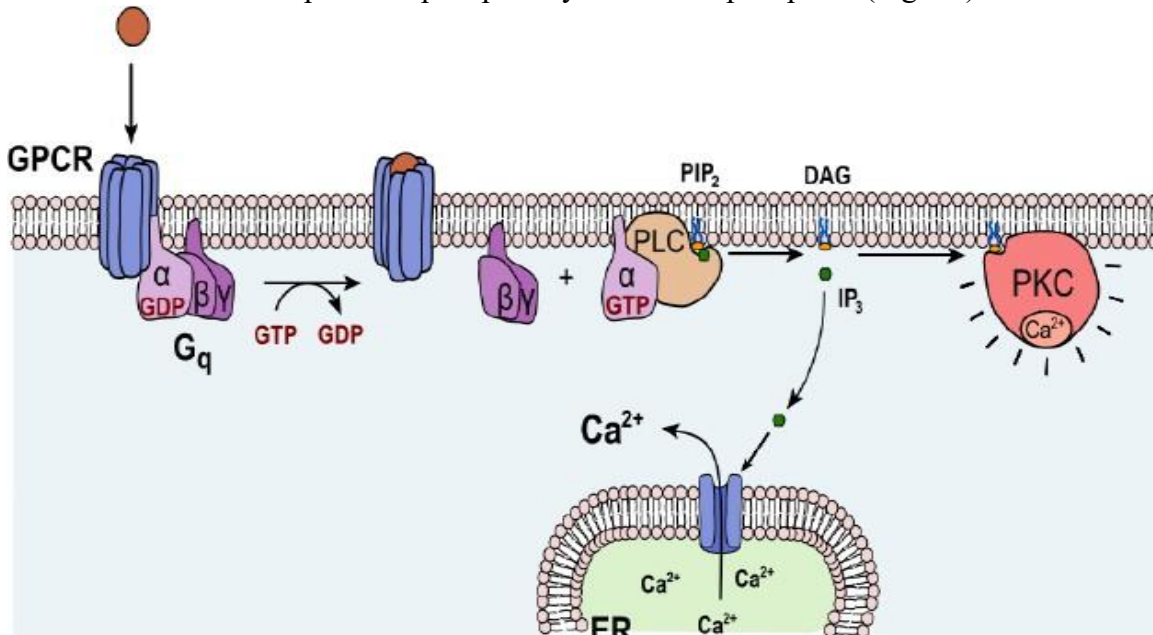


Fig. 86. Génèse du DAG et de l'IP₃ à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate par la phospholipase C.

- La phospholipase D (présente chez les végétaux) conduit à la libération d'un acide phosphatidique et un alcool (Tableau 11).
- Une phospholipase B est une hydrolase qui libère indifféremment l'acide gras estérifiant l'hydroxyle du carbone 1 ou du carbone 2 du glycérol d'un phosphoglycéride pour donner un lysophospholipide. Elle cumule à ce titre les activités enzymatiques d'une phospholipase A₁ et d'une phospholipase A₂ (Tableau 11).

d. Etherglycérolipides (étherphospholipide)

C'est un phosphatidyl choline ou éthanolamine dans lequel l'acide gras sur sn-1 est remplacé par un alcool gras uni au glycérol par une liaison éther.

- Plasmalogène

L'alcool est insaturé, il est présent dans les gaines de myéline des neurones, dans le coeur, le muscle, le sperme (Fig. 87).

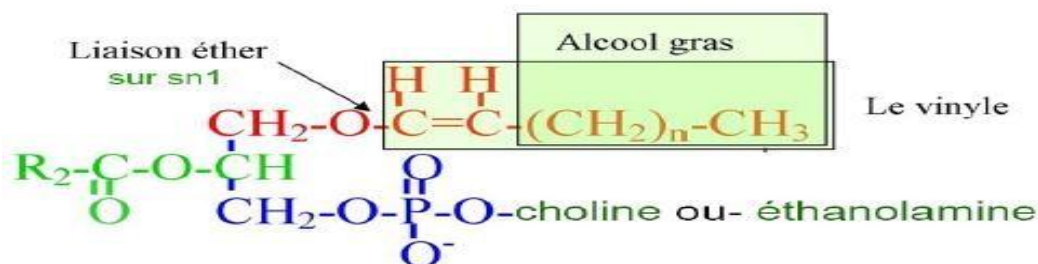


Fig. 87. Structure d'un étherphospholipide : le plasmalogène.

- PAF (Platelet-activating-factor)

L'alcool en sn-1 est saturé. En position sn-2 est fixé un acétyle. C'est un médiateur de la réaction allergique et inflammatoire capable d'induire l'agrégation des plaquettes (Fig. 88).

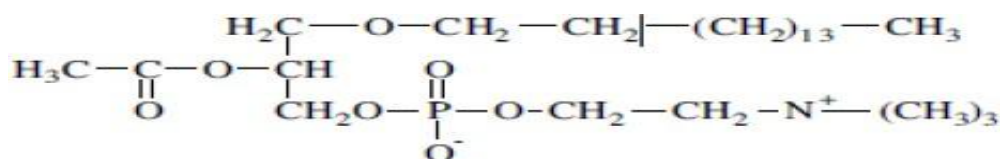


Fig. 88. Structure du PAF (Platelet-activating-factor).

III. 6. 2. 2. Les sphingolipides

Ce sont des lipides complexes ayant une molécule de sphingosine ou un de ses dérivés (base sphingoïde). La sphingosine est un dialcool aminé à longue chaîne carbonée (18C) ayant deux fonctions OH sur C₁ et C₃, une fonction amine primaire en C₂ et une double liaison trans (Fig. 89).

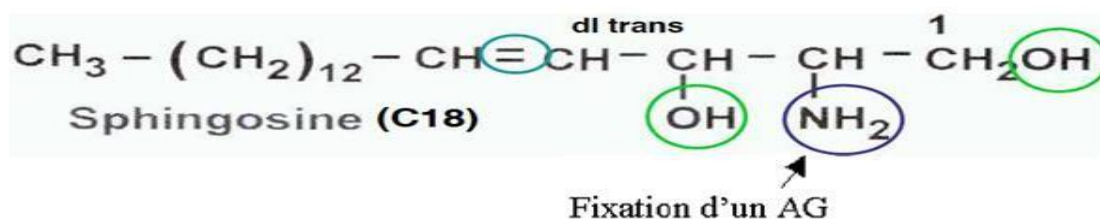


Fig. 89. Structure de la sphingosine.

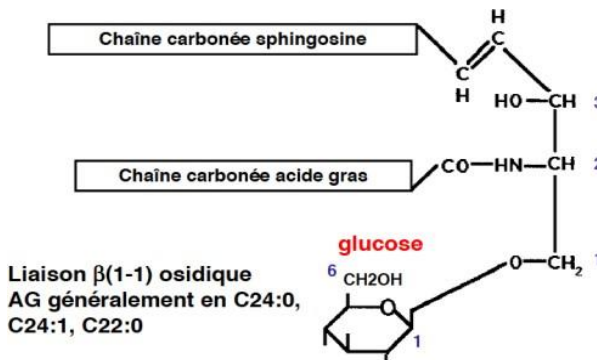
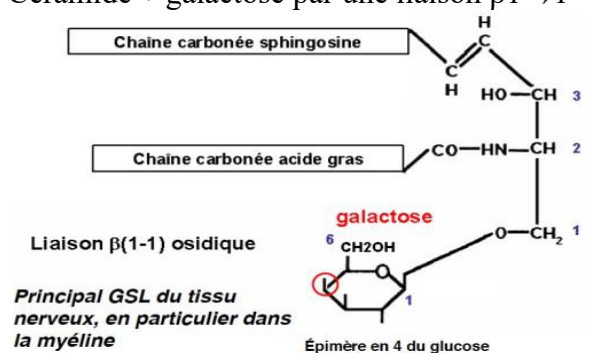
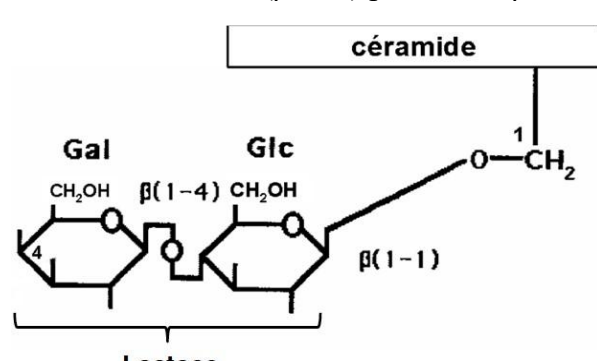
Ce sont *des amides* de la sphingosine qui se forment par liaison du carboxyle de l'AG sur le NH₂ de la sphingosine. La fixation d'un acide gras sur le groupe amine (liaison amide : ce n'est donc plus une liaison ester comme dans les autres lipides) donne un *céramide* ou acylsphingosine qui est la molécule précurseur des lipides de ce groupe.

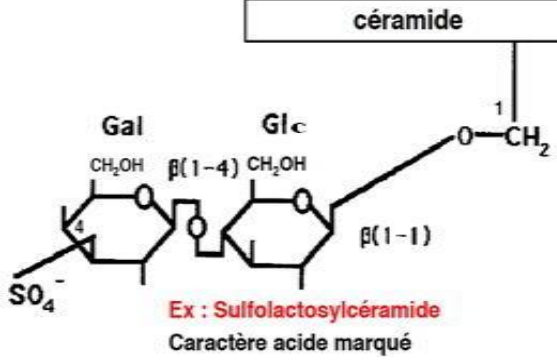
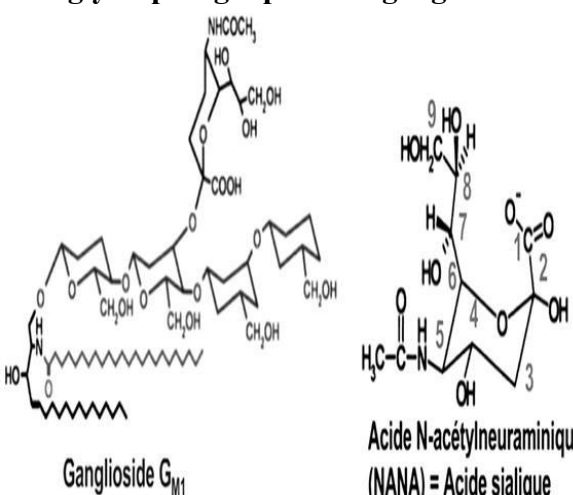
Les céramides libres sont mineurs dans la cellule car toxiques et entraîne la mort cellulaire par apoptose. Ils possèdent un rôle dans le processus de différenciation et de prolifération cellulaire.

L'acide gras est principalement l'acide lignocérique (C₂₄H₄₈O₂) ou stéarique (C₁₈H₃₆O₂). De plus, le OH terminal de la sphingosine peut être lié à un autre groupement X, qui est la phosphocholine ou un ose (ou dérivé d'ose). En fonction du substituant on détermine deux groupes de sphingolipides : les phosphosphingolipides et les glycosphingolipides (Tableau 12).

Tableau 12 : Principales classes des sphingolipides.

PHOSPHOSPHINGOLIPIDES	
a- Acylsphingosine ou céramide : sphingosine + AG $ \begin{array}{c} \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{17} - \text{CH} = \text{CH} - \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{22} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{c} \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{17} - \text{CH} = \text{CH} - \text{CHOH} \\ \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{22} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}} \right\} \text{Sphingosine} $ Acide lignocérique	- Le plus simple des sphingolipides - L'AG est saturé et à longue chaîne
b- Le céramide 1-phosphate Céramide-1-phosphate	Synthétisé à partir du céramide par une céramide kinase : ajout d'un phosphate sur la fonction alcool primaire - Rôle dans la signalisation intracellulaire - Peu abondant
c- Sphingomyéline : sphingosine + AG + Phosphorylcholine $ \begin{array}{c} \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{17} - \text{CH} = \text{CH} - \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{22} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{O} - \text{P}(=\text{O})(\text{O}^-) - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}^+ (\text{CH}_3)_3 \end{array} $	- L'AG le plus fréquent est l'acide lignocérique (C₂₄:0) - Trouvée dans le tissu nerveux (gaines de la myéline) et dans les membranes - Synthétisée à partir du céramide 1-P par ajout d'une choline sur l'acide phosphorique. - 2^{ème} phospholipide le plus abondant dans le plasma - En quantité importante dans le cerveau, la cornée et la myéline
GLYCOSPHINGOLIPIDES	
La fonction alcool I du céramide fixe une chaîne oligosaccharidique par une liaison osidique. - Présents dans tous les tissus et plus particulièrement dans le tissu nerveux et le cerveau avec des AG en C24 (acide lignocérique, cérébronique, nervonique) - Présents dans le feuillet externe de la membrane plasmique (partie glucidique hors cellule) Selon les substituants on détermine : Les glycosphingolipides neutres et acides	
Glycosphingolipides neutres	
Mono- glycosylcéramides (cérébrosides) - Glucosylcéramide (glucosylcérébroside)	Céramide + glucose par une liaison β1→1 L'AG est souvent le C₂₄:0 ou C₂₄:1 Glycolipide majeur des tissus extra neurax (peau) Un déficit de l'enzyme le clivant entraîne une hépatosplénomégalie

 Chaîne carbonée sphingosine Chaîne carbonée acide gras Liaison $\beta(1-1)$ osidique AG généralement en C24:0, C24:1, C22:0	
Galactosylcéramide (galactosylcérébroside) : Céramide + galactose par une liaison $\beta 1 \rightarrow 1$  Chaîne carbonée sphingosine Chaîne carbonée acide gras Liaison $\beta(1-1)$ osidique Principal GSL du tissu nerveux, en particulier dans la myéline	C'est le principal glycosphingolipide du tissu nerveux surtout dans la myéline
Oligo-glycosylcéramides (Les globosides : oligoside ≤ 6 résidus) Lactosylcéramide (galactose + glucose) Céramide + lactose ($\beta 1 \rightarrow 4$) par liaison $\beta 1 \rightarrow 1$  céramide Gal Glc Lactose	Présent dans le tissu nerveux Les glycosphingolipides plus complexes sont formés par succession d'oses : galactose, N-acétylglucosamine (GlcNac), N acétylgalactosamine (GalNac) ou mannose (man). C'est le cas des groupes sanguins : protéines ABO de surface des globules rouges qui sont faites de glycanes liés à des protéines (glycoprotéines) ou à des lipides membranaires (glycosphingolipides).
Glycosphingolipides acides	
Un résidu osidique porte un groupement acide minéral (sulfurique) ou organique (sialique) Sulfoglycosphingolipides ou sulfatides Sulfogalactosylcéramide Galactosylcéramide + acide sulfurique sur le galactose	Présent dans les membranes des cellules du SNC (myéline) et des reins Caractère acide marqué du au groupement sulfate Synthétisé grâce à une sulfotransférase Hydrolysable par des sulfatidases

 Ex : Sulfolactosylcéramide Caractère acide marqué	
Sialoglycosphingolipides ou gangliosides  Ganglioside G_{M1} Acide N-acétylneuraminique (NANA) = Acide sialique	Le substituant R₁ est une chaîne glycanique ramifiée avec les mêmes oses que les glycolipides neutres, mais aussi la N-acétylgalactosamine (GalNAc) et la N-acétylglucosamine (GlcNAc) ainsi que des molécules d'acide sialique (acide N-acétyl neuraminique ou NeuNAc ou NANA: N acétyl car il a une fonction acétyle sur l'amine, et acide car présence d'un groupement COOH) branchées sur la chaîne oligosaccharidique à son extrémité ou sur un ose interne. Ils sont abondants dans les ganglions d'où leur nom. Ils sont présents sur la face externe de la membrane plasmique Ex. antigènes des groupes sanguins

III. 7. Composés à caractère lipidique

Les composés à caractère lipidique sont des composés naturels dépourvus d'acides gras, mais qui leur sont apparentés par leurs propriétés physiques et en particulier leur solubilité. Ils englobent : les eicosanoïdes (dérivés de l'acide arachidonique) et les isoprénoïdes (dérivés de l'isoprène).

III. 7. 1. Dérivés de l'acide arachidonique (eicosanoïdes)

Les eicosanoïdes (du grec eicos= vingt) dérivent d'acides gras polyinsaturés à 20C dont la nature dépend de l'alimentation. Le plus souvent il s'agit de l'acide arachidonique, libéré le plus souvent d'une phosphatidylcholine suite à l'action d'une enzyme appelée phospholipase A₂ (Fig. 90).

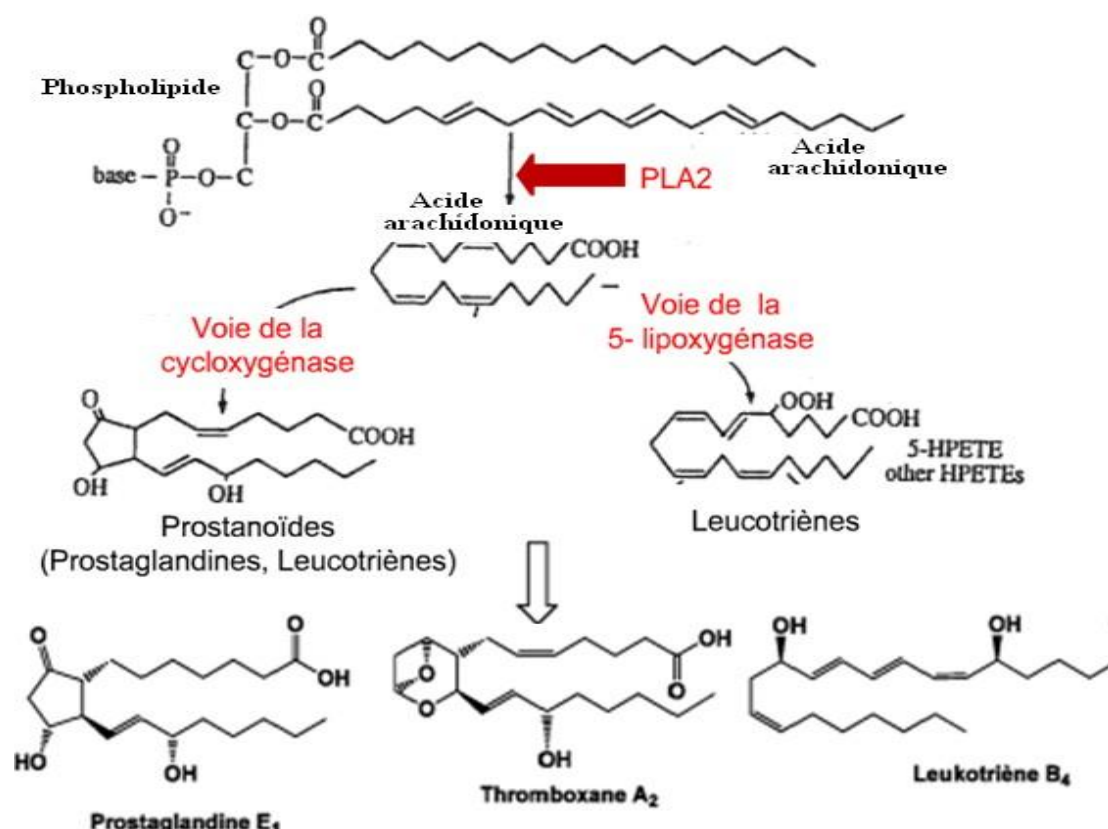


Fig. 90. Biosynthèse des éicosanoïdes (prostaglandines et leucotriènes): à partir de l'acide arachidonique sous l'action de la phospholipase A₂.

Les eicosanoïdes (prostaglandines, lipoxines, thromboxanes et leucotriènes) sont de petites molécules très diffusibles qui jouent le rôle d'hormones locales et interviennent dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques (Tableau 13).

Tableau 13 : Principaux effets biologiques des prostanoïdes.

Organes	Effets	Prostaglandines et Thromboxanes
Vaisseaux	Vasoconstriction Vasodilatation	PGF ₂ , TXA ₂
Plaquettes	Pro-agrégant Anti-agrégant	TX PGE, PGI ₂
Bronches	Contraction Dilatation	PGF, TXA ₂ PGE, PGI ₂
Intestin	Nausée, diarrhée	PGE, PGF
Estomac	Diminution de la sécrétion gastrique	PGE, PGI ₂
Utérus	Contractions	PGE, PGF
Rein	Augmentation du débit sanguin rénal	PGE, PGI ₂

L'inhibition des COX, enzymes qui permettent la synthèse de ces dérivés de l'acide arachidonique impliqués dans la douleur et l'inflammation, inhibe donc leur production.

III. 7. 2. Lipides isopréniques

La structure de ces composés est souvent une combinaison d'unités isopréniques. L'isoprène est un hydrocarbure diéthylénique à 5 carbones (Fig. 91). On distingue plusieurs classes : les terpénoïdes, les caroténoïdes (carotènes : pigments rouge-orangé), les xanthophylles (pigments jaune) et la vitamine A (rétinol), les quinones à chaîne isopréniques (la vitamine E, la vitamine K, les ubiquinones et les plastoquinones) et les stéroïdes (les stérols, les acides biliaires, les hormones stéroïdes et la vitamine D).

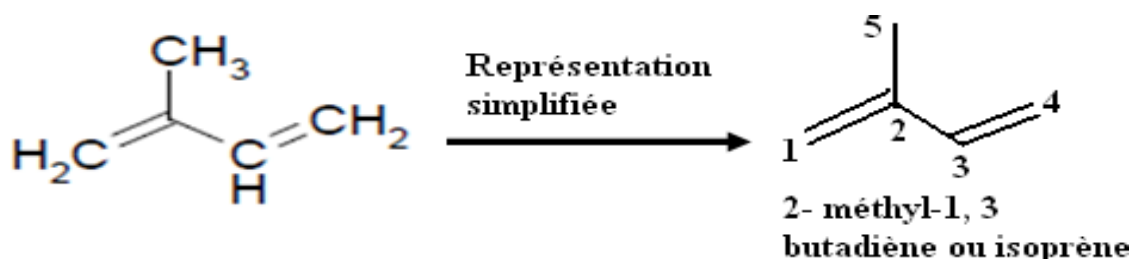


Fig. 91. Structure de l'unité isoprène.

III. 7. 2. 1. Terpènes et composés terpéniques

Un grand nombre de composés naturels de la famille des terpènes viennent des polymérisations et de remaniements d'un même précurseur l'isoprène.

La polymérisation peut se faire soit par une condensation 4-1 ou 4-4 qui fait perdre une double liaison à chaque unité (Fig. 92), les doubles liaisons restantes sont en conformation *trans* (structures étirées suivant le même axe) :

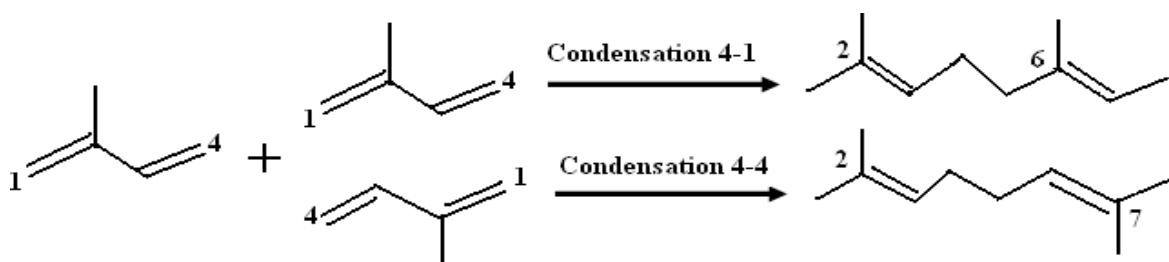


Fig. 92. Condensation des unités isoprènes : Liaison « tête à queue » ou « tête à tête ».

En fonction du nombre n (entier) d'unités isoprène (5C), sachant qu'une unité terpène est constituée de deux molécules d'isoprène, on peut distinguer : les monoterpènes ($n = 2$), les diterpènes ($n = 4$), les tétraterpènes ($n = 8$) (Tableau 14).

Tableau 14: Classification des terpènes.

Classe	Nb isoprènes	Exemples
Monoterpènes	2	Géraniol, camphre, menthol
Sesquiterpènes	3	farnésol
Diterpènes	4	Vitamines (A), E, K
Triterpènes	6	Stéroïdes (cholestérol, Vit. D...)
Tétraterpènes	8 6 – 10 700- 5000	Caroténoïdes Ubiquinone Caoutchouc

Ils forment la famille des carotènes et des xanthophylles chez les végétaux et sont les précurseurs de la vitamine A (Fig. 93) chez les animaux.

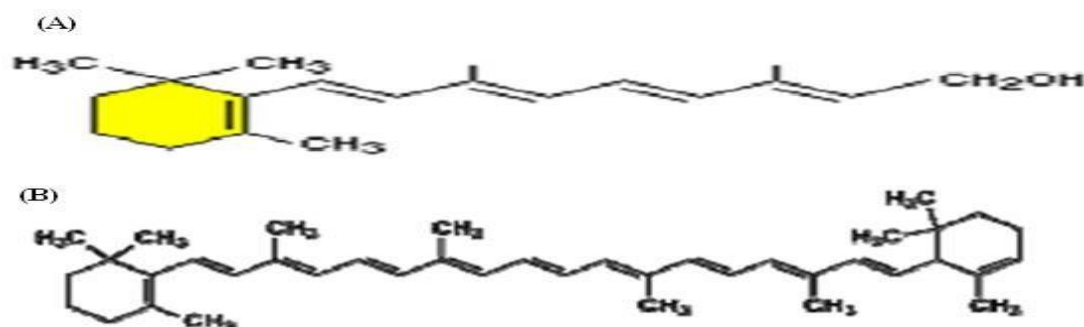


Fig. 93. (A) Rétinol (une des formes majeures de la vitamine A, dérive de la coupure du β - carotène. (B) Structure du β - carotène.

III. 7. 2. 2. Stérols et composés stéroïdes

Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbone). Ils se caractérisent par le noyau stérane hydrophobe partiellement ou totalement hydrogéné. Les stéroïdes diffèrent les uns des autres par la nature et la position des différents groupements portés par ce noyau, par la présence éventuelle de doubles liaisons et leur nombre. Habituellement, les carbones C₁₀, C₁₃ sont liés à un groupe méthyle -CH₃ et le carbone C₁₇ à un groupe alkyle (Tableau 15).

Les stéroïdes naturels sont répartis en quatre séries : les stérols, les acides et sels biliaires, les stéroïdes hormonaux et les vitamines D et autres dérivés.

Stérols

Ils ont déjà été mentionnés dans le sous-groupe des stérides des lipides simples.

Cholestérol

C'est un monoalcool secondaire, polycyclique et insaturé présentant un hydroxyle en C₃ (Fig. 94). Il est le principal stérol d'origine animale, présent dans les structures membranaires. Le cholestérol est apporté dans l'alimentation et synthétisé par le foie ; il est transporté dans le

sang par les lipoprotéines. C'est un constituant des membranes (rôle dans la fluidité) et il sert dans l'organisme à la synthèse de 3 groupes de molécules : les hormones stéroïdes (cortisol, testostérone...), la vitamine D₃ et les acides biliaires.

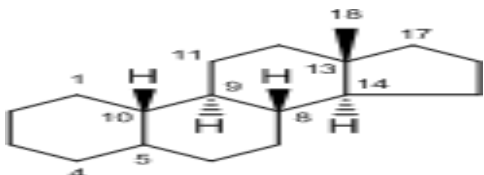
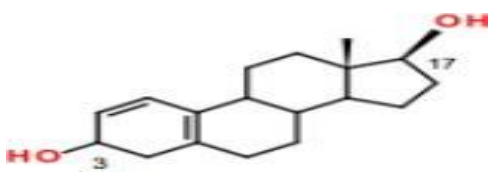
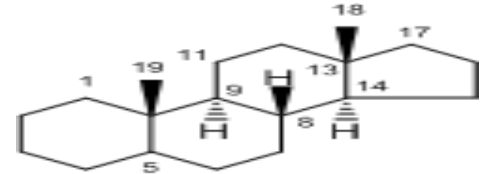
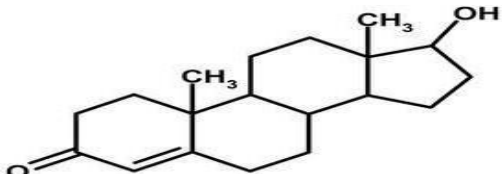
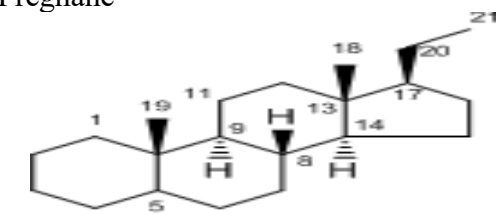
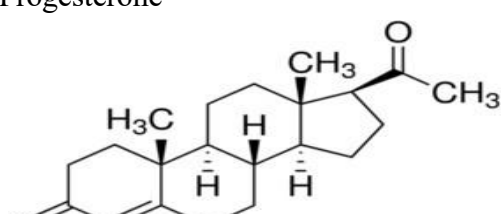
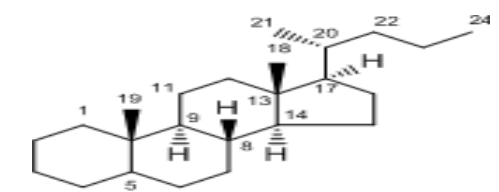
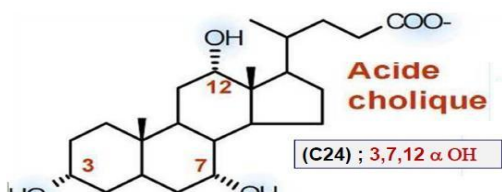
Stéroïdes hormonaux

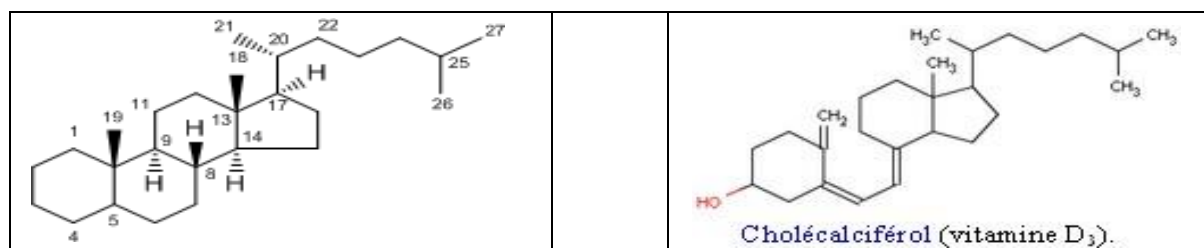
Ces molécules sont présentes chez les animaux et les végétaux et sont des molécules "informatives", régulateurs de métabolisme ou médiateurs cellulaires.

Les hormones stéroïdes des mammifères sont les hormones :

- **des glandes sexuelles et du placenta** : androgènes, oestrogènes et progestagènes.
- **des glandes corticosurrénales** : les minéralocorticoïdes qui contrôlent l'équilibre minéral, et les glucocorticoïdes qui contrôlent le métabolisme des glucides et le catabolisme des lipides de réserve. Elles dérivent toutes du cholestérol par réaction de coupure sur la chaîne latérale, ou par hydroxylation ou oxydation.

Tableau 15: Les différents types de composés stéroïdes.

Noyaux	C	Exemples
Estrane 	18	Estradiol 
Androstane 	19	Testostérone 
Pregnane 	21	Progestérone 
Cholane 	24	Sels biliaires 
Cholestane	27	Cholestérol, Vitamine D



CHAPITRE IV

Aminoacides, peptides, protéines. Structure et principales propriétés

IV . 1. Les acides amines communs des protéines

IV. 1. 1. Structure générale

Les acides aminés ou aminoacides (« amin » du grec *ammoniakos*, ammoniac) sont des acides carboxyliques porteurs de fonctions amines. Ce sont les unités structurales de base des protéines. Le carbone portant la fonction carboxylique acide est dit "0". La fonction amine est donc en α de la fonction acide d'où leur nom: acides α -aminés ou encore α -aminoacides (Fig. 95). L'usage en biochimie leur a attribué un nom commun, généralement à suffixe « ine », rappelant l'origine.

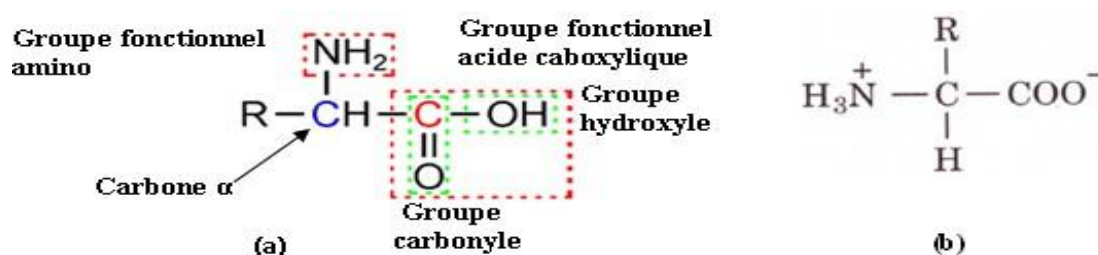


Fig. 95. Structure générale d'un acide amine : (a) Structure théorique : n'existe pas en réalité. (b) Forme zwitterionique : présente aux valeurs de pH physiologique.

Les 20 α -aminoacides **protéinogènes** naturelles (quelles que soient leurs origines, virale, bactérienne, végétale ou animale) sont caractérisés par leur chaîne latérale ; chaque α -aminoacide porte un nom, d'abord abrégé selon un code à trois lettres puis à une lettre, qui permet d'écrire et de comparer les séquences des protéines (Tableau 16).

IV. 1. 2. Classification

Les **acides aminés protéinogènes** peuvent être classés :

IV. 1. 2. 1. En fonction de la nature chimique de la chaîne latérale R qui peut être aliphatique ou cyclique en :

a. Acides aminés aliphatiques simples

Le radical R est uniquement constitué d'atomes de carbones et d'hydrogène (Tableau 16). La **glycine (Gly ou G)** : appelée aussi glycocholate. Outre qu'elle entre dans la composition des protéines, la glycine participe au niveau du foie à des processus de détoxification (réaction de conjugaison) ou encore à la formation de sels biliaires (glycocholate de sodium). L'**alanine (Ala ou A)** : est un acide aminé très répandu dans les protéines, son radical R est un groupement méthyle. La **Valine (Val ou V)**, la **leucine (Leu ou L)** et l'**isoleucine (Ile ou I)** ne peuvent être biosynthétisées par l'organisme. Elles font donc partie des acides aminés **indispensables**.

b. Acides aminés alcools

Il existe deux acides aminés standards présentant une fonction alcool au niveau de leur radical: la **sérine (Ser ou S)** et la **thréonine (Thr ou T)**, la thréonine fait également partie des acides aminés indispensables (Tableau 16). La fonction alcool rend leur chaîne latérale polaire, donc hydrophile. La fonction alcool primaire de la sérine peut faire l'objet d'une estérification avec l'acide phosphorique, formant la phosphosérine présente dans les phosphoprotéines.

c. Acides aminés soufrés

La **cystéine (Cys ou C)** présente une fonction thiol. Elle rend la chaîne latérale polaire donc hydrophile. C'est un acide aminé important car il contribue à la stabilisation de la structure tertiaire des protéines grâce à la formation de ponts disulfure. La **méthionine (Met ou M)** fait partie des acides aminés indispensables. Son radical R est apolaire donc hydrophobe (Tableau 16).

d. Acides aminés dicarboxyliques

Il s'agit de l'**acide aspartique (Asp ou D)** et de l'**acide glutamique (Glu ou G)** (Tableau 16). Ces deux acides aminés sont très répandus dans les protéines. En tant qu'acides aminés libres, ils jouent un rôle important dans le métabolisme azoté (réaction de transamination, cycle de l'urée, transport de fonction amine, l'acide glutamique sert aussi de précurseur pour la formation de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) médiateur du système nerveux central.

e. Les acides aminés amides

Très proches des acides aminés dicarboxyliques, ils présentent néanmoins une fonction amide au niveau du radical. Non ionisable mais polaire ; la chaîne latérale a un comportement hydrophile. L'**asparagine (Asn ou N)** et la **glutamine (Gln ou Q)** ont également un rôle important dans le métabolisme azoté (Tableau 16).

f. Acides aminés dibasiques

Ces acides aminés présentent une deuxième fonction amine au niveau du radical (Tableau 16). Cette fonction est ionisée à pH physiologique ($-\text{NH}_3^+$) d'où un comportement hydrophile.

La **lysine (Lys ou K)** fait partie des acides aminés indispensables. Elle est retrouvée au niveau du collagène ou elle présente la particularité d'être hydroxylée (au niveau du C_5) formant ainsi l'hydroxylysine. L'**arginine (Arg ou R)** et l'**histidine (His ou H)** sont présentes en quantité importante dans les histones (protéines basiques permettant la condensation de l'ADN dans le noyau). L'arginine joue un rôle important dans le cycle de l'urée et participe à

la formation de la créatine (réserve d'énergie sous forme de créatine phosphate dans le muscle strié).

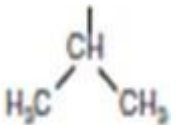
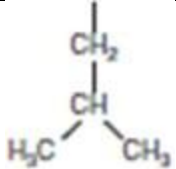
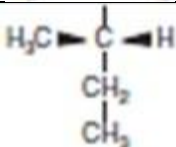
g. Acides aminés aromatiques

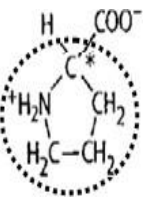
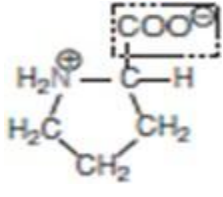
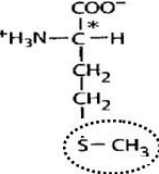
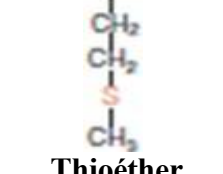
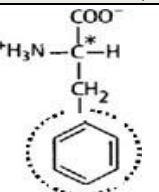
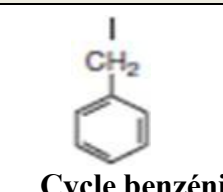
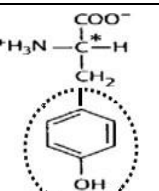
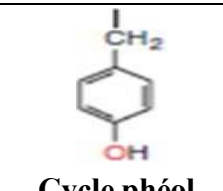
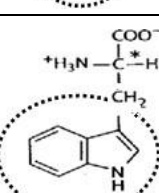
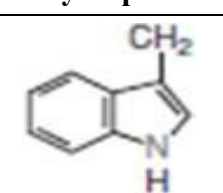
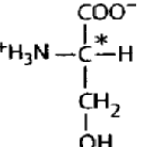
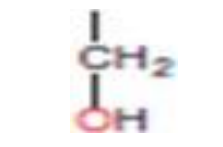
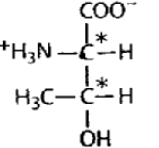
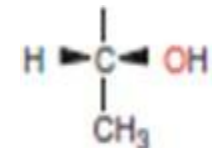
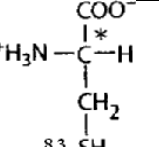
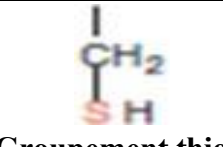
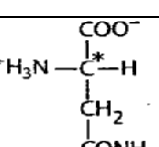
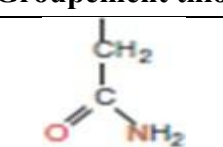
La **phénylalanine (Phe ou F)** fait partie des acides aminés indispensables. Comme son nom l'indique, sa structure est celle de l'alanine substituée par un groupement phényl, formant un radical hydrophobe. La **tyrosine** : obtenue par hydroxylation de la phénylalanine, sa chaîne latérale devient hydrophile (Tableau 16). Ces deux acides aminés sont importants car ils servent de précurseurs de la biosynthèse des catécholamines (adrénaline et noradrénaline). La tyrosine participe à la formation des hormones thyroïdiennes. Le **tryptophane (Trp ou W)** est un acide aminé indispensable. C'est le précurseur biosynthétique de la sérotonine (médiateur du système nerveux central) et de la vitamine B₃.

h. Les acides aminés hétérocycliques

La **proline (Pro ou P)** est un acide aminé atypique car la chaîne latérale forme un cycle pentagonal avec la fonction amine (qui devient secondaire) du carbone α en raison de cette structure cyclique, les résidus proline dans une protéine introduisent un coude dans la chaîne peptidique. Tout comme la lysine, elle présente la particularité d'être hydroxylée au sein du collagène (hydroxyproline).

Tableau 16 : Structure chimique des 20 acides aminés protéinogènes.

Aminoacide		Formule	Chaîne latérale
Nom	Abréviations		
Glycine	Gly, G	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	
Chaîne latérale (R) apolaire aliphatique			
Alanine	(Ala, A)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}^*-\text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	
Valine	(Val, V)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}^*-\text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	
Leucine	(Leu, L)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}^*-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	
Isoleucine	(Ile, I)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}^*-\text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}^* \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	

Proline	(Pro, P)		
Méthionine	(Met, M)		 Thioéther
Chaîne latérale (R) aromatique			
Phénylalanine	(Phe, F)		 Cycle benzénique
Tyrosine	(Tyr, Y)		 Cycle phéol
Tryptophane	(Try, W)		 Cycle indol
Chaîne latérale (R) polaire non chargée à pH 7			
Sérine	(Ser, S)		
Thréonine	(Thr, T)		
Cystéine	(Cys, C)		 Groupement thiol
Asparagine	(Asn, N)		

Glutamine	(Gln, Q)	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C}^* - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CONH}_2 \end{array} $	
Chaîne latérale (R) chargée négativement à pH 7			
Aspartate	(Asp, D)	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C}^* - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array} $	groupe carboxyle protoné ou déprotoné βCH_2 $\xrightleftharpoons[pK_a = 3,9]{\text{H}^+}$ βCH_2 ion aspartate
Glutamate	(Glu, E)	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C}^* - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array} $	βCH_2 $\xrightleftharpoons[pK_a = 4,1]{\text{H}^+}$ βCH_2 ion glutamate
Chaîne latérale (R) chargée positivement à pH 7			
Lysine	(Lys, K)	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C}^* - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}_3^+ \\ 10,8 \end{array} $	groupe amine protoné ou déprotoné βCH_2 $\xrightleftharpoons[pK_a = 10,5]{\text{H}^+}$ βCH_2 ion alkylammonium
Arginine	(Arg, R)	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C}^* - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C} = \text{NH}_2^+ \\ 12,5 \end{array} $	groupe guanidine protoné ou déprotoné βCH_2 $\xrightleftharpoons[pK_a = 12,5]{\text{H}^+}$ βCH_2 ion guanidinium
Histidine	(His, H)	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C}^* - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array} $ 6,0	hétérocycle imidazole protoné ou déprotoné βCH_2 $\xrightleftharpoons[pK_a = 6,0]{\text{H}^+}$ βCH_2 ion imidazolium

IV.1.2.2. En fonction de la polarité de la chaîne latérale

Selon la nature de la chaîne latérale, on distingue trois groupes d'α-aminoacides : apolaires, polaires neutres et polaires ionisables (tableau 16). Les AA **non polaires** ou hydrophobes. Cette catégorie comprends cinq acides aminés avec des chaînes latérales aliphatiques qui constituent souvent les poches hydrophobes des protéines (Gly, Ala, Val,

Leu, Ile,) deux avec des noyaux aromatiques (Phe et Trp) un contenant du soufre (Met) et la (Pro).

1. **AA polaires, non chargés.** Les chaînes latérales de ces acides aminés sont plus solubles dans l'eau donc plus hydrophiles parce qu'ils contiennent des groupements fonctionnels qui forment des liaisons hydrogènes avec l'eau. Cette catégorie comprend : Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn et Gln.
2. **AA polaires chargés négativement.** Les deux acides aminés dont les chaînes latérales ont une charge négative nette à pH 7,0 sont l'acide aspartique et l'acide glutamique.
3. **Les AA polaires chargés positivement.** Les acides aminés dans lesquels les chaînes latérales R ont une charge positive nette à pH 7, sont la Lys, Arg, His.

IV.1.2.3. En fonction de l'essentialité de l'acide aminé

Certains aminoacides ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et lui sont indispensables (essentiels). Chez l'être humain, il y a huit acides aminés essentiels apportés par l'alimentation (tryptophane, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine, leucine et isoleucine). L'histidine et l'arginine sont dits semi-essentiels car seuls les nourrissons ont besoin d'un apport exogène (trouvés dans le lait maternel). La cystéine, la glycine et la tyrosine sont parfois nécessaires à certaines populations qui ne sont pas capables de les synthétiser en quantités suffisantes. Par exemple, les personnes atteintes de phénylcétonurie doivent réduire au maximum l'absorption de phénylalanine, or cet acide aminé est précurseur de la tyrosine : cette dernière ne peut alors plus être synthétisée et devient essentielle.

Il existe deux phrases mnémotechniques pour se souvenir des 8 aminoacides indispensables chez l'adulte: **Le très lyrique Tristan fait vachement méditer Iseult**, ce qui donne : **Leucine, Thréonine, Lysine, Tryptophane, Phénylalanine, Valine, Méthionine**, et enfin **Isoleucine**. La deuxième phrase est dérivée du code à trois lettres des acides aminés essentiels (excluant l'arginine) : « **Mets-le dans la valise, il fait trop d'histoires**».

IV.1. 2. 4. Selon qu'ils soient glucoformateurs ou cétoogènes

Les acides aminés qualifiés de **glucoformateurs** sont des composés dont la dégradation conduit à la formation d'intermédiaires métaboliques impliqués dans la néoglucogénèse. La dégradation de certains acides aminés conduit à la formation d'acétyl CoA ou d'acétoacétylCoA. Ils sont qualifiés de **cétoformateurs** (ou de **cétoogènes**), c'est-à-dire qu'ils contribuent à la formation des corps cétoniques (Tableau 17).

Tableau 17 : Les acides aminés glucoformateurs et cétoformateurs.

Glucoformateurs stricts	Cétogènes stricts	Mixtes
Gly, Ala, Ile, Trp, Phe, Arg, Gln, Asn, Thr, Asp, Glu, Cys, His, Pro	Leu, Lys	Ser, Met, Tyr, Val

IV. 1. 2. 5. Acides aminés particuliers

A côté des acides aminés protéinogènes, il existe dans la nature de nombreux autres composés du même type.

La **sélénocystéine** est un analogue de la cystéine dans lequel le soufre a été remplacé par le sélénium, un oligoélément plus réactif (Fig. 96). A côté de sa valeur de pKa nettement plus basse que celle du groupement SH de la cystéine, le groupement SeH est dans la cellule essentiellement dissocié. Les protéines à sélénocystéine (telle que la glutathion peroxydase : enzyme impliquée dans la détoxification des peroxydes lipidiques) ont en général des fonctions rédox.

L'**homocystéine** est un produit intermédiaire de la dégradation de la méthionine. Sa chaîne latérale est allongée d'un groupement CH₂ par comparaison avec la cystéine (Fig. 96). La **dopa** (abréviation 3,4 dihydroxyphénylalanine) est formée par hydroxylation de la tyrosine et constitue un produit intermédiaire de la biosynthèse des catécholamines et de la mélanine. L'**ornithine**, un acide aminé basique, et la **citrulline** qui en dérive sont des intermédiaires du cycle de l'urée. L'ensemble des ces composés forment la classe des acides aminés non protéinogènes (Fig. 96).

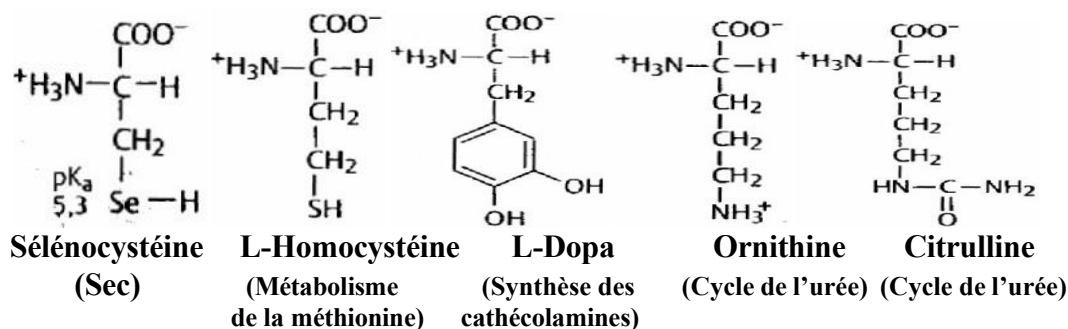


Fig.96. La sélénocystéine et certains acides aminés non protéinogènes.

IV. 1. 3. Propriétés des acides aminés

IV. 1. 3. 1. Propriétés physiques

IV.1. 3. 1. 1. Solubilité

A l'état solide les acides aminés forment des cristaux. Ils sont assez facilement solvatés par les solvants polaires : très solubles dans l'eau (solution incolore) et l'éthanol mais sont insolubles dans les solvants apolaires comme le benzène et l'éther.

La solubilité décroît avec le nombre d'atomes de carbone du radical R. Inversement, la présence sur le radical R de groupements ionisables (NH₂, COOH) ou hydrophiles (OH, SH), augmente cette solubilité. La solubilité des AA varie avec le pH et passe par un minimum correspondant à leur pHi (Gly, Ala : bien solubles, Leu, Tyr, Cystine : très peu solubles et cristallisent spontanément dans les hydrolysats digestifs ou bactériens et dans les urines dès que leur concentration s'élève). Ces différences de solubilité permettent la séparation et l'identification des acides aminés.

IV.1. 3. 1. 2. Propriétés optiques

a- Sétéré-isoméris

Mis à part la glycine, tous les acides aminés standards ont un carbone central (C_α) présentant quatre substitutions différentes (**carbone asymétrique** ou **chiral**). Cela amène une isoméris optique permettant de définir la série de l'acide aminé.

Lorsque les modèles des α-aminoacides sont disposés selon la convention de Fischer, la chaîne carbonée est verticale et vue par sa convexité ; le -COO⁻, dont le niveau d'oxydation est le plus élevé, est placé vers le haut et le -NH₃⁺ peut alors se situer soit à gauche, soit à droite du C_α chiral ; les α-aminoacides appartiennent alors à la série L (du latin *laevus*, côté gauche) ou à la série D (du latin *dexter*, côté droit), respectivement (Fig. 97). Il existe donc, pour chaque α-aminoacide, sauf pour la glycine où R = H, deux stéréoisomères (énantiomères), images l'un de l'autre dans un miroir ; les α-aminoacides des protéines de la plupart des êtres vivants connus appartiennent à la série L.

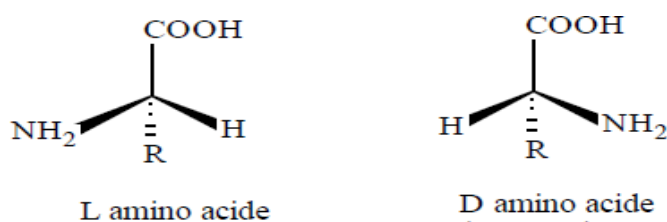


Fig. 97. Les stéréoisomères d'acides aminés.

Il existe quatre acides aminés constitutifs des protéines qui possèdent deux carbones asymétriques. Dans ce cas le nombre de stéréoisomères est égal à 2ⁿ soit 4. Les isomères sont alors qualifiés de **diastéréoisomères**. C'est le cas de la thréonine, de l'isoleucine, de l'hydroxyproline et de l'hydroxylysine. Ces dérivés sont qualifiés de dérivés **allo** (Fig. 98).

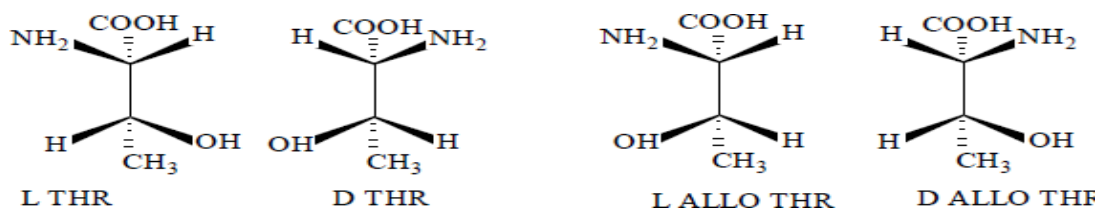


Fig. 98. Les diastéréoisomères d'acides aminés.

b- Activités spectrales

La mesure de la quantité de lumière absorbée par une molécule s'appelle la spectrophotométrie. Les aminoacides n'absorbent pas la lumière visible (400 à 750 nm), leurs solutions sont incolores.

Tous les acides aminés présentent une absorption importante aux longueurs d'onde inférieures à 230nm (Fig. 99). Les acides aminés aromatiques (Phe, Tyr et Trp) ont la particularité d'absorber fortement les rayons ultraviolet (U V) (Trp 278-280nm, Tyr 275nm à pH acide et 280nm à Ph > 10, Phe absorbe à 254 nm). Cette réactivité est due au noyau aromatique et à la présence d'électrons délocalisés. Cette propriété permet leur détection et leur dosage par spectrophotométrie en utilisant la loi de Beer Lambert :

$$A = \epsilon_M \cdot l \cdot [C] \text{ et } A = \log (I_0 / I)$$

ϵ_M coefficient d'absorption molaire (molaire-1.cm-1) : $\epsilon_M = 5600$ (Trp à 280 nm) ; $\epsilon_M = 1400$ (Tyr à 275 nm) ; $\epsilon_M = 200$ (Phe à 257 nm).

La loi de Beer-Lambert montre que l'absorption lumineuse est proportionnelle à la concentration molaire, à condition de travailler à la longueur d'onde d'absorption maximum de la molécule ou $\lambda_{\max}$ et avec une solution limpide et suffisamment diluée.

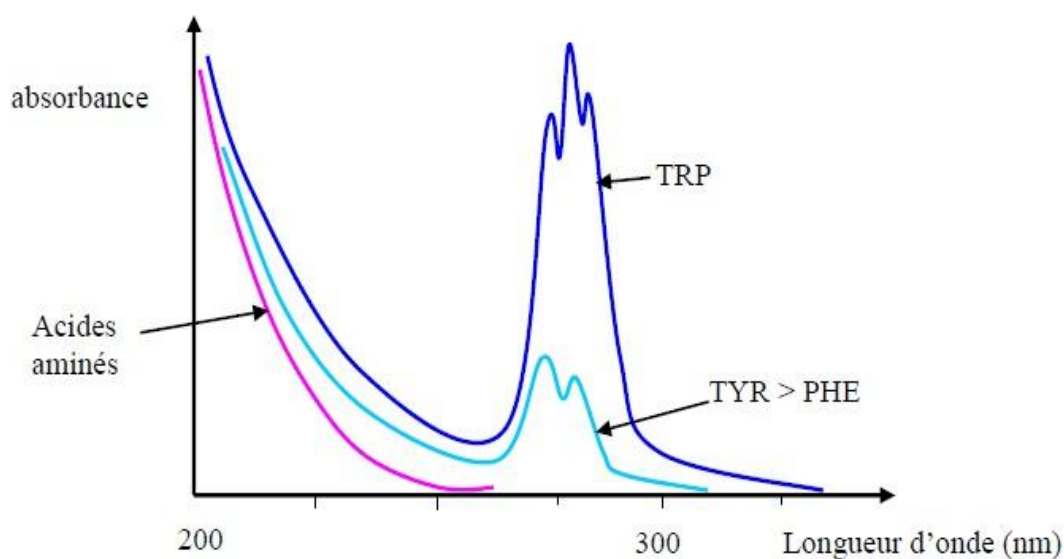


Fig. 99. Spectres d'absorption des aminoacides dans l'ultra-violet.

d- Fluorescence

Certaines molécules, lorsqu'elles sont excitées par une lumière incidente à une longueur d'onde où elles absorbent ce rayonnement émettent une lumière de longueur d'onde plus grande: c'est le phénomène de fluorescence. C'est le cas du tryptophane et de la tyrosine dont la fluorescence permet l'étude de leur environnement proche dans les protéines (analyse de structure tridimensionnelle ou du mécanisme catalytique). Le tryptophane, grâce à la structure

de son noyau indolique, est fluorescent. Ainsi soumis à un rayonnement à 278 nm il émet une fluorescence à 348 nm (Fig. 100).

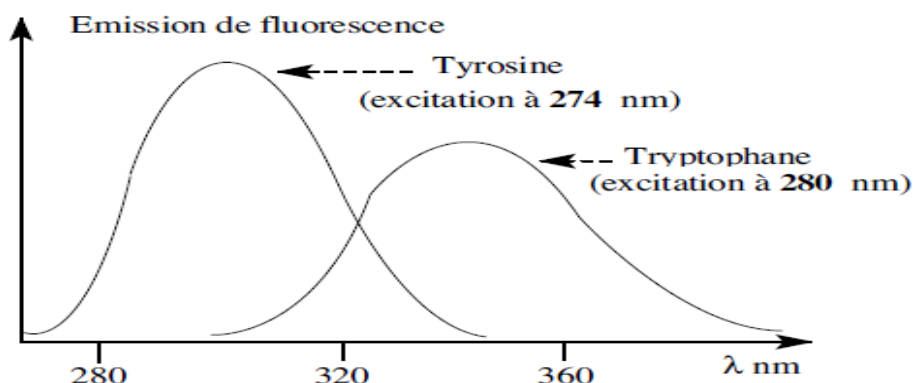


Fig. 100. Fluorescence du tryptophane (spectres d'émission et d'excitation).

IV. 1. 3. 2. Propriétés chimiques et dosage

IV.1. 3. 2. 1. Ionisation, propriétés acido-basique.

Un aminoacide cristallisé, dissous dans l'eau se comporte comme un ion dipolaire (Fig. 101). Cet acide aminé possède à la fois caractère acide (donneur de proton) et un caractère basique (accepteur de proton). Ils sont **amphotères (ampholytes)**: le groupement α -COOH peut céder un proton et il apparaît un anion ($R\text{-COOH} \rightarrow R\text{-COO}^- + H^+$). Le groupement α -aminé peut fixer un proton et il apparaît un cation ($R\text{-NH}_2 + H^+ \rightarrow R\text{-NH}_3^+$).

En milieu acide, en présence d'un excès de protons, l'acide aminé sera sous forme pleinement protonisée. Au fur et à mesure que la concentration en proton diminue (ou que la concentration en OH^- augmente), l'acide aminé cède des protons selon les étapes suivantes :

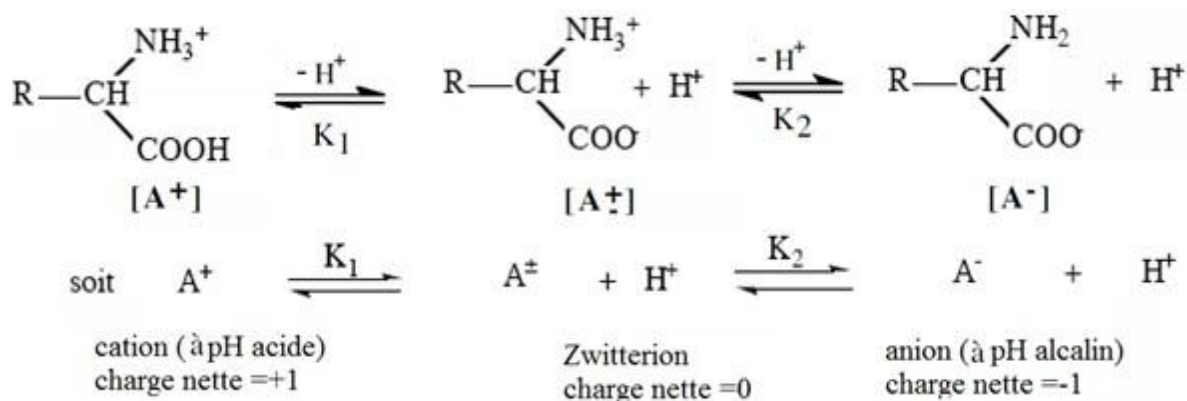


Fig. 101. Equation de déprotonation d'un aminoacide.

On appelle **zwitterion** (ion hybride en allemand) une molécule qui porte à la fois une charge positive et négative. Ils peuvent par conséquent servir d'agent tampon.

Le pH où les molécules d'acide aminé sont sous la forme dipolaire et où la charge nette de la molécule est nulle, correspond au **point isoionique** ou **isoélectrique** (pI ou pHi) de

l'acide aminé. A ce pH, sa solubilité dans l'eau est minimale et il ne migre pas dans un champ électrique à courant continu (électrophorèse).

Les deux réactions de dissociation du groupement carboxylique et amine correspondent à des équilibres auxquels s'applique la loi d'action de masse, de sorte que les proportions d'acides aminés ionisés et non ionisés existant en solution vont dépendre de la concentration en ions H^+ . Il est donc possible d'écrire les deux **constantes de dissociation** K_1 et K_2 , correspondant aux deux équilibres, de la manière suivante :

$$K_1 = \frac{[R - COO^-][H^+]}{[R - COOH]} \quad K_2 = \frac{[R - NH_2][H^+]}{[R - NH_3^+]}$$

Connaissant la valeur de K_1 et celle de K_2 , il est possible, pour chaque concentration en ions H^+ (pour chaque pH), de calculer le pourcentage des molécules ionisées. Lorsque la concentration en ions H^+ est égale à K_1 ou K_2 , il y a autant de molécules ionisées que de molécules non ionisées. Le pK ($-\log K$) correspond au *pH de demi dissociation*, il indique la facilité avec laquelle cette dissociation a lieu, et permet d'apprécier la force de l'acide et de la base. Pour calculer le pK on utilise l'équation de Henderson-Hasselbalch:

$$pK = pH + \log_{10} \frac{[\text{Accepteur de protons}]}{[\text{Donneur de protons}]}$$

Les valeurs de pK des 20 α -aminoacides des protéines sont données dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Constantes caractéristiques des différents acides aminés

Code	Abrév.	Acide amine	pK _a (α -COOH)	pK _b (α -NH ₃)	pK _R (chaîne latérale)	pI	Masse molaire	(% protéines humaines)
A	Ala	Alanine	2,35	9,87	-	6,01	89	7,8
C	Cys	Cystéine	1,92	10,70	8,18	5,05	121	1,9
D	Asp	A. aspartique	1,99	9,90	3,90	2,85	133	5,3
E	Glu	A. glutamique	2,10	9,47	4,07	3,15	147	6,3
F	Phe	Phénylalanine	2,20	9,31	-	5,49	165	3,9
G	Gly	Glycine	2,35	9,78	-	6,06	75	7,2
H	His	Histidine	1,80	9,33	6,04	7,60	155	2,3
I	Ile	Isoleucine	2,32	9,76	-	6,05	131	5,3
K	Lys	Lysine	2,16	9,06	10,54	9,60	146	5,9
L	Leu	Leucine	2,33	9,74	-	6,01	131	9,1
M	Met	Méthionine	2,13	9,28	-	5,74	149	2,3
N	Asn	Asparagine	2,14	8,72	-	5,41	132	4,3
P	Pro	Proline	1,95	10,64	-	6,30	115	5,2
Q	Gln	Glutamine	2,17	9,13	-	5,65	146	4,2
R	Arg	Arginine	1,82	8,99	12,48	10,76	174	5,1
S	Ser	Sérine	2,19	9,21	-	5,68	105	6,8
T	Thr	Thréonine	2,09	9,10	-	5,60	119	5,9
U	Sec	Sélocystéine	-	-	5,73	-	168	-
V	Val	Valine	2,39	9,41	-	6,00	117	6,6
W	Trp	Tryptophane	2,46	9,21	-	5,89	204	1,4
Y	Tyr	Tyrosine	2,20	9,74	10,46	5,64	181	3,2

Les résidus d'acides aminés basiques comme l'arginine, l'ornithine, la citrulline, la lysine, l'histidine permettent de lutter contre l'acidose en fixant un proton. Au contraire les résidus d'acide aspartique ou d'acide glutamique permettent de lutter contre l'alcalose en libérant un proton. Le pouvoir tampon des protéines (lutte contre l'acidose ou équilibre acidobasique) est du à ces différents groupements constitutifs.

IV.1. 3. 2. 2. Titration des acides aminés

La dissociation des différentes fonctions polaires d'un aminoacide peut être aisément étudiée, en ajoutant à la solution HCl ou NaOH et en mesurant le pH à chaque addition. Des courbes de titration, dont l'aspect sera différent suivant qu'il s'agit d'un acide aminé neutre, acide ou basique. Il s'agit d'une courbe donnant le pH en fonction de la quantité de base ou d'acide ajoutée et qui permet la mise en évidence des différents pK de l'acide aminé. Connaissant les valeurs des pK et du pH_i, il est possible de tracer la courbe de neutralisation d'un acide aminé.

• Ionisation d'un acide aminé à chaîne latérale ne comportant pas de groupe ionisable

En général, lorsque le radical n'est pas ionisable, le pK_{αCOOH} est de l'ordre de 2 et le pK_{αNH₂} de l'ordre de 10 (Fig. 102 et 103). Le pH_i où l'acide aminé est amphotère se calcule par

la formule :
$$\text{pH}_i = \frac{(\text{pK}_1 + \text{pK}_2)}{2}$$

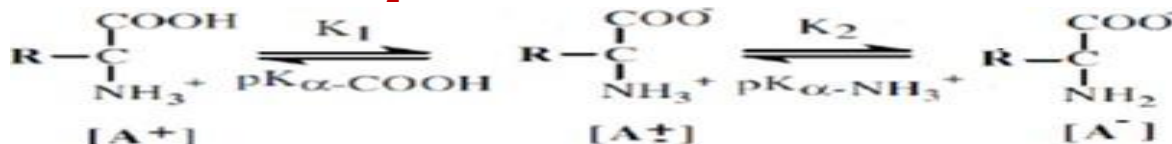


Fig. 102. Equilibre protonique d'un aminoacide neutre.

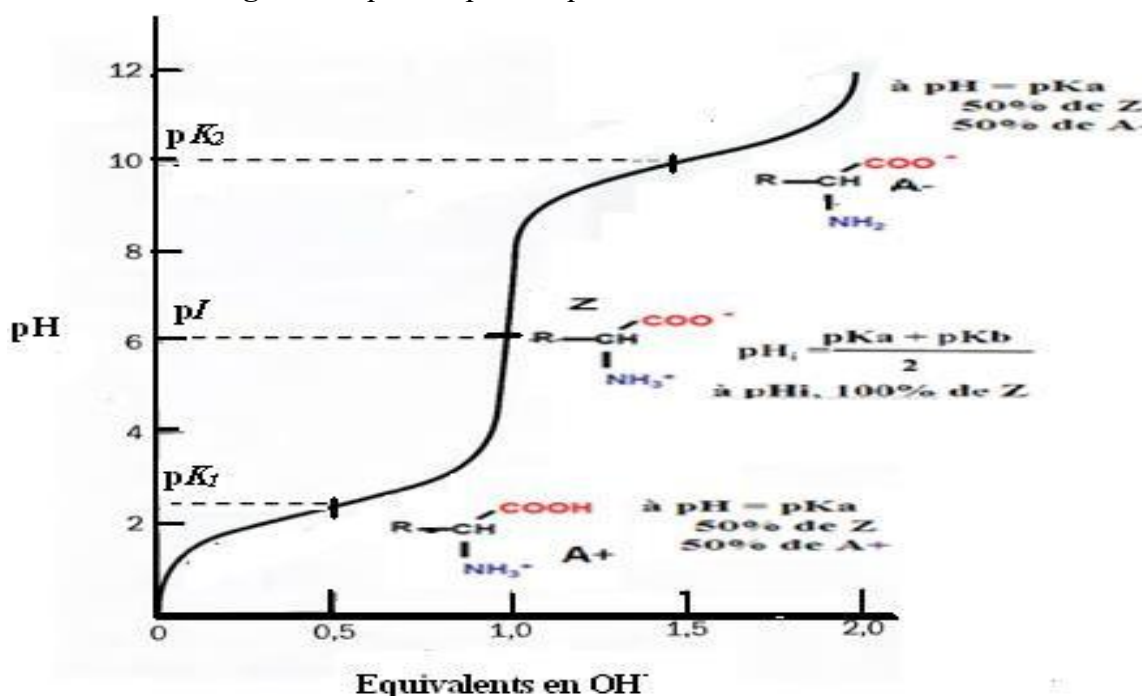


Fig. 103. Courbe de titration d'un acide aminé neutre (la glycine) par la soude.

Il est constaté qu'autour des valeurs de pK, le pH évolue peu malgré l'ajout constant de NaOH, en raison de l'effet tampon des acides aminés en solution (Fig. 103).

B- Ionisation d'un acide aminé à chaîne latérale comportant une fonction acide

Ces acides aminés possèdent sur leur chaîne latérale un groupement ionisable supplémentaire. De la même façon, une constante de dissociation notée K_R et un pK_R ($= -\log K_R$) est attribué à ce radical. Lorsque l'acide aminé est sous sa forme la plus protonnée, trois fonctions sont susceptibles de libérer un proton (Fig. 104, 105). L'ordre de libération dépend des différents pK : du plus faible (plus acide) au plus élevé (moins acide).

Pour l'aspartate et le glutamate, le $pK_{\alpha\text{-COOH}}$ est de l'ordre de 4 ; le pH_i varie de 2,7 à 3,2.

Lorsque le radical est ionisable, pour calculer le pH_i , il faut utiliser les pK intervenant de part et d'autre de la forme amphotère, au niveau de l'équation de dissociation.

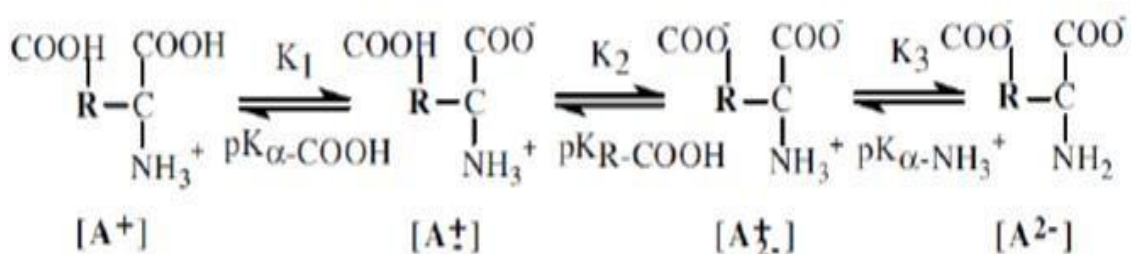


Fig. 104. Etat ionique d'un aminoacide acide en fonction du pH.

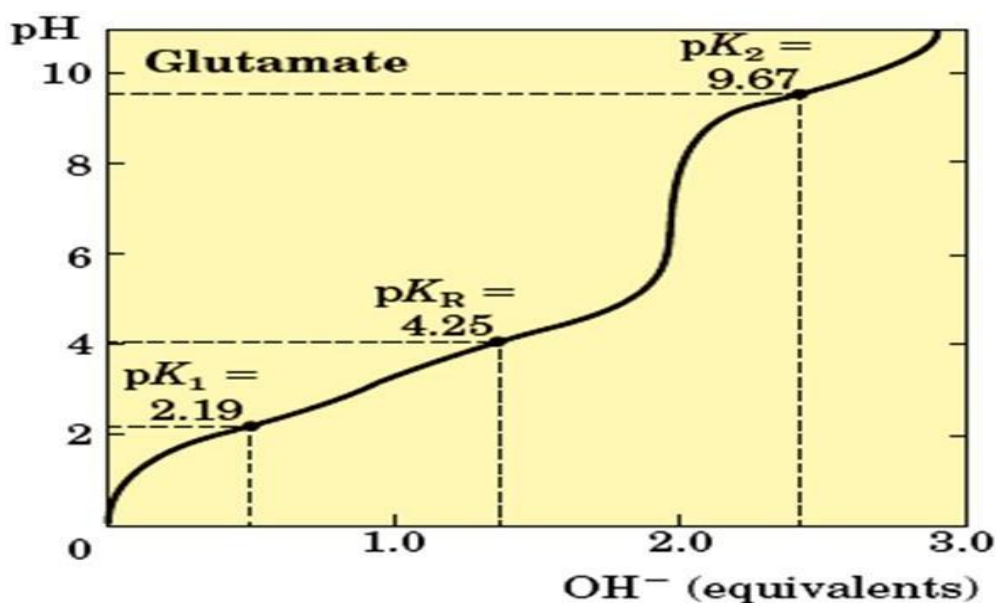


Fig. 105. Courbe de titration d'un acide aminé acide (l'acide glutamique) par la soude.

C- Ionisation d'un acide aminé à chaîne latérale comportant une fonction base

Pour les acides aminés basiques (Fig. 106, 107), le pH_i se calcule par la formule :

$$pH_i = \frac{(pK_2 + pK_3)}{2}$$

Pour l'arginine et la lysine, le $pK_{\alpha NH_2}$ est de l'ordre de 12 et le pH_i s'étend de 7,8 à 10,8.

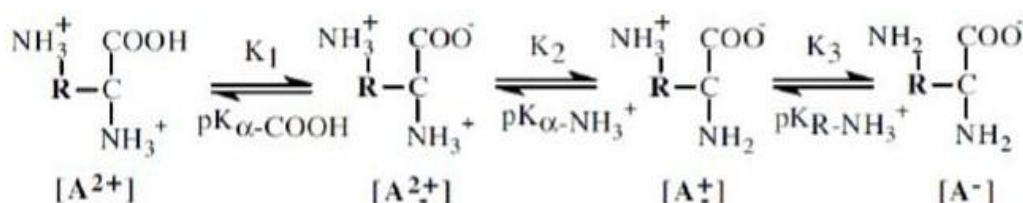


Fig. 106. Etat ionique d'un aminoacide basique en fonction du pH.

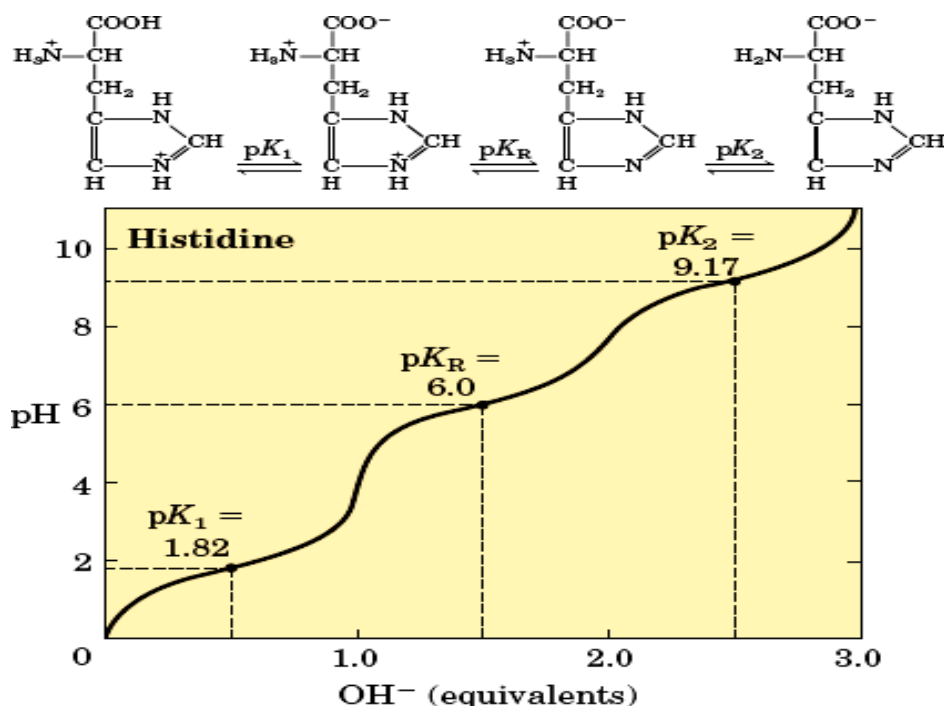


Fig. 107. Courbe de titration d'un acide aminé basique (l'histidine) par la soude.

IV. 1. 3. 3. Réactions dues à la présence du carboxyle

A- Formation des sels

Cette propriété peut être utilisée pour titrer les acides aminés. Le groupement carboxyle des acides aminés perd un proton en réagissant avec les bases, formant ainsi des sels qui portent le nom de l'acide aminé terminé du suffixe « ate » de sodium (Fig. 108). La formation de sels se fait généralement avec la soude (NaOH) ou la potasse (KOH).

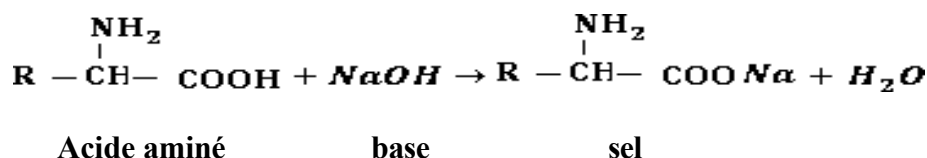


Fig. 108. Réaction d'un aminoacide avec une base.

B - Estérification

L'estérification de la fonction acide par un alcool se fait en milieu acide fort (Fig. 109). Les esters obtenus sont volatiles et peuvent ainsi être séparés par distillation fractionnée ou par chromatographie phase gazeuse.

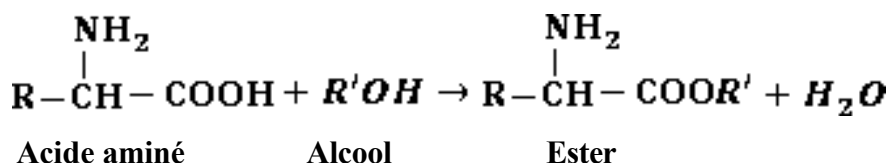


Fig. 109. Réaction d'un aminoacide avec un alcool.

C - Amidification

La fonction carboxylique d'un acide aminé peut former l'objet d'une réaction d'amidification (Fig. 110), qui permet la fixation d'une molécule d'ammoniaque, réaction importante de l'urogénèse et de l'ammoniogénèse. Cette réaction (catalysée par la glutamine synthétase) intervient à partir de l'acide glutamique.

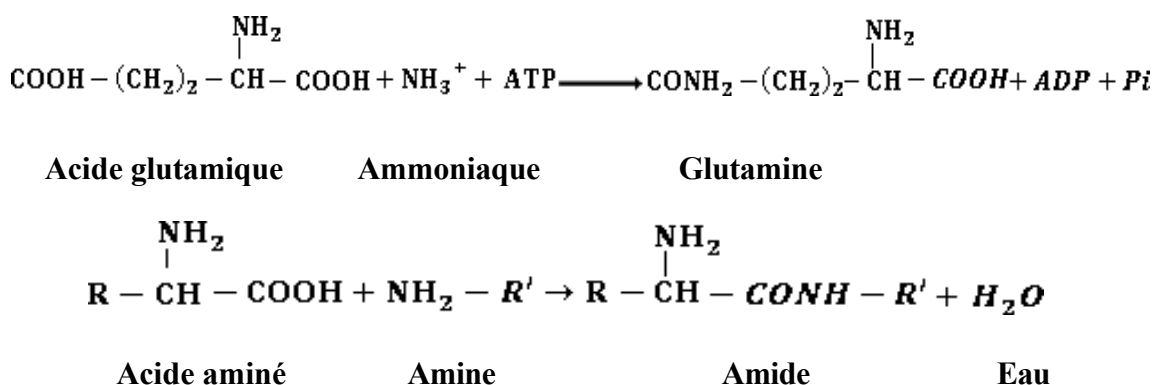
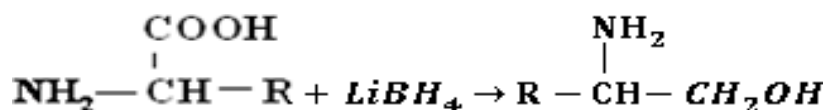


Fig. 110. Réactions d'amidification d'un aminoacide.

Quand le groupement amine est fourni par un autre acide aminé, la liaison est dite peptidique. Si la liaison implique un COOH ou un NH₂ situé dans une autre position (β-COOH, γ-COOH, ε-NH₂), la liaison est dite peptioïde (ex. la liaison entre l'acide glutamique et la cystéine dans le glutathion).

D- Réduction

La fonction acide peut être réduite en fonction alcool, en présence de LiBH₄ ou NaBH₄ ou par voie enzymatique. Le produit obtenu est un alcool α aminé (Fig. 111). Cette réaction est utilisée pour identifier les acides aminés.



Acide aminé

Alcool aminé

Fig. 111. Réactions de réduction d'un aminoacide.

E- Décarboxylation

La fonction carboxylique (du carbone α) peut faire l'objet d'une réaction de décarboxylation conduisant à la formation d'amine. Cette réaction est catalysée par des décarboxylases cellulaires, elle peut donner naissance à des corps qualifiés de biogènes car doués d'une activité physiologique considérable (Tableau 19).

Tableau 19 : Principales amines biogènes.

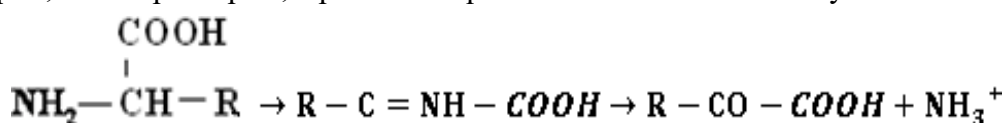
Ac. aminé	Amine	Fonction
Aspartate	α-alanine β-alanine	Dans les protéines Composant du coenzyme A
Glutamate	γ-Amino-butyrate	Neurotransmetteur (GABA) Médiateur du système nerveux central
Cystéine	Cystéamine	Composant du coenzyme A
Sérine	Ethanolamine	Composant des phospholipides
Histidine	Histamine	Médiateur, Neurotransmetteur
Thréonine	Aminopropanol	Composant de la vitamine B ₁₂
Arginine	Agmatine	Neuromodulateur
3,4-dihydroxy-Phénylalanine (DOPA)	dopamine	Neurotransmetteur
5-Hydroxy-tryptophane	Sérotonine	Médiateur, Neurotransmetteur
Ornithine	Putrescine	Précurseur des polyamines

IV. 1. 3. 4. Réactions dues à la présence du groupement amine

A- Désamination

La désamination est une réaction au cours de laquelle, l'acide aminé perd son groupement α-aminé sous forme de NH₃ (Fig. 112). Elle peut être réalisée par voie chimique (acide nitreux HNO₂) ou enzymatique (L-glutamate déshydrogénase et l'acide aminé oxydase).

Pour maintenir la réserve intracellulaire des 20 aminoacides servant à la synthèse protéique, le métabolisme passera par des désaminations avec oxydation qui produiront des acides α cétoniques, source principale, à partir de laquelle les aminoacides sont synthétisés.



Acide aminé

Acide α-iminé

Acide α-cétonique

Fig. 112. Réactions de désamination d'un aminoacide.

B- Transamination

Elle désigne le transfert réversible du NH_2 d'un acide aminé à un α cétoacide; il n'y a pas de libération de NH_3 . Les enzymes qui catalysent de telles réactions sont appelées aminotransférases ou transaminases (Fig. 113).

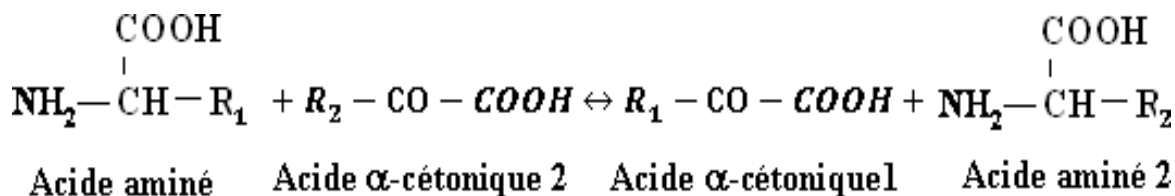


Fig. 113. Réactions de transamination d'un aminoacide.

C- Réactions avec les aldéhydes

Les acides aminés forment en présence d'aldéhydes des imines appelés « base de Schiff » qui sont relativement labiles (Fig. 114). Ces bases de Schiff apparaissent très souvent comme intermédiaires dans des réactions enzymatiques impliquant les aminoacides comme substrat. La proline qui contient une fonction amine secondaire ne réagit pas avec les aldéhydes.

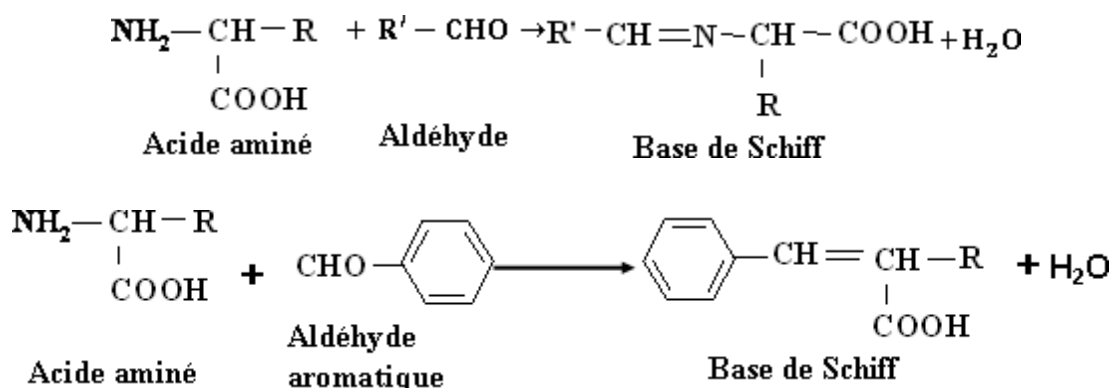


Fig. 114. Réaction d'un aldéhyde avec un aminoacide.

D- Réactions de substitution

Ces réactions impliquent la substitution d'un hydrogène de la fonction NH_2 par un radical organique R' , qui peut être une chaîne : alkylée (alkylation), aromatique (arylation), acyl (acylation).

- Réaction d'alkylation (ou méthylation)

L'exemple le plus connu est la méthylation de la glycine qui se fait dans les organismes vivants et *in vitro* (Fig. 115). Dans certaines protéines végétales on rencontre du méthylglycine. La méthylation de la glycine en triméthylglycine, après réduction aboutit à la formation de la choline.

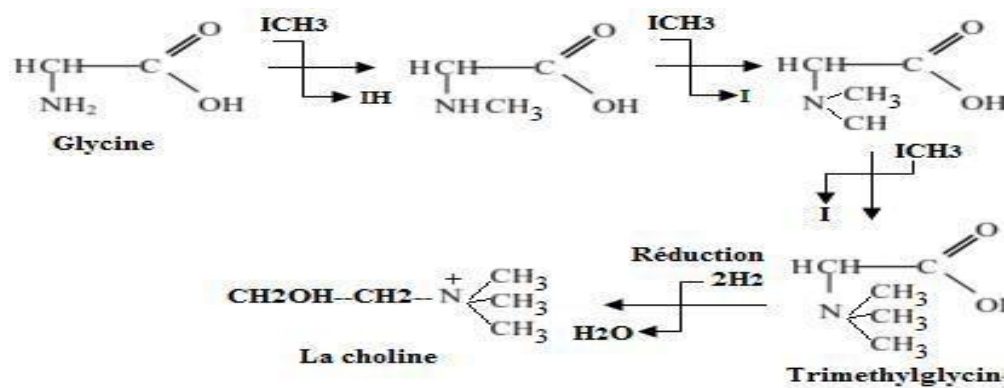


Fig. 115. La méthylation de la Glycine.

- Réaction d'arylation

L'arylation est une réaction de substitution d'un H de la fonction NH_2 par un groupement aryle (aromatique). Cette réaction à l'aide d'un dérivé aromatique, le 2, 4-dinitro-fluoro-benzène (DNFB), a permis à Frederik SANGER en 1953 d'établir la première structure primaire d'une protéine : l'insuline (Prix Nobel de chimie 1958).

Le noyau dinitrobenzène se combine à l'amine libre (Fig. 116). La protéine est par la suite hydrolysée en milieu acide ou basique. Les acides aminés sont libérés sauf ceux qui possédaient un NH_2 libre et qui restent combinés au dinitrobenzène. Le DNP-aa est un composé jaune, facile à identifier par chromatographie et à doser par spectrophotométrie à

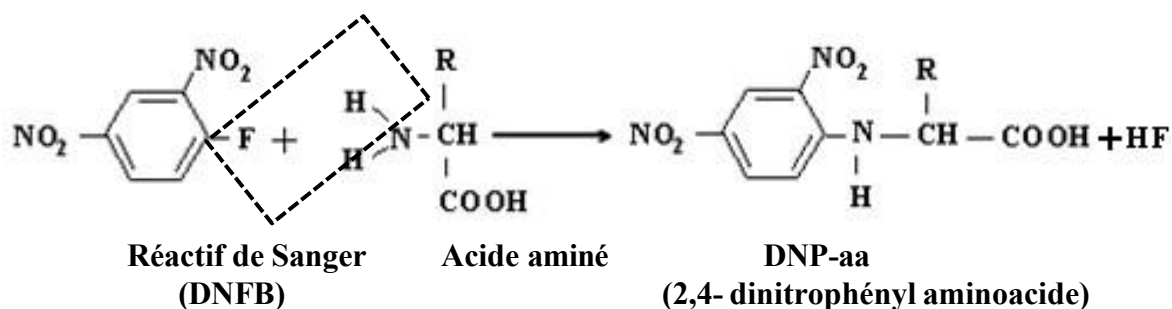


Fig. 116. Réaction du chlorure du dinitro-fluoro-benzène avec un aminoacide.

- Formation de dérivés N acylés

Une N-acylation est une réaction au cours de laquelle un groupement acyle est ajouté à une molécule, ce groupement étant transféré depuis un agent acylant (Fig. 117). Les halogénures d'acyle et les anhydrides sont très utilisés comme agents acylants.

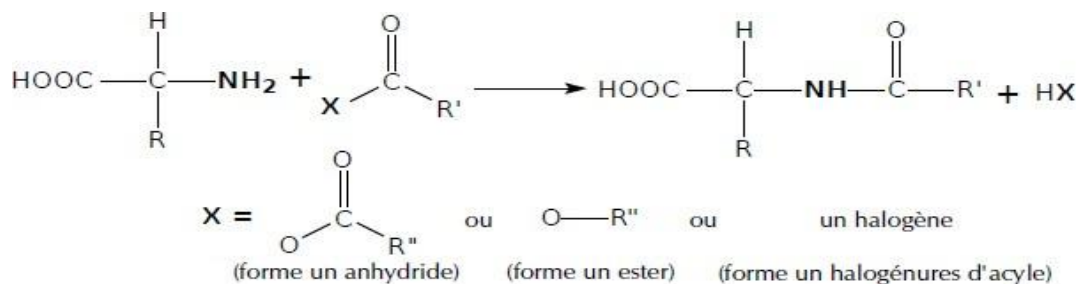


Fig. 117. Réaction de N-acylation.

La réaction avec le chlorure de dansyl (1-diméthyl-amino-naphtalène-5-sulfonyl) donne un composé plus stable et fluorescent permettant une grande sensibilité dans la détection (Fig. 118).

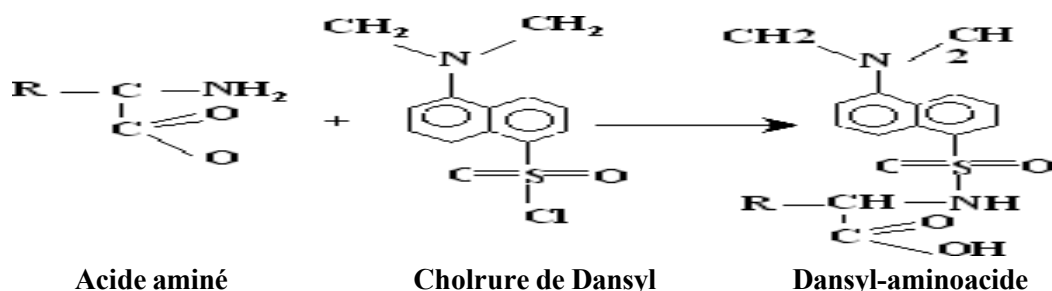


Fig. 118. Réaction avec le chlorure de dansyl.

- La carbamylation

La réaction dite de carbamylation (méthode d'Edman) avec le phénylthiocyanate (PTC), à un pH basique de 9, donne des dérivés (PTH d'acide aminé) qui absorbent dans l'ultraviolet et facilement séparables par chromatographie (Fig. 119).

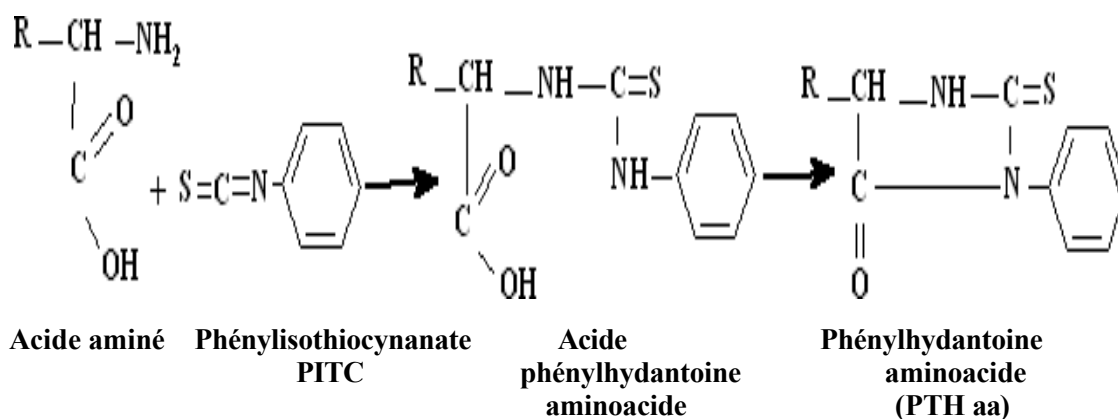


Fig. 119. Réaction du phénylisothiocyanate avec un aminoacide.

- Substitution par le formaldéhyde (formol)

Cette réaction permet de bloquer la fonction amine (Fig. 120). L'acide amine n'est plus amphotère mais il est acide. On peut le titrer par alcalimétrie en présence de phénophtaléine. C'est la méthode de la formol-titration de SORENSEN.

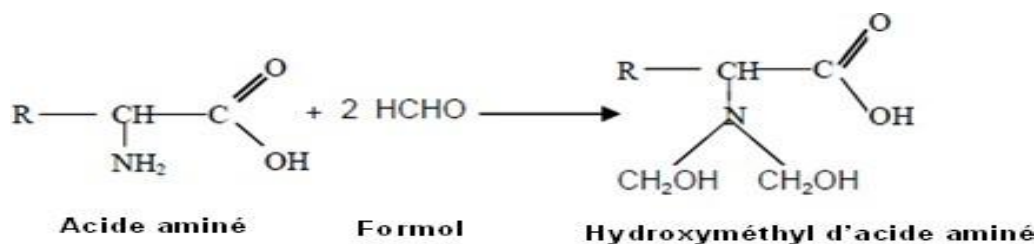


Fig. 120. Réaction de substitution du α -NH₂ d'un aminoacide par le formol.

IV. 1. 3. 5. Réactions liées au groupe COOH et NH₂

Réaction avec la ninhydrine

La **ninhydrine** (2,2-dihydroxyindan-1,3-dione) est un **composé aromatique** et un puissant oxydant. En réagissant avec les amines primaires, elle génère une coloration pourpre ($\lambda = 570\text{nm}$) et avec les amines secondaires (cas de la proline) une coloration jaune ($\lambda = 440\text{nm}$). La réaction comporte plusieurs étapes (Fig. 121).

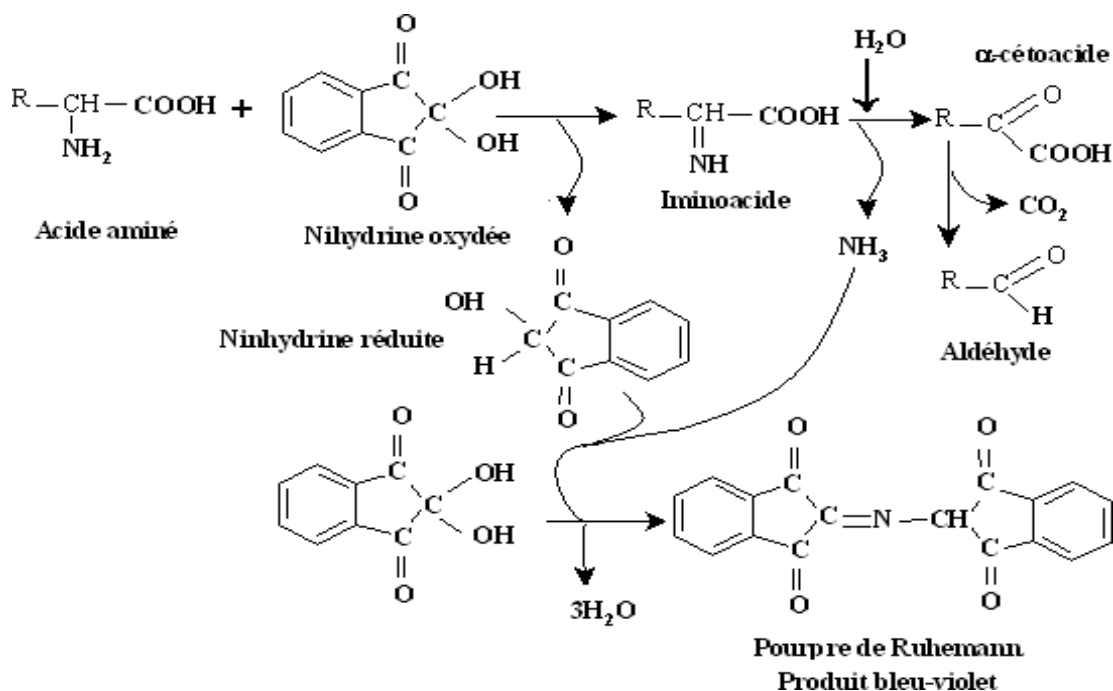


Fig. 121. Réaction des aminoacides avec la ninhydrine.

Dans un premier temps, la formation de ninhydrine réduite (hydrindantine) est observée, cependant que l'acide aminé est transformé en iminoacide ; celui-ci s'hydrolyse en α -cétoacide qui est décarboxylé en un aldéhyde ayant un atome de moins que l'acide aminé de départ. Puis, l'ammoniac (NH_3) engendré dans la première partie de la réaction réagit avec une molécule de ninhydrine réduite et une molécule de ninhydrine oxydée pour donner un produit ayant une coloration bleue violette : le **pourpre de Ruhemann** (Fig. 121).

Il est à noter que la coloration n'est pas spécifique des acides aminés. Elle se produit avec d'autres composés ayant des groupements aminos libres : glucosamine, peptides et protéines. Cette coloration peut être utilisée pour doser les acides aminés après chromatographie sur une colonne d'échangeur de cations dans un analyseur automatique.

IV. 1. 3. 6. Réactions dues aux chaînes latérales

Groupements carboxyliques et amines : les groupements carboxyliques latéraux de l'acide aspartique et l'acide glutamique et les groupements amines de la lysine ont la même réactivité chimique que celle des groupements portés par le carbone central.

- *Réaction de Sakaguchi* (L' α -naphthol en présence d'hyobromite ou hypochlorite de sodium) et en milieu basique réagit avec le groupement guanidine ($\text{NH}=\text{C}-\text{NH}_2$) de l'arginine pour former un composé rouge orange.

Groupement imidazole : le groupement imidazole de l'histidine permet à certains résidus d'histidine présents dans les sites actifs d'enzymes d'intervenir dans des réactions de transfert de proton.

Réaction de Pauly (acide diazosulfanilique en milieu alcalin): coloration rouge avec l'histidine.

Acides aminés aromatiques

- Les acides aminés aromatiques (Trp, Tyr, Phe) absorbent les radiations lumineuses dans l'UV et présentent des λ_{max} différentes.

- *Groupement phénol* : le groupement phénol de la tyrosine peut être halogéné, donnant respectivement la monoiodotyrosine et la diiodotyrosine qui sont des précurseurs d'hormones thyroïdiennes (Fig. 122).

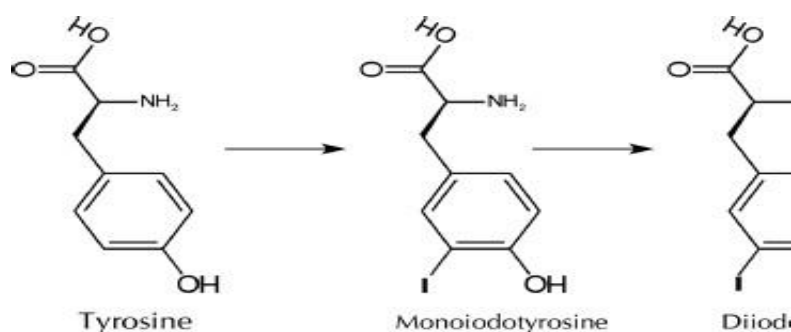


Fig. 122. Iodation de la tyrosine.

- *Réaction de Folin et Ciocalteu*: L'acide phosphotungstomolybdique est réduit par la tyrosine et le tryptophane et forme différents composés colorés en bleu violacé.

- *Réaction xanthoprotéique* (acide nitrique concentré au point d'ébullition): Les noyaux aromatiques forment des dérivés nitrés jaunes lors des réactions de nitration.

- *Réaction de Millon*: Les groupements phénoliques (tyrosine) substitués réagissent avec le mercure (nitrate mercurique et mercureux en milieu acide nitreux à chaud) en donnant une coloration rouge cerise.

- *Réaction d'Uderfriend et Cooper* (α -nitroso- α -naphthol) donnant une coloration rouge avec la tyrosine.

- *Réaction d'Adamkiéwich-Hopkins* (acide glyoxylique ou formol du commerce + acide sulfurique concentré) : Les aldéhydes réagissent avec le noyau indole du tryptophane pour former des composés violets.

Groupe hydroxyle : les fonctions alcool de la sérine et de la thréonine, ainsi que la fonction phénol de la tyrosine, peuvent être estérifiées, en particulier par l'acide phosphorique.

Proline : Donne une coloration particulière avec la ninhydrine. Réagit avec l'isatine pour former un composé bleu intense.

Acides aminés soufrés

- Ils réagissent avec l'acétate de plomb en milieu alcalin pour former du sulfure de plomb noir.
- **Cystéine** : le groupement thiol de la cystéine est très réactif, son oxydation en présence de O₂ permet la formation des ponts disulfures (Fig. 123) que l'on trouve dans les protéines (pont intra-chaîne ou entre chaînes polypeptidiques). Cette réaction est catalysée par la présence de métaux.

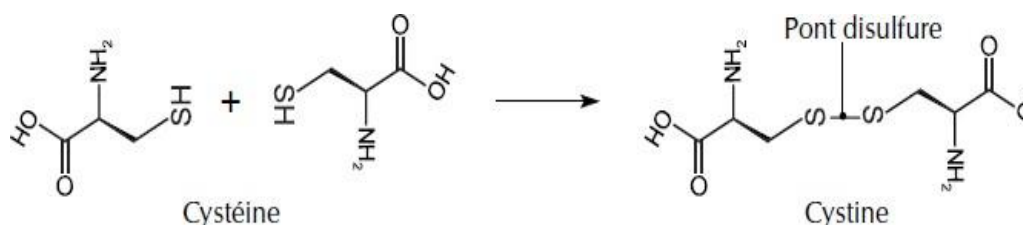


Fig. 123. Formation d'un pont disulfure.

Les ponts disulfures peuvent être rompus par des réducteurs, les plus utilisés sont : le β -mercaptoéthanol, le DTT (dithiothréitol) et l'acide performique (irréversible).

- Le nitroprussiate de sodium dans l'ammoniaque diluée réagit avec la cystéine en donnant des dérivés rouges.
- La réaction de Sullivan (1,2 naphthoquinone-4-sulfonate de sodium et l'hydrosulfite de sodium) donne une coloration rouge avec la cystéine.

IV. 1. 4. Méthodes de dosage et d'analyse des acides aminés

IV.1. 4. 1- Dosage des acides aminés totaux

Ces méthodes permettent de doser tous les acides aminés, quelle que soit la nature du radical R.

IV.1. 4. 1. 1. Méthode de Kjeldahl

Les acides aminés sont minéralisés totalement par oxydation en milieu sulfurique concentré et chaud, en présence de peroxyde d'hydrogène, de sulfate de potassium et de catalyseurs (Se, Cu, Hg). Il se forme du sulfate d'ammonium, acide faible qui peut être dosé par acidimétrie ou par colorimétrie. Les réactions impliquées sont les suivantes (Fig. 124) :

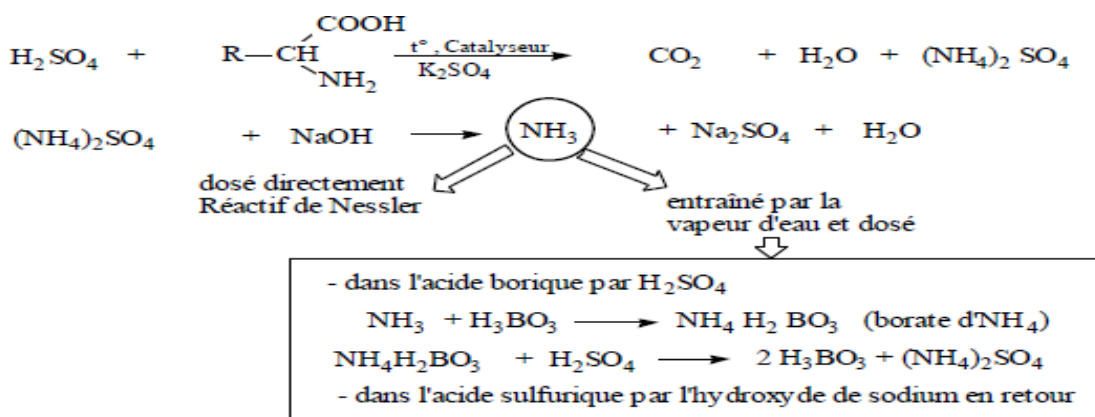


Fig. 124. Réactions impliqués dans la méthode de dosage des acides aminés totaux selon Kjeldahl.

Cette méthode est automatisée et la minéralisation à des températures élevées raccourcit le temps d'analyse à quelques dizaines de minutes.

IV.1. 4. 1. 2. Méthode de Sørensen « formol-titration »

La réaction employée est la substitution par le formaldéhyde, le composé qui en résulte est une amine tertiaire, qui est une base plus faible (donc un acide plus fort sous la forme protonée) que l'amine primaire initiale. Le dosage de la molécule est donc plus aisé par une base en présence d'un indicateur coloré.

IV.1. 4. 1. 3. Dosage spectrophotométrique à la ninhydrine

Les acides aminés sont dosables spectrométriquement après dérivation à la ninhydrine car cette réaction entraîne la formation d'un composé de couleur violette ou jaune (proline), qui absorbe fortement dans le visible.

IV.1. 4. 2. Techniques de séparation des acides aminés

Les acides aminés constitutifs des protéines, sont libérés par hydrolyse. Un hydrolysats protéique, obtenu après ébullition dans l'acide chlorhydrique (HCl) prolongé (6N) est un mélange d'acides aminés qu'il importe d'identifier et de doser.

a- Electrophorèse

Cette technique sépare les acides aminés selon leur charge électrique. Une solution aqueuse d'un mélange d'acides aminés est placée sur un papier spécial (feuille de papier, feuille d'acétate de cellulose) ou un gel d'électrophorèse (polyacrylamide, agarose). Un champ électrique de haut-voltage est appliqué à ce gel placé dans une solution tampon de pH fixe (Fig. 125).

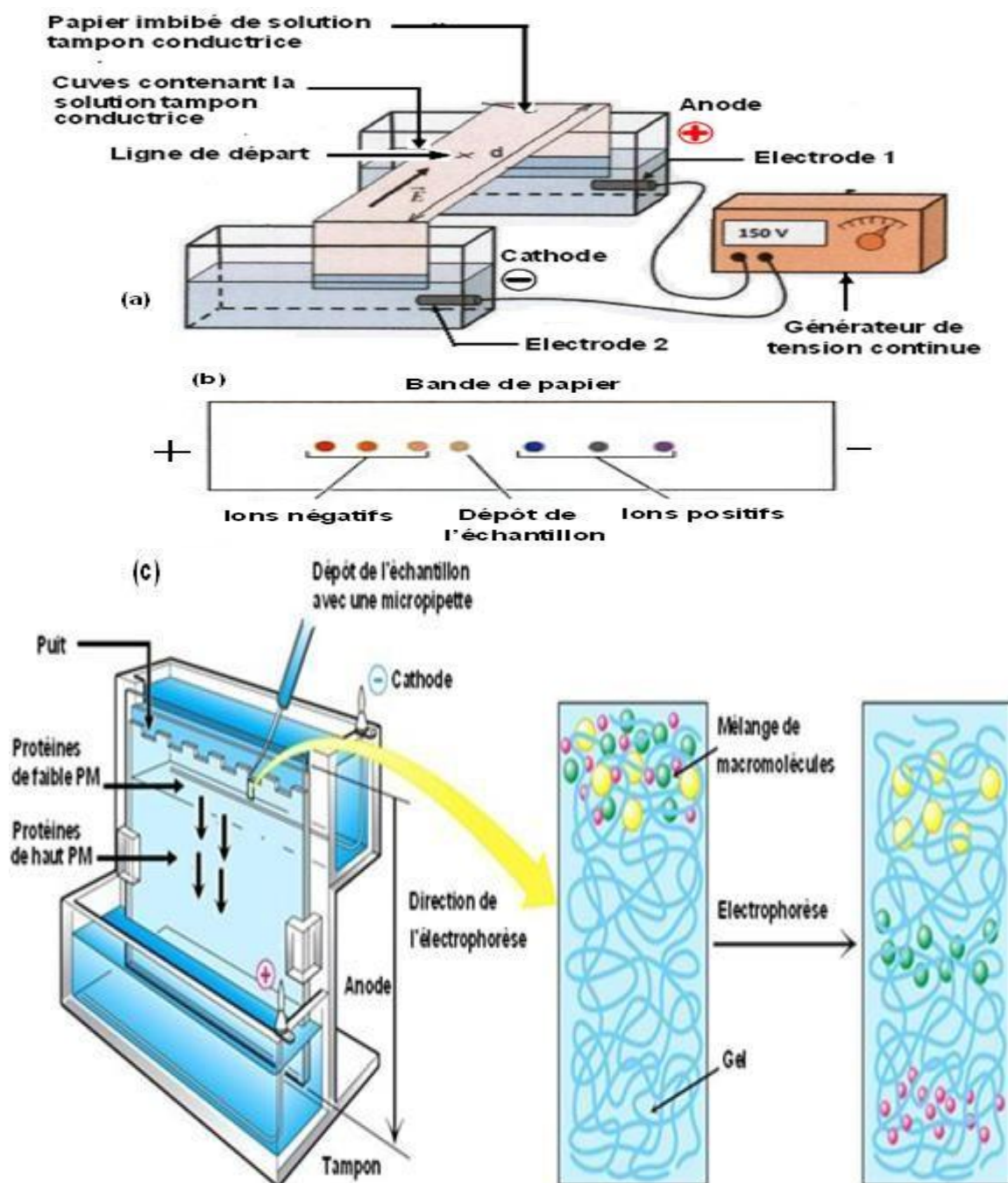


Fig. 125. La technique d'électrophorèse. (a) L'appareil d'électrophorèse horizontale sur papier. (b) Représentation de l'électrophorégramme obtenu. (c) L'appareil d'électrophorèse verticale sur gel.

A cause de leurs différents pH_i , les acides aminés possèdent des charges distinctes et migrent dans des directions et à des vitesses différentes selon le pH du système tampon et le type de support. Pour établir leur localisation caractéristique, des échantillons d'acides aminés témoins sont traités dans les mêmes conditions. Afin de localiser les acides aminés sur le support celui-ci est séché, reçoit une pulvérisation d'une solution de ninhydrine, puis est chauffé. Des spots bleus indiquant la présence d'un acide aminé sur le support.

b- Chromatographie

La chromatographie est une méthode d'analyse physico-chimique qui sépare les constituants d'un mélange par entraînement au moyen d'une phase mobile (liquide ou gaz) le long d'une phase stationnaire (solide ou liquide fixé), grâce à la (ré) partition sélective des solutés entre ces deux phases.

Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre les phases fixe et mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers.

Pour les acides aminés, les techniques qui peuvent être mises en œuvre: chromatographie sur papier, chromatographie sur couche mince, chromatographie échangeuse d'ions, chromatographie en phase gazeuse.

- Chromatographie sur papier

C'est une chromatographie de partage entre l'eau (phase stationnaire) retenue sur le papier et un solvant organique (phase mobile) qui monte par capillarité le long de la phase fixe, entraînant plus ou moins les acides aminés en fonction de leur polarité. Ce type de chromatographie se pratique dans une cuve de verre hermétiquement close, dont l'atmosphère est saturée par la phase mobile. Le mélange à analyser est déposé sous un faible volume sur un emplacement de départ situé à proximité d'une des extrémités de la feuille que l'on met en contact avec la phase mobile (Fig. 126).

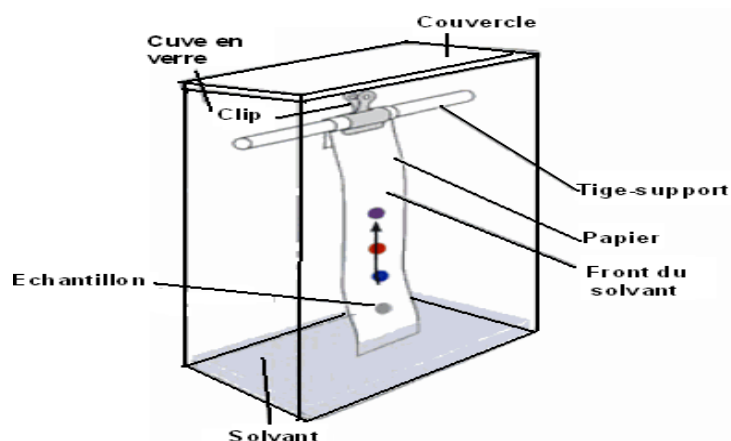


Fig. 126. Dispositif expérimental pour chromatographie ascendante sur papier.

Les acides aminés à séparer sont chromatographiés en présence de témoins. Après migration et coloration, le rapport frontal (R_f) de chaque acide aminé inconnu ou témoin est calculée : $R_f = \text{Distance de migration du composé} / \text{Distance de migration du solvant}$.

La R_f est une caractéristique d'un composé dans un système donnée pour des conditions opératoires définies. Plus les substances constituant le mélange sont solubles dans cette phase mobile, ou plus leur R_f est élevé, plus elles migrent rapidement sur la feuille.

Lorsque la migration est terminée, la ninhydrine est pulvérisée sur la feuille. Après chauffage, des taches bleu-violet apparaissent dans les zones où se trouvent les aminoacides.

La chromatographie sur papier peut être bidimensionnelle: le dépôt du mélange à analyser se fait dans un angle, sans témoin, la migration dans la 1^{ère} dimension se fait avec un premier solvant organique puis le papier est tourné d'un $\frac{1}{4}$ de tour et une nouvelle migration se fait avec un autre solvant organique de polarité différente.

- Chromatographie sur couche mince

C'est une chromatographie d'adsorption avec une phase stationnaire polaire (cellulose ou silice) étalée en fine couche sur un support rigide inerte (verre ou feuille de métal) et une phase mobile qui est un solvant organique moins polaire (Fig. 127).

Les acides aminés à séparer sont chromatographiés en présence de témoins. Après migration et coloration la référence frontale (R_f) de chaque acide aminé inconnu ou témoin est calculée. La chromatographie couche mince peut être également bidimensionnelle.

Après migration, les tâches incolores doivent être révélées. C'est la détection qui peut se faire par immersion dans un bain de permanganate de potassium ou encore par observation à la lumière UV (Ultraviolet) si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence.

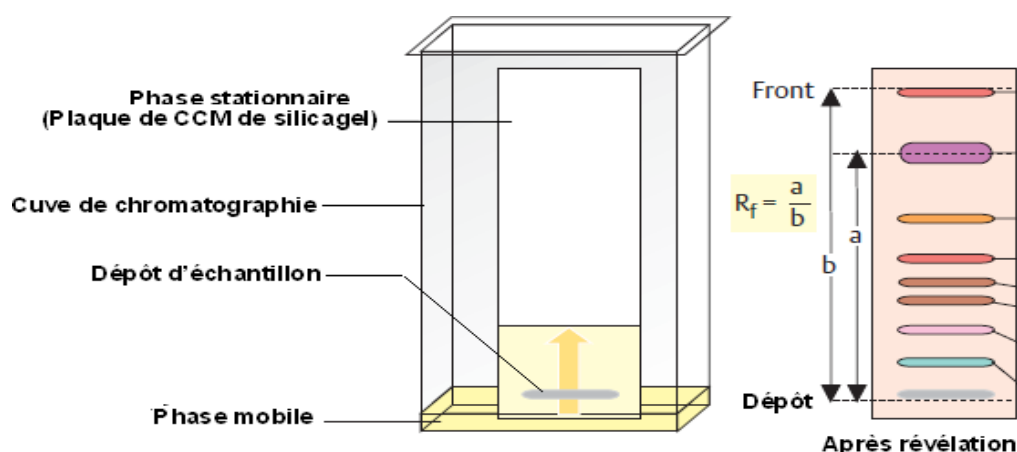


Fig. 127. Matériel pour chromatographie ascendante sur couche mince.

- Chromatographie échangeuse d'ions

C'est une technique permettant d'isoler une substance chargée électriquement d'un mélange de molécules chargées (liquide). Pour cela, on fait passer le mélange sur une phase stationnaire (solide) chargée déjà associée à des ions connus et on remplace ces ions par les ions/molécules chargées du mélange à séparer. La phase stationnaire peut être une résine sous

forme de billes. Cette résine est greffée d'un radical chargé (+ ou -) (Fig. 128a). La résine est dans une colonne et on fait passer la solution dans cette colonne. Le pH d'élution peut faire changer la charge de la molécule M ou B (dans le cas d'un acide aminé par exemple) ce qui permet de récupérer cette molécule seulement (Fig. 128b).

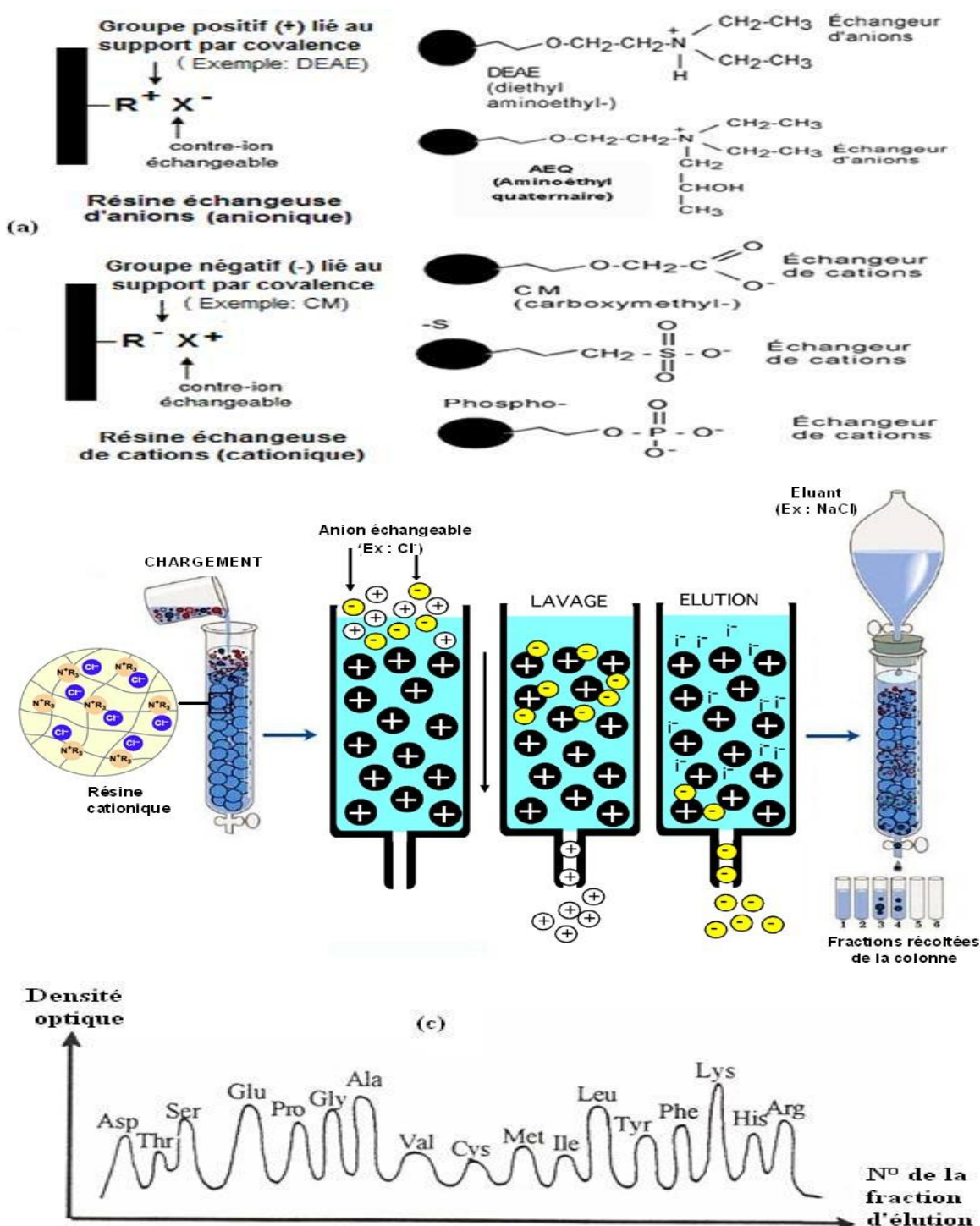


Fig. 128. (a) Les groupements chargés greffés sur une résine synthétique d'une colonne de chromatographie. (b) Dispositif et principe de la chromatographie échangeuse d'ions. (c) Chromatogramme des acides aminés après chromatographie échangeuse d'ions.

Les acides aminés élués sont ensuite collectés à la sortie de la colonne, colorés à la ninhydrine, leur absorbance est mesurée, le chromatogramme se présente sous forme d'un graphe présentant des pic lors de la sortie d'un acide aminé (Fig. 128c).

IV. 2- LES PEPTIDES

IV. 2.1- Définition

Les peptides sont des composés naturels ou de synthèse qui résultent de l'enchaînement d'acides aminés reliés entre eux par une liaison covalente qui est en fait une **liaison amide** formée par déshydratation entre le groupement α -amine d'un acide aminé et le groupement α -carboxyle d'un autre acide aminé. Cette liaison est également appelée **liaison peptidique** (Fig. 129). Si la liaison peptidique implique un COOH ou un NH₂ situé dans une autre position (β COOH, γ COOH, ϵ NH₂) on parle de **liaison peptidoïde**.

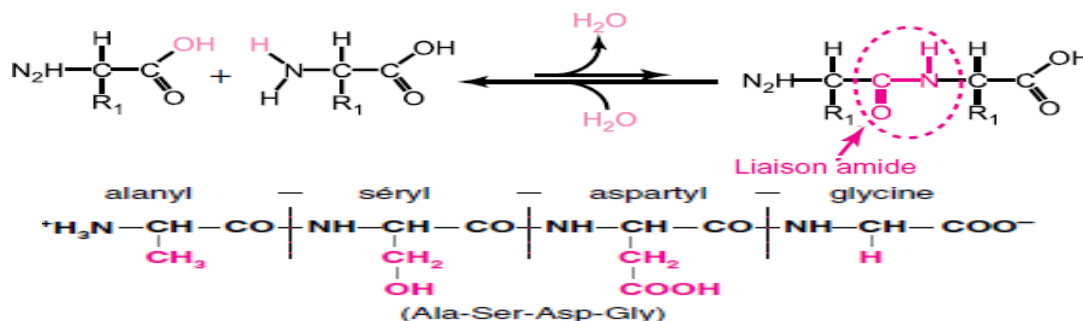


Fig. 129. Formation de la liaison peptidique.

L'enchaînement successif des acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique constitue la **structure primaire** ou **séquence** de la protéine. Les acides aminés présents dans le peptide ont ainsi perdu le H de leur NH₂ et le OH de leur COOH : on dit qu'il s'agit de «restes» ou « résidus » d'acides aminés; il porte le nom de l'acide aminé dont il dérive, additionné du suffixe -yl: résidus lysyl, tyrosyl, alanyl, etc sauf au C-terminal.

Quand il y a deux résidus d'acides aminés, il s'agit d'un dipeptide, quand il y a en 3, c'est un tripeptide. On parle aussi d'oligopeptide pour un nombre de résidus allant de 2 à 9 et de polypeptide pour un nombre supérieur. Au delà de 100 résidus, ce n'est plus un polypeptide mais une protéine. La limite entre les deux groupes est fixée arbitrairement à une masse moléculaire moyenne de 10 000. Comme la masse moléculaire moyenne d'un résidu d'acide aminé est de 100, un peptide d'une masse moléculaire de 10 000 contient à peu près 100 résidus.

La chaîne polypeptidique obtenue a une polarité avec un groupe α -amine présent à une extrémité (extrémité N-terminale) et un groupe α -carboxyle présent à l'autre extrémité (extrémité C-terminale). Par convention une séquence en acides aminés est toujours écrite en

partant du résidu N-terminal. La chaîne peptidique contient une partie répétitive nommée **chaîne principale** ou **squelette** et une partie variable correspondant aux chaînes latérales des résidus d'aminoacides.

La liaison peptidique est plane, rigide et polaire (Fig. 130) ; C, O, N, H et les deux C α voisins sont dans un plan où ils constituent une unité peptidique.

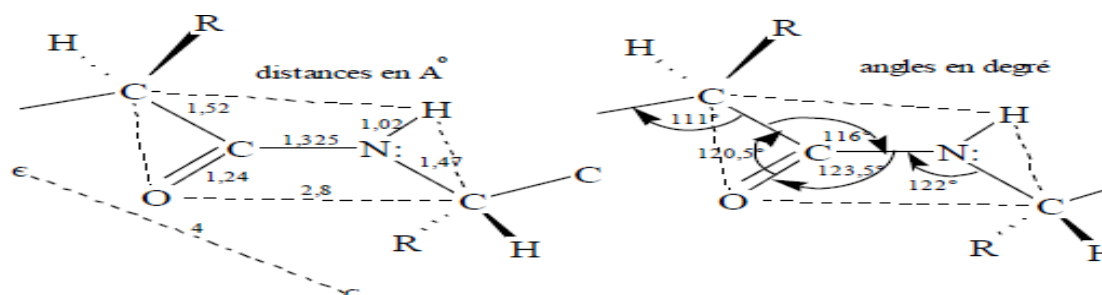


Fig. 130. Distances et angles d'une liaison peptidique.

IV. 2. 2. Propriétés des peptides

IV. 2. 2 .1. Propriétés physiques

Solubilité : les peptides sont d'autant plus solubles dans l'eau qu'ils sont plus petits et contiennent d'avantage d'acides aminés hydrophiles.

Absorption de la lumière : les peptides absorbent la lumière dans l'ultraviolet à longueur d'onde de 280 nm s'ils contiennent un acide aminé aromatique.

Propriétés acido-basiques

De nombreux petits peptides ont été obtenus à l'état pur sous forme cristalline. Ils ont des points de fusion élevés. Aucune des fonctions α -carboxyliques et α -aminées combinées dans les liaisons peptidiques ne pouvant s'ioniser dans la zone de pH 0 à 14, le comportement acido-basique des peptides est dû à la fonction α -aminée libre de l'aminoacide N-terminal, à la fonction α -carboxylique libre de l'aminoacide C-terminal et à celles des chaînes latérales capables de s'ioniser.

IV. 2. 2. 2. Propriétés biologiques des peptides

Les peptides participent à la structure de membranes comme éléments de construction, jouent des rôles importants dans des activités biologiques.

IV. 2. 2. 2. 1. Peptides à rôle physico-chimique

Le glutathion (tripeptide γ Glu-Cys-Gly : liaison de Glu par le carbonyle γ) joue un rôle central dans la défense cellulaire contre le dioxygène et ses dérivés actifs (Fig. 1318). C'est un couple Red-Ox très efficace contre les peroxydes :

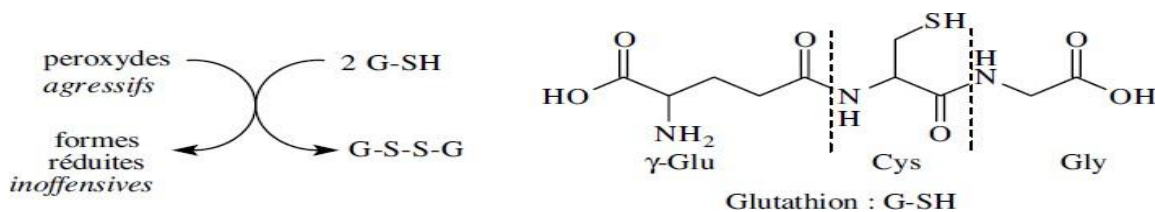


Fig. 131. Structure du glutathion.

Citons un peptide synthétique très employé comme édulcorant : l'aspartame. C'est un dipeptide dont l'extrémité COOH est estérifiée : aspartyl-phénylalanilméthylester

IV. 2. 2. 2. Peptides à activité de médiateur

Cette famille de peptides est impliquée dans les fonctions de communication : système endocrine, transmission et modulation nerveuses, motricité des vaisseaux sanguins et réactions inflammatoires. Citons quelques exemples :

IV. 2. 2. 2. 3. Les peptides hormonaux

L'hypothalamus contient des neurones, à fonction endocrine, qui sécrètent 2 nonapeptides à activité hormonale :

- l'**ocytocine** qui déclenche les contractions des muscles lisses (utérus pour l'accouchement, glande mammaire pour la réjection du lait)
- la **vasopressine** : effet antidiurétique au niveau du rein (action hypertensive comme médicament)

D'autres neurones produisent des peptides activateurs (**libérines**) ou inhibiteurs (**inhibines**) de la sécrétion d'hormones par le lobe antérieur de l'hypophyse.

Le lobe antérieur de l'hypophyse biosynthétise et sécrète de nombreuses hormones peptidiques : citons l'ACTH (**hormone adrénocorticotrope**), polypeptide de 39 aminoacides.

Le pancréas endocrine sécrète :

- l'**insuline**, polypeptide formé de deux chaînes (une de 21 et une de 30 aminoacides), qui régule le métabolisme du glucose (hypoglycémie)
- le **glucagon**, peptide de 29 aminoacides, qui provoque une augmentation de la glycémie (hyperglycémie)
- la muqueuse duodénale produit la **sécrétine**, peptide de 27 aminoacides, qui stimule le pancréas exocrine au cours de la digestion.

IV. 2. 2. 2. 4. Les neuropeptides

Ce sont deux familles de molécules, ligands de récepteurs cérébraux : la famille des **enképhalines** et la famille des **endorphines**. Ces molécules participent au contrôle de la douleur. Elles contiennent le même tétra peptide N-terminal (Tyr-Gly-Gly-Phe).

Les peptides vasomoteurs

Citons *des peptides vasoconstricteurs* :

- l'**angiotensine II** est un octapeptide
- les **endothélines**, dont la production est localisée dans le tissu pulmonaire sont des peptides de 21 aminoacides, *des peptides vasodilatateurs* :
- l'oreillette du coeur sécrète une famille de **peptides natriurétiques atriaux** (ANP) qui agissent au niveau rénal en augmentant la sécrétion d'ions Na⁺ et dans la diurèse (élimination d'eau) : chez l'homme, l' α -ANP est un polypeptide de 28 aminoacides.
- la **bradykinine** est un hypotenseur libéré lors d'une réaction inflammatoire.

IV. 2. 2. 2. 5. Les molécules de l'inflammation

Une agression tissulaire déclenche une réaction de défense d'abord locale : c'est la réaction inflammatoire dont les manifestations sont douleur, chaleur, rougeur et oedème provoqués par des molécules vasodilatatrices :

- les amines **histamine** et **sérotonine**, produits de décarboxylation de l'histidine pour l'histamine et de l'hydroxytryptophane pour la sérotonine
- une famille de peptides : les **kinines** dont le prototype est la bradykinine qui est un nonapeptide. Le venin de guêpe contient un décapeptide : la glycyl-bradykinine.

IV. 2. 2. 2. 6. Peptides antibiotiques

Certains micro-organismes synthétisent des peptides, inhibiteurs de la synthèse protéique, qui sont des "armes" de défense et de colonisation. Ce sont des peptides cycliques et qui intègrent des aminoacides D ou non-standard, propriétés qui les protègent des dégradations protéolytiques.

IV. 2. 2. 2. 7. Les peptides bactériens : On peut isoler de différentes souches de *Bacillus* :

- la famille des **tyrocidines**, décapeptides cycliques comprenant une D-Phe et l'ornithine (homologue à 5 carbones de la lysine)
- la **bacitracine A** est un peptide à 12 aminoacides dont trois appartiennent à la série D (Glu, Asn, Phe) et renferme dans sa structure l'ornithine.

IV. 2. 2. 2. 8. Les peptides fongiques : La moisissure *Penicillium* produit la **pénicilline** qui est un dipeptide de deux dérivés d'acides aminés (Fig. 132):

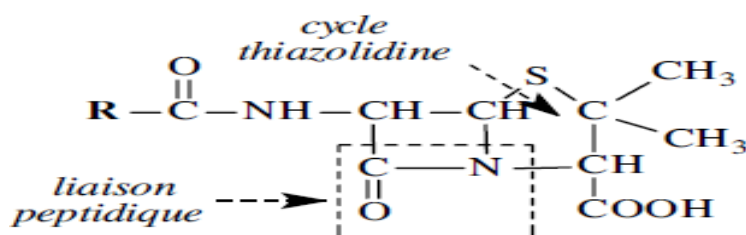


Fig. 132. La pénicilline (R dépend de la souche de Penicillium).

IV. 2. 2. 2. 9. Peptides immunomodulateurs

Le champignon micromycète *Tolypocladium* sécrète des métabolites secondaires dont une famille de peptides antifongiques, les **cyclosporines**, qui sont des immunosuppresseurs utilisés dans les transplantations d'organes. Ils inhibent l'activation des lymphocytes T sans affecter les autres systèmes de défense ni la moelle osseuse.

La **cyclosporine A** est un décapeptide cyclique (11 aminoacides) comportant de nombreux aminoacides atypiques : une D- alanine, 7 aminoacides N-méthylés : ce qui se traduit par 7 liaisons peptidiques modifiées et un acide aminé non-standard (en C₉), spécifique des cyclosporines : 2-amino-3-hydroxyl-4-méthyl-6octénoïque.

IV. 2. 3. Etude des séquences peptidiques

La détermination de la nature exacte, des proportions de chacun des acides aminés constitutifs et de l'ordre de leur enchaînement dans un peptide ou une protéine donné nécessite en premier lieu le clivage des liaisons covalentes. La démarche expérimentale utilisée peut se résumer par “**diviser pour vaincre**”.

La détermination de la composition brute d'un peptide, passe tout d'abord par sa réduction, ou son oxydation, afin d'éliminer les liaisons disulfure.

Méthode de Stein et Moore. Elle comprend plusieurs étapes :

- Hydrolyse acide ($\text{HCl } 6 \text{ mol.L}^{-1}$, 24h à 72h, 110°C) pour couper les liaisons peptidiques
- Séparation des acides aminés libérés par chromatographie ionique
- Détection dans le visible après dérivation à la ninhydrine
- Identification des acides aminés par leur temps de rétention
- Quantification en % par mesure de la surface des pics

Méthode des PTC acides aminés

- Hydrolyse acide
- Réaction avec le phénylthiocyanate PTC.
- Séparation par HPLC d'adsorption en phase inverse

- Détection dans l'UV
- Identification des acides aminés par leur temps de rétention
- Quantification par mesure de la surface des pics

- Clivage des ponts disulfures

Dans le cas de molécules pluri-peptidiques, la structure covalente des peptides peut présenter des ponts disulfures qui peuvent s'établir entre les chaînes. Ces liaisons disulfures sont engagées entre deux résidus de cystéine. La dissociation de cette liaison peut se faire par le β -mercaptoéthanol ou l'acide performique (Fig. 133).

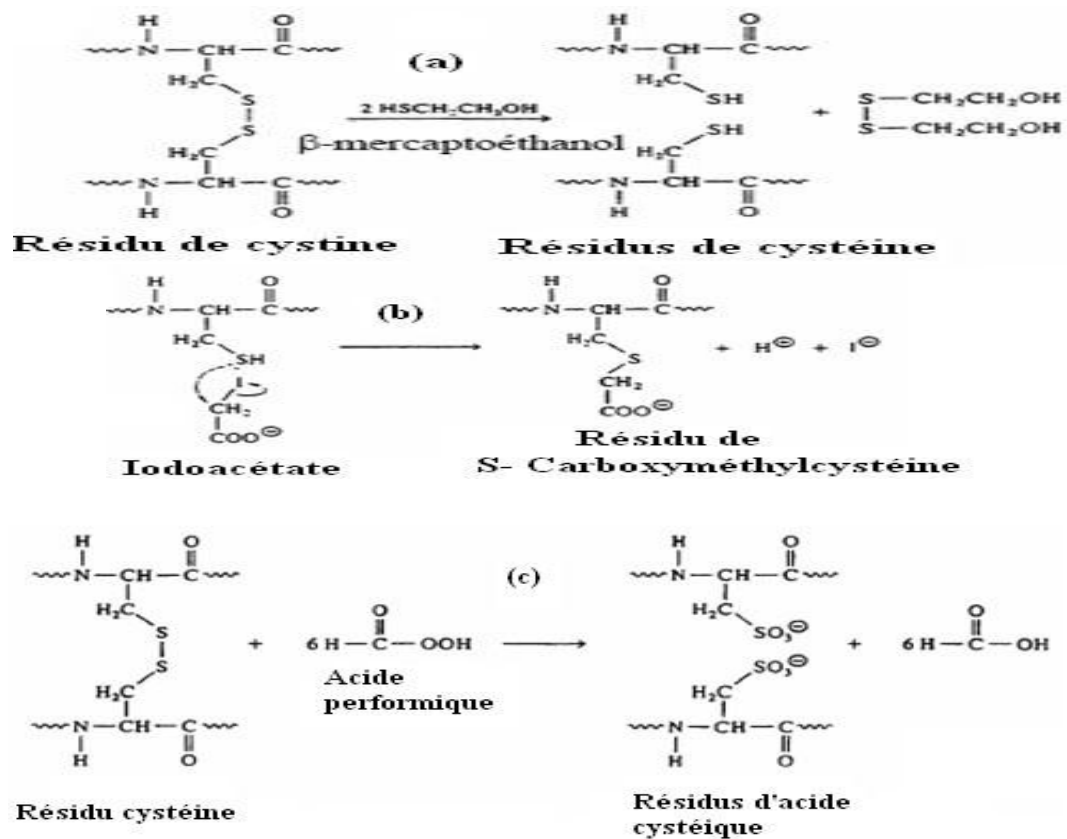


Fig. 133. Scission de ponts disulfures au β -mercaptoéthanol et substitution par l'iodoacétate.

(a) En présence de β -mercaptoéthanol, la protéine échange avec celui-ci ses groupes SS: chaque cystéine est réduite en deux cystéines et 2 molécules de β -mercaptoéthanol sont oxydées en disulfures. (b) La protéine réduite est alors traitée par l'iodoacétate, un agent alkylant qui convertit les résidus cystéines libres en S-carboxyméthylcystéine. Ainsi substitués, les sulfhydryles sont soustraits à la réoxydation en S-S. (c) l'acide performique (HCOOOH) scinde les ponts SS des protéines et prévient leur reformation en transformant le résidu cystine en deux résidus d'acide cystéique.

- **Détermination de la composition en acides aminés**

A- Hydrolyse des liaisons peptidiques

La rupture des liaisons peptidiques qui permet d'obtenir les amino-acides à l'état libre, est réalisée par action chimique ou enzymatique.

- **L'hydrolyse acide**

L'action de l'acide chlorhydrique (HCl) 6M sur un peptide, à ébullition pendant au moins 24 heures, aboutit à un **hydrolysats** contenant les aminoacides avec toutefois les restrictions suivantes :

- Par suite de la sensibilité aux acides du noyau indole, le tryptophane est entièrement détruit. Son dosage nécessite une hydrolyse alcaline.
- les amides (Asn, Gln) sont hydrolysés en ammoniac et acides correspondants (Asp, Glu)
- certains aminoacides (Tyr, Ser, Thr) peuvent être partiellement détruits (un temps d'hydrolyse plus faible permet de résoudre le problème).

- **Hydrolyse alcaline**

Elle se fait en utilisant de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 mol/L à chaud (110°C) pendant 4 à 8h environ. L'hydrolyse totale alcaline détruit la sérine, la thréonine, la cystéine.

L'identification et le dosage des acides aminés constitutifs s'effectuera par chromatographie sur résine échangeuse de cations après hydrolyse totale du peptide.

- **Hydrolyse enzymatique**

L'hydrolyse des liaisons peptidiques peut être réalisée par des enzymes : les peptidases ou protéases (un mélange d'endo et d'exopeptidases). Cette hydrolyse est lente et rarement complète. L'hydrolyse enzymatique respecte le tryptophane, les amides des acides aminés dicarboxyliques.

- **Analyse des résidus terminaux**

Pour connaître la séquence en acides aminés, il faut d'abord déterminer les acides aminés N et C-terminaux et leur nombre pour pouvoir connaître la structure de la chaîne peptidique (linéaire, semi-cyclique, cyclique), puis l'ordre d'enchaînement des autres acides aminés.

A- Détermination de l'acide aminé N-terminal

➤ **Méthodes chimiques**

Elles consistent à traiter le peptide avec un réactif adapté pour former un dérivé stable caractéristique des fonctions C ou N terminales. Ce dérivé est isolé du peptide par hydrolyse puis séparé et dosé.

- Méthode de Sanger au DNFB

Le 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène (FDNB) réagit avec les fonctions aminées libres et en particulier la fonction α -aminée terminale pour former un peptide dinitrophénylé (Fig. 134). Une hydrolyse acide totale de la chaîne peptidique libère les composés dinitrophénylés dont l' α -dinitrophényl-amino-acide (DNPaa), correspondant à l'acide aminé N-terminale, que l'on peut extraire par l'éther, identifier par chromatographie sur papier, et doser spectrophotométriquement grâce à sa couleur jaune. La mise en évidence de plusieurs α -DNPaa est la preuve de l'existence de plusieurs chaînes peptidiques.

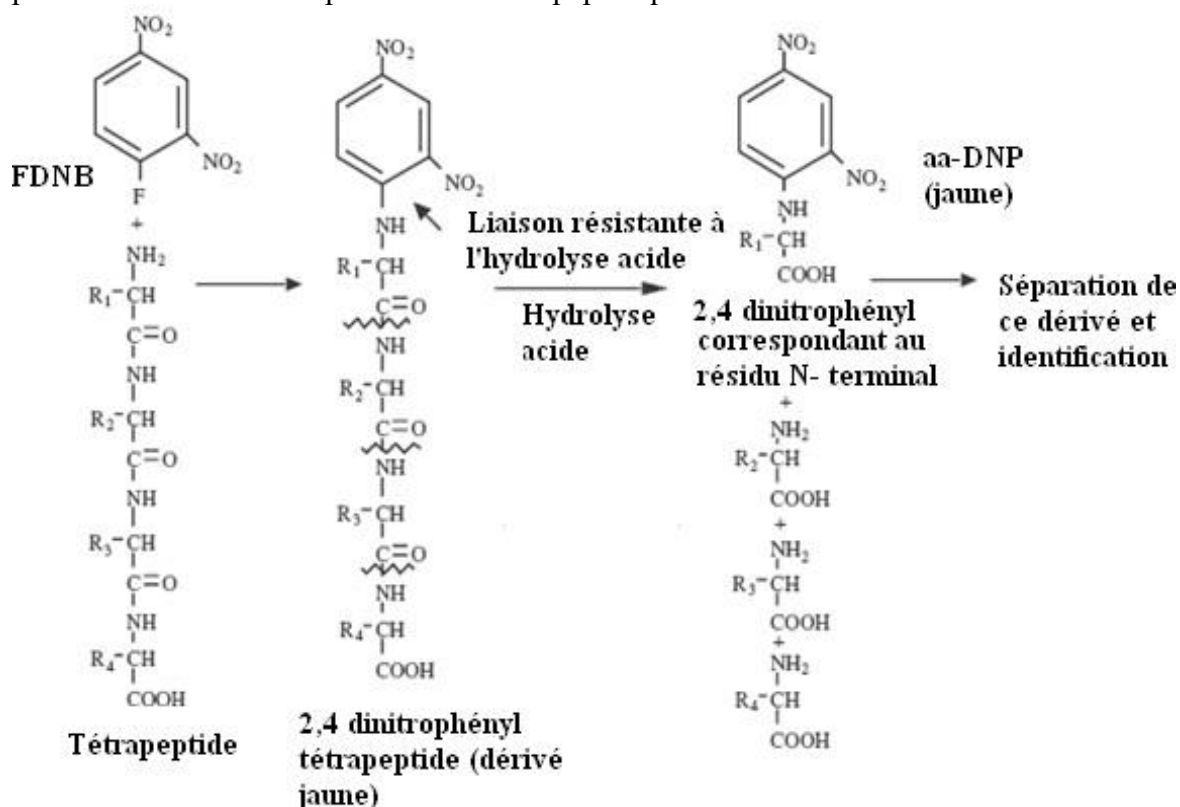


Fig. 134. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de Sanger.

- Méthode récurrente d'Edman (au phénylisothiocyanate)

La carbamylation avec le phénylisothiocyanate (PTC), à un pH basique de 9, donne des dérivés qui absorbent dans l'ultraviolet et facilement séparable par chromatographie (Fig. 135).

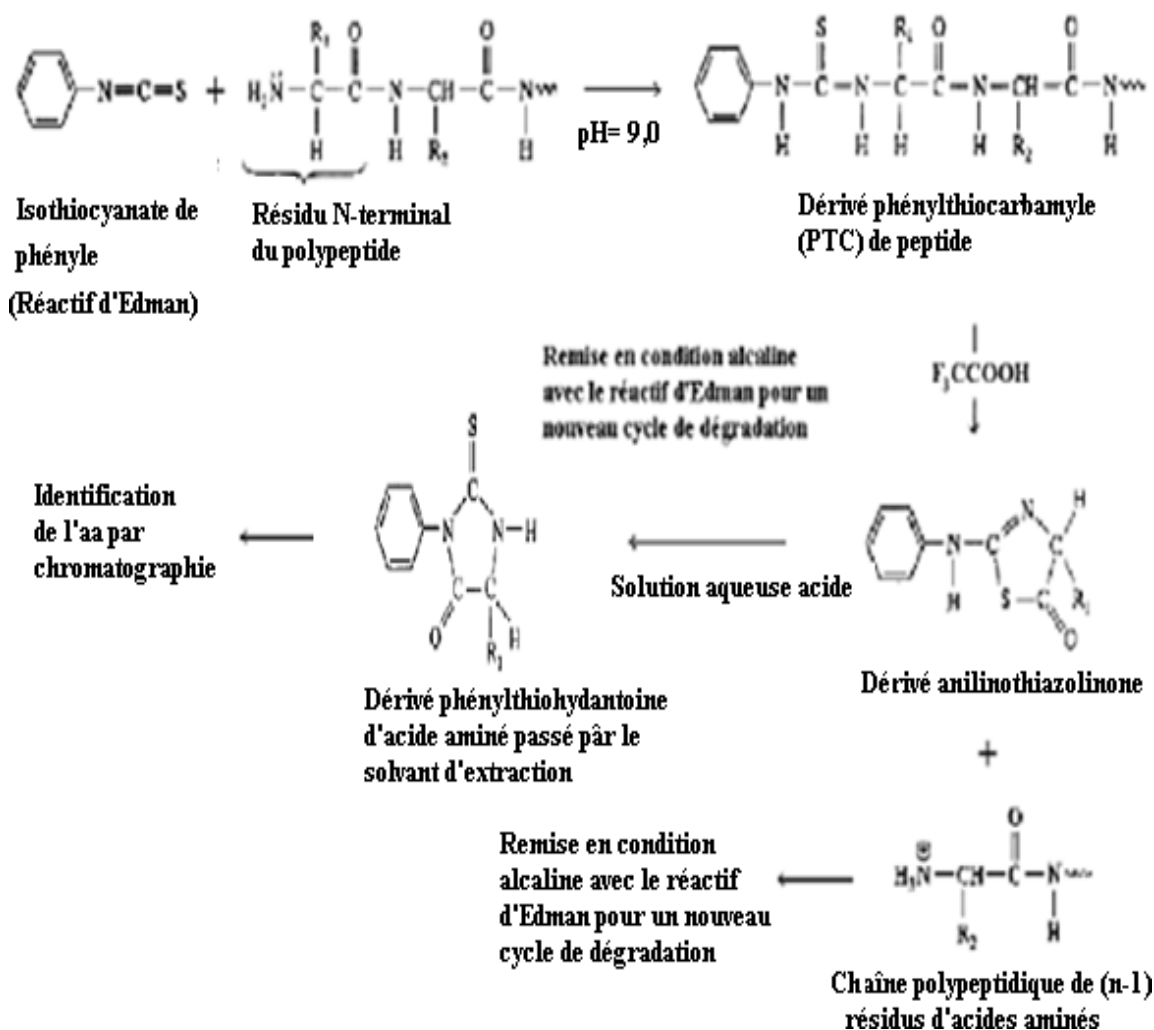


Fig. 135. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode d'Edman.

De plus, la réaction avec l'acide aminé terminal d'une protéine libre le dérivé d'addition et une protéine amputée de son aminoacide N-terminal : en itérant le processus, la détermination de la structure primaire de la protéine sera possible (dégradation récurrente d'Edman).

Dans le cas d'un peptide de **n** aminoacides, le PTC-peptide va subir une cyclisation et une coupure à un pH légèrement acide, libérant un phénylthiohydantoïne-aminoacide identifiable (PTH-aminoacide), qui absorbe dans l'UV, et un peptide de (**n-1**) aminoacides.

➤ Méthode au chlorure de dansyle

Le chlorure de l'acide 1-diméthylamino-naphtalène-5-sulfonique (ou chlorure de dansyle) réagit très facilement avec les fonctions aminées et conduit à des dérivés sulfonamides très fluorescents après hydrolyse du dansylpeptide (Fig. 136).

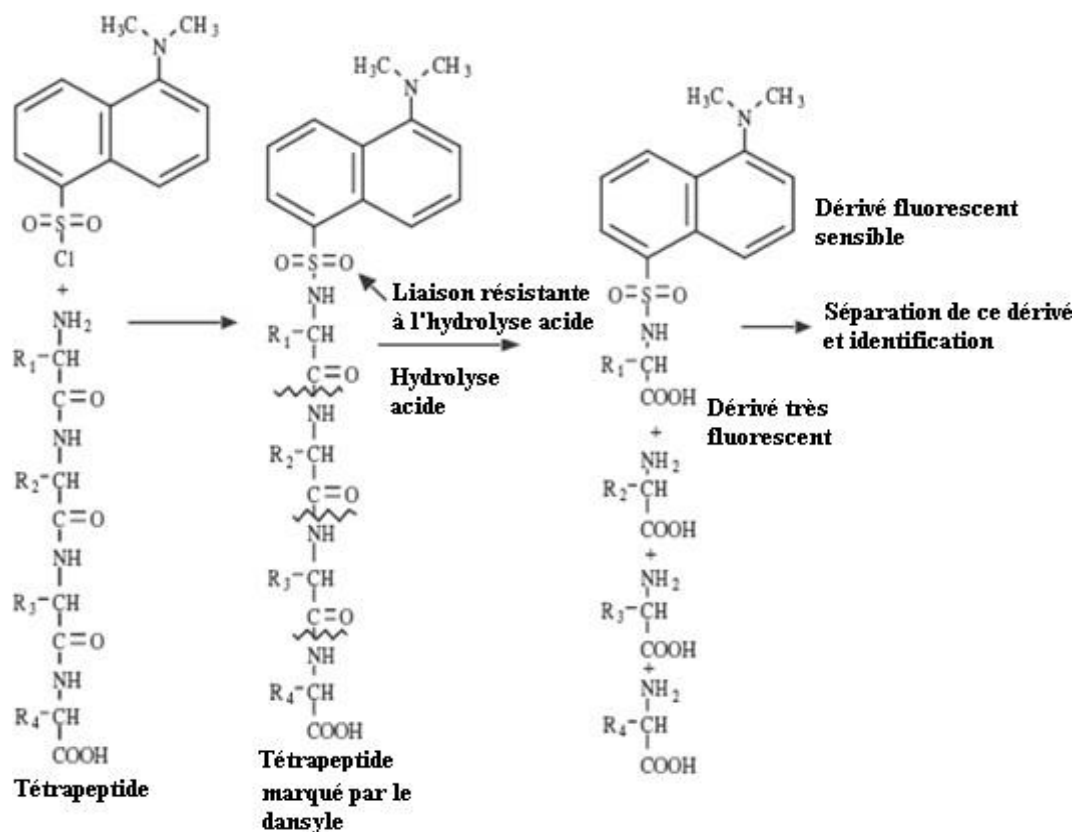


Fig. 136. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de chlorure de dansyle.

➤ Méthodes enzymatiques

L'hydrolyse enzymatique complète d'une chaîne peptidique est longue et difficile. Les enzymes présentent une certaine spécificité dans l'attaque des liaisons peptidiques; ils sont surtout utilisés pour des hydrolyses partielles des chaînes peptidiques.

Il existe des exopeptidases (Tableau 20), qui catalysent spécifiquement la libération des résidus terminaux d'une chaîne peptidique: la présence d'une fonction α -aminée ou d'une fonction α -carboxylique libre est nécessaire à leur activité.

L'action de ces enzymes est continue, chaque acide aminé libéré démasquant un nouveau acide aminé terminal qui sera à son tour détaché. Une aminopeptidase, nommée Leucine aminopeptidase (LAP), bien qu'elle ne soit pas spécifique de cet acide aminé, détache tous les acides aminés N terminaux sauf la proline qui sera libéré par *une prolinase*.

B- Identification de l'acide aminé C-terminal

➤ Méthodes chimiques

Le borohydrure de lithium et hydrolyse acide, le dérivé alcool aminé est identifiable par chromatographie (Fig. 137a).

L'hydrazinolyse à 100 °C permet la coupure des liaisons peptidiques avec formation d'hydrazides sauf au niveau du résidu C-terminal qui apparaît sous forme d'acide aminé facilement identifiable (Fig. 137b).

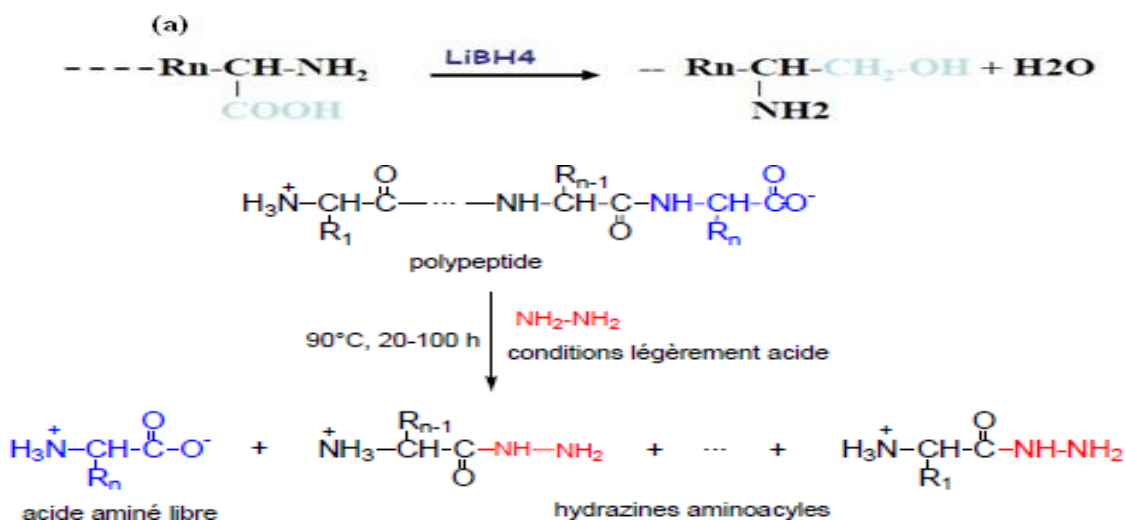


Fig. 137. Détermination de l'acide aminé C-terminal par réduction (a) et grâce à l'hydrazynolyse (b).

➤ **Méthodes enzymatiques**

Les carboxypeptidases A (3.4.12.2) ou B (3.4.12.3) hydrolysent les liaisons peptidiques à partir du résidu C-terminal. La carboxypeptidase A est une métallo-enzyme du suc pancréatique n'hydrolysant pas si l'acide aminé C-terminal est Arg, Lys ou Pro (clive l'acide aminé C-terminal lorsque celui-ci est acide ou neutre). La carboxypeptidase B agit sur les Arg et Lys C-terminales. La carboxypeptidase C (3.4.12.1) détache tous les acides aminés C-terminaux. La proline carboxypeptidase (3.4.12.4) détache spécifiquement la proline C-terminale. L'acide aminé N (ou C) terminal est extrait et identifié. L'enzyme pouvant poursuivre son hydrolyse sur le peptide à n-1 résidus, plusieurs cycles peuvent être ainsi réalisés (Tableau 20).

Tableau 20 : Exemples d'exopeptidases avec leurs spécificités.

Type	Nom	Source	Particularité
Aminopeptidase	Leucine aminopeptidase	Rein de porc	-sauf Pro
	Aminopeptidase M	Rein de porc	
	Aminopeptidase K	Moisissure	- Autres que basiques Arrêtée par Pro
Carboxypeptidase	Carboxypeptidase A	Pancréas de bœuf	- Autres que basiques Arrêtée par Pro
	Carboxypeptidase B	Pancréas de bœuf	
	Carboxypeptidase C	Feuille de citronnier	
	Carboxypeptidase P	Moisissure	-sauf Ser et Gly

- Hydrolyse partielle des chaînes peptidiques intra-chaînes

Si la chaîne peptidique est trop longue, il est important de réaliser des coupures en des points précis de la chaîne. Deux méthodes sont utilisables chimiques et enzymatiques.

➤ Méthodes chimiques

Au bromure de cyanogène

La coupure par le **bromure de cyanogène (BrCN)** de la chaîne peptidique n'intervenant que du côté carboxylique des résidus méthionine (méthode de Witkop et Gross). Un peptide qui contient 2 méthionyls (sauf C terminale) donnera 3 peptides de clivage. Une peptidylhomosérine- lactone est produite par l'action de BrCN sur le peptide (Fig. 138).

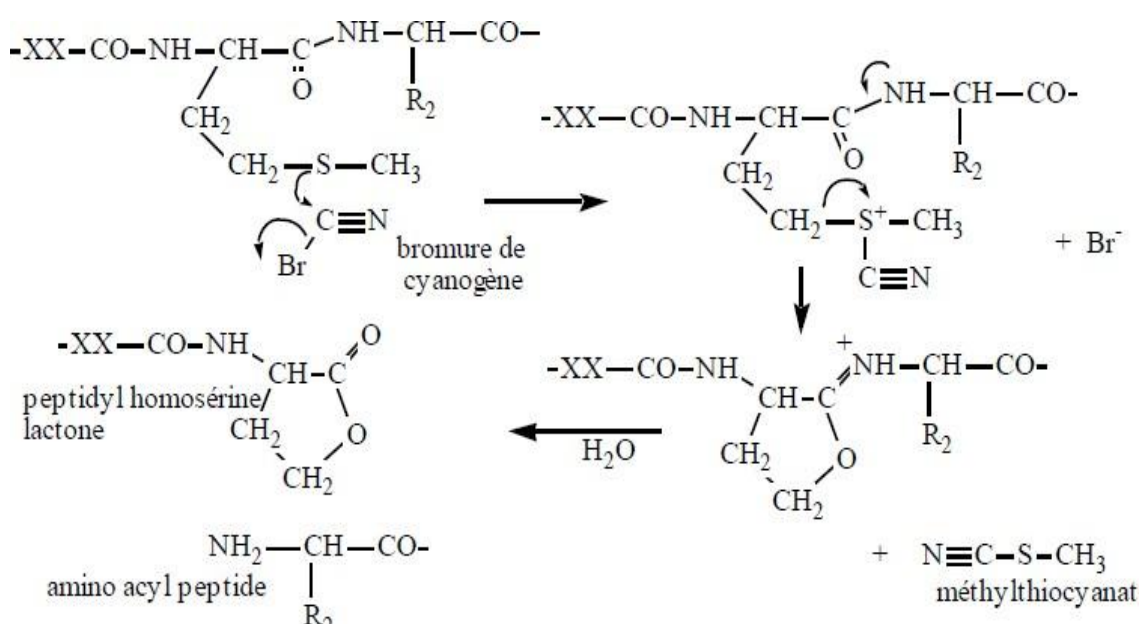


Fig. 138. Site de coupure de la chaîne peptidique par le bromure de cyanogène (BrCN).

Au 2 –nitro-5-thiocyanobenzoate (NTCB) hydrolyse la liaison peptidique du côté amine de la cystéine.

➤ Méthodes enzymatiques

Ce sont des endopeptidases à spécificité d'action étroite qui permet des coupures très localisées (Fig. 139). L'enzyme hydrolyse des liaisons peptidiques internes entre deux aminoacides. L'hydrolyse d'un peptide par une endopeptidase donnera plusieurs fragments peptidiques : si on a **m** coupures (m liaisons peptidiques hydrolysées), le peptide sera dégradé en **(m+1)** fragments peptidiques.

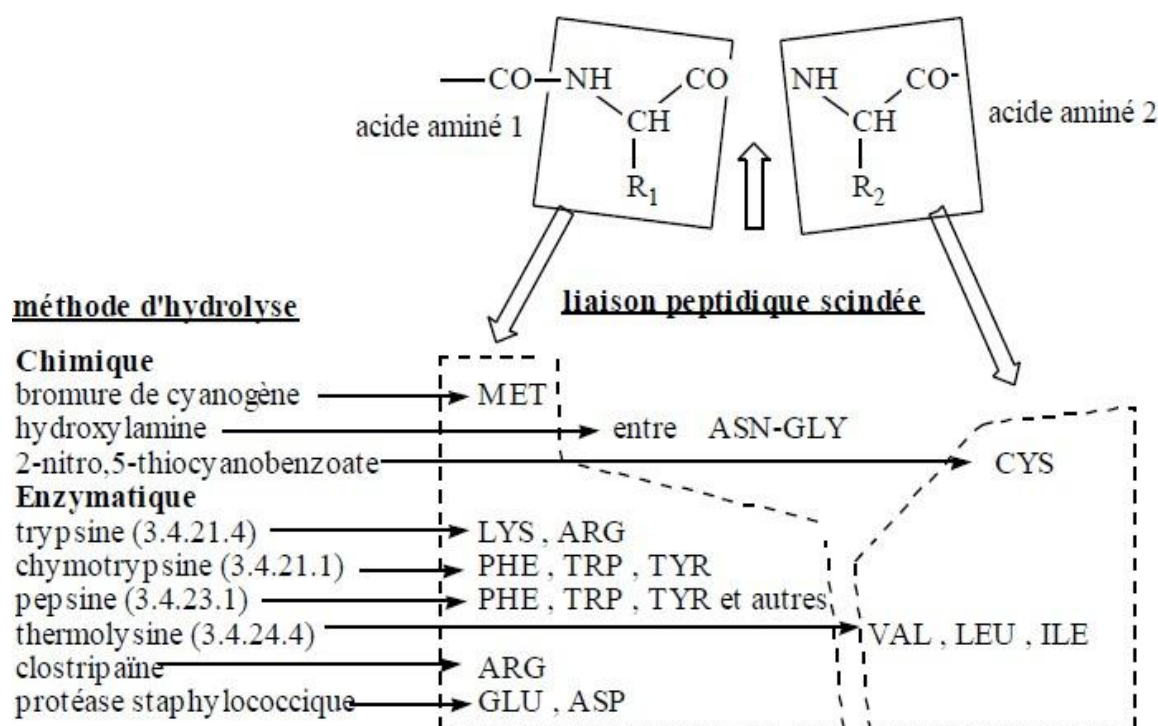


Fig. 139. Méthodes d'hydrolyse spécifiques de la liaison peptidique.

Pepsine : enzyme gastrique, attaque spécifiquement les liaisons peptidiques qui incluent le NH- de la Phe, Tyr et Trp et à moindre degré leu, Asp et Glu sauf si Pro est à gauche.

Trypsine : enzyme pancréatique, attaque spécifiquement les liaisons peptidiques qui incluent le carboxyle de la lysine ou de l'arginine sauf si $R_{n+1} = \text{Pro}$.

Chymotrypsine : élaborée également par le pancréas, attaque les liaisons auxquelles participe, le carboxyle d'un amino-acide aromatique (tyrosine, tryptophane, phénylalanine) sauf si $R_{n+1} = \text{Pro}$.

Thermolysine : spécifique des acides aminés hydrophobes (Ala, Val, Leu, Ile, Met) avec une coupure du côté amino de la liaison peptidique sauf si $R_{n-1} = \text{Pro}$.

Protéinase V8 : spécifique des acides aminés acides avec une coupure du côté carboxylique après Asp, Glu sauf si $R_{n+1} = \text{Pro}$.

Clostripaine = spécifique de l'arginine avec une coupure du côté carboxylique.

Papaïne : très utilisée dans l'industrie agro-alimentaire et chimique, elle permet notamment en boucherie d'attendrir la viande. Elle est aussi utilisée dans les produits de nettoyages de verres de contact, ainsi que dans les poudres à lessive, où son action est de détruire les protéines responsables des taches.

IV. 3. Les protéines

Les protéines (du grec *prôtos*, premier) sont des polymères (macromolécules) composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés (chaînes polypeptidiques).

Suivant leur composition se distingue : les **holoprotéines** qui sont formées uniquement d'unité(s) polypeptidique(s) et les **hétéroprotéines** auxquelles un groupement prosthétique non protidique est associé. Il peut être constitué par un enchaînement glucidique, des lipides, un ion métallique, un acide nucléique, un coenzyme, un hème

Suivant leur forme se distingue: les **scléroprotéines** ou protéines fibreuses, de forme allongée, peu solubles, très résistantes, ce sont des molécules de structure ; les **sphéroprotéines** ou protéines globulaires, de forme compacte, solubles, fragiles, ce sont des molécules possédant une fonction biologique active.

Les protéines ont des fonctions très diverses :

- **les protéines des structures**, qui permettent à la cellule de maintenir son organisation dans l'espace.
- **les protéines de transport**, qui assurent le transfert des différentes molécules dans et en dehors des cellules.
- **les protéines régulatrices**, qui modulent l'activité d'autres protéines (enzymes).
- **les protéines de signalisation**, qui captent les signaux extérieurs, et assurent leur transmission dans la cellule ou l'organisme.
- **Les protéines motrices.**

IV. 3. 1. Structure tridimensionnelle des protéines

IV. 3. 1. 1. Structure primaire des protéines

Elle correspond à l'enchaînement linéaire des acides α -aminés reliés entre-eux par la seule liaison peptidique. Cette structure est en fait imposée par le génome et conditionne à son tour les structures secondaire et tertiaire de la protéine. C'est d'elle que dépend, en outre le rôle fonctionnel de la protéine qui est lié à une séquence caractéristique; des mutations sur le génome peuvent avoir des conséquences plus ou moins graves: si la partie fonctionnelle de la protéine est touchée on aura une maladie moléculaire.

IV. 3. 1. 2. Structure secondaire des protéines

La structure secondaire caractérise le premier degré de repliement de la chaîne polypeptidique. Elle décrit le repliement local de la chaîne principale d'une protéine dû à des interactions entre les résidus d'acides aminés, par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes. L'existence de structures secondaires vient du fait que les repliements énergétiquement favorables de la chaîne peptidique sont limités et que seules certaines conformations sont possibles. Les structures secondaires les plus courantes sont les hélices α et les feuillets β .

IV. 3. 1. 2. 1. Hélice α

Ce type d'organisation correspond à une **structure hélicoïdale** stabilisée par des liaisons hydrogène intrachaînes où l'atome d'oxygène du carbonyle de chaque résidu (n) interagit avec l'azote du groupement amide situé quatre résidus plus loin ($n + 4$) dans la même séquence. Les radicaux des résidus sont à l'extérieur de l'hélice, ce qui minimise les encombrements stériques (Fig. 140).

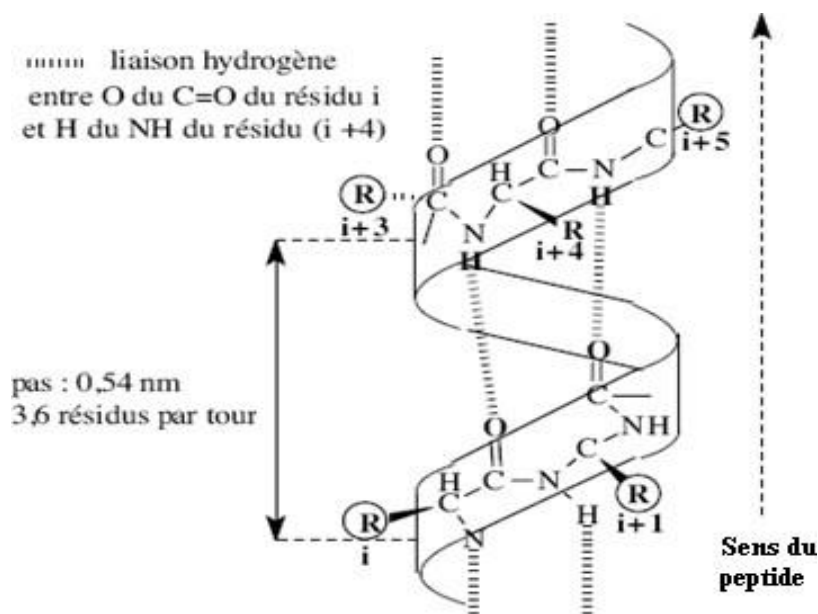


Fig. 140. Structure d'une hélice α droite.

Un tour d'hélice comporte 3,6 résidus d'acides aminés, espacés les uns des autres par rapport à l'axe de l'hélice de 0,15 nm. Le pas de l'hélice α est donc de 0,54 nm ($0,15 \times 3,6$). Les hélices comprennent au minimum 5 résidus et au maximum 40 résidus. Les hélices α peuvent être droites ou gauches mais les contraintes stériques favorisent l'hélice droite.

Cette structure a été prédite et baptisée hélice alpha par Linus PAULING et ses collaborateurs en 1951 sur des considérations théoriques, avant que cela ne soit confirmé quelques années plus tard par la biologie structurale.

Certains acides aminés exercent une influence sur la stabilité de la structure hélicoïdale. La leucine, le tryptophane et la phénylalanine stabilisent l'hélice grâce à des interactions hydrophobes. En revanche, la valine, l'isoleucine, la tyrosine et des résidus diacides et dibasiques voisins la déstabilisent. La présence de proline dans une chaîne polypeptidique entraîne souvent l'interruption de la structure en hélice alpha.

IV. 3. 1. 2. 2. Feuillet β

Les liaisons hydrogène des atomes d'oxygène $-CO$ et d'hydrogène $-NH$ d'une liaison peptidique se répètent non plus sur une portion continue de la chaîne peptidique mais entre

des segments différents qui peuvent appartenir à la même chaîne ou à des chaînes différentes (Fig. 141).

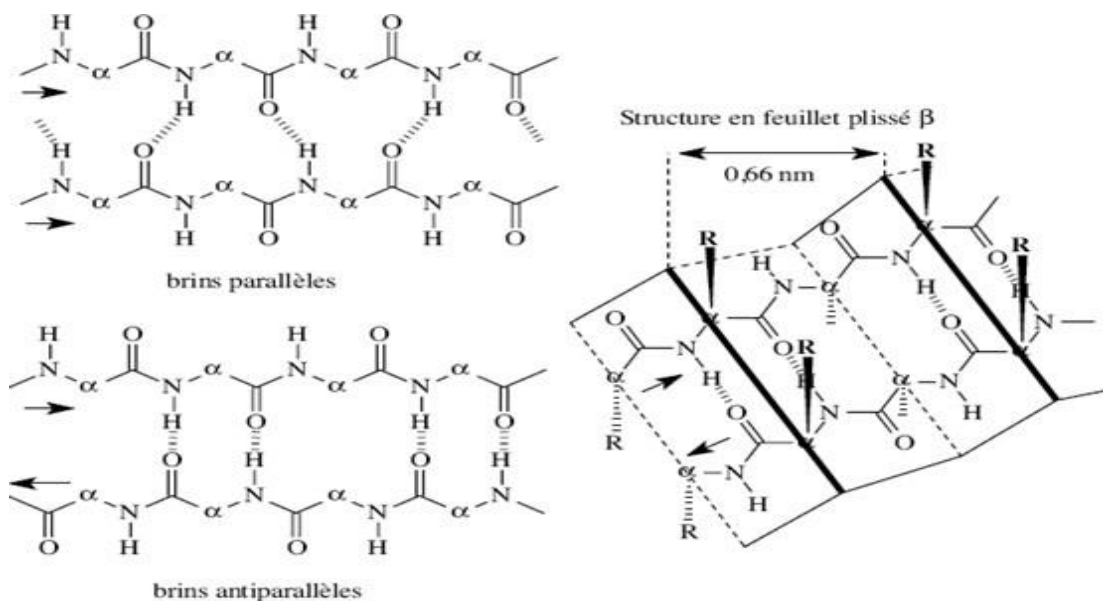


Fig. 141. Structure en feuillet plissé β .

Cette structure en zig zag est une structure à plat, étirée et étalée : feuillet β plissé. Souvent la destruction de liaisons hydrogène d'une hélice α par la chaleur en milieu aqueux conduit à la formation de feuillets. Le sens peptidique des deux brins adjacents peut être identique ou contraire, les feuillets sont respectivement dits parallèles ou antiparallèles. Ces derniers sont plus stables, les liaisons H subissant de plus faibles distorsions. Les chaînes latérales des résidus se distribuent alternativement de part et d'autre du plan moyen.

Cette structure se retrouve par exemple avec des protéines fibreuses ou scléroprotéines. Ce sont de longues molécules de protéines en forme de filaments trouvées dans les tissus et les éléments de structure comme les muscles, les os, la peau, les composants ou les membranes cellulaires. Elles accomplissent des tâches structurelles et se composent d'unités aux structures secondaires simples et répétitives (hélice alpha et feuillet bêta). Le collagène et la kératine sont des protéines fibreuses présentant une conformation en hélice alpha, la fibroïne de soie a une conformation en feuillet plissé bêta.

IV. 3. 1. 3. Structure tertiaire des protéines

La structure tertiaire d'une protéine (Fig. 142) correspond à la conformation qu'adoptent les éléments de structure secondaire dans l'espace (structure tridimensionnelle ou 3D). Elle dépend non seulement de la séquence en acides aminés, mais également des conditions environnementales.

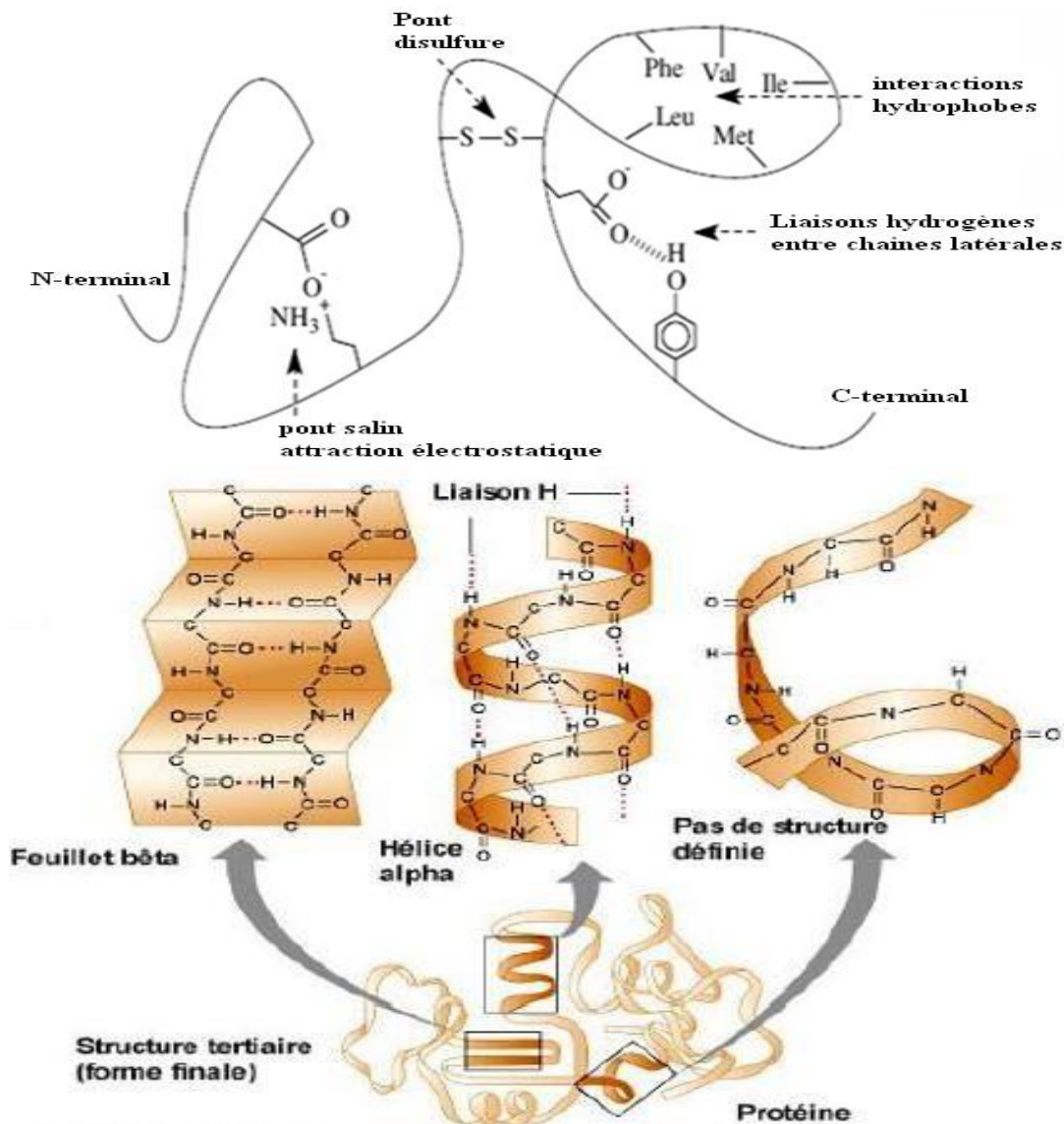


Fig. 142. Les liaisons ou interactions entre chaînes latérales des résidus, impliquées dans la structure tertiaire des protéines.

Cette structure est maintenue par des interactions qui peuvent être de nature différente : interactions covalentes (ponts disulfures entre cystéines); interactions électrostatiques (liaisons ioniques, liaisons hydrogènes); interactions de Van Der Waals ; interactions avec le solvant: dans l'eau, les chaînes latérales polaires pourront être exposées au solvant, alors que les chaînes latérales apolaires auront tendance à « s'enfouir » dans des poches hydrophobes de la protéine. La protéine se présente alors sous la forme d'un " peloton".

IV. 3. 1. 4. Structure quaternaire des protéines

La structure quaternaire correspond à l'association non covalente de plusieurs **sous-unités** protéiques ou **monomères** identiques ou différents (Fig. 143). La structure protéique résultant de cette association est appelée **oligomère**.

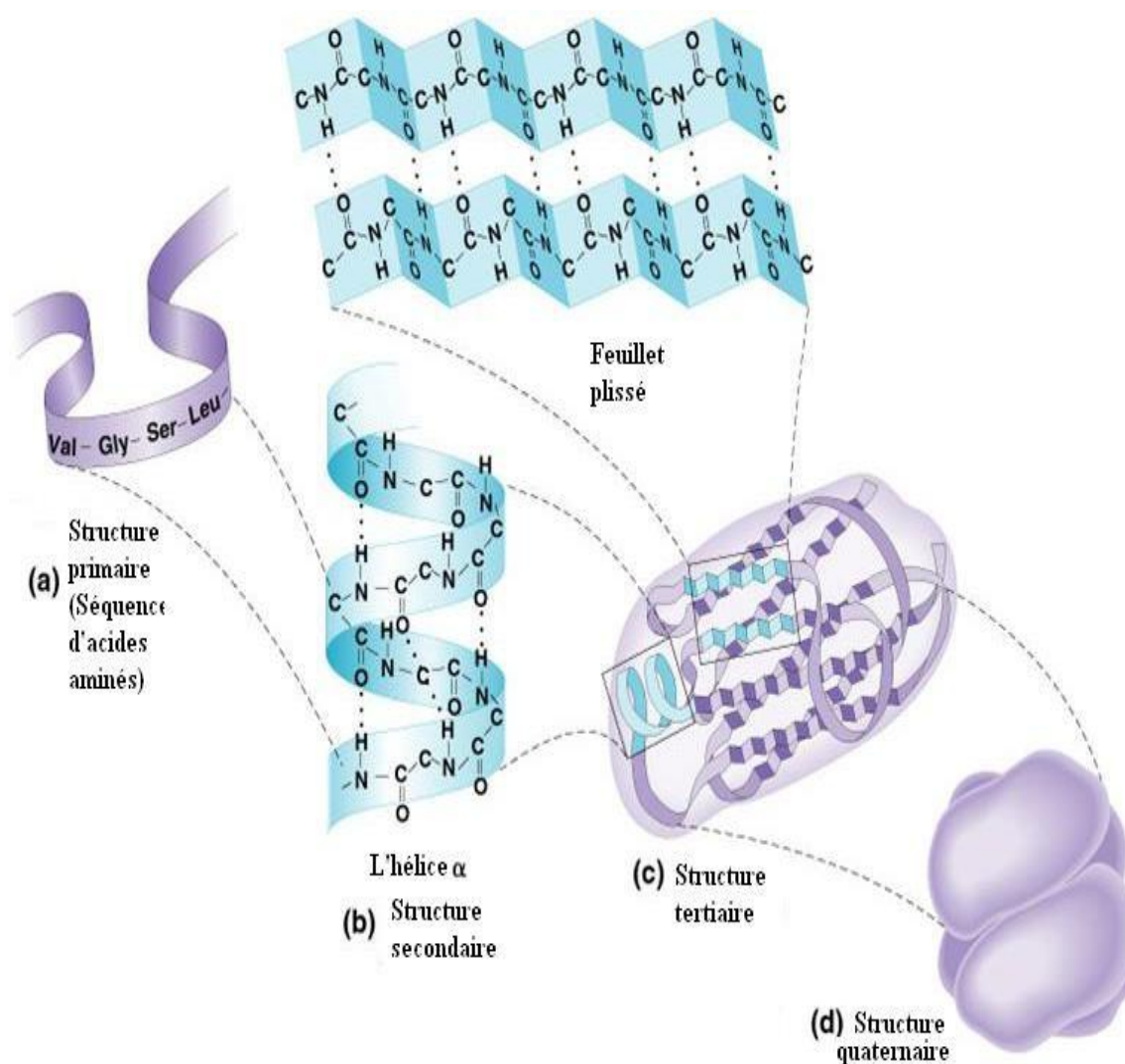


Fig. 143. Les quatre niveaux de structure d'une protéine.

Les oligomères constitués de deux, trois, quatre ou plus de sous-unités sont appelés dimères, trimères, tétramères etc. Lorsque les sous-unités d'un oligomère sont identiques, le préfixe **homo-** est utilisé (ex. homodimère). Le préfixe **hétéro-** sera utilisé lorsque les sous-unités d'un oligomère sont différentes (ex. hétérotétramère).

L'association entre les sous unités dépend à la fois de la complémentarité de forme et surtout des interactions faibles entre les sous-unités : liaisons électrostatiques, liaisons hydrogène, liaisons de Van der Waals, interactions hydrophobes.

IV. 3. 2. Dénaturation des protéines

Le maintien des structures secondaire, tertiaire, quaternaire des protéines est responsable de leur activité biologique, il est assuré par des liaisons de faible énergie. Si ces liaisons sont rompues, la protéine va perdre son activité et certaines propriétés: elle est dénaturée.

La dénaturation peut être provoquée par toute une variété d'agents physiques ou chimiques: chaleur (la coagulation de l'ovalbumine du blanc d'oeuf est un exemple de dénaturation), radiations ultra-violettes et ionisantes, les variations de pH, les détergents, les solutions d'urée, les solvants organiques. La dénaturation est parfois irréversible, parfois réversible après élimination de l'agent dénaturant.

IV. 3. 3. Isolement, fractionnement et purification des protéines

L'obtention d'une protéine pure à partir d'un homogénat de cellules est en général une tâche longue et délicate, car on est le plus souvent en présence de plusieurs centaines de protéines ayant des propriétés chimiques assez voisines. Il faut prendre garde de ne pas dénaturer la protéine que l'on veut isoler.

Plusieurs méthodes sont fréquemment utilisées on peut citer quelques unes: la dialyse pour éliminer les petites molécules, la précipitation par les sels neutres (ou relargage), la précipitation au point isoélectrique, la précipitation par les solvants organiques à basse température, la chromatographie par filtration sur gels de dextrane, l'électrophorèse, l'ultracentrifugation et la cristallisation.

CHAPITRE V

Enzymes

V.1. Définition

Une enzyme (parfois utilisé au masculin, l'Académie des Sciences suggère l'utilisation du féminin) est une protéine spécialisée dans la catalyse des réactions chimiques du métabolisme se déroulant dans le milieu cellulaire ou extracellulaire. Les enzymes agissent à faible concentration et elles se retrouvent intactes en fin de réaction.

V. 2. Nature et structure des enzymes

À l'exception des ribozymes qui sont des ARN possédant une fonction catalytique, les enzymes sont toujours des protéines et possèdent donc l'ensemble de leurs propriétés physico-chimiques. Il existe deux grandes catégories d'enzymes :

V. 2. 1. Enzymes purement protéiques (appelée **apoenzyme**): ce sont des enzymes constituées uniquement d'acides aminés.

V. 2. 2. Holoenzymes : Très souvent les enzymes sont constituées d'une protéine (l'apoenzyme) associée à une espèce chimique de petite taille et de nature différente, un **cofacteur**. Le cofacteur est thermostable, alors que la protéine est thermolabile.

Les cofacteurs sont très variés. Il peut s'agir d'**ions métalliques** (Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++} , Zn^{++} : site actif de la phosphatase alcaline, carboxypeptidase), ou de **coenzymes**, molécules organiques le plus souvent dérivées de vitamines (cas des réactions catalysées par les déshydrogénases qui utilisent comme coenzyme des transporteurs de protons et d'électrons). Ils possèdent un noyau flavinique comme le FAD et FMN ou nicotinamide comme le NAD^+ et le NADP^+ . Lorsque le cofacteur est fortement lié à la protéine on le qualifie de **groupement prosthétique**. C'est par exemple le cas des noyaux fer-tétrapyrroles, parties intégrantes des **cytochromes**. A l'opposé, les coenzymes nicotiniques (**coenzymes mobiles**), NAD^+ et NADP^+ passent alternativement de l'état oxydé à l'état réduit en faisant la navette d'une enzyme à l'autre.

V. 2. 3. Substrat : Le substrat est la molécule liée au site actif et sur laquelle l'enzyme va agir. Les interactions entre enzymes et substrat font intervenir des liaisons non covalentes et sont des réactions spontanées, qui ne nécessitent aucune énergie.

V. 2. 4. Ligands : Les enzymes peuvent avoir des interactions avec d'autres molécules qui peuvent être protéique ou non protéique ; c'est molécules sont appelées **ligands**. Une protéine dénaturée par la chaleur est incapable de lier son ligand.

V. 3. Notions de spécificité

Les enzymes catalysent des réactions biologiques dans lesquelles un substrat est transformé en produit. La réaction globale est composée de deux réactions élémentaires : le substrat forme d'abord un complexe avec l'enzyme, puis ce complexe se décompose en produit et enzyme (Fig. 144).

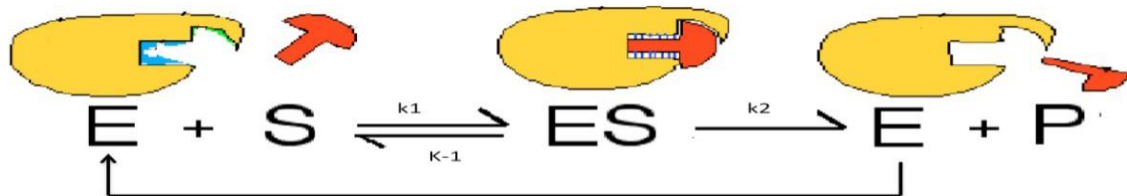


Fig. 144. La réaction de transformation d'un substrat en produit catalysée par une enzyme. Avec k = constante de vitesse.

k_1 = constante de vitesse de formation du complexe ES

k_{-1} = constante de vitesse de dissociation du complexe ES

k_2 = constante de vitesse de formation de P «Turnover» nombre de cycles catalytiques par seconde.

Cette double action de fixation du substrat et de catalyse permet d'introduire la notion de spécificité de réaction et de spécificité de substrat.

V. 3. 1. Spécificité de substrat : la spécificité de substrat correspond au fait qu'une enzyme fixe et transforme un substrat donné et non un autre. La spécificité de substrat est variable, certaines enzymes ont une spécificité **absolue** ; transformant un substrat unique en un produit unique (**Glucokinase** : ne phosphoryle que le glucose).

D'autres ont une spécificité **plus large**, transformant une classe de substrat en autant de produits (**Hexokinase** : phosphoryle divers hexoses, dont le glucose).

V. 3. 2. Spécificité de réaction : la spécificité de réaction correspond au fait qu'une enzyme catalyse une réaction chimique donnée et non une autre. Une enzyme peut ainsi ouvrir une voie métabolique en dirigeant le métabolisme d'un substrat vers une cascade de réactions, au détriment d'autres possibilités métaboliques pour ce même substrat. L'activité enzymatique et la spécificité des enzymes dépendent de la conformation spatiale de la protéine.

Kinases : Ne catalysent que les réactions de phosphorylation en présence d'ATP .

Décarboxylases : catalysent la décarboxylation des molécules contenant un groupement carboxyle.

V. 3. 3. Régulation de l'activité catalytique

L'activité d'une enzyme est contrôlée par des modulateurs (activateurs, inhibiteurs); ce qui permet d'ajuster la vitesse globale d'un métabolisme au besoin cellulaire:

Exemple: La phosphofructokinase est activée par l'AMP et inhibée par l'ATP. Cette modulation active ou inhibe la glycolyse selon que la charge énergétique est faible ou élevée.

V. 4. Le site actif

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif. C'est une zone privilégiée, qui a la forme d'une cavité, située dans la zone hydrophobe de la protéine, au niveau de laquelle s'exerce électivement le pouvoir catalytique de l'enzyme. Il est formé d'un **site de fixation** et d'un **site catalytique** (Fig. 145) :

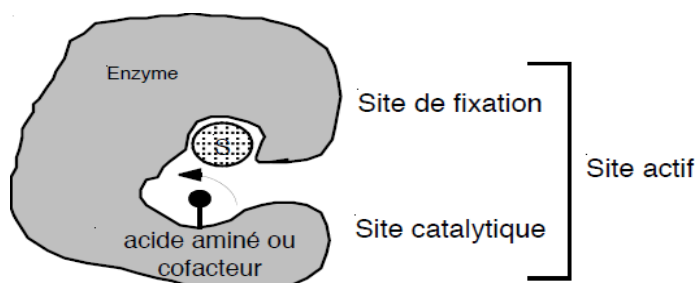


Fig. 145. Représentation schématique d'une enzyme.

- le site de fixation reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique de l'enzyme et détermine l'affinité et la spécificité de la réaction ;
- le site catalytique permet la transformation du substrat en produit et détermine la vitesse de la réaction.

Ces deux domaines sont constitués d'acides aminés éloignés dans la structure primaire mais proches dans la structure 3D. La dénaturation de l'enzyme entraîne son inactivation.

Il comprend 3 types d'acides aminés :

a- Acides aminés contributeurs (collaborateurs) : Permettent à la protéine enzymatique d'adopter une conformation spatiale pour que le ligand puisse s'adapter à la protéine.

b- Acides aminés auxiliaires : Assurent la mobilité des zones situées au voisinage du centre actif

c- Acides aminés de contact : Lieu de la réaction enzymatique en faisant intervenir des groupements particuliers de ces acides aminés, qui interagissent avec un ou plusieurs groupements particuliers du substrat.

V. 5. Nomenclature et classification

Le nom de l'enzyme est formé de deux parties : la première est le nom de(s) substrat et se termine par le suffixe « ase » et indique ainsi à la fois le substrat et la réaction catalysée :

- *glucose-6 phosphatase* : l'enzyme hydrolyse la liaison ester-phosphate en C₆ du glucose ;
- *glucokinase* : l'enzyme transfère un groupe phosphate de l'ATP au glucose.

Depuis 1961, l'Union Internationale de Biochimie a codifié la nomenclature et la classification des enzymes sous une nomenclature dite officielle. Les enzymes sont répartis selon le type de réaction qu'ils catalysent en six classes, elles-mêmes subdivisées en sous-

classes permettant de mieux définir la fonction de chaque enzyme. Toutes les enzymes actuellement connues sont répertoriées sous un numéro portant 4 nombres (Fig. 146, Tableau 21) séparés par des points et précédés de EC (Enzyme Commission number) : (EC : $X_1.X_2.X_3.X_4$). La signification des nombres est la suivante :

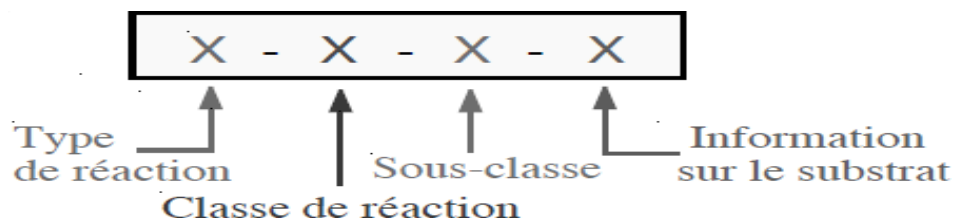


Fig. 146. Nomenclature des enzymes

X₁ : Le premier nombre pouvant varier de 1 à 6 indique le type de réactions (6 classes chacune comportant de 4 à 13 sous classes).

Types de réactions catalysées

1 : Oxydoréductases (catalysent les réactions d'oxydoréduction: transfert d'électrons, d'atomes d'hydrogène ou fixation d'oxygène)

2 : Transférases (transfert d'atomes ou de groupes d'atomes, un phosphate par exemple)

3 : Hydrolases (Coupure des liaisons avec consommation de H₂O)

4: Lyases (Coupure des liaisons par d'autres modes autres que l'hydrolyse, sans consommation de H₂O).

5: Isomérases (catalysent les réactions d'isomérisation dans une molécule, réaction conservant la formule brute du composé)

6: Ligases (catalysent la formation de liaisons covalentes entre deux molécules : CC, CO, CN, CS, CP, N-métal). Ce sont des synthétases utilisant l'énergie des XTP.

X₂ : Le 2^{ème} définit la sous-classe (son mécanisme d'action). Dans le cas des oxydoréductases on distingue les déshydrogénases, les monooxygénases et les dioxygénases.

X₃ : Le 3^{ème} nombre désigne sous sous classe : la nature de la molécule qui sert d'accepteur, lorsqu'il s'agit d'un transfert d'électrons.

X₄ : Le 4^{ème} nombre est un numéro d'ordre dans le groupe et dans le sous-groupe (caractéristique de l'enzyme).

Tableau 21 : Exemples de la classification des enzymes.

Lactate déshydrogénase E.C 1.2.1.22			
1. Oxydoréductase	2. Agit sur la fonction aldéhyde ou oxo du donneur d'électrons	1. L'accepteur d'électrons est NAD ⁺ ou NADP ⁺	22. Le substrat est le lactate
Hexokinase E.C 2.7.1.1			
2. Transférase	7. Le groupe transféré est un phosphate	1. L'accepteur est une fonction alcool	1. Le substrat est un hexose
Trypsine E.C 3.4.21.4			
3. Hydrolase	4. Agit sur des liaisons peptidiques	21. Serine endopeptidase	4. Clivage préférentiel : Arg, Lys

V. 6. Unités de mesure de l'activité catalytique des enzymes

V. 6. 1. Unité internationale d'activité (UI) : une unité est la quantité d'enzyme transformant une μmol de substrat par minute dans les conditions optimales de dosage (**UI** = $\mu\text{mol/min}$).

V. 6. 2. Katal : en pratique médicale, l'activité enzymatique est exprimée en mole de substrat transformé par seconde. L'unité usuelle est le nanokatal (une nanomole de substrat transformé par seconde (1 UI = 16,6 nanokatal).

V. 6. 3. Activité spécifique (AS) : Nombre de molécules de substrat transformées par min et par milligramme d'enzyme. Elle mesure le degré de pureté d'une préparation enzymatique.

$$\frac{\mu\text{ mol/min}}{\text{mg de protéine}} = \frac{\text{UI}}{\text{mg de protéine}}$$

V. 6. 4. Activité spécifique moléculaire (ASM) : Nombre de molécules de substrat transformées par min et par molécule d'enzyme. C'est une caractéristique de l'enzyme et ne peut se calculer que si la préparation enzymatique est pure.

$$\frac{\mu\text{ mol/min}}{\mu\text{ mol de protéine}} = \frac{\text{UI}}{\mu\text{ mol de protéine}}$$

V. 6. Cinétique enzymatique

La cinétique enzymatique a pour objet d'identifier et de décrire les mécanismes des réactions biochimiques, catalysées par les enzymes, en étudiant leur vitesse c'est-à-dire leur évolution en fonction du temps.

V. 6. 1. Notion de « vitesse initiale »

Dès qu'une enzyme est mise en contact avec le substrat, une formation du produit en fonction du temps est observée (Fig.147). En pratique, on considère que la courbe présente une partie rectiligne et l'on mesure l'augmentation de la concentration de produit $d[P]$ pendant un intervalle de temps dt . On estime que les résultats restent acceptables tant que la concentration de produit reste inférieure à 10 % de la concentration initiale de substrat. En toute rigueur on devrait mesurer la tangente de cette courbe à l'origine.

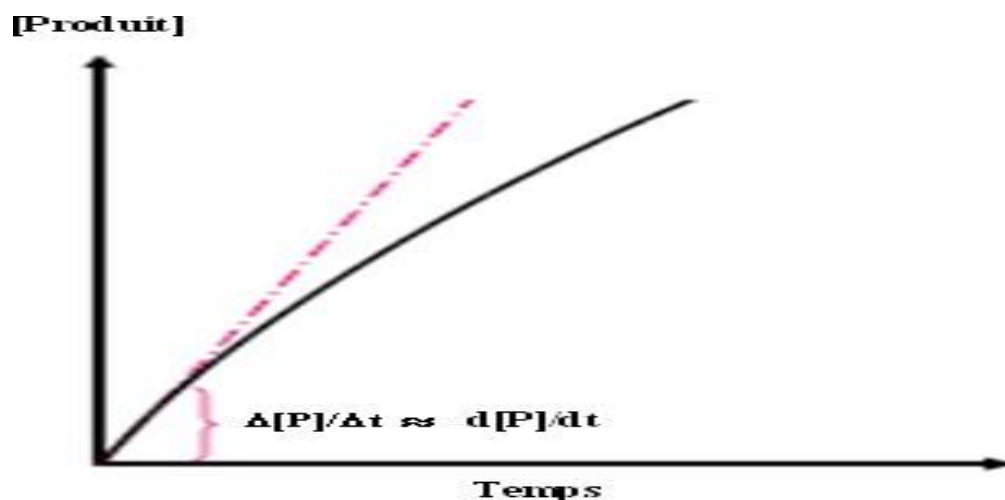


Fig. 147. Détermination de la vitesse initiale d'une réaction.

V. 6. 2. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale

La mesure de la vitesse initiale en présence de concentrations croissantes d'enzyme (a à d, Fig. 148A), pour une concentration constante de substrat, montre que cette vitesse est proportionnelle à la concentration d'enzyme (Fig. 148B) :

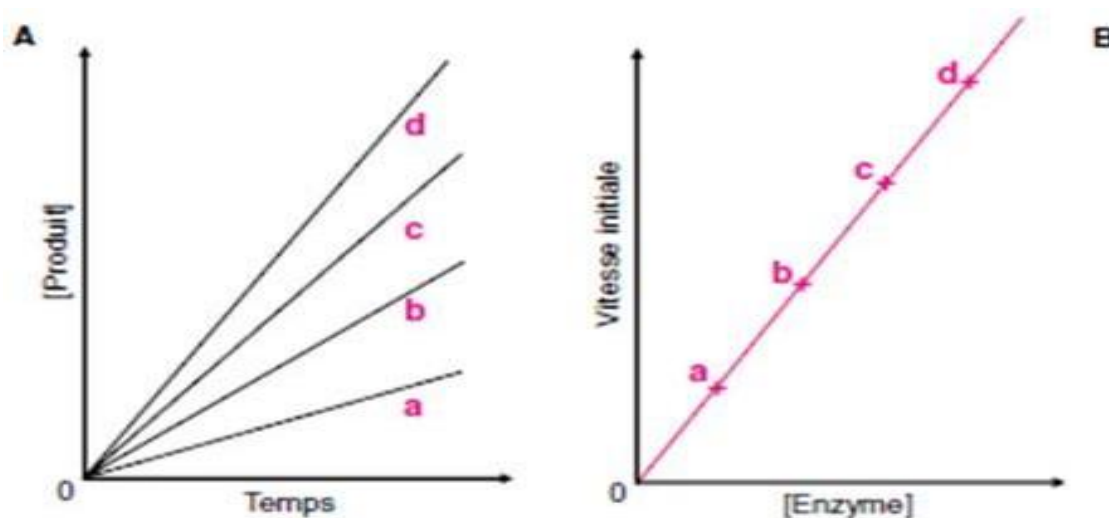


Fig. 148. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale.

V. 6. 3. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale

La mesure de la vitesse initiale en présence d'une concentration constante d'enzyme, mais en fonction de concentrations croissantes de substrat (a à f, Fig. 149 C), montre que cette vitesse augmente en fonction de $[S]$ (Fig. 149 D), mais cette vitesse ne croît pas indéfiniment ; on atteint une limite, la vitesse maximum $V_{\max}$: la vitesse maximum est atteinte lorsque toutes les molécules d'enzyme se retrouvent sous la forme ES.

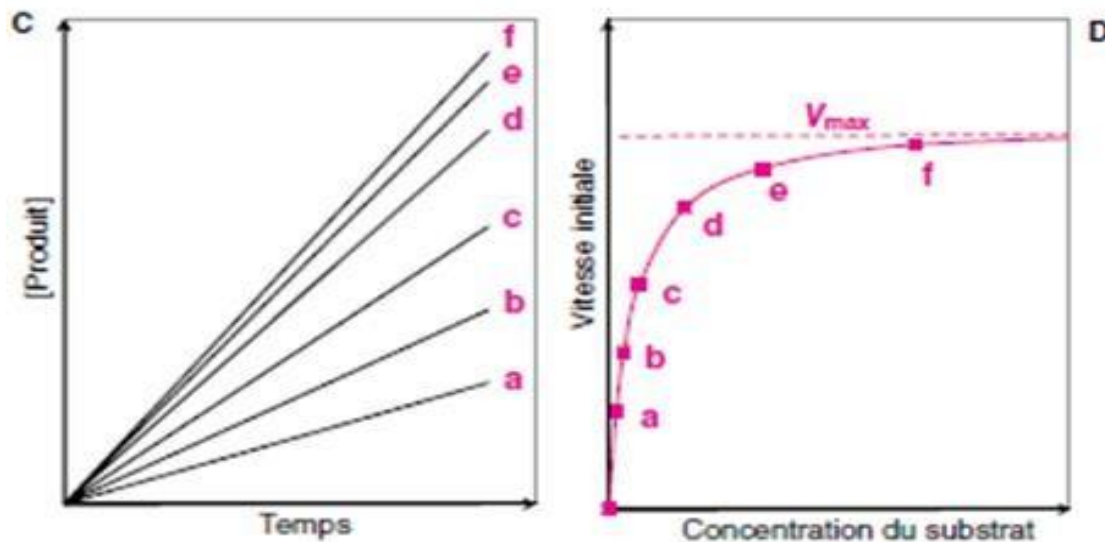


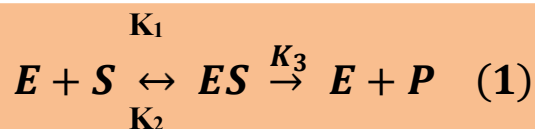
Fig. 149. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale.

V. 6. 4. Modèle de Michaelis-Menten

L'équation de Michaelis-Menten permet de décrire la cinétique d'une réaction catalysée par une enzyme agissant sur un substrat unique pour donner un produit. Elle relie la vitesse de la réaction à la concentration de substrat et à des paramètres constants, caractéristiques de l'enzyme.

V. 6. 4. 1. Équation de Michaelis-Menten

La transformation enzymatique du substrat en produit nécessite la formation préalable du complexe enzyme-substrat, ES, suivie de sa conversion en enzyme et produit :



Dans ce schéma :

- K_1 : constante de vitesse de formation du complexe ES , dimension $\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$; la vitesse de formation du complexe $[ES]$ est : $V_1 = K_1 [E][S]$
- K_2 : constante de vitesse de dissociation du complexe ES , dimension s^{-1} ; la vitesse d'élimination du complexe $[ES]$ est : $V = (K_2 + K_3) [ES]$

- K_{cat} : constante catalytique, constante de vitesse qui englobe la formation du complexe EP et sa dissociation en $E + P$; dimension s^{-1} .
- la concentration de produit est nulle, puisque l'on mesure la vitesse initiale ; aussi, on ignore toute formation de complexe EP à partir de $E + P$. La réaction progresse uniquement vers la formation de produit, d'où l'expression de la vitesse de réaction : $V_0 = k_{cat}[ES]$

Les expériences de cinétique enzymatique donnent des relations entre la vitesse de réaction V , c'est-à-dire la quantité de substrat S disparu ou la quantité de produit P formé par unité de temps au cours d'une réaction : $V = -d[S]/dt = d[P]/dt$

La vitesse d'apparition des produits est : $dP/dt = V_3 = k_3.[ES]$

La vitesse de disparition des substrats est : $-dS/dt = V_1 - V_2$

Pendant la phase stationnaire, la concentration du complexe enzyme-substrat $[ES]$ est constante. Donc la vitesse de formation de ce complexe $[ES]$ doit être égale à celle de dissociation : $V_1 - V_2 = V_3$ donc $K_1[E][S] = (K_2 + K_3)[ES]$

Le rapport des constantes K_1 , K_2 et K_3 est aussi une constante, cette dernière est définie comme la **constante de Michaelis** (K_m). $K_2 + K_3 / K_1 = [E].[S] / [ES] = K_m$

En appelant $[E_T]$ la concentration totale en enzyme, la concentration en enzyme libre est égale

$$\text{à : } [E] = [E_T] - [ES] \quad \text{et} \quad K_m = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{([E_T] - [ES])[S]}{[ES]}$$

$$K_m + [S] = \frac{[E_T][S]}{[ES]} \Rightarrow [ES] = \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

$V = \text{vitesse de la réaction enzymatique} = V_3$

$$V = V_3 = k_3[ES] \quad \text{donc} \quad V = \frac{k_3[E_T].[S]}{K_m + [S]}$$

La vitesse de la réaction dépend de la concentration : en enzyme totale, en substrat et de la constante de Michaelis.

V. 6. 4. 2. Vitesse maximale V_{max}

À la concentration saturante de substrat, $V_0 = V_{max}$; de plus, tout l'enzyme est complexé et donc $[ES] = [ET]$ si on désigne par $[ET]$ la concentration de l'enzyme total ; on peut écrire :

$$V_{max} = K_{cat} [ET] \quad \text{et par conséquent :} \quad V_i = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad \text{C'est l'équation de Michaelis et}$$

Menten, avec:

V_i : vitesse initiale de la réaction enzymatique pour une concentration de substrat (en $\mu\text{Mol/min}$) ;

V_{max} : Vitesse maximale mesurée pour une concentration saturante de substrat (en $\mu\text{M/min}$) ;

[S] : Concentration en substrat (en mol/L) ;

K_m : Constante de Michaelis spécifique de l'enzyme.

La courbe qui traduit les variations de V en fonction de $[S]$ selon cette équation est une branche d'hyperbole (Fig. 150).

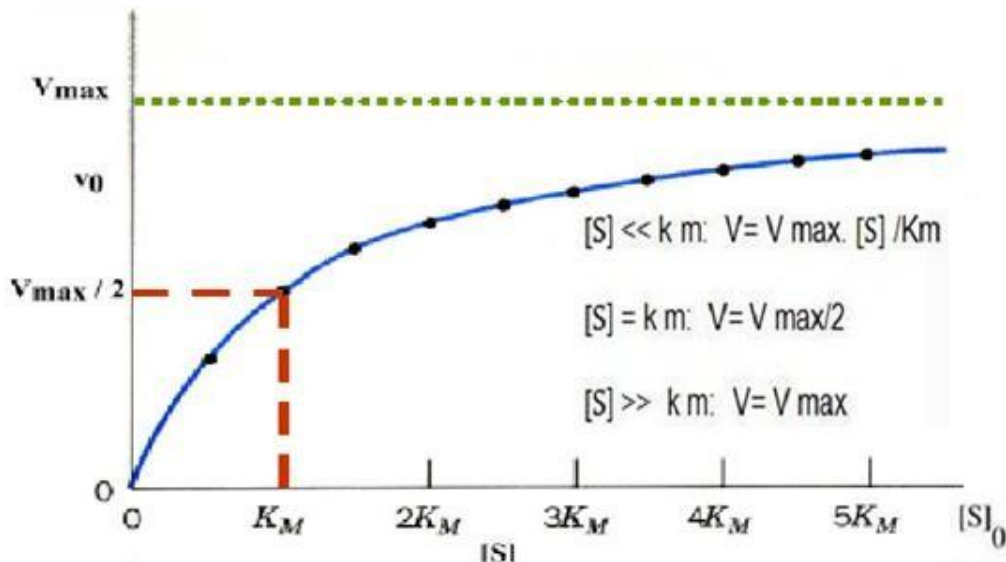


Fig. 150. Représentation de Michaelis montrant la vitesse en fonction de la concentration du substrat.

V. 6. 4. 3. Signification physique de la constante de Michaelis K_M

L'équation de Michaelis-Menten relie V_0 à $[S]$ et aux constantes de vitesse des étapes individuelles. K_M , qui est une constante caractéristique de l'enzyme dite constante de Michaelis, est définie par le rapport $(k_{-1} + k_{cat})/k_1$. Elle correspond à la concentration de substrat pour laquelle la vitesse atteint la moitié de la vitesse maximale ($V = V_{max}/2$). C'est la concentration en substrat qui conduit à un taux de saturation de 50% de l'enzyme. Elle a la dimension d'une concentration (mole/litre).

K_m traduit l'affinité de l'enzyme pour son substrat. L'affinité représente la facilité qu'à un substrat de se lier à une enzyme. Ainsi, plus le K_m est grand, plus le complexe ES a tendance à se dissocier, et donc moins l'enzyme a d'affinité pour le substrat. Le K_m est donc inversement proportionnel à l'affinité de l'enzyme pour le substrat (Tableau 22).

Tableau 22: Valeurs de K_m de certaines enzymes.

ENZYME	SUBSTRAT	CONCENTRATION (μM)	K_M (μM)
Glucose phosphate isomérase	Glucose-6-phosphate	450	700
Aldolase	Fructose 1, 6-diphosphate	32	100
Triose phosphate isomérase	Glycéraldéhyde-3-phosphate	3	460
Glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase	Glycéraldéhyde-3-phosphate	3	70
Phosphoglycérate kinase	3- phosphoglycérate	60	1200

V. 6. 4. 4. Signification physique de la constante catalytique k_{cat}

La constante catalytique de vitesse k_{cat} , est le nombre de molécules de substrat converties en produit par molécule d'enzyme et par unité de temps, habituellement la seconde, dans des conditions expérimentales données, lorsque l'enzyme est totalement saturé par le substrat. Pour cette raison, K_{cat} est aussi dénommé turnover.

La constante catalytique k_{cat} est donc une mesure directe de l'activité catalytique d'une enzyme : plus grand est k_{cat} , plus rapides sont les événements catalytiques au sein du complexe enzyme-substrat. La constante catalytique k_{cat} s'exprime en S^{-1} et son inverse a la dimension d'un temps : c'est le temps requis par une molécule d'enzyme pour transformer une molécule de substrat. La constante catalytique de la plupart des enzymes se situe entre 10^2 et 10^4 S^{-1} .

Le critère K_{cat}/K_m mesure la spécificité et l'efficacité des enzymes. Les deux constantes K_M et K_{cat} reflètent donc les propriétés catalytiques d'une enzyme.

V. 6. 4. 5. Représentation de Lineweaver et Burk

Il existe plusieurs possibilités de réarrangement de l'équation de Michaelis-Menten qui permettent de la transformer en une équation linéaire (Fig. 151). La plus connue est la représentation en double inverse selon Lineweaver-Burk. En prenant l'inverse des deux côtés

de l'équation de Michaelis-Menten, nous obtenons :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{max} \cdot [S]} = \frac{K_m}{V_{max} \cdot [S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Qui est du type $y = ax + b$ (équation d'une droite) dans laquelle :

$$1. \quad y = \frac{1}{v}, \quad 2. \quad a = \frac{K_m}{V_{max}}, \quad 3. \quad x = \frac{1}{[S]} \quad \text{et} \quad 4. \quad b = \frac{1}{V_{max}}$$

2.

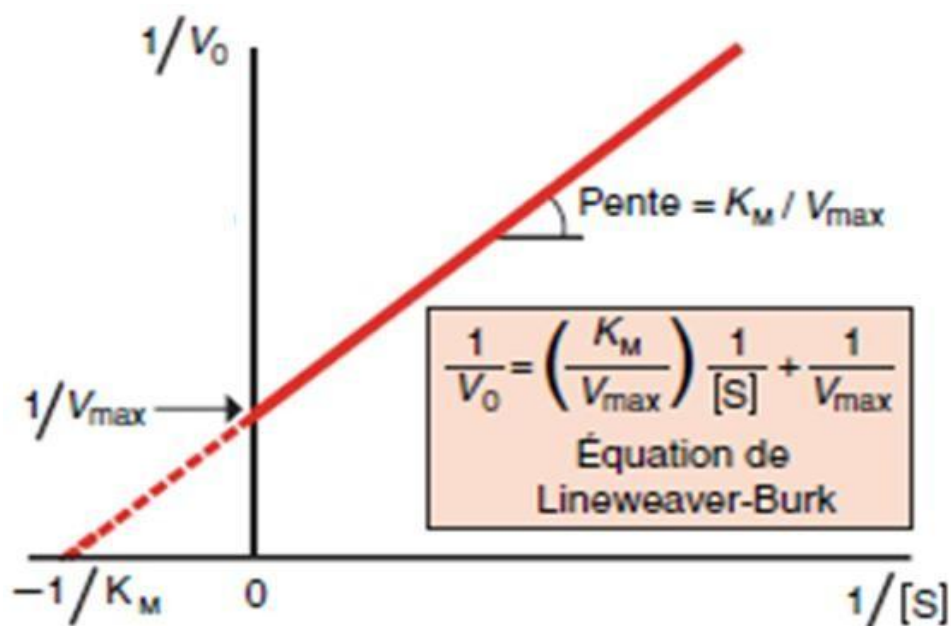


Fig. 151. Représentation de Lineweaver-Burk..

Sous cette forme, on a une équation linéaire de type $y=ax+b$, où la pente $a=K_m/V_{\max}$. L'intersection de la droite représentative avec l'abscisse détermine $-1/K_M$ et son intersection avec l'ordonnée $1/V_{\max}$ (ordonnée à l'origine).

V. 7. Effecteurs de l'activité enzymatique

V. 7. 1. Effets des agents physiques

V. 7. 1. 1. Effets de la température

À la température optimale l'activité enzymatique est la plus importante. Cette température optimale varie d'une enzyme à un autre. En conditions optimales, la température doit approcher en général les 37 à 38 °C. Ces valeurs sont indicatives d'enzymes d'animaux à sang chaud, soit presque la température du corps.

À l'inverse, si la température dépasse les 60 °C, l'enzyme est dénaturée, il y a modification du site actif, et la réaction ne peut pas avoir lieu. Si la température est en dessous de 5 °C, l'enzyme est inactivée car l'agitation moléculaire provoquée par la chaleur est limitée : les molécules de substrat et les enzymes se rencontrent difficilement. Il existe des enzymes thermostables, telles que par exemple l'ADN polymérase utilisée dans la PCR. Les effets sur la réaction enzymatique qui se traduit par deux phases (Fig. 152):

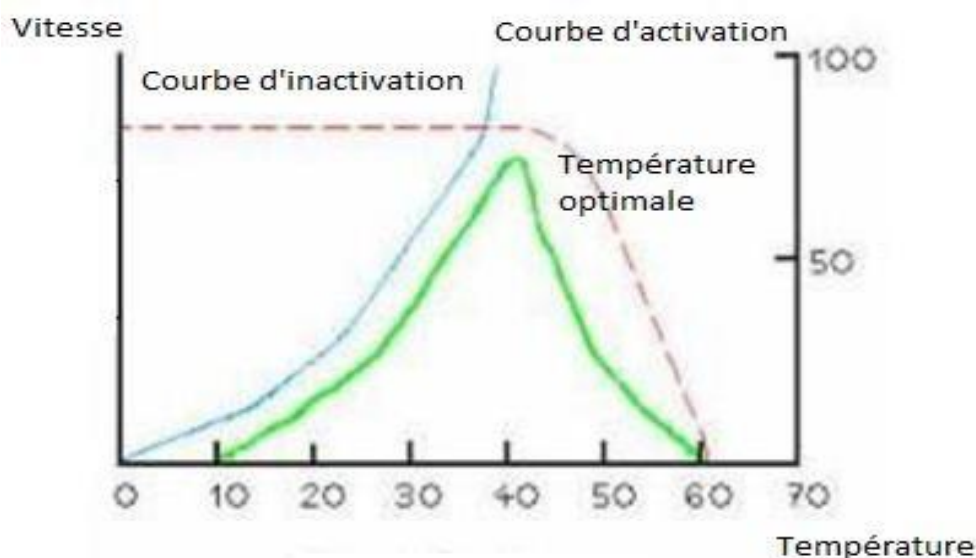


Fig. 152. Influence de la température sur la vitesse d'une réaction enzymatique

V. 7. 1. 2. Effets du pH

La reconnaissance enzyme-substrat et l'activité catalytique qui s'ensuit sont très dépendantes du pH. Une enzyme possède un grand nombre de chaînes latérales ionisables et parfois des groupements prosthétiques intimement impliqués dans son site actif. De plus, le substrat a souvent des groupes ionisés, et l'une ou l'autre des formes ionisées peut préférentiellement être en interaction avec l'enzyme. C'est pourquoi les enzymes ne sont en général actives que dans une zone de pH limitée, et la plupart ont une activité catalytique optimale à un pH particulier (Fig. 153).

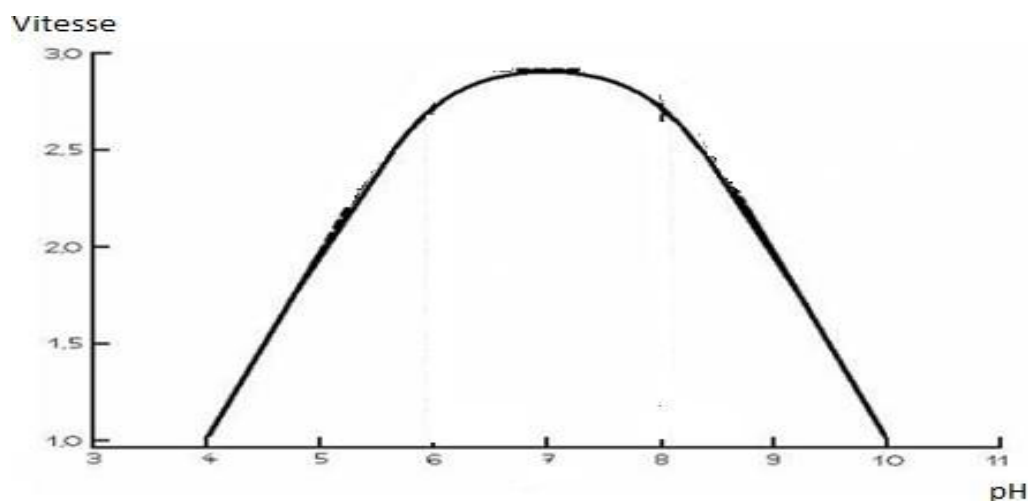


Fig. 153. Influence du pH sur la vitesse d'une réaction enzymatique

V. 7. 2. Inhibition enzymatique

Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Un inhibiteur peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa

place, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive (inhibiteur allostérique).

L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques, et notamment dans la régulation des voies métaboliques. Puisque l'inhibition d'une enzyme peut tuer un pathogène ou corriger un déséquilibre métabolique, des applications existent dans de nombreux autres domaines : beaucoup de médicaments, pesticides ou insecticides sont des inhibiteurs enzymatiques. En enzymologie, les inhibiteurs sont très utilisés pour déterminer le mécanisme d'action d'une enzyme.

Toutes les molécules se liant à une enzyme ne sont pas des inhibiteurs, les activateurs enzymatiques existent également et accroissent l'activité de l'enzyme. Les inhibitions peuvent être soit réversibles, soit irréversibles.

V. 7. 2. 1. Les inhibiteurs compétitifs

Un inhibiteur compétitif possède généralement une ressemblance structurale avec le substrat et tous deux entrent en compétition pour se fixer sur le même site enzymatique (effet isostérique). La fixation de l'inhibiteur compétitif exclut la fixation ultérieure du substrat, et vice-versa. Le complexe EI formé par l'association de l'enzyme et de l'inhibiteur est inactif (Fig. 154):

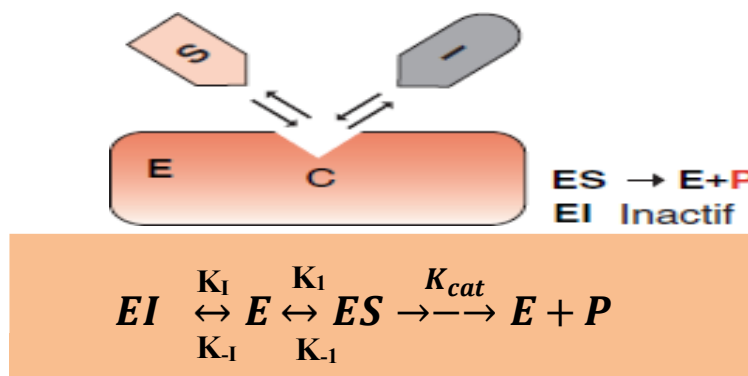


Fig. 154. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition compétitive.

La fixation réversible de l'inhibiteur sur l'enzyme est caractérisée par la constante de dissociation K_I :

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{K_{-I}}{K_I}$$

Et l'expression de la vitesse initiale de la réaction en fonction des concentrations de substrat et d'inhibiteur :

$$V = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_m(1 + \frac{[I]}{K_I})} = \frac{K_{-I}}{K_I}$$

Par rapport à l'équation classique de Michaelis-Menten, la vitesse maximale de la réaction $V_{\max}$ reste inchangée, mais l'affinité de l'enzyme pour le substrat diminue (K_m augmente) car ce dernier ne peut pas se lier au complexe enzyme-inhibiteur.

Dans le cas d'une inhibition compétitive, il est possible de lever l'inhibition en saturant l'enzyme en substrat. L'affinité d'un inhibiteur pour une enzyme est donnée par la constante d'inhibition K_I , qui représente la concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques sont occupés. Ainsi, l'affinité d'un inhibiteur est d'autant plus grande que le K_I est petit. Cette constante d'inhibition, exprimée en mole par litre correspond aussi à la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur.

La courbe $v = f [S]$ est toujours une hyperbole équilatère admettant $V = V_{\max}$ comme asymptote horizontale (Fig. 155). On mesure une vitesse initiale égale à la moitié de la vitesse maximum pour une concentration de substrat égale à une valeur apparente K_{mapp} plus élevée que K_m mesurée en absence d'inhibiteur : $K_{mapp} = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$

L'équation de la représentation en double inverse selon Lineweaver-Burk est :

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \frac{1}{S}$$

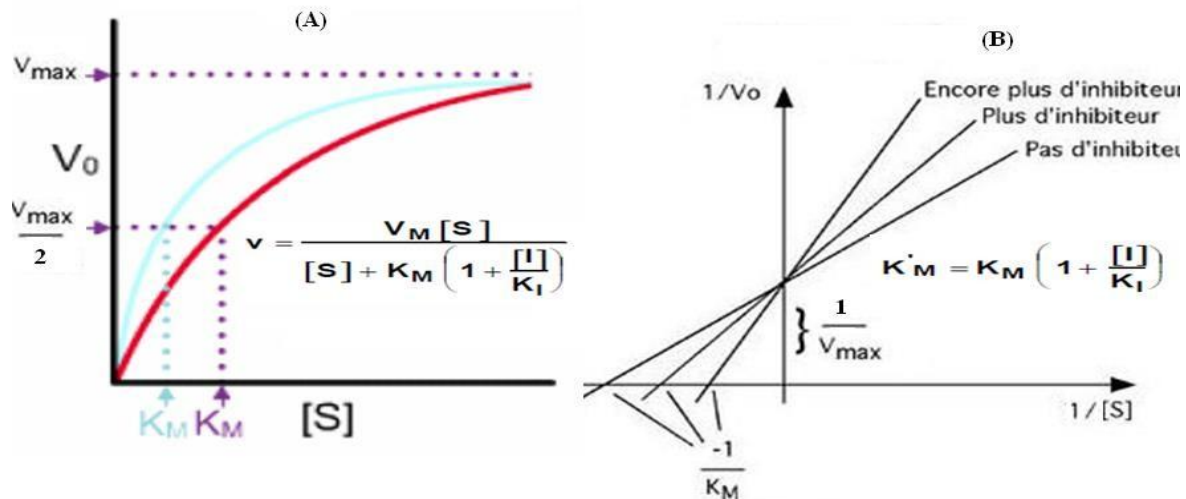


Fig. 155. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver- Burk (B) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition compétitive. Pente de la droite est multipliée par un facteur : $1 + [I]/K_i$, $V_{\max}$ non modifiée, La constante de Michaelis est augmentée: Dissociation de ES est favorisée, l'affinité de l'enzyme pour son substrat diminue.

Quelques inhibiteurs compétitifs

L'acide malonique, analogue de l'acide succinique est un inhibiteur compétitif de la succinate déshydrogénase. Parmi les antibiotiques, le chloramphénicol est un inhibiteur de la peptidyltransférase, en raison de son analogie avec l'extrémité 3' des aminoacyl-ARN_t. La

sulfanilamide, première molécule de la classe des sulfamides, inhibe la formation de l'acide folique, en raison de son analogie avec l'acide para-amino-benzoïque. Le glyphosate, utilisé comme herbicide systémique non sélectif (Roundup®) est un analogue du phosphoénolpyruvate qui inhibe la synthèse des aminoacides aromatiques chez les plantes.

V. 7. 2. 2. Les inhibiteurs non compétitifs

Un inhibiteur non compétitif peut se lier à la fois, et avec une même affinité, sur l'enzyme libre et sur l'enzyme liée au substrat (Fig. 156). Cependant, l'inhibiteur et le substrat n'entrent pas en compétition pour se fixer sur un même site : le substrat se lie au site actif, et l'inhibiteur à un autre site de fixation. L'inhibiteur entraîne une modification de la conformation du site actif, ce qui empêche la transformation du substrat en produit mais n'influe pas sur la reconnaissance entre l'enzyme et le substrat. Le schéma réactionnel est le suivant :

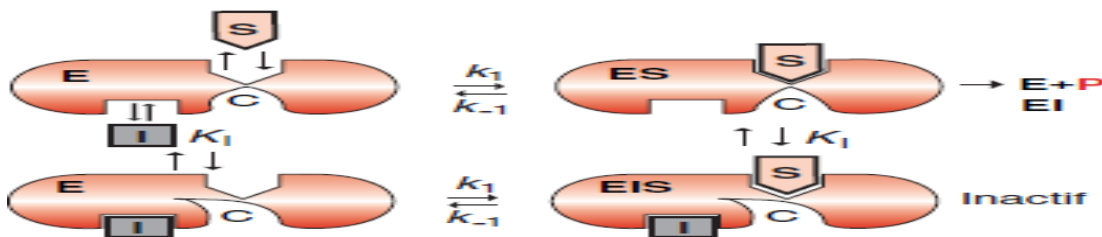


Fig. 156. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition non compétitive.

Avec : $K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[EIS]} = \frac{K_{-I}}{K_I}$

Le schéma réactionnel est traduit par l'équation de vitesse initiale en fonction des concentrations de substrat et d'inhibiteur :

$$V = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_m} \times \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$$

D'après cette équation, quelle que soit la concentration du substrat, la vitesse est divisée par un facteur constant, d'où la vitesse maximum apparente :

$$V_{max\ app} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$$

La fixation d'un inhibiteur non compétitif diminue la vitesse maximale de la réaction, mais ne modifie pas l'affinité de l'enzyme pour le substrat, car ce dernier se lie aussi bien à l'enzyme libre qu'au complexe EI (Fig. 157). L'efficacité enzymatique diminue, une partie des enzymes (celles liées à l'inhibiteur) ne peut plus transformer le substrat en produit. On a donc une apparente diminution de la quantité d'enzymes actives.

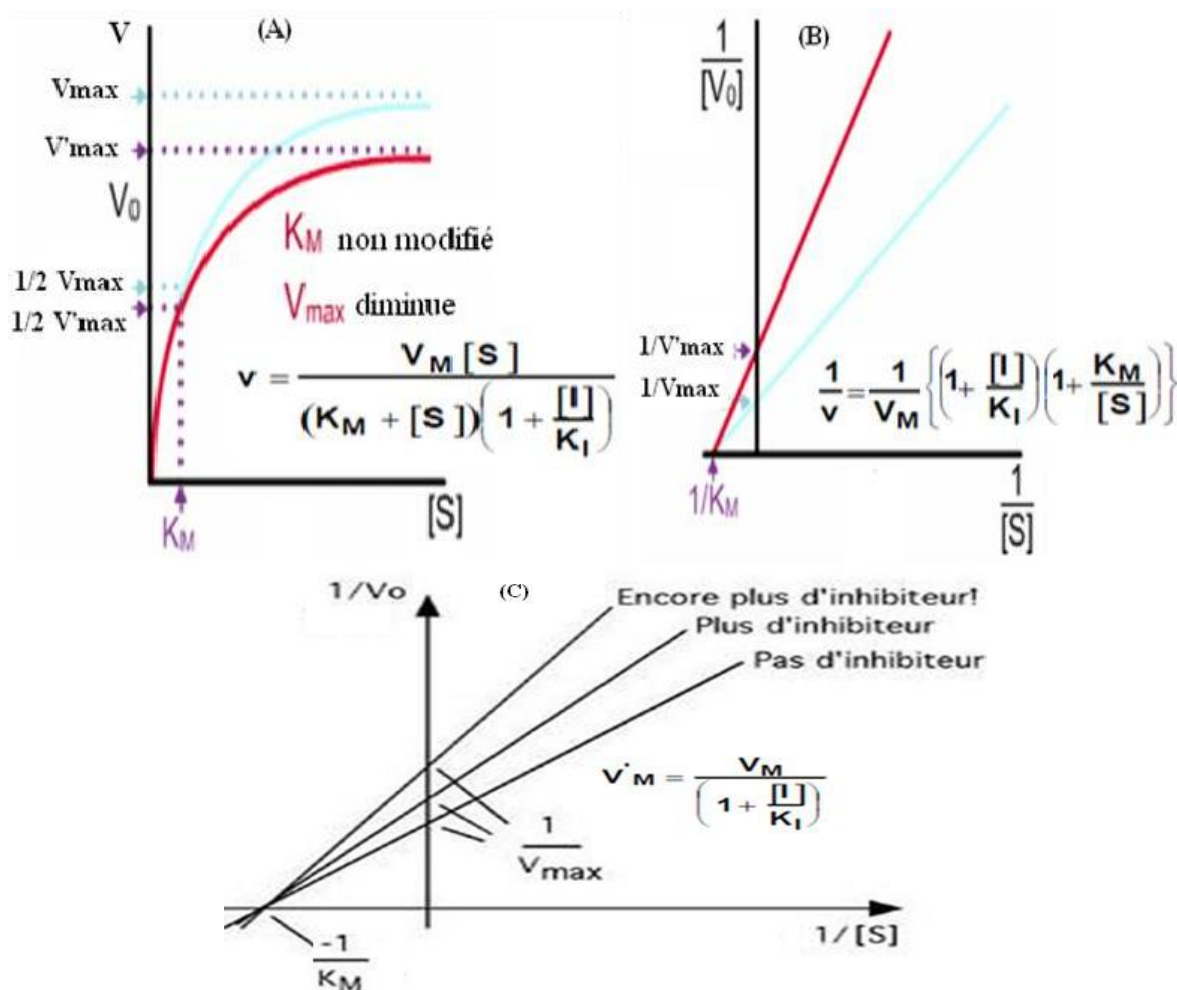


Fig. 157. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver-Burk (B, C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition non compétitive. K_M inchangée, $V_{\max}$ est abaissée.

L'inhibition non-compétitive est réversible. Elle ne peut pas être levée par une augmentation de la concentration en substrat. Cependant, il suffit de dialyser la solution contenant le complexe EI, ou bien de la soumettre à une filtration sur gel pour dissocier le complexe, retrouver l'enzyme libre et, en principe, son activité.

V. 7. 2. 3. Les inhibiteurs incompétitifs

Un inhibiteur anti-compétitif ou incompétitif ne se fixe jamais à l'enzyme libre mais seulement à l'enzyme complexée avec le substrat ES pour donner un complexe ternaire ESI inactif et empêche la formation des produits (Fig. 158). Généralement, la liaison du substrat sur l'enzyme entraîne une modification de la conformation de l'enzyme, révélant ainsi un site de fixation pour l'inhibiteur. L'inhibiteur, en retour, modifie la conformation du site actif de l'enzyme, et empêche la réaction. Comme son nom l'indique, un inhibiteur incompétitif

n'entre pas en compétition avec un substrat sur son site de fixation. On décrit le système par le schéma réactionnel suivant :

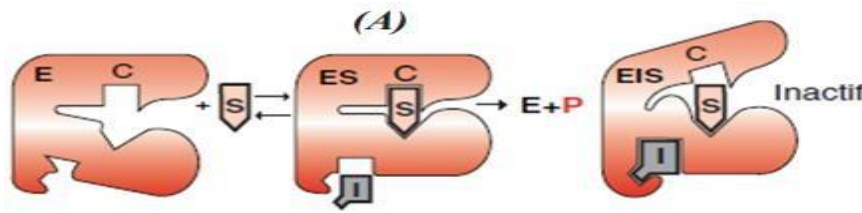


Fig. 158. Schéma réactionnel en cas d'inhibition incompétitive.

La formation de ce complexe est régie par la constante de dissociation : $K_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]} = \frac{K_I}{K_I}$

En régime d'état stationnaire, ce schéma conduit à l'équation de vitesse :

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{[S] \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + K_m}$$

Lorsqu'on analyse cette équation, on voit que la vitesse maximum apparente et la K_m apparente sont obtenus en divisant les valeurs de $V_{\max}$ et K_m par le même facteur :

$$V_{\max \text{ app}} = \frac{V_{\max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} ; \quad K_{m \text{ app}} = \frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

La vitesse maximale de la réaction diminue, mais l'affinité apparente de l'enzyme pour le substrat augmente (K_M diminue). En effet, la formation du complexe enzyme-substrat-inhibiteur diminue le nombre de complexes ES et, d'après la Loi d'action de masse, favorise la liaison du substrat sur l'enzyme (Fig. 159).

Les effets d'un inhibiteur incompétitif ne se manifestent pas pour de faibles concentrations en substrat, l'enzyme étant majoritairement sous forme libre. Ainsi, ce type d'inhibition ne peut pas être levé en augmentant la concentration du substrat.

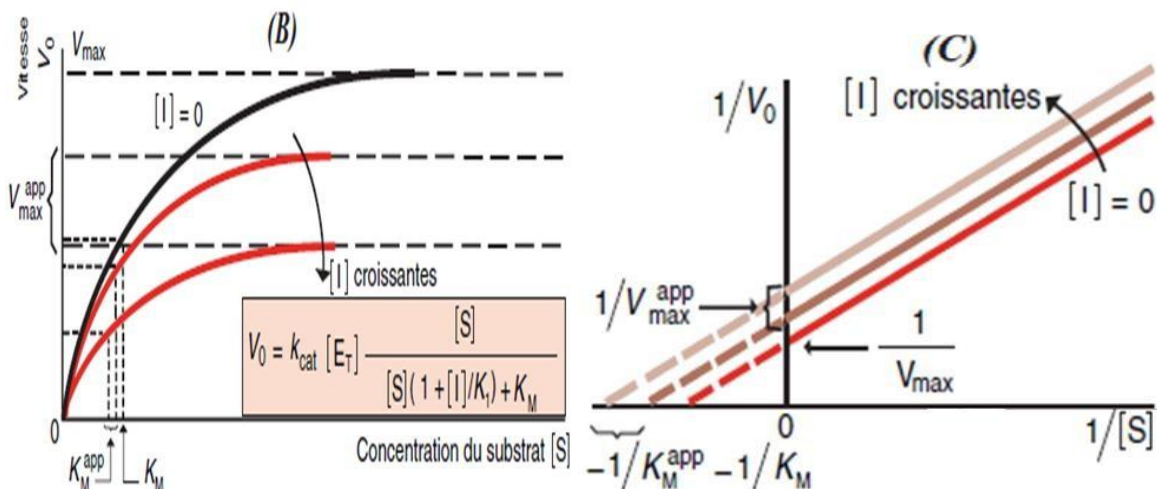


Fig. 159. Représentation de Michaelis-Menten (B), de Lineweaver-Burk (C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition incompétitive.

V. 7. 2. 4. Exemples d’Inhibiteurs anti-compétitifs

L’étude des enzymes modifiant un seul substrat montre que l’inhibition anti-compétitive est assez peu répandue. On observe plus fréquemment cette inhibition avec les enzymes à deux substrats, lorsque la fixation d’un premier substrat précède obligatoirement la fixation du second : un analogue structural, compétitif du premier substrat, pourra se comporter comme un inhibiteur anti-compétitif vis-à-vis du second substrat.

L’ion **lithium** (Li^+) est un inhibiteur anti-compétitif de l’**inositol-1-phosphatase**. Cette inhibition pourrait rendre compte, du moins en partie, de l’action du lithium utilisé pour le traitement des troubles bipolaires.

V. 7. 2. 5. Inhibition irréversible

Du point de vue cinétique, un inhibiteur irréversible se comporte comme un inhibiteur non-compétitif : il diminue la vitesse maximum sans toutefois modifier la K_m du substrat. La seule différence réside dans la stabilité du complexe enzyme-inhibiteur.

V. 7. 2. 5. 1. Agents alkylants

Il s’agit de réactifs permettant de greffer par covalence des groupements sur les fonctions particulièrement réactives des sites actifs. Par exemple, l’iodoacétate inactive la papaïne, protéase du papayer, en réagissant avec la fonction thiolate (résidu cystéine) du site actif (Fig. 160):

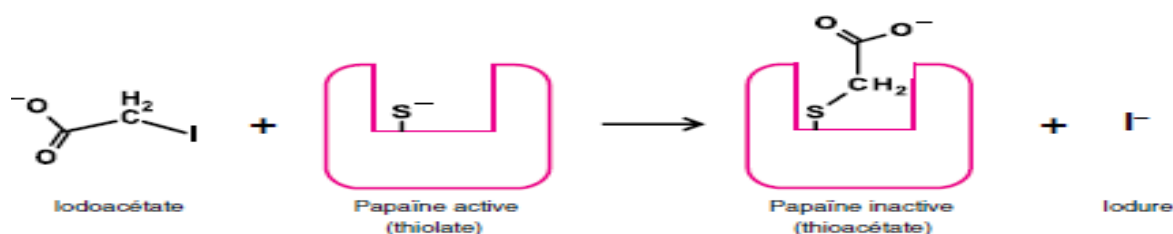


Fig. 160. Effets de l’iodoacétate sur la papaïne.

Une réaction similaire conduit à l’inactivation irréversible des protéases comme la trypsine, la chymotrypsine et des estérases comme l’acétylcholine estérase dont le site actif comporte un résidu sérine, par l’action du **parahydroxymercuribenzoate** ($p\text{OHMB}$) ou du **fluorure de phénylméthylsulfonyl** (PMSF). Ces deux réactifs sont utilisés au laboratoire afin de préserver les protéines purifiées de l’action éventuelle des protéases à sérine.

V. 7. 2. 5. 2. Inhibiteurs suicide

L’inhibition suicide est un mécanisme où l’inhibiteur forme un complexe stable avec l’enzyme qui l’inactive de façon permanente. L’enzyme reconnaît l’inhibiteur comme son substrat et entame le processus de modification de ce dernier. Intervient alors une étape au

cours de laquelle l'inhibiteur modifié devient très réactif et se lie de façon très stable à l'enzyme. L'enzyme contribue ainsi à sa propre inactivation irréversible d'où le nom d'inhibition « suicide ». L'inhibiteur peut se placer sur le site catalytique de l'enzyme ou ailleurs. Plusieurs exemples peuvent être fournis :

- l'aspirine inhibe la cyclooxygénase active qui transforme l'acide arachidonique en une prostaglandine;
- la pénicilline est un inhibiteur suicide de la transpeptidase intervenant dans la synthèse du peptidoglycane, composant de la paroi des bactéries. Son cycle bêta-lactame étant très labile réagit avec le site actif de l'enzyme. Elle se fixe alors de façon thermodynamiquement très stable à l'enzyme au niveau de ce dernier.
- 5-Fluoro-uracile utilisé en chimiothérapie anti-cancéreuse Inhibe la **thymidilate synthase**; enzyme qui intervient dans la synthèse de la thymine (ADN) conduisant à l'arrêt de la multiplication des cellules tumorales.
- Les organophosphates, comme le **di-isopropylfluorophosphate** (DIFP) sont reconnus comme des analogues de l'état de transition des protéases et des estérases à sérine, mais en plus ils phosphorylent l'enzyme cible (Fig. 161):

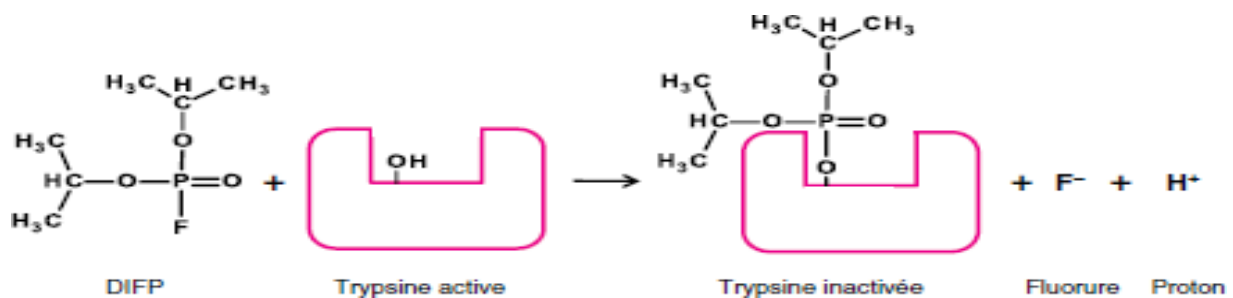


Fig. 161. Effets du di-isopropylfluorophosphate (DIFP) sur l'activité de la trypsine.

V. 7. 2. 5. 3. Analogues de l'état de transition

Lorsqu'ils ne forment pas de liaison covalente avec le site actif, les analogues de l'état de transition se comportent comme des inhibiteurs compétitifs, car ils se fixent réversiblement sur les enzymes cibles. Toutefois, l'inhibition de ces enzymes est la conséquence de la formation d'un complexe EI, suivie d'une étape d'isomérisation au cours de laquelle la protéine change de conformation, ce qui conduit au complexe terminal EI* :



Les étapes de transconformation qui conduisent aux complexes EI*, mais surtout les dissociations de ces mêmes complexes sont particulièrement lentes. Par exemple, les temps de demi-vie des complexes EI* se chiffrent en dizaines de minutes, voire en heures, alors qu'un complexe enzyme-inhibiteur classique se dissocie totalement en l'espace de quelques millisecondes. Aussi, compte tenu de la stabilité particulièrement élevée des complexes EI*, les inhibitions effectuées par les analogues de l'état de transition peuvent être considérées *de facto* comme des inhibitions irréversibles.

V. 7. 2. 5. 5. Inhibiteurs protéiques

Ces molécules font partie de l'arsenal biologique assurant la régulation de l'activité des enzymes. L'inhibiteur de la trypsine, synthétisé par le pancréas, est une protéine de 6 kDa qui inactive spécifiquement la trypsine (34 kDa). La fixation de l'inhibiteur est réversible, mais la constante de dissociation du complexe trypsine-inhibiteur est égale à 6.10^{-14} mol. L⁻¹. Ce complexe est donc très stable et il est préférable de considérer l'inhibiteur tryptique comme un inhibiteur irréversible.

V. 8. Les enzymes allostériques

V. 8. 1. Considérations générales

La régulation de l'activité enzymatique se fait à deux niveaux : par régulation de la quantité d'enzyme par synthèse et/ ou dégradation (**régulation à long terme**) ou bien par modification des activités enzymatiques elles-mêmes (**régulation à court terme**).

V. 8. 1. 1. L'allostérie

L'allostérie désigne une variation de conformation de protéines sous l'effet de la fixation d'un substrat ou d'une molécule effectrice, d'où l'acquisition de propriétés particulières (changement d'activité).

V. 8. 1. 2. Effet de coopérativité

La coopérativité traduit le fait que la fixation sur l'enzyme d'une molécule d'un effecteur allostérique influe sur la fixation des molécules suivantes. Dans le cas de coopérativité en présence du substrat, si l'effecteur allostérique est le **substrat** lui même on parle de **modulation homotrope**. Si l'effecteur est **différent du substrat** on parle de **modulation hétérotrope**. Dans une coopérativité positive, une molécule d'un effecteur entraîne l'augmentation de l'affinité pour les mêmes molécules et vice versa pour une coopérativité négative.

V. 8. 2. Cinétique des enzymes allostériques

Certaines enzymes montrent une cinétique différente du modèle de Michaelis. Il s'agit des enzymes allostériques. Leur cinétique ne présente pas l'allure d'une hyperbole mais d'une sigmoïde (Fig. 162).

Cette différence de cinétique s'explique par la structure des enzymes allostériques. Ces enzymes possèdent une structure quaternaire avec plusieurs protomères (sous unités de base) associés entre eux par des liaisons faibles et sont donc oligomériques. Chaque protomère possède un site actif pouvant fixer au moins deux molécules : le substrat et l'effecteur allostérique (activateur ou inhibiteur).

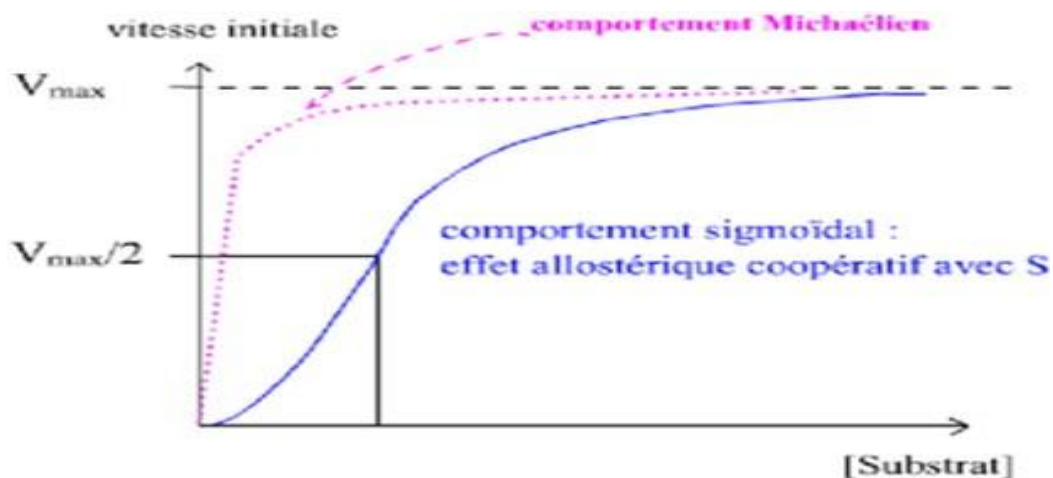


Fig. 162. Allure des courbes dans le cas d'une enzyme Michaélienne et allostérique.

Une enzyme allostérique possède donc plusieurs sites actifs constitués chacun d'un site catalytique pour le substrat et d'un site régulateur pour l'effecteur allostérique.

Les enzymes allostériques (allo= autre stérie= forme) existent sous deux formes (Fig. 2) :

Une forme dite **tendue** notée **T** inactive où chaque protomère montre peu d'affinité pour le substrat. La deuxième forme est dite **relâchée** notée **R** active où chaque protomère montre une forte affinité pour le substrat.



Fig. 163. Les deux formes R et T des enzymes allostériques.

Le principe de base à retenir est que toute sous unité catalytique fixant le substrat subit une déformation (transition allostérique) qui va se transmettre aux autres sous unités et donc

modifie leur affinité pour le substrat. Un effecteur inhibiteur favorisera le maintien de la forme T (inactive = sans affinité pour S) de l'enzyme = allostérie négative. Un effecteur activateur favorisera le maintien de la forme R (active = avec affinité pour S) de l'enzyme = allostérie positive (Fig. 3).

De plus, les effecteurs allostériques ne modifient pas la $V_{\max}$ de l'enzyme mais modifient l'affinité de l'enzyme pour son substrat soit le K_m . Le K_m augmente (affinité diminue) dans le cas d'un inhibiteur allostérique et diminue (affinité augmente) dans le cas d'un activateur allostérique (Fig. 4).

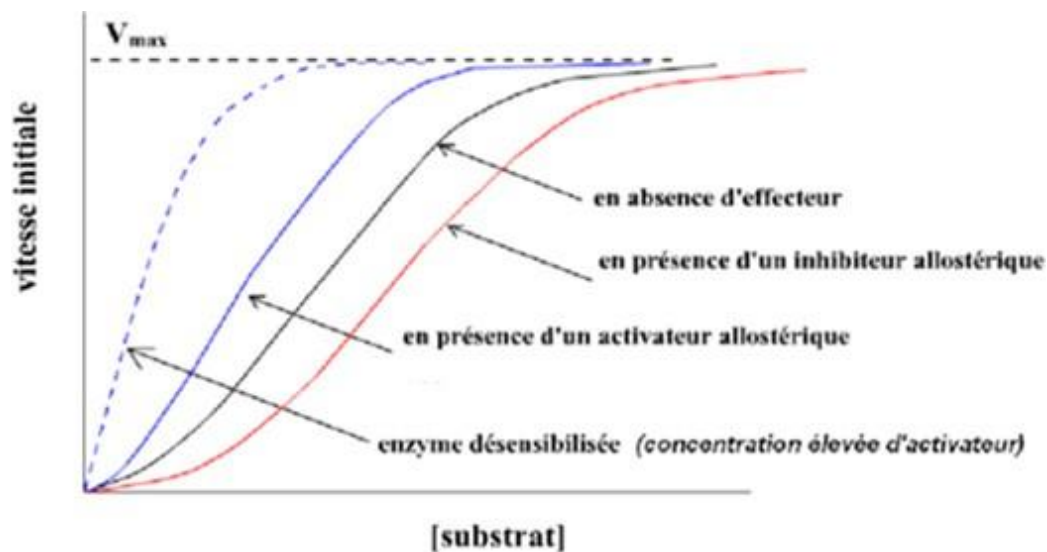


Fig. 164. Cinétique $v_i = f([S])$ pour une enzyme allostérique, à effet coopératif du substrat en absence d'effecteur et en présence d'un activateur ou d'un inhibiteur allostérique.

V. 8. 3. Importance physiologique des enzymes allostériques

Les enzymes allostériques sont des enzymes clés des régulations métaboliques.

L'effet de rétrocontrôle négatif est très souvent rencontré dans les voies métaboliques. Le produit final de la voie est souvent **un inhibiteur allostérique** d'une enzyme catalysant une étape initiale. Plus le produit final s'accumule, plus la réaction initiale est lente (par diminution de l'affinité à l'un des réactifs de la réaction) et donc moins de produit sera formé (Fig. 4). Ce type de régulation évite d'accumuler le produit final, qui peut être toxique dans certaines circonstances et évite à l'organisme de produire en excès une molécule, ce qui est coûteux en énergie.

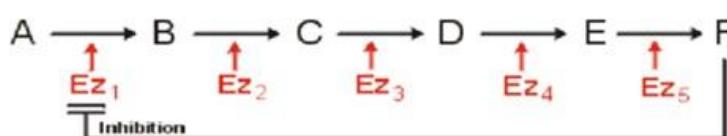


Fig. 165. L'effet de rétrocontrôle négatif.

Par exemple, dans la glycolyse, la phosphofructokinase-1 (PFK1) est une enzyme allostérique qui transforme le fructose 6-P en fructose 1,6-biP au cours de l'étape qui peut être considérée comme la première qui soit propre à cette voie. Cette enzyme réagit différemment en fonction de la quantité d'ATP, qui est le produit final « utile » de la glycolyse. A faible concentration, l'ATP se fixe sur le site « coenzyme » de l'enzyme, entraînant de fait toute l'enzyme sous sa forme relâchée (active). A forte concentration, l'ATP se fixe sur site « inhibiteur » de l'enzyme, entraînant de fait toute l'enzyme sous sa forme tendue (inactive). Or, l'ATP est le produit de la respiration cellulaire, phénomène qui suit la glycolyse et le cycle de Krebs. L'effet rétrocontrôle de l'ATP est donc une inhibition de la voie lorsqu'il est en concentration suffisante, prévenant ainsi la dégradation de glucose non nécessaire.

Un autre exemple est l'aspartate transcarbamylase ATCase (EC 2. 1. 3. 2) dans la voie des biosynthèses des pyrimidines (Fig. 6). L'enzyme catalyse la première réaction de la voie de biosynthèse qui conduit aux nucléotides pyrimidiques.

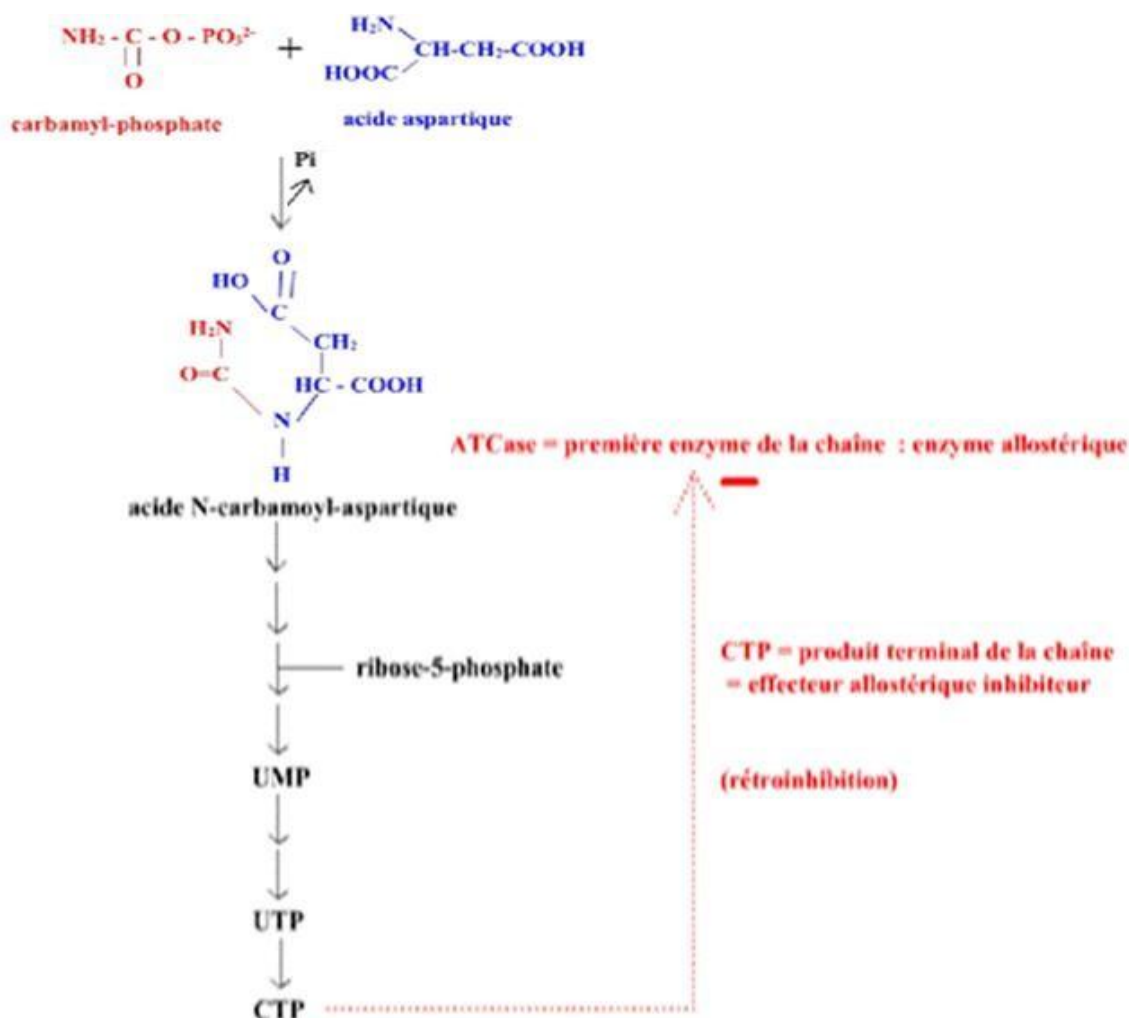


Fig. 166. La première réaction de la voie de biosynthèse des nucléotides pyrimidiques catalysée par l'aspartate transcarbamylase ATCase.

Cette enzyme allostérique présente une cinétique sigmoïdale $V_i = f([aspartate])$ en absence d'effecteur : effet coopératif positif du substrat aspartate ; le CTP est son inhibiteur allostérique ; l'ATP est son activateur allostérique. Le CTP maintient les sous unités à l'état T (inhibition), alors que l'ATP le maintiendrait à l'état R (stimulation).

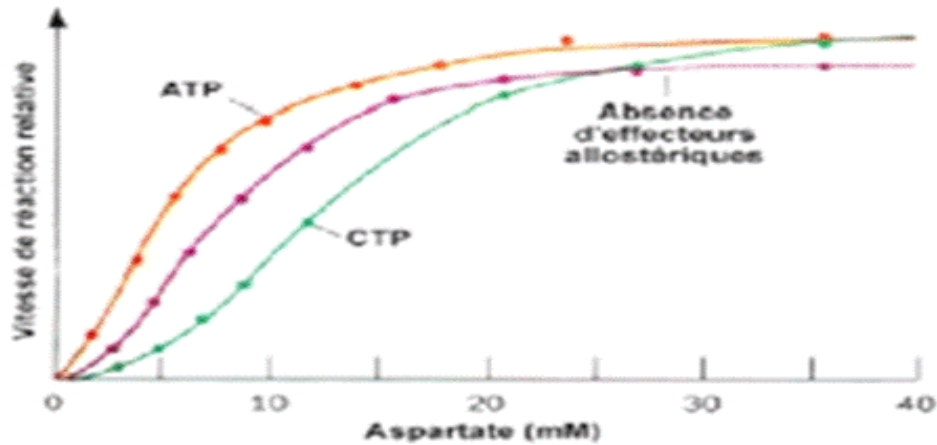


Fig. 167. Cinétique résultante de l'ATCase en présence de l'ATP, du CTP, et sans effecteur allostérique.

Bibliographie

Benchoucha R. (2011). Biochimie. Première année de médecine. 21 octobre 2011.

Chakir S., Haloui Z. (2017). Polycopié N°2 : Cours acides aminés et protéines. Module de Biochimie Structurale. Université Moulay Ismaïl, Faculté des Sciences.p 41.

Lien : [https://www.fs-umi.ac.ma/archive/wp-content/uploads/2017/09/polycopien°2_cours ACIDEAMINESETPROTEINES.pdf](https://www.fs-umi.ac.ma/archive/wp-content/uploads/2017/09/polycopien°2_cours_ACIDEAMINESETPROTEINES.pdf)

Chevalier C. (2006). Biochimie structurale. Les Protides. Cours biochimie IFTAB: 2005-2006. Pp : 1- 43.

CUQ J. L. (Septembre 2006). Biochimie des protéines. Polytech STIA 1. Université de Montpellier. 1- 130. Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 1ère année.

Cuvelier C., Cabaraux J. F., Dufrasne I., Hornick J. L., Istasse L. (2004). Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Méd. Vét.*, **148** : 133- 140.

Kessous, C. (2007). Biochimie structurale. Office des publications universitaires, Ben Aknoun, Alger, Algérie. pp : (1-194).

Koolman J., Roehm K., H., (2005). Color Atlas of Biochemistry, 2nd edition. Georg Thieme Verlag Rüdigerstrasse 14, 70469 Stuttgart, Germany. Pp : 1- 467.

Koolman J., Rohm K., H. (2011). Atlas de poche de biochimie humaine. 4^{ème} Edition, Lavoisier, Paris, France. Pp : 1- 529.

Kramer I. J., Tramu G. Phosphorylation oxydative liée à la chaîne de transport des électrons. UFR de Sciences Biologiques, - Université Bordeaux 1 France. 03/12/2012.

http://ressources.unisciel.fr/biocell/chap5/co/module_Chap5_17.html

Licence STE BIOCHIMIE : Les protéines. Pages 47–48. Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/proteines.pdf.

Lehninger. Principles of biochemistry. Fourth Edition. David L. Nelson (University of Wisconsin–Madison), **Michael M. Cox** (University of Wisconsin–Madison)

Maaroufi R. M. Biochimie structurale - LIPIDES-. Université de Monastir. Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir. Année universitaire 2018-2019.

Marks D., B. (2005). PCEM Biochimie. Editions Pradel, Paris, France. Pp: 1-359.

Masson, O. (2014). Biochimie : Bases biochimiques de la diététique. 3^{ème} Edition. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, France pp : 1- 286.

Murray R., K., Granner D., K. (1999). Harper Biochimie. 24^{ème} Edition, Paris, France. Pp: 1- 871.

Ousmaal M. E. (2017/2018). Cours de biochimie : Les glucides. Faculté des Sciences Département SNV. Université Benyoucef Benkhedda – Alger1.

Quentin F., Gallet P.F., Guilloton M., Quintard B. (2015). Biochimie en 84 fiches. 2^e édition, Dunod, Paris, France , 2011, 2015.

Raskin A. Rappels atomistiques, structure des métaux, des alliages et des céramiques. Société Francophone des Biomatériaux Dentaires (SFBD) - Mise à jour : 01/06/2010 - [Mentions légales](#) - © 2010-2011 UNSOF - Université Numérique des Sciences Odontologiques Francophones <http://campus.cerimes.fr/odontologie/enseignement/chap1/site/html/2.html>

Rodriguez C. Les lipides | Biochimie UE1.Tutorat Santé Lyon Sud (2016-2017).

Rodrigues . Les enzymes allostériques. Cours de biochimie-physiologie. Mise en ligne : 01/09/2015. https://tiplanet.org/forum/archives_voir.php?id=301707.

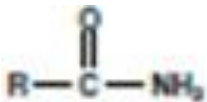
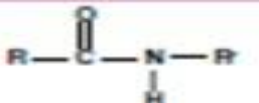
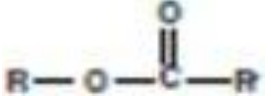
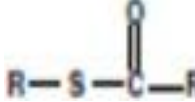
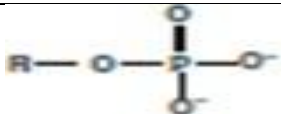
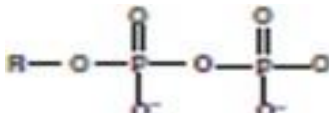
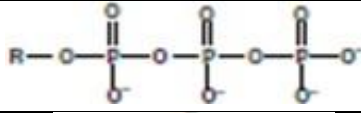
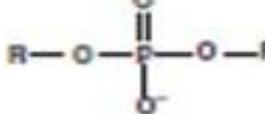
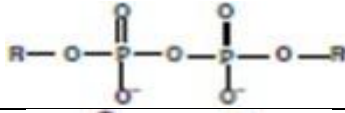
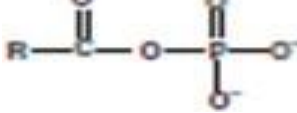
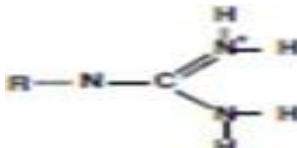
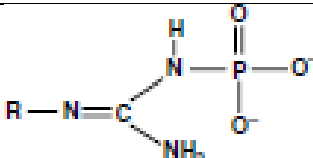
Weil J.H. (1997). Biochimie générale. 8^{ème} Edition. Masson, Paris, France. Chapitre 1 : Aminoacides, peptides, protéines : Structure et principales propriétés. pp1-75. Ou bien bouquin complet : pp : 1- 603.

Weinman S., Méhul P. (2004). Toute la biochimie. Dunod1^{re} édition, Paris, France. Pp : 1- 451.

Annexe

Principales fonctions chimiques des molécules biologiques.

Fonction	Formules	Exemples
Alcool primaire	$R-CH_2-OH$	Glucides, polyalcools, sérine
Alcool secondaire	$R-\underset{\substack{ \\ OH}}{CH}-R'$	Glucides, polyalcools, thréonine, acide isocitrique
Alcool tertiaire	$R-\underset{\substack{ \\ OH \\ \\ R''}}{C}-R'$	Acide citrique
Phénol	$R-\text{C}_6\text{H}_4-OH$	Tyrosine
Thiol	$R-SH$	Cystéine, glutathion réduit, coenzyme A
Disulfure	$R-S-S-R'$	Cystine, glutathion oxydé
Amine primaire	$R-NH_2$	Aminoacides (sauf proline) Amines biogènes
Amine secondaire	$R-NH-R'$	Proline (amine secondaire cyclique)
Aldéhyde	$R-\overset{\substack{O \\ }}{C}-H$	Glucides (Aldoses)
Hémi-acétal	$R-O-\underset{\substack{ \\ OH}}{CH}-R'$	Glucides (Aldoses)
Acétal	$R-O-\underset{\substack{ \\ O-R''}}{CH}-R'$	Glucides (diosides, polyosides, hétérosides)
Cétone	$R-\overset{\substack{O \\ }}{C}-R'$	Glucides (Cétoes)
Hémi-cétal	$R-O-\underset{\substack{ \\ OH \\ \\ R''}}{C}-R'$	Glucides (Cétoes)
Cétal	$R-O-\underset{\substack{ \\ O-R'' \\ \\ R''}}{C}-R'$	Glucides (diosides, polyosides)
Acide carboxylique (carboxylate)	$R-\overset{\substack{O \\ }}{C}-O^-$	Acides gras, aminoacides

Amide primaire		Glutamine, Asparagine
Amide primaire substitué		Liaison peptidique
Ester d'acide carboxylique		Triglycérides, phospholipides, cires
Tioester		Acétyl-CoA, molécules d'acyl-CoA
Thioéther		Méthionine
Ester de phosphate		Nucléotides, sucres phosphorylés
Ester de diphosphate		ADP, autres nucléosides diphosphate
Ester de triphosphate		ATP, autres nucléosides triphosphate
Diester de phosphate ou phosphodiester		Acides nucléiques, nucléotides cycliques
Diester de phosphate		NAD+, NADP+, FAD, UDPG
Anhydride mixte (carboxylphosphate)		1,3 bisphosphoglycérate
Guanidinium		Créatine, arginine
Guanidine phosphate		Créatine phosphate, arginine phosphate