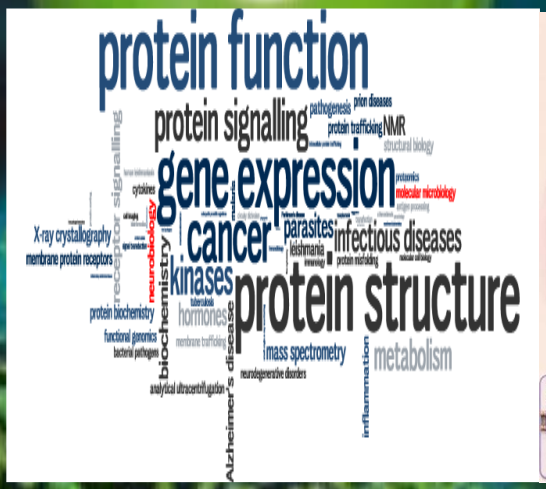
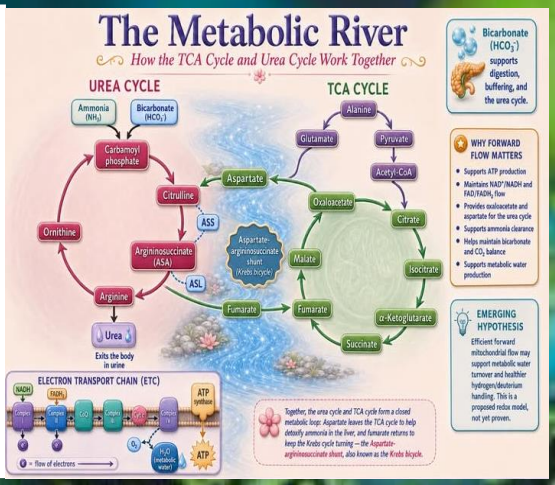


Université Ferhat Abbas –Sétif- 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie
Département des études de base

BIOCHIMIE





Polycopié de cours destiné aux étudiants en 2ème année tronc commun

Elaboré par :
Dr. SOUFANE SIHEM

Année 2025-2026

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 électro phorétique, 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 (néoglucogenèse et glycogénogenèse)
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 cétogènes
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 et métabolique afin d'accompagner les étudiants en 2ème Année LMD tronc commun en sciences de la nature et de la vie dans le cadre du module de biochimie.

Tout au long de sa réalisation, j'ai essayé de présenter les informations de la manière la plus simple et didactique que possible.

Dans la première partie réservée à la biochimie structurale, cinq chapitres fondamentaux ont été traités à savoir : les liaisons chimiques, les glucides, les lipides, les acides aminés, peptides et protéines, les enzymes ainsi que les vitamines et coenzymes. 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 utilisations à des fins analytiques.

Après avoir appréhendé la structure et les propriétés des macromolécules biologiques, l'étudiant est amené, à travers la deuxième partie consacrée à la biochimie métabolique, à explorer l'ensemble des transformations, chimiques et énergétiques qui se déroulent au sein de la cellule.

L'objectif principal de cette deuxième partie est de rendre accessibles les voies métaboliques complexes, souvent perçues comme abstraites, en mettant en lumière la logique moléculaire et bioénergétique du vivant. Son contenu est structuré en plusieurs axes majeurs :

La Bioénergétique : Introduction aux transferts d'énergie et au rôle central des molécules comme l'ATP.

Le Métabolisme des Glucides : Étude des voies cataboliques (glycolyse) et anaboliques (néoglucogenèse), ainsi que les cycles de régulation.

Le Métabolisme des Lipides et des Protéines : Analyse de la dégradation des acides gras (bêta-oxydation) et du devenir des acides aminés.

Chaque chapitre a été rédigé dans un souci de clarté, enrichi de schémas réactionnels et d'illustrations pour faciliter la mémorisation et la compréhension des mécanismes. Des liens sont également établis entre les différentes voies, illustrant l'interconnexion permanente du métabolisme intermédiaire.

Espérons que cet outil pédagogique constituera un support de travail efficace pour votre réussite.

Dr. Sihem SOUFANE

SOMMAIRE

Avant-propos
Programme de la matière
Sommaire
Sommaire des figures
Sommaire des tableaux
Introduction à l'étude de la biochimie 01

PARTIE I : BIOCHIMIE STRUCTURALE

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. Stéréoisomèrie et chiralité……..... 09
II.3.3.1. Stéréoisomèrie…… 09
II.3.3.2. Formes d'isomèrie……... 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 cétoses…… 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 (ositols)……. 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. 3.1.1. 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 isoprèniques……..... 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 cétogènes…… 94
IV.1.2.5. Acides aminés particuliers…… 94
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……. 99
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…….... 107
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 Sörensen ……..…… 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…… 118
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…….. 119
IV.2.3. Etude des séquences peptidiques…… 120
IV. 3- Les protéines…… 128
IV. 3.1. Structure tridimensionnelle des protéines…….. 128
IV.3.1.1. Structure primaire des protéines…….. 128
IV.3.1.2. Structure secondaire des protéines…….. 129
IV.3.1.2.1. Hélice α…… 129
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……. 133

CHAPITRE V : ENZYMES

V.1. Définition…… 134
V.2. Nature et structure des enzymes……. 134
V.2.1. Enzymes purement protéiques……. 134
V.2.2. Holoenzymes…… 134
V.2.3. Substrat ……..... 134
V.2.4. Ligands …… 134
V.3. Notions de spécificité…….. 135
V.3.1. Spécificité de substrat…….. 135
V.3.2. Spécificité de réaction…….. 135
V.3.3. Régulation de l'activité catalytique…….. 135
V.4. Le site actif……...…… 136
V.5. Nomenclature et classification…… 136

V.6. Cinétique enzymatique…… 138
V.6.1. Notion de « vitesse initiale » …….. 139
V.6.2. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale…… 139
V.6.3. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale…….. 140
V.6.4. Modèle de Michaëlis-Menten…….. 140
V.6.4.1. Équation de Michaelis-Menten…… 140
V.6.4.2. Vitesse maximale V_{max} ……..…….. 141
V.6.4.3. Signification physique de la constante de Michaelis K_M ……. 142
V.6.4.4. Signification physique de la constante catalytique *k*cat…… 143
V.6.4.5. Représentation de Lineweaver et Burk…… 143
V. 7. Effecteurs de l'activité enzymatique…….. 144
V. 7.1. Effets des agents physiques……..... 144
V. 7.1.1. Effets de la température…… 144
V. 7.1.2. Effets du pH…… 145
V.7.2. Inhibition enzymatique……..... 145
V.7.2.1. *Les inhibiteurs compétitifs*……..... 146
V.7.2.2. *Les inhibiteurs non compétitifs*…… 148
V.7.2.3. *Les inhibiteurs incompétitifs*…… 149
V.7.2.4. Exemples d'Inhibiteurs anti-compétitifs…… 151
V.7.2.5. Inhibition irréversible…… 151
V.7.2.5.1. Agents alkylants……. 151
V.7.2.5.2. Inhibiteurs suicide……..... 151
V.7.2.5.3. Analogues de l'état de transition…….. 152
V.7.2.5.5. Inhibiteurs protéiques……..... 153
V. 8. Les enzymes allostériques……..…… 153
V. 8. 1. Considérations générales…… 153
V. 8. 1. 1. L'allostérie…… 153
V. 8. 1. 2. Effet de coopérativité…… 153
V. 8. 2. Cinétique des enzymes allostériques…….. 154
V. 8. 3. Importance physiologique des enzymes allostériques…… 155

CHAPITRE VI : Vitamines et coenzymes

VI. Vitamines……..... 158
VI.1.1. Définition et nomenclature…… 158
VI.1.2. Les vitamines hydrosolubles…….. 159
VI.1.2.1. Les vitamines du groupe B……..…… 159
VI.1.2.1. La vitamine B1 ……..... 159
VI.1.2.2. La vitamine B2 (Ribovlavine)…….. 160
VI.1.2.3. La vitamine B3 (vitamine PP ou niacine)…… 161
VI.1.2.4. La vitamine B5 (acide pantothénique)……..…… 163
VI.1.2.5. La vitamine B6 (pyridoxine)…… 163
VI.1.2.6. La vitamine B8 (biotine)…….. 164
VI.1.2.7. La vitamine B9 (acide folique)…… 165
VI.1.2.8. La vitamine B12 (cobalamine)…… 165
VI.1.2.9. La vitamine C (acide ascorbique)……..…… 166
VI.1.2. Les vitamines liposolubles……..…… 168
VI.1.2.1. La vitamine A (rétinol)…… 168
VI.1.2.2. La vitamine D (calciférol)……..…….... 170
VI.1.2.3. La vitamine E (tocophérol)…….. 172

VI.1.2.4. La vitamine K…… 174
VI.2- Les coenzymes …….. 175
VI.2.1- Définition et propriétés…….. 175
VI.2.2- Classification des coenzymes…… 175
VI.2.2.1 - Les coenzymes d'oxydoréduction……..... 175
VI.2.2.2 - Les coenzymes de transport des radicaux monocarbonés……..... 183
VI.2.2.3 - Coenzymes de transport de radicaux autres que CO2…… 184
VI.2.2.4 - Coenzymes de transport de radicaux à deux ou plusieurs carbones…… 185
VI.2.2.5 - Coenzyme des aminotransférases : le pyridoxal phosphate…… 189

PARTIE II: BIOCHIMIE METABOLIQUE

CHAPITRE VII : ÉNERGÉTIQUE DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES

VII. ÉNERGÉTIQUE DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES ..... …….191
VII.1. Composés riches en énergie..... 191
VII.1.1. Définition 191
VII.1.2. ATP 192
VII.2. Oxydations phosphorylantes 193
VII.2.1.Généralités..... 193
VII.2.2.La chaîne respiratoire 193
VII.2. 3. Fonctionnement de la chaîne respiratoire..... 196
VII.2. 4. Inhibiteurs……..……198

CHAPITRE VIII : METABOLISME DES GLUCIDES

VIII.1. METABOLISME INTERMEDIAIRE..... 200
VIII.1.1. Mécanismes essentiels de la régulation du métabolisme 200
VIII.1.1.1. Contrôle transcriptionnel 201
VIII.1.1.2. Interconversion 201
VIII.1.1.3. Compartimentation..... 201
VIII.1.1.4. Modulation par des ligands……201
VIII.2. VOIES MÉTABOLIQUES DU GLUCOSE……202
VIII.2.1- Absorption et distribution du glucose 203
VIII.2.2. LA GLYCOLYSE 205
VIII.2.2.1. Définition..... 205
VIII.2.2.2. Réactions de la glycolyse..... 206
VIII.2.2.3. Etapes enzymatiques de la première phase..... 207
VIII.2.2.4. Etapes enzymatiques de la seconde phase 209
VIII.2.2.5. Bilan de la glycolyse (rendement énergétique)..... 211
VIII.2.2.6. Devenir du pyruvate..... 212
VIII.2.2.7. La glycolyse est source de précurseurs biosynthétiques 214
VIII.2.2.8. Régulation de la glycolyse 215
VIII.2.2.9. Entrée des autres glucides dans la séquence glycolytique (les différents substrats de la glycolyse)..... 217
VIII.2.2.9.1. Glycogène et amidon 217
VIII.2.2.9.2. Les disaccharides..... 217
VIII.2.2.9.3. Les monosaccharides 219
VIII.2.3. Cycle de l'acide citrique (cycle tricarboxylique ou cycle de Krebs) 222

VIII.2.3.1. L'acétyl coenzyme A : point d'entrée du cycle de Krebs 222
VIII.2.3.2. Les différentes étapes du cycle de Krebs 223
VIII.2.4. Voie des pentoses phosphates : production du pouvoir réducteur et du ribose 227
VIII2.4.1. Définition et but de la voie des pentoses phosphate 227
VIII.2.4.2. Production du NADPH, H^+: Pouvoir réducteur 228
VIII.2.4.3. Bilan de la voie 231
VIII.2.5. Métabolisme du glycogène 232
VIII.2.5.1. Glycogénolyse 233
VIII.2.5.1.1. Séquences des réactions enzymatiques 233
VIII.2.5.2. Glycogénogénèse 235
VIII.2.5.2.1. Séquences des réactions enzymatiques 235

CHAPITRE IX : METABOLISME DES ACIDES GRAS

IX.1-. METABOLISME DES ACIDES GRAS 239
IX.1- DEGRADATION DES ACIDES GRAS (β-OXYDATION) 239
IX.1.1 La β-oxydation des acides gras saturés, à longue chaine et à nombre paire d'atomes de carbone 239
IX.1.1.1-Activation et entrée des acides gras dans la mitochondrie 240
IX.1.1.2- Etapes de la β-oxydation des acides gras 241
IX.1.2- La ß-oxydation des acides gras insaturés 244
IX.2- SYNTHESE DES ACIDES GRAS 248
IX.2.1. Etapes de la biosynthèse des AG (lipogenèse) 249
IX.2.1.1. Activation et formation du malonyl CoA 249
IX.2.1.2. Élongation de la chaîne carbonée de l'AG 249
IX.2.1.3. Terminaison (Libération de l'acide palmitique) 251
IX.2.2. Destinées de l'acide palmitique 252

CHAPITRE X : METABOLISME DES PROTEINES ET DES ACIDES AMINES

X. METABOLISME DES PROTEINES ET DES ACIDES AMINES 253
X.1. Digestion des protéines alimentaires 254
X.1.1. Digestion dans l'estomac 254
X.1.2. Digestion par les enzymes pancréatiques 254
X.1.3. Digestion par les enzymes de l'intestin grêle 255
X.1.4. Absorption des acides aminées libres et des dipeptides 255
X.2. Devenir des acides aminés dans l'organisme 255
IX.2.1. Dégradation des acides aminés 255
X.2.2. Elimination du groupement amine NH_2 256
X.2.2.3. Elimination de la fonction carboxylique COOH ou décarboxylation 260
X.2.2.4. Ammoniogenèse 261
X.2.2.5. Cycle de l'urée ou uréogenèse (cycle de l'ornithine ou cycle de Krebs-Henseleit) 261
X.2.2.6. Devenir et catabolisme du squelette carboné 264
X.2.2. Synthèse des acides aminés 266
X.3.1. Les deux types d'acides aminés 266
Bibliographie 271

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-cétoses. ……..…… 14
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 cétoses. …….. 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 cétose (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 cétose…… 25
Fig. 24. Action de l'acide nitrique sur les aldoses et les cétoses…….. 25
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 chaine 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 céride. ……..... 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'IP3 à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate par la phospholipase C……..... 79
Fig. 87. Structure d'un étherphospholipide : le plasmalogene. …… 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 A2. ……... 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 □- carotène. (B) Structure du □- carotène. …….. 86
Fig. 94. Structure du cholestérol. …….. 87
Fig. 95. Structure générale d'un acide amin2 : (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). …… 97
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……. 101
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. …… 102
Fig. 109. Réaction d'un aminoacide avec un alcool. ……... 102
Fig. 110. Réactions d'amidification d'un aminoacide. …… 103
Fig. 111. Réactions de réduction d'un aminoacide. ……. 103
Fig. 112. Réactions de désamination d'un aminoacide. …….. 104
Fig. 113. Réactions de transamination d'un aminoacide. …… 104
Fig. 114. Réaction d'un aldéhyde avec un aminoacide. …….. 105
Fig. 115. La méthylation de la Glycine. ……... 105
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. …… 106
Fig. 119. Réaction du phénylisothicyanate avec un aminoacide. …… 107
Fig. 120. Réaction de substitution du □-NH2 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*.……. 110
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. ……. 117
Fig. 132. La pénicilline (R dépend de la souche de Penicillium). ……... 119
Fig. 133. Scission de ponts disulflures au □-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……..... 123
Fig. 136. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de chlorure de dansyle…….. 124
Fig. 137. Détermination de l'acide aminé C-terminal par réduction (a) et grâce à l'hydrazynolyse (b). ……..... 125
Fig. 138. Site de coupure de la chaine peptidique par le bromure de cyanogène (BrCN) 126
Fig. 139. Méthodes d'hydrolyse spécifiques de la liaison peptidique…….. 127
Fig. 140. Structure d'une hélice □ droite. …….. 129
Fig. 141. Structure en feuillet plissé □…… 130
Fig. 142. Les liaisons ou interactions entre chaines latérales des résidus, impliquées dans la structure tertiaire des protéines. …… 131
Fig. 143. Les quatre niveaux de structure d'une protéine. …… 132
Fig. 144. La réaction de transformation d'un substrat en produit catalysée par une enzyme……... 135
Fig. 145. Représentation schématique d'une enzyme. ……. 136
Fig. 146. Nomenclature des enzymes…… 137
Fig. 147. Détermination de la vitesse initiale d'une réaction. ……. 139
Fig. 148. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale. …… 139
Fig. 149. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale. ……... 140
Fig. 150. Représentation de Michaelis montrant la vitesse en fonction la concentration du substrat. ……. 142
Fig. 151. Représentation de Lineweaver-Burk...……..... 144
Fig. 152. Influence de la température sur la vitesse d'une réaction enzymatique……. 145
Fig. 153. Influence du pH sur la vitesse d'une réaction enzymatique……..... 145
Fig. 154. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition compétitive……. 146
Fig. 155. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver- Burk (B) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition compétitive. ……... 147
Fig. 156. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition non compétitive. ……..... 148
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. ……. 149
Fig. 158. Schéma réactionnel en cas d'inhibition incompétitive. …… 150
Fig. 159. Représentation de Michaelis-Menten (B), de Lineweaver-Burk (C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition incompétitive. …… 150
Fig. 160. Effets de l'iodoacétate sur la papaine. ……..... 151
Fig. 161. Effets du *di*-isopropylfluorophosphate (DIFP) sur l'activité de la trypsine……... 152
Fig. 162. Allure des courbes dans le cas d'une enzyme Michaélienne et allostérique……. 154

Fig. 163. Les deux formes R et T des enzymes allostériques…… 154
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……. 155
Fig. 165. L'effet de rétrocontrôle négatif……..... 155
Fig. 166. La première réaction de la voie de biosynthèse des nucléotides pyrimidiques catalysée par l'aspartate transcarbamylase ATCase……..... 156
Fig. 167. Cinétique résultante de l'ATCase en présence de l'ATP, du CTP, et sans effecteur allostérique…….. 157
Fig. 168. Structure de la thiamine…… 159
Fig. 169. Structure de la riboflavine……. 160
Fig. 170. Structure schématique de FMN et FAD……. 160
Fig. 171. Phosphorylation de la riboflavine…….. 161
Fig. 172. Structure de la vitamine B3…… 161
Fig. 198. Structure du pyridoxal phosphate (PLP), coenzyme groupement prosthétique des aminotransférases……. 190
Fig. 199. (A) Structure de la molécule d'ATP. (B) Rôle de l'ATP dans le transfert d'énergie…….. 192
Fig. 200. (A) Structure de la mitochondrie. (B) La chaine respiratoire mitochondriale……..194
Fig. 201. Les potentiels d'oxydoréduction des composants de la chaine respiratoire ……196
Fig. 202. Organisation de la chaine respiratoire dans la membrane mitochondriale illustrant le trajet des électrons (trait en couleur) et le transport des protons…….197
Fig. 203. Structure de l'ATP synthase…….198
Fig. 204. Vue d'ensemble du métabolisme intermédiaire…….202
Fig. 205. Voies métaboliques du glucose……..203
Fig. 206. Métabolisme postprandial du glucose……204
Fig. 207. Vue d'ensemble de la glycolyse……...207
Fig. 208. Régulation hormonale de la glycolyse…….216
Fig. 209. Les différents substrats de la glycolyse……218
Fig. 210. Entrée du fructose dans la glycolyse……219
Fig. 211. Entrée du galactose dans la glycolyse……..220
Fig. 212. Entrée du mannose dans la glycolyse……221
Fig. 213. Le cycle de Krebs : la dernière étape de la dégradation des aliments……...222
Fig. 214. Vue d'ensemble du cycle de Krebs……..223
Fig. 215. Voie des pentoses phosphate……228
Fig. 216. Structure du Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADP)……...232
Fig. 217. Séquences des réactions enzymatiques permettant de dégradation du glycogène……233
Fig. 218. La phosphorolyse du glycogène……..234
Fig. 219. La glycogénogénèse…….235
Fig. 220. Formation de l'UDP glucose……236
Fig. 221. Formation de l'UDPglucose……237
Fig. 222. Elongation de la chaîne de du glycogène par la glycogène synthase……...237
Fig. 223. Formation des ramifications des chaines de glycogène……...238
Fig. 224. Activation des acides gras à longue chaîne et transport du radical acyle dans la matrice mitochondriale par la carnitine. ACT = Acyl-carnitine transférase……...241
Fig. 225. Etapes de la β-oxydation des acides gras…….241

Fig. 226. La ß-oxydation des acides gras insaturés……246
Fig. 227. Complexe multienzymatique de l'AGS I……250
Fig. 228. (A) Chargement de l'AGSI et condensation des 2 substrats initiaux (acétyle et malonyle), (B) Réaction de réduction, déshydratation et réduction……..252
Fig. 229. Aperçu général du métabolisme des protéines……253
Fig. 230. Digestion protéolytique des protéines alimentaires par la pepsine…….254
Fig. 231. Activation en cascade des enzymes protéolytiques par la trypsine…….256
Fig. 232. Schéma général de la réaction catalysée par les transaminases……..256
Fig. 233. Schéma général illustrant le devenir de l'ammoniac issu de la désamination et la réaction catalysée par la glutamine synthétase et la glutaminase……259
Fig. 234. Le cycle glucose/ alanine……..260
Fig. 235. Ammonigenèse……261
Fig. 236. Cycle de l'urée (cycle de l'ornithine ou cycle de KREBS-HENSELEIT)……..262
Fig. 237. Catabolisme de chaines carbonées des acides aminés……..266
Fig . 238. Voies de biosynthèse des acides aminés……268

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 HIO4 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 prostanoides. …… 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. …… 94
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…… 138
Tableau 22 : Valeurs de Km de certaines enzymes……. 143
Tableau 23 : Les différents types de vitamines……..……..... 158
Tableau 24 : Les différents troubles provoqués en cas de carence en certains types de vitamines……. 159
Tableau 25: Les principaux coenzymes……. 176
Tableau 26: Principales flavoprotéines membranaires……... 180
Tableau 27 : Les autres composés riches en énergie…….. 191

Tableau 28 : Fonctions enzymatiques et caractéristiques structurales des complexes de la chaîne respiratoire……195
Tableau 29 : Certains inhibiteurs de la phosphorylation oxydative et leurs modes d'action……..199
Tableau 30 : Les précurseurs de biosynthèse générés par la glycolyse……215
Tableau 31 : Bilan de la dégradation d'un acide gras par β-oxydation……243
Tableau 32 : Les amines générés par décarboxylation des acides aminés……260
Tableau 33 : Acides aminés indispensables et synthétisés par l'organisme humain……..266

INTRODUCTION A L'ETUDE DE LA BIOCHIMIE

La **biochimie** est la discipline scientifique qui étudie les réactions chimiques du ayant lieu 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 de l'ensemble des réactions chimiques et des transferts d'énergie qui se déroulent dans les cellules vivantes. Elle analyse comment les organismes transforment la matière pour produire, maintenir et utiliser l'énergie indispensable à leur survie. Ce domaine d'étude repose sur deux mécanismes fondamentaux et complémentaires :

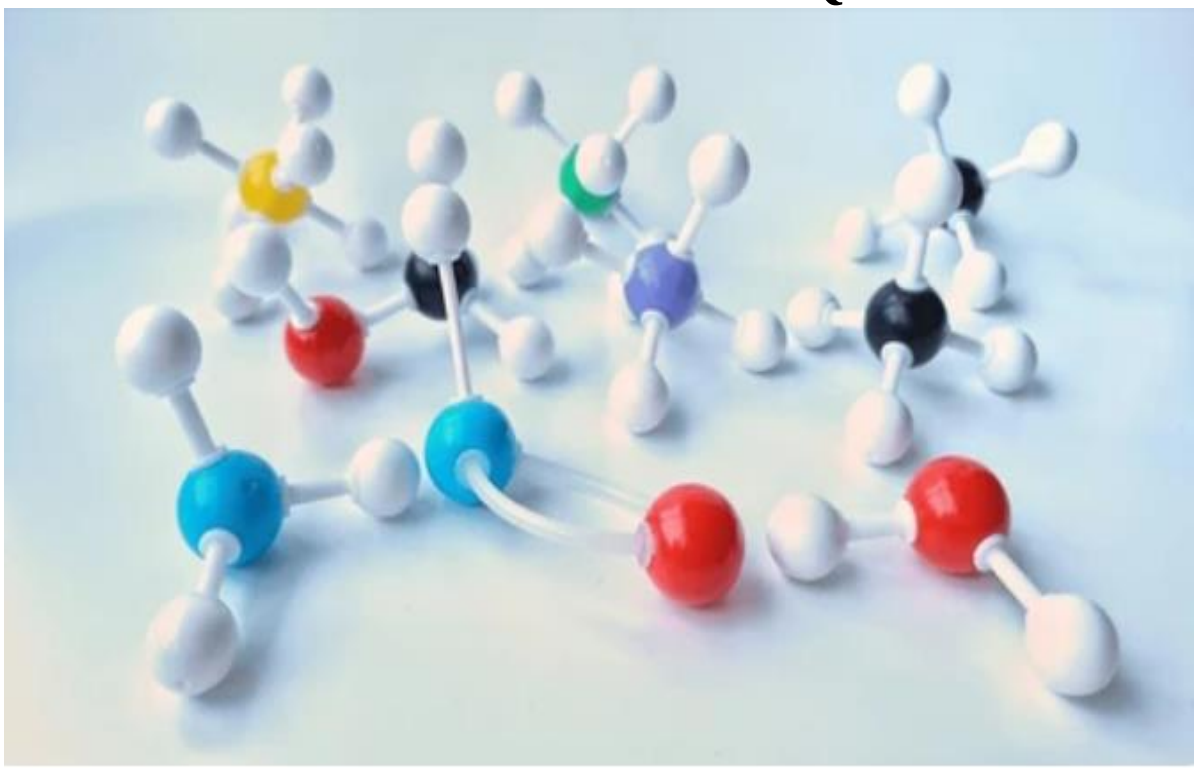
Le Catabolisme : Il s'agit de la dégradation des grosses molécules complexes (glucides, lipides, protéines) en molécules plus simples. Ce processus libère de l'énergie (souvent stockée sous forme d'ATP).

L'Anabolisme : Également appelé biosynthèse, il utilise l'énergie produite par le catabolisme pour assembler des molécules simples et fabriquer les constituants nécessaires à la croissance et au fonctionnement cellulaire.

Ces réactions ne sont pas isolées mais organisées en **voies métaboliques**, une succession d'étapes où le produit d'une réaction devient le substrat de la suivante. Chaque étape est contrôlée par une enzyme spécifique.

CHAPITRE I :

LES LIAISONS CHIMIQUES



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 Walls, 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).

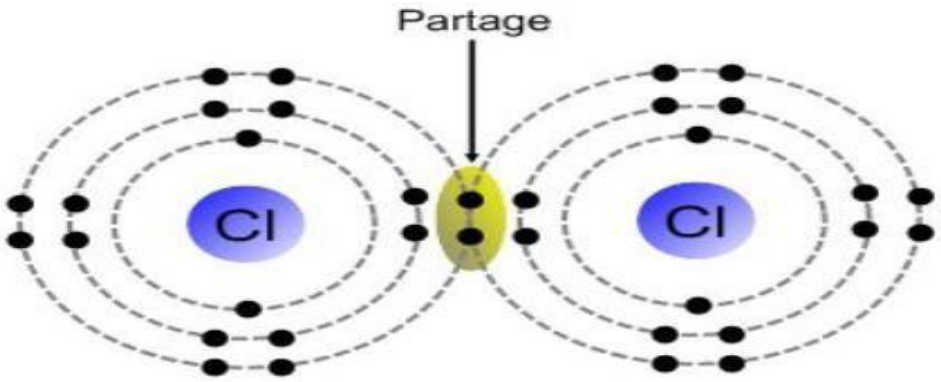


Fig. 1. Exemple de liaison covalente Cl_2.

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.

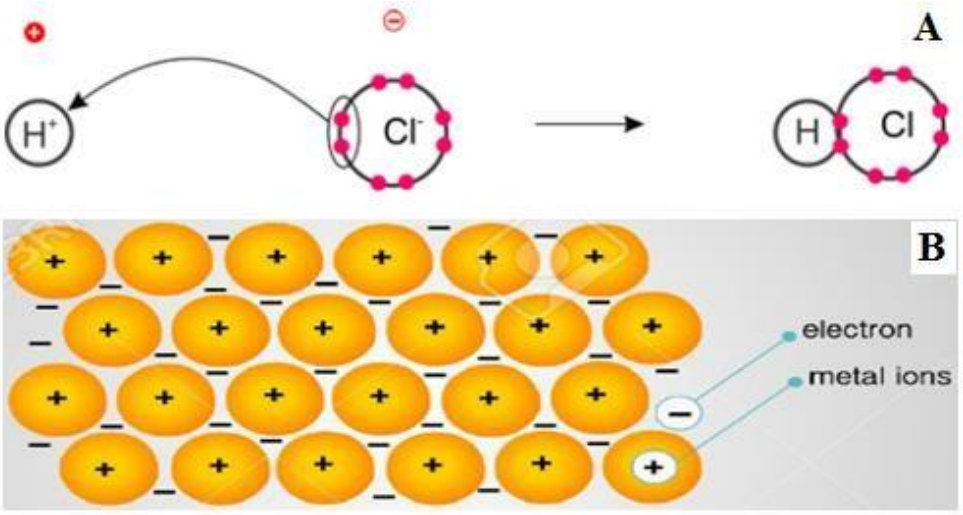


Fig. 2. Exemple de liaison de coordination HCl (A) , la liaison métallique (B).

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).

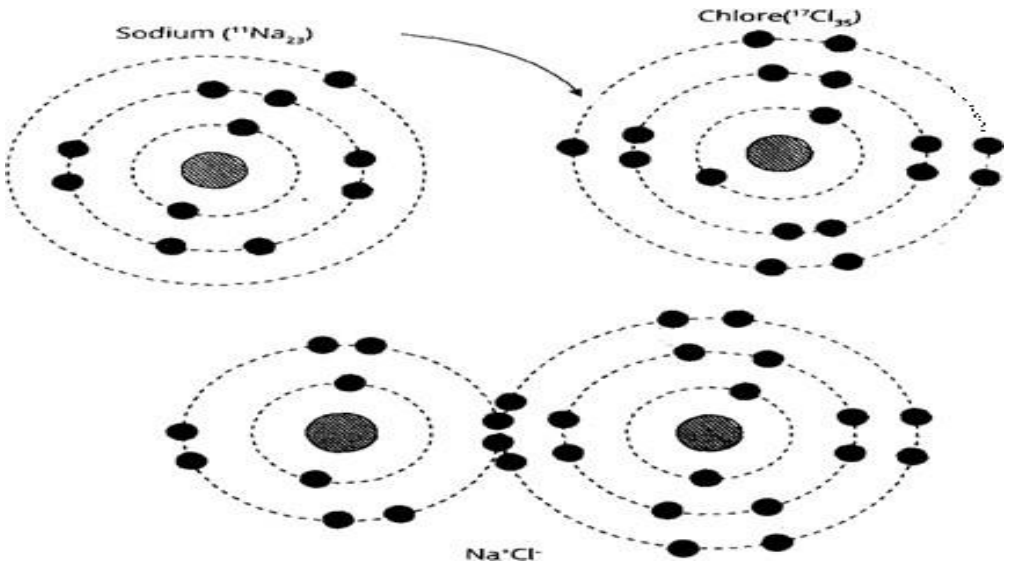


Fig. 3. Formation d'une liaison ionique entre le sodium et le chlore.

Quand l'ion porte une charge unique (Na^+, Cl^- il est dit monovalent). S'il en porte deux (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Cu^{2+}), 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 dipolaire. 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).

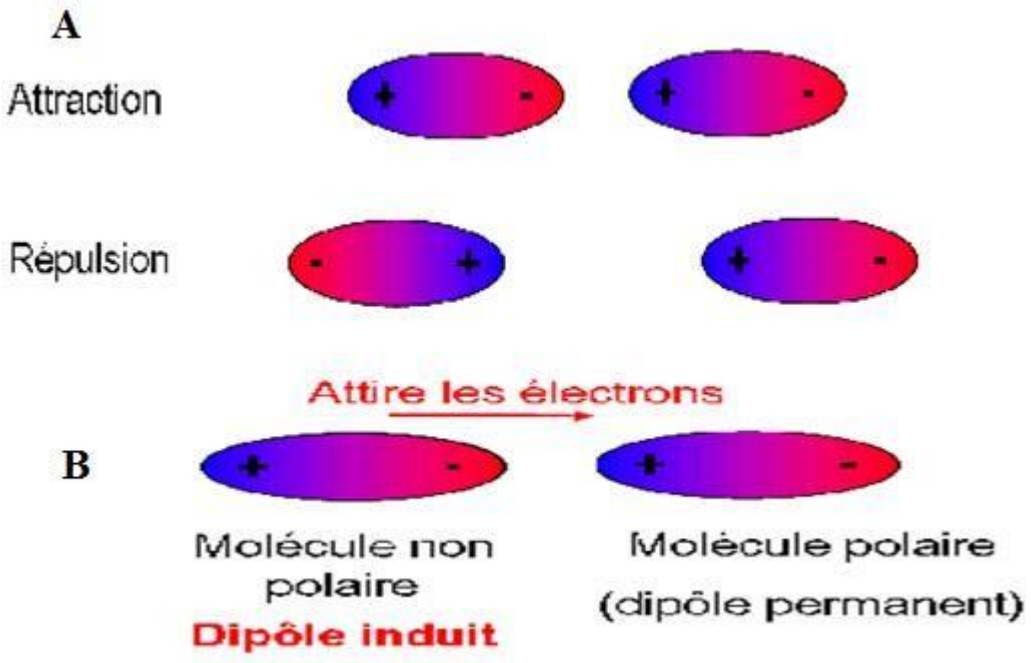


Fig. 4. Interactions de 2 dipôles permanents (A) et dipôle induit – dipôle permanent (B).

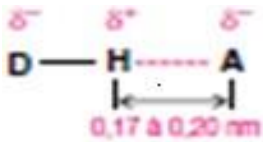
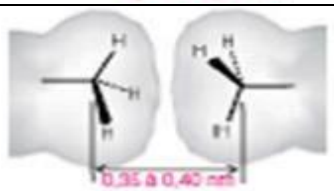
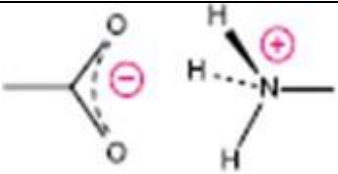
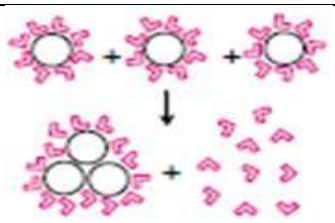
Des interactions dipôle instantané - dipôle instantané : Dans les atomes et les molécules neutres et non polaires, les électrons « se déplacent », créant ainsi des dipôles instantanés. Des interactions peuvent exister entre ces dipôles et participer à la cohésion de la molécule.

I. 1. 7. Interaction hydrophobe

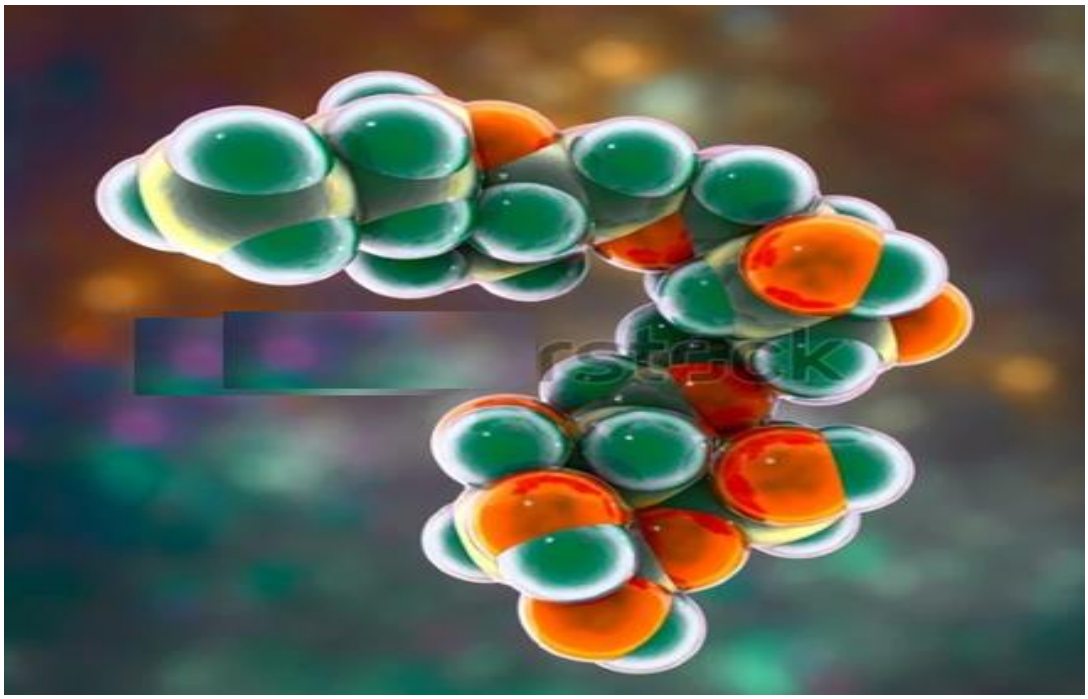
Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Il s'agit d'interactions entre molécules ou groupements qui ont très peu d'affinité pour le solvant dans lequel elles sont dissoutes (eau). Les groupements vont se positionner de manière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



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).

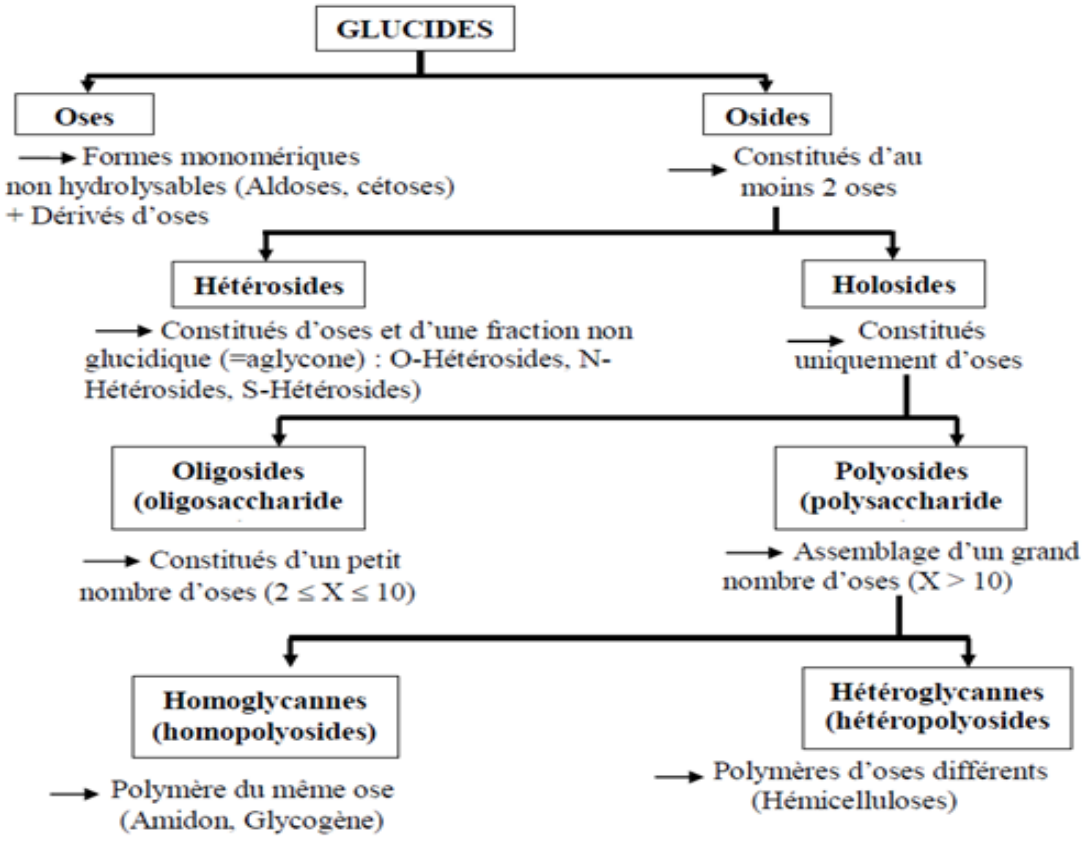


Fig. 5. Classification des glucides

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 C_1 (**aldoses**) ou cétone en C_2 **(cétoses**) 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.

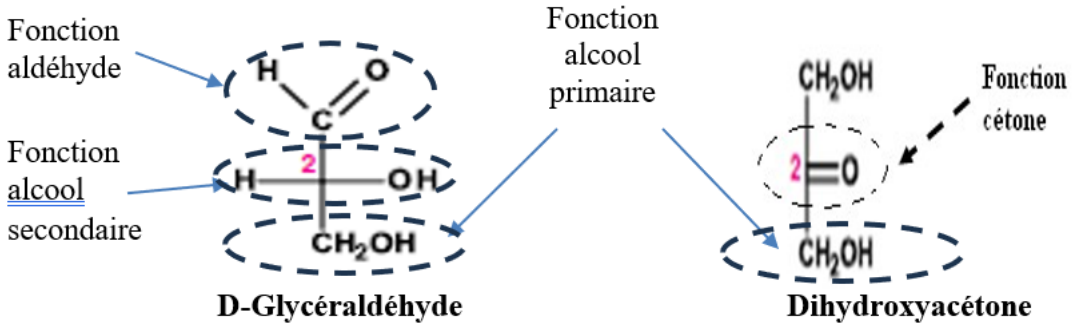


Fig. 6. Structure du glycéraldéhyde et du dihydroxyacétone.

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).

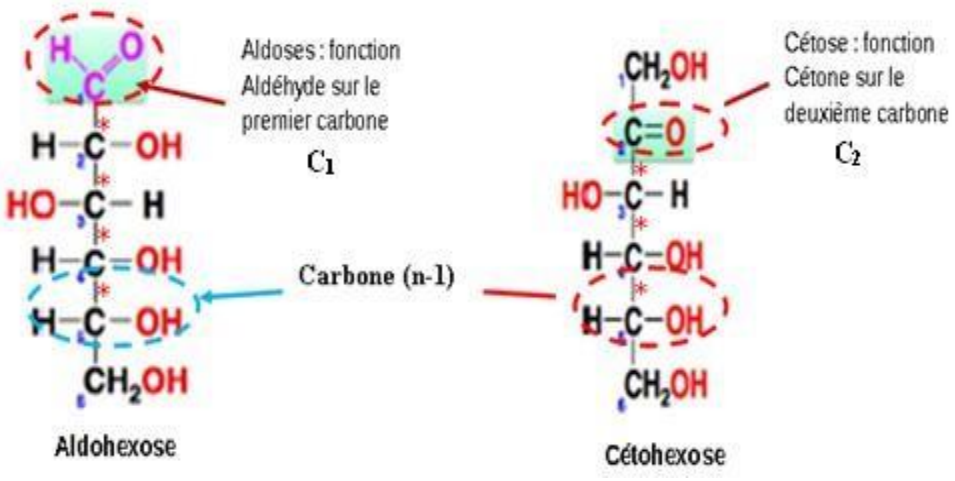


Fig. 7. Représentation des oses en projection de Fisher.

II. 3. 3. Stéréoisomèrie et chiralité

II. 3. 3. 1. Stéréoisomérie (isomérie 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.

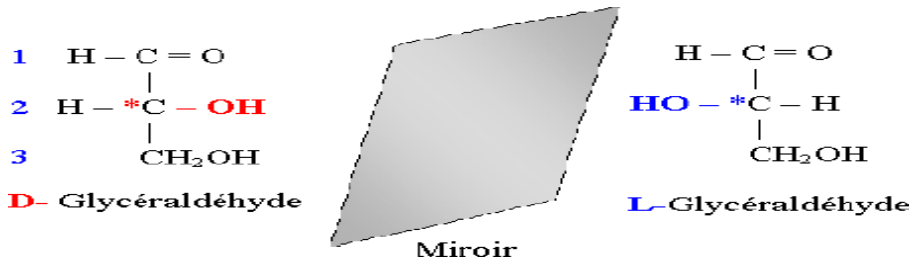


Fig. 8. Les énantiomères du glycéraldéhyde.

II. 3. 3. 2. Formes d'isomérie

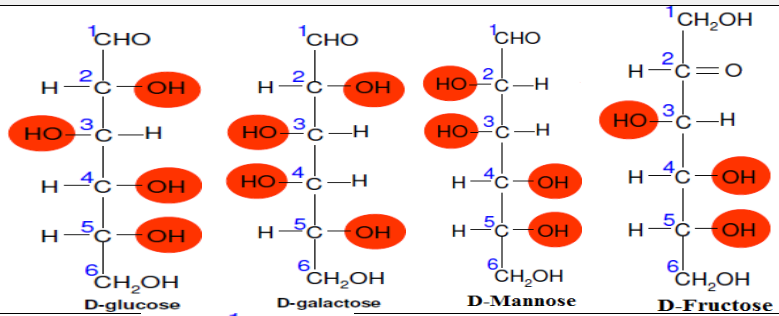
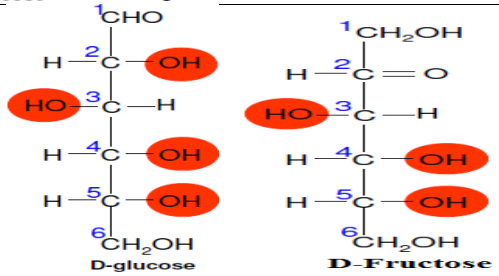
a. Enantiomérie : Les **énantiomères** sont des isomères non superposables qui différent par la configuration absolue de tous leurs carbones asymétriques et sont images l'un de l'autre dans un miroir. C'est le cas par exemple du D et du L glucose (tableau 2). Les propriétés chimiques et physiques des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

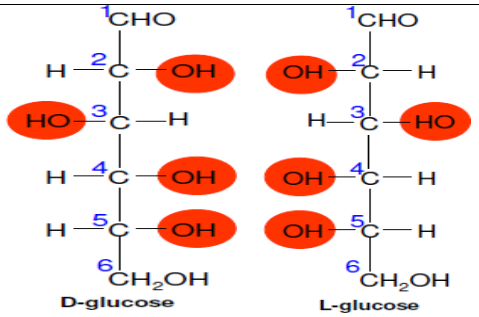
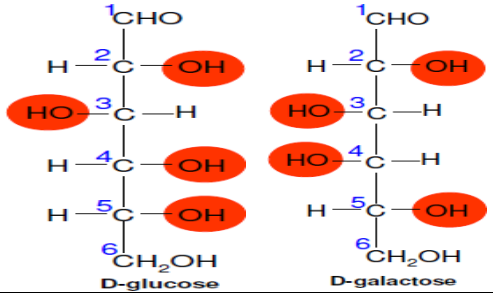
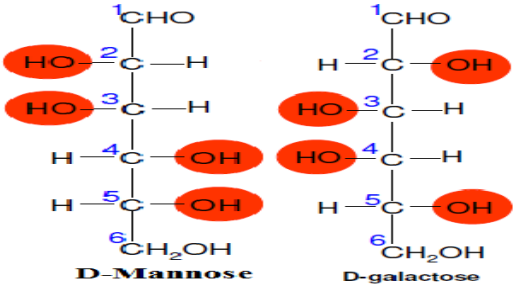
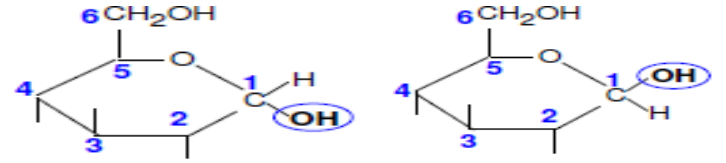
b. Epimérie : Deux oses qui diffèrent par la configuration d'un seul C asymétrique sont des épimères. En effet, le D-galactose et le D-glucose sont des épimères en position 4 (tableau 2).

c. Diastéréoisomèrie : deux isomères sont dits diastoisomères 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 $\mathbf{2^n}$ stéréoisomères. Pour les aldoses à **n** atomes de carbone on a **(n-2) C*** et donc $\mathbf{2^{(n-2)}}$ stéréoisomères. Pour les cétoses à **n** atomes de carbone on a **(n-3)** C* et donc $\mathbf{2^{(n-3)}}$ stéréoisomères.

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

Isomérie	Exemple
Stéréoisomères : Composés ayant des formules chimiques identiques, mais des structures dans l'espace différentes.	
Isomères de fonction : Même formule chimique avec des fonctions différentes (aldéhyde/cétone)	

Enantiomères : 2 stéréo-isomères image l'un de l'autre dans un miroir et non superposables.	
Epimères : Même formule chimique mais diffèrent par la configuration d'un seul C asymétrique.	
Diastéréoisomères : Même formule chimique mais la différence porte sur un nombre de C* **inferieur** au nombre total des **C*** et **supérieur** à **un C*.**	
Anomères : Même formule chimique mais diffèrent par la position dans l'espace du OH du C anomérique.	

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.

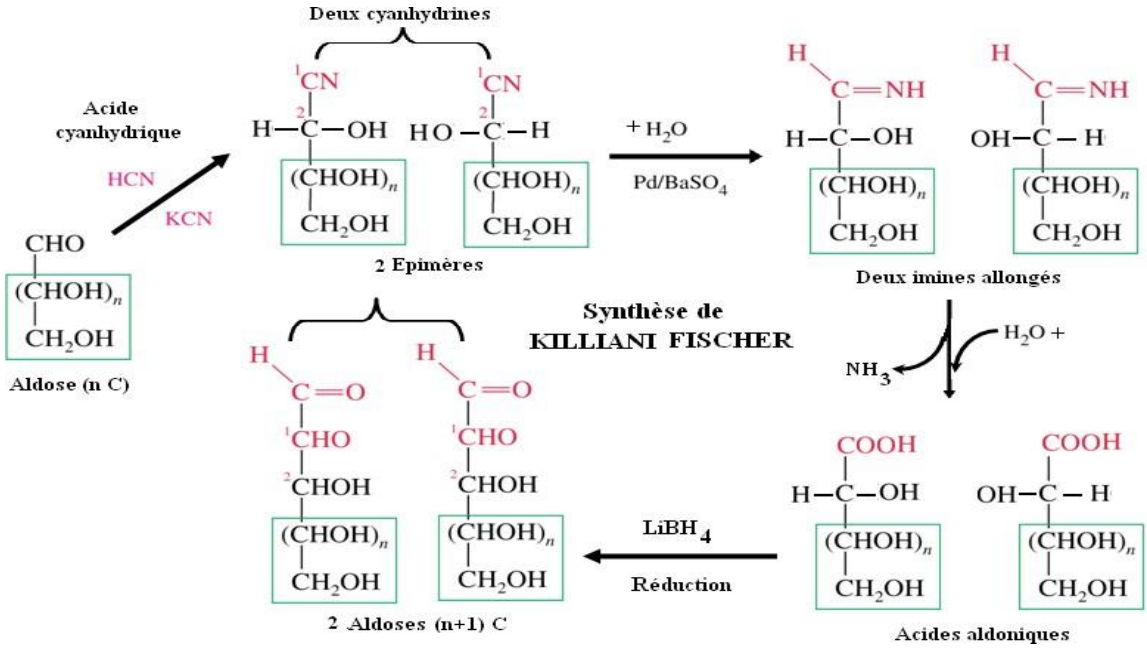


Fig. 9. Voie de synthèse de KILIANI-FISCHER.

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

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).

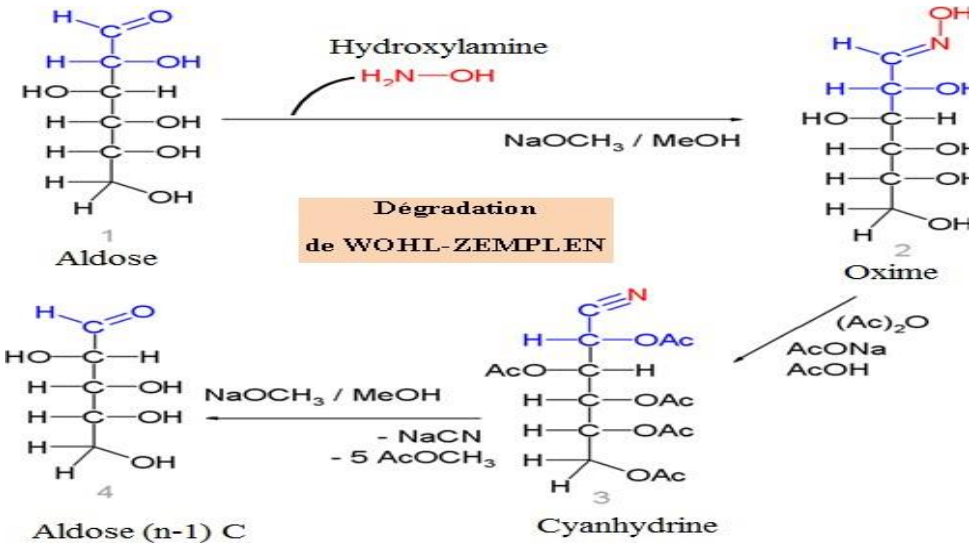


Fig. 10. Voie de dégradation de WOHL-ZEMPLEN.

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 glyconontrile de penta acétyle (4).

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

Les figures 11 et 12 présentent respectivement les D-aldoses et les D-cétoses 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.

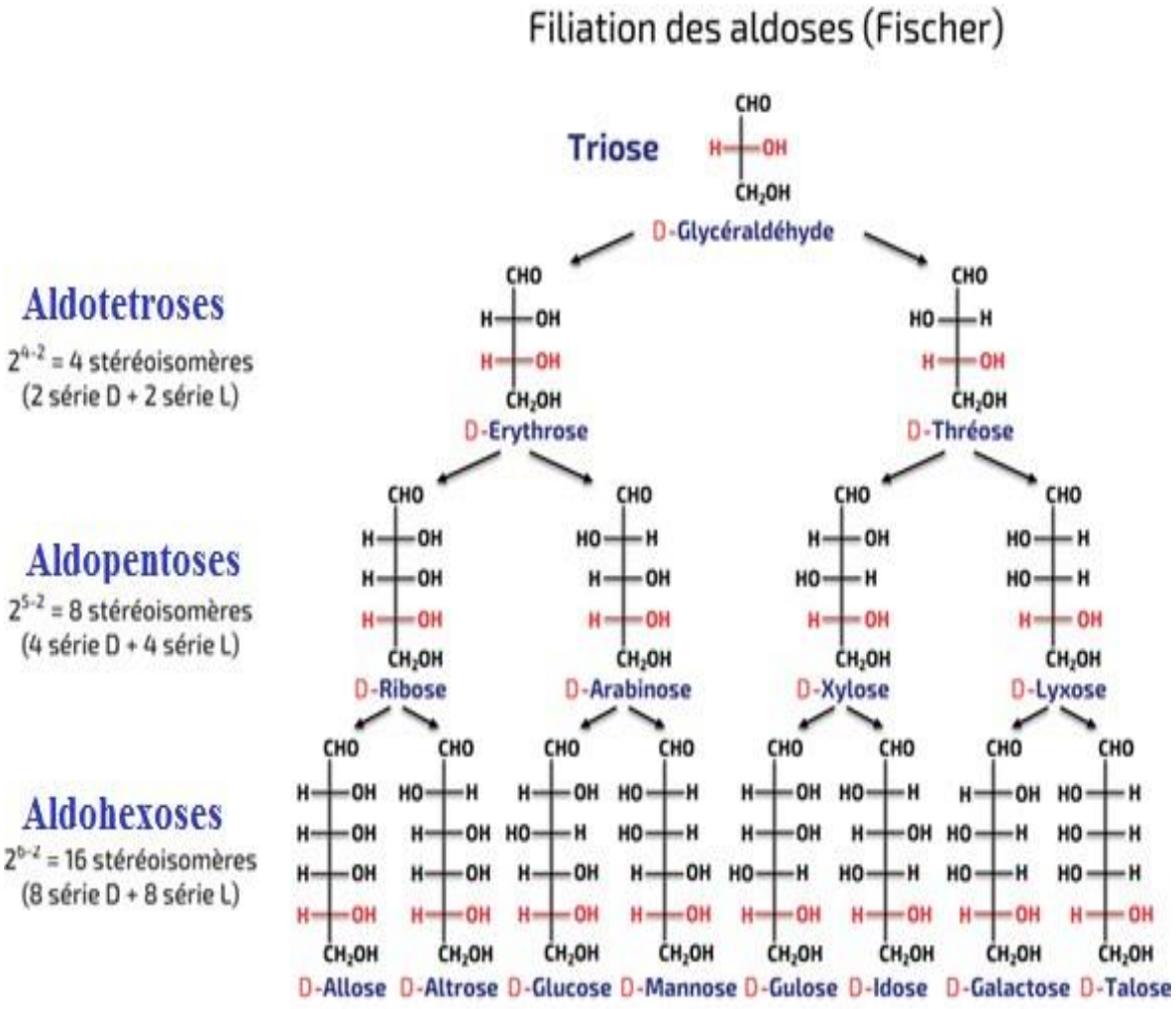


Fig. 11. Structure et stéréochimie des D-aldoses

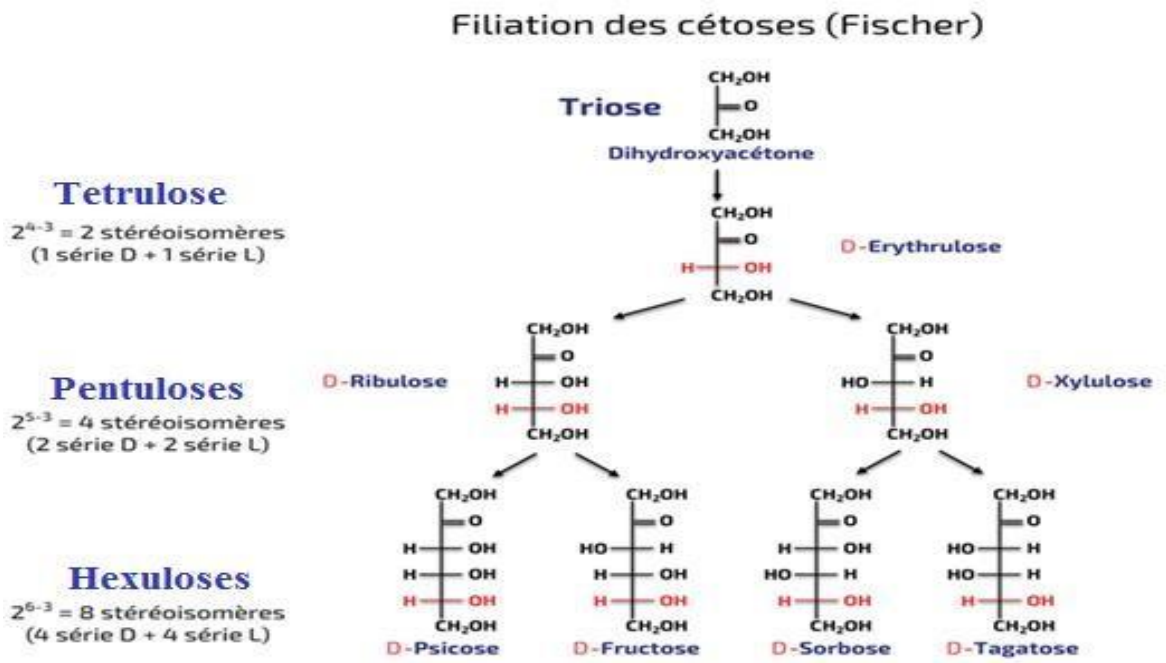


Fig. 12. Structure et stéréochimie des D-cétoses.

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 C_1 (fonction aldéhyde) et une des fonctions alcool du même ose, formant ainsi un cycle et créant un nouveau C* (Fig. 13).

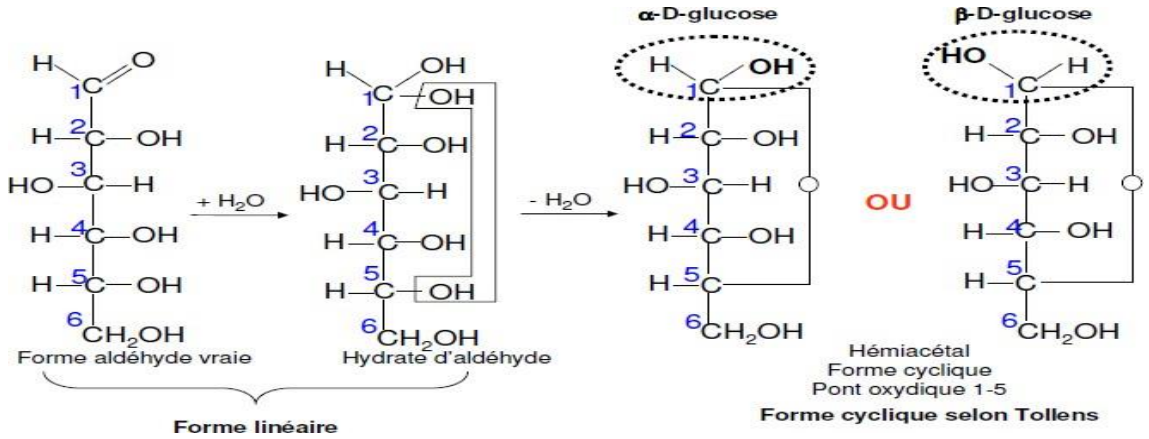
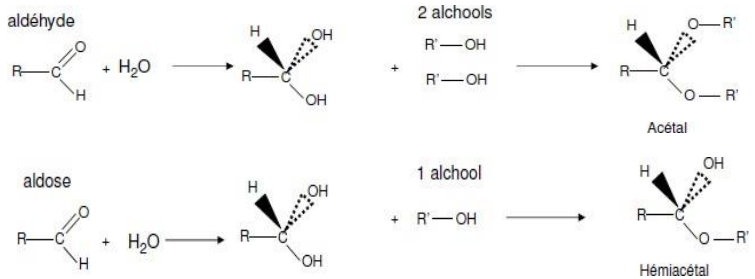
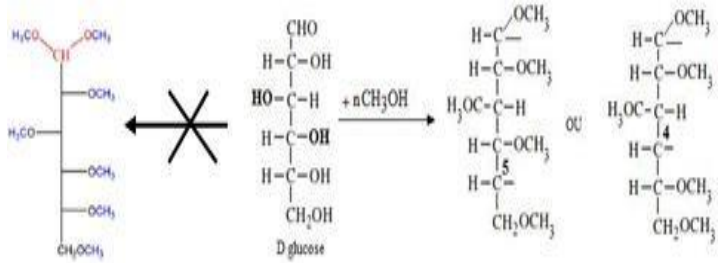
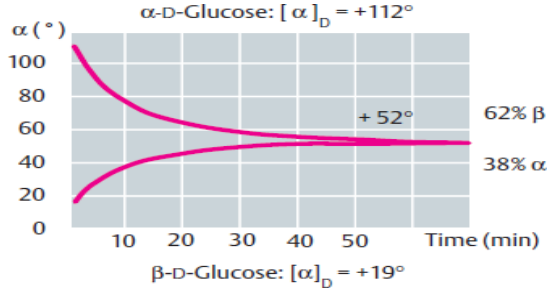


Fig. 13. Passage du D-glucose selon TOLLENS de la forme linéaire à la forme glucopyranose (isomères α et β).

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 SO_2) en donnant un produit de couleur rouge.	 + Fuchsine décolorée par le SO_2 ⟶ Produit de couleur rouge Ose (N≥4) + Fuchsine décolorée par le SO_2 ⟶ Les oses ne se colorent pas.
2- Les aldéhydes et les cétones sous forme hydratée, réagissent avec deux molécules d'alcool pour donner des a**cétals** 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 -CH_3 (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 fraichement 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 $\mathbf{C_1}$ asymétrique. Les positions relatives dans l'espace des 4 substituants définissent 2 configurations de stéréoisomères, les **anomères** α et β. Le carbone $\mathbf{C_1}$ 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 $\mathbf{C_5}$-$\mathbf{C_1}$ ou $\mathbf{C_4}$-$\mathbf{C_1}$ 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.

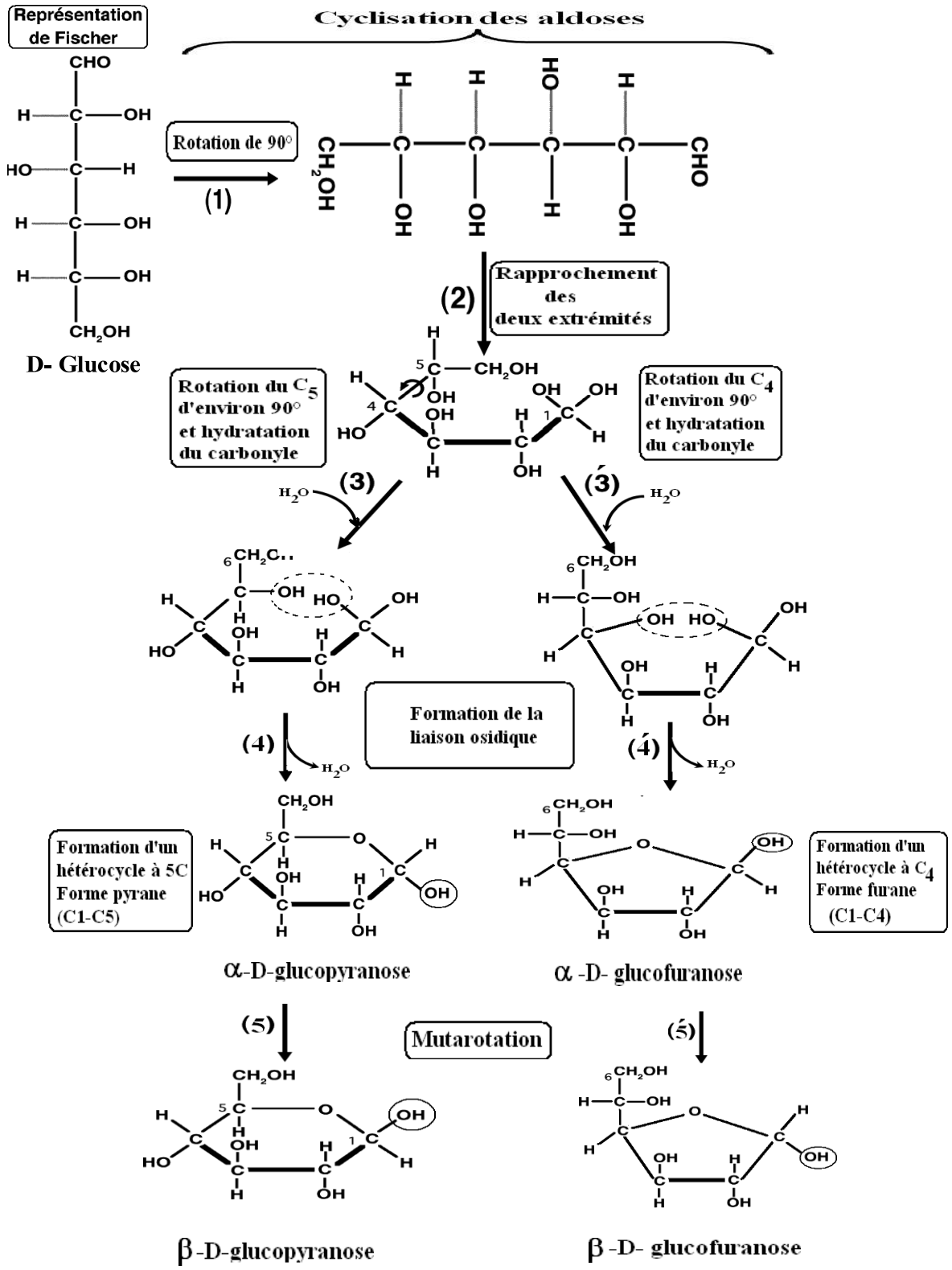


Fig. 14. Cyclisation des aldoses.

Dans le cas des cétoses, le carbone **C2** est le carbone anomérique. L'hemi-acétalisation intra-moléculaire peut avoir lieu avec la paire de carbone **C_2-C_6** pour former un hétérocycle à oxygène à 6 sommets ou avec la paire de carbone **C_2-C_5** pour former un hétérocycle à oxygène à 5 sommets (Fig. 15).

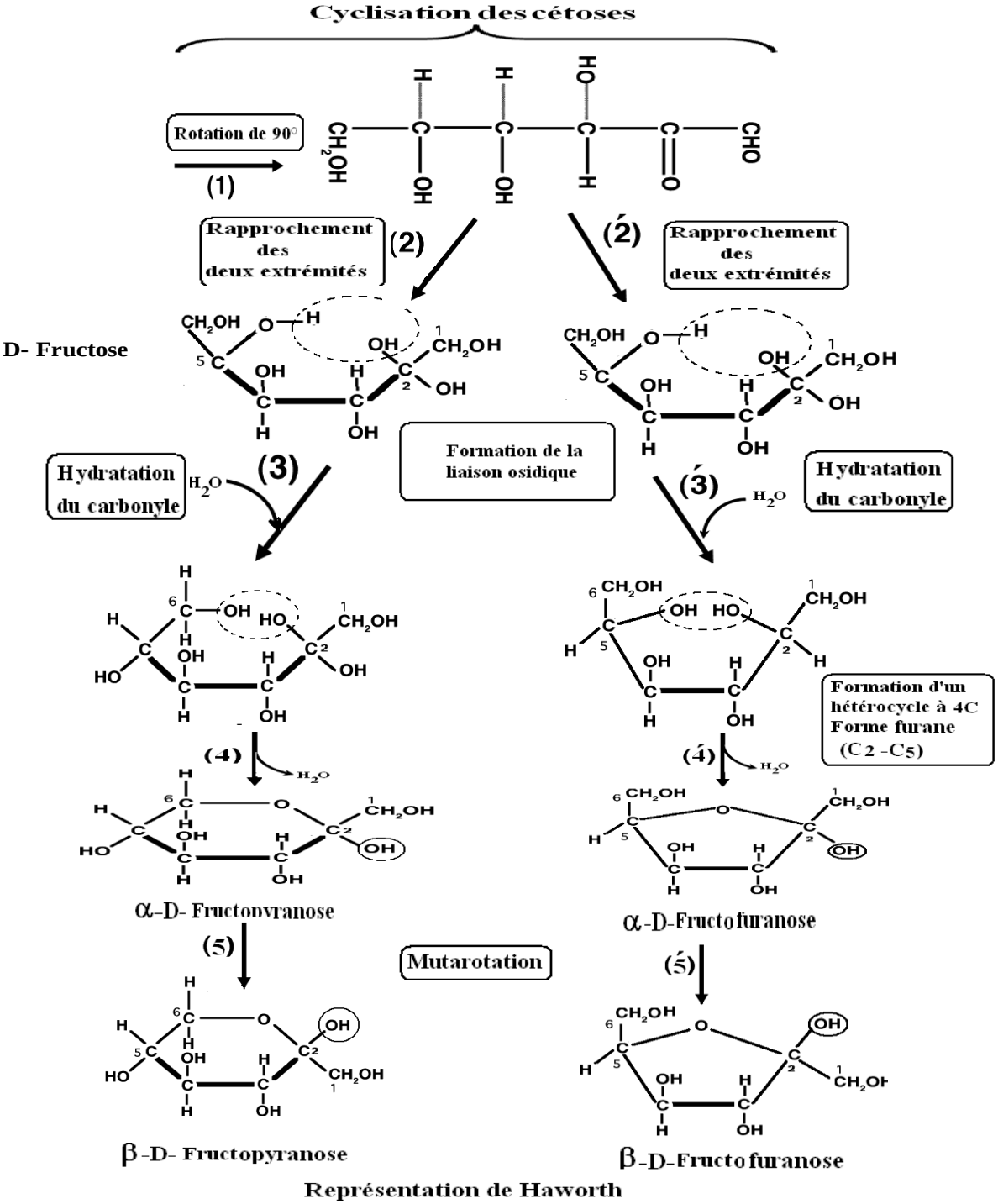


Fig. 15. Cyclisation des cétoses.

Pour un aldohexose, c'est la configuration du C_5 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'anomérie (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 (CH_2OH). La forme L obtenue avec un miroir horizontal change la position des groupements hydroxyles (OH) et (CH_2OH) et garde la même position des atomes formant le cycle de la forme D.

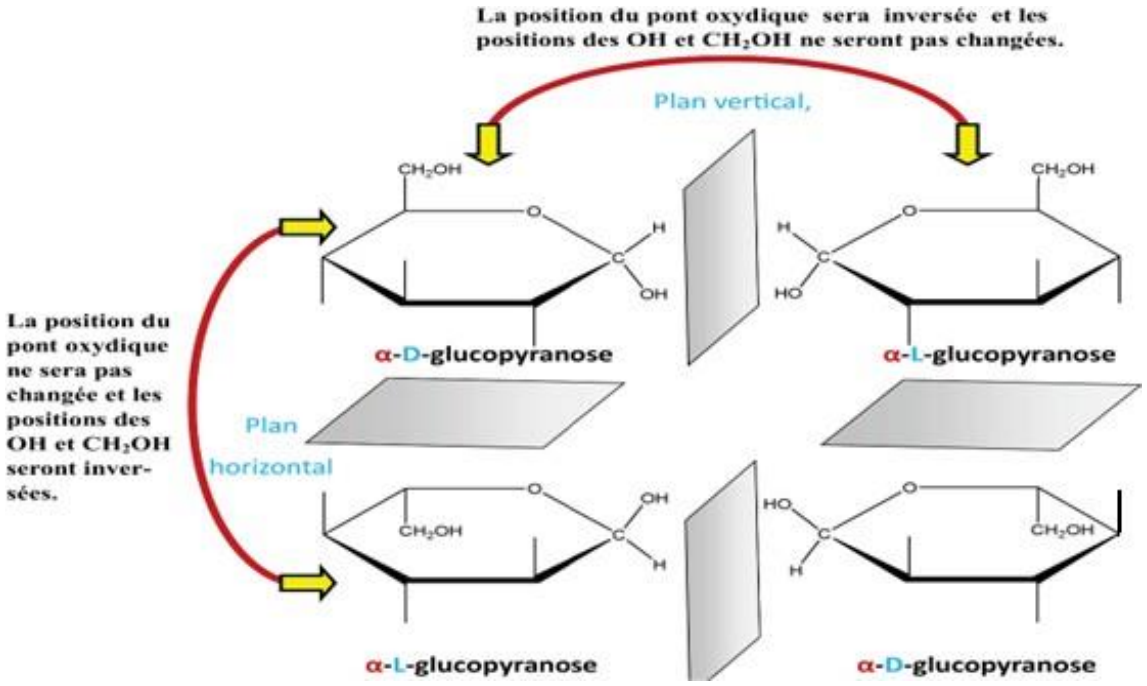


Fig. 16. L'énantiomère d'un ose cyclique.

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).

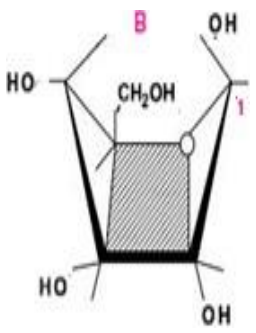
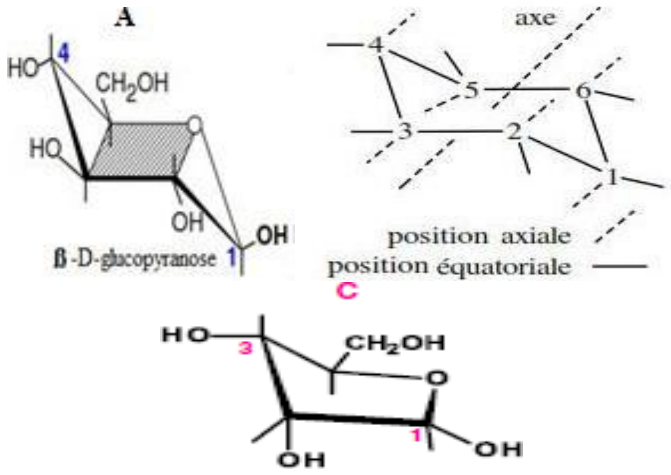
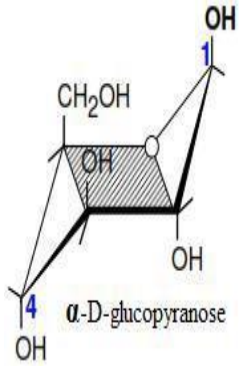
Forme bateau	Formes chaises	
		
Instable	**Stable**	**Encombrante**

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 α >0) : la molécule est **dextrogyre** (du latin *dexter* : droit) notée (+). Si la rotation s'effectue en sens inverse, (gauche α <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**.

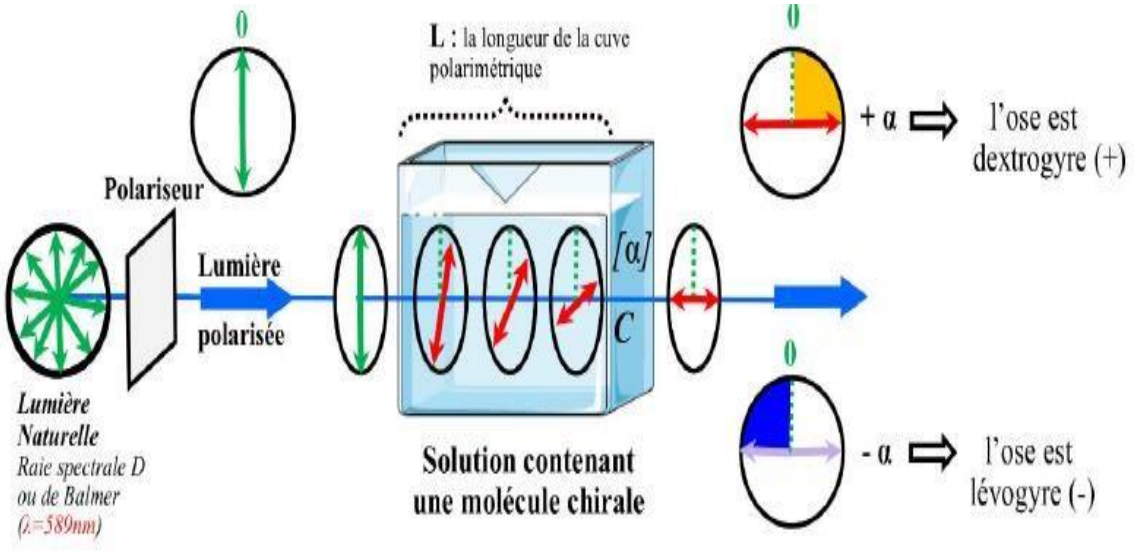


Fig. 18. Schéma d'un polarimètre.

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**.

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

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

$[\alpha]^{D}_{20°C\text{soluté}}$ **:** 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 (λ = 589nm).

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 :

$$\alpha_{\text{mélange}} = \alpha 1 + \alpha 2 + \alpha 3 + \cdots \alpha n \text{ ou } \alpha = \sum(\alpha i \times l \times Ci)$$

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° où 64 % de la molécule de glucose est sous la forme ß-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.

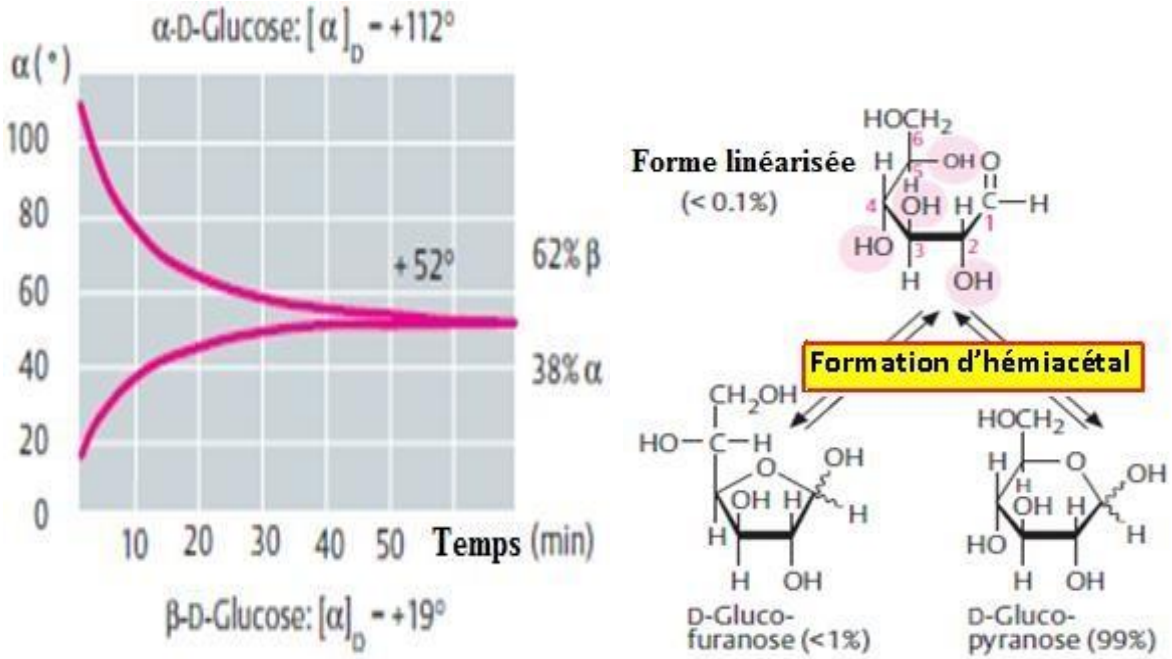


Fig. 19. Le phénomène de mutarotation.

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° (molécule dextrogyre) ; pour le fructose le pouvoir rotatoire est de -92° (molécule dextrogyre).

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 organiques 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 (ositols)

Les aldoses et les cétoses 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 cétose) par le $NaBH_4$ donne un mélange équimoléculaire de D-glucitol et de D-mannitol, des alditols épimères en C_2 (Fig. 20).

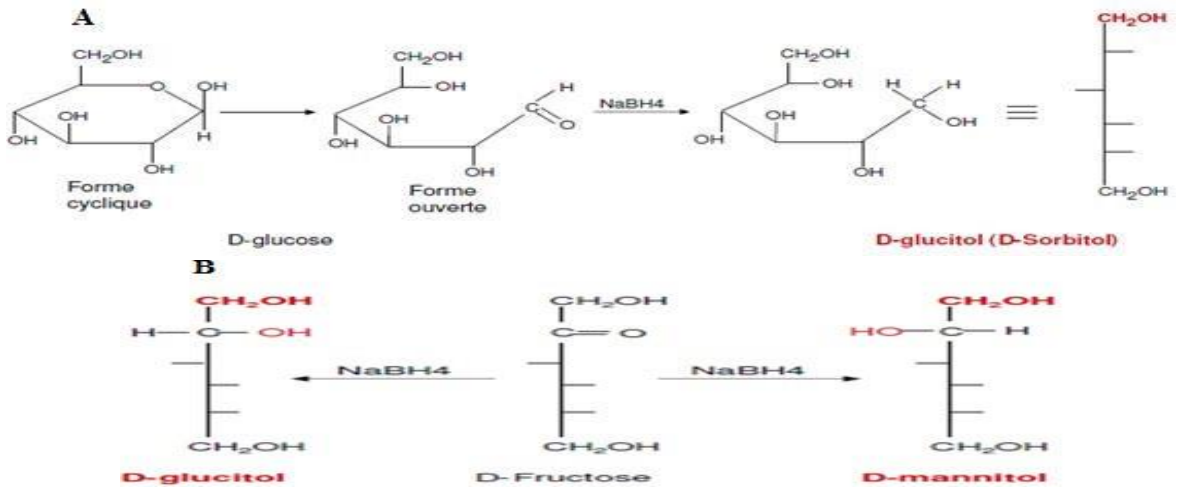


Fig. 20. Formation d'alditol à partir d'un aldose (A) et d'alditols épimères à partir d'un cétose (B) au cours des réactions de réduction.

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 (Br_2), l'iode (I_2) et l'acide nitrique dilué (NHO_3) 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).

$$R - CHO + I_2 + OH \rightarrow R - COOH + 2I^- + Na^+ + H_2O$$

Aldose (Fonction aldéhydique) **Acide aldonique**

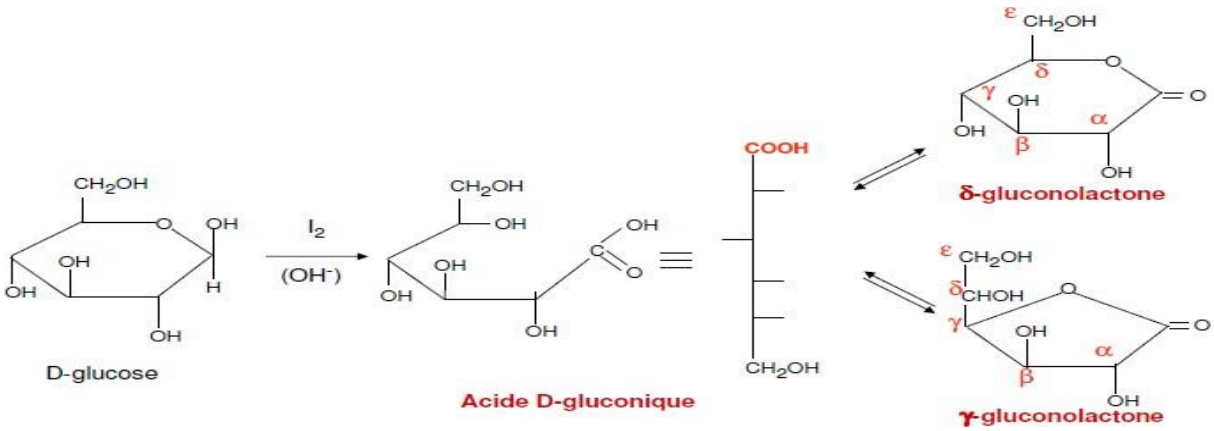


Fig. 21. Oxydation d'un aldose en milieu alcalin et à froid.

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 connaitre 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 é et de protons H^+). En milieu alcalin, les sels métalliques (cuivre, fer, argent, mercure, etc.) sont réduits par la fonction pseudo-aldehydique. 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 connaitre 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

$$R-CHO + 2Cu(OH)_2 \rightarrow R-COOH + Cu_2O + 2H_2O$$

Aldose — **L'oxyde cuivrique (Bleu)** — **Acide aldonique** — **Oxyde cuivreux (Rouge brique)**

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).

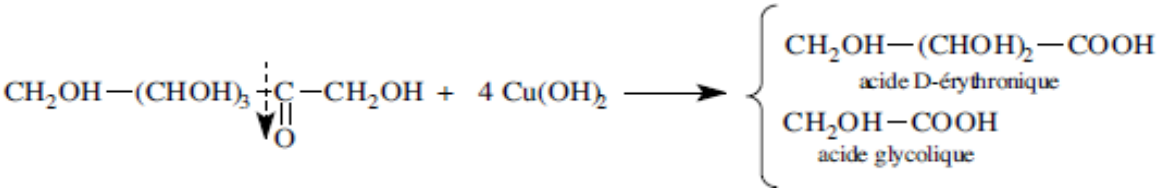


Fig. 23. Action de la liqueur de Fehling en présence d'un cétose.

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 cétoses au niveau de la fonction cétone et formation d'un mélange d'acides carboxyliques (Fig. 24).

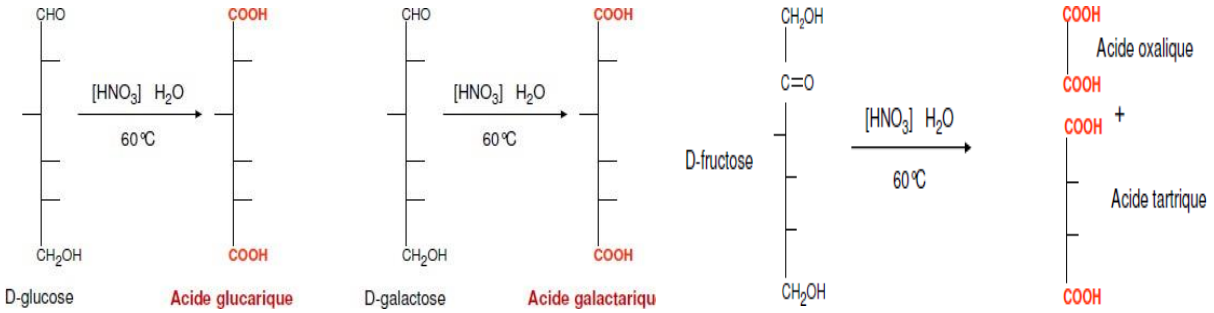
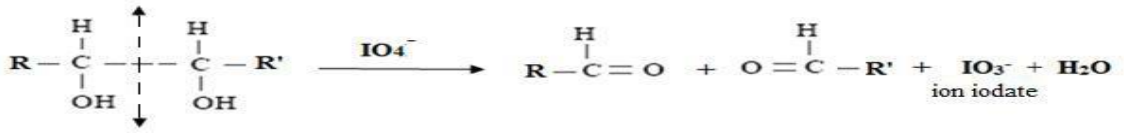


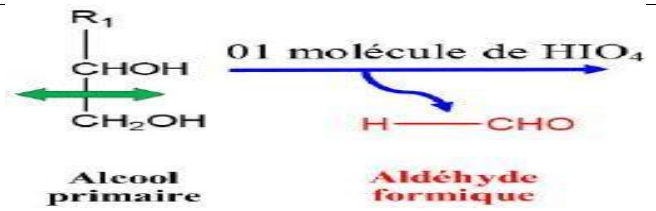
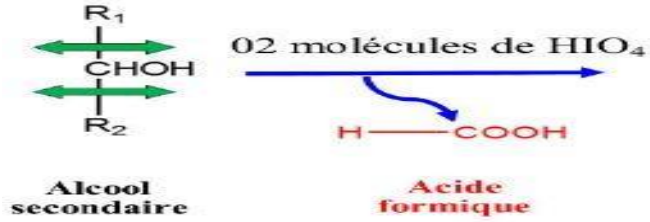
Fig. 24. Action de l'acide nitrique sur les aldoses et les cétoses.

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.



Les carbones porteurs de fonction alcool primaire se transforment en aldéhyde formique (formol = HCHO).	
Tandis que les carbones porteurs de fonction alcool secondaire se transforment en acide formique (HCOOH)	

L'ose est d'abord méthylé pour protéger l'hydroxyle anomérique en C_1 puis soumis à l'action de l'HIO_4. En étudiant les produits de la réaction et le nombre d'HIO_4 consommés, on peut déduire le nombre, la nature et la position des groupements hydroxyles libres (Fig. 25).

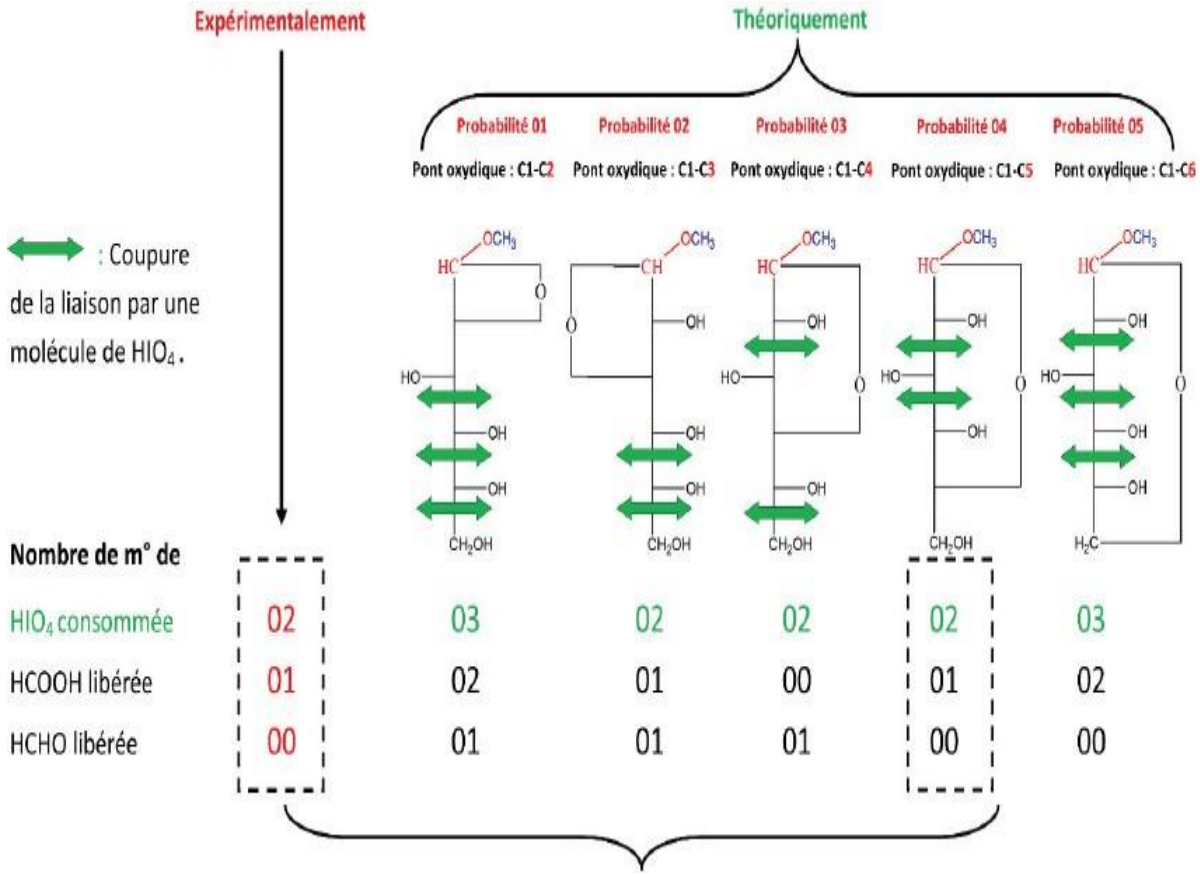


Fig. 25. Exemple de l'action de l'acide périodique sur la molécule de glucose. Ces résultats permettent de conclure que le pont d'oxydation est localisé entre le C_1 et le C_5.

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).

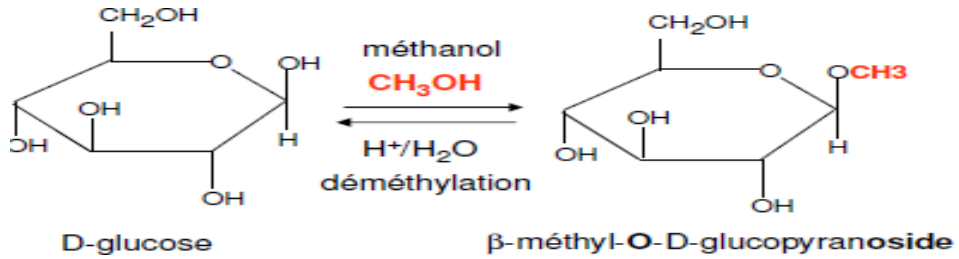


Fig. 26. Action du méthanol sur le glucose.

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

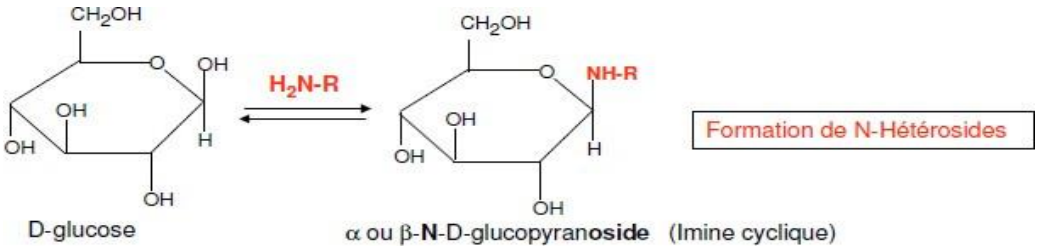


Fig. 27. Action des amines sur les oses.

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 cétoses par contre ne se combinent pas.

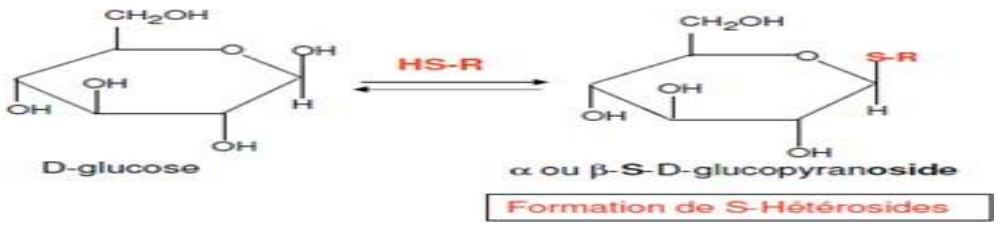


Fig. 28. Combinaison du groupement aldéhydique des aldoses avec des thiols et formation d'un S-Hétéroside.

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).

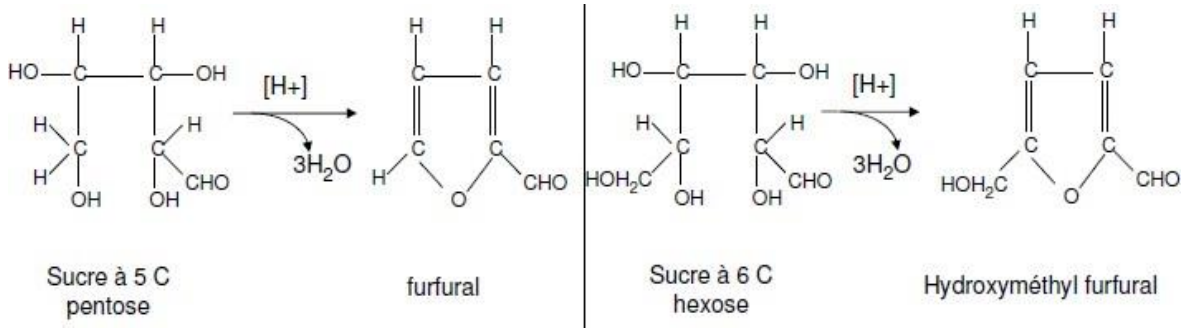
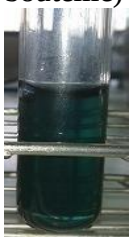
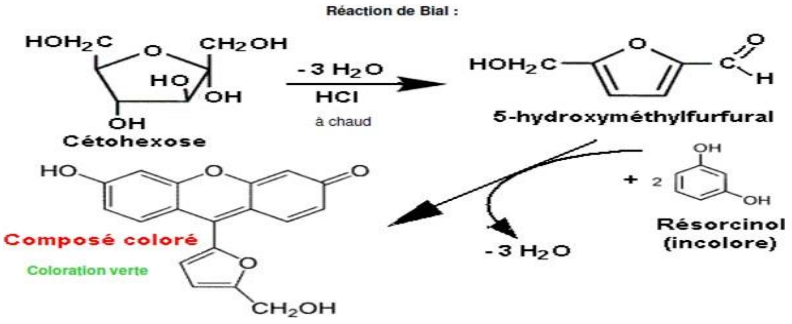
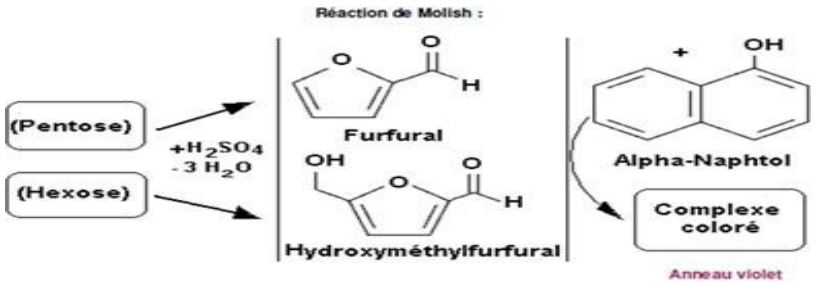
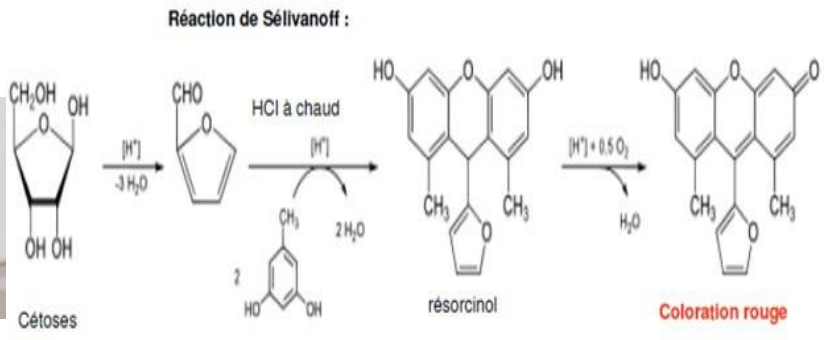


Fig. 29. Formation d'un furfural et d'un dérivé du furfural par action d'un acide concentré à chaud sur un ose.

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 Molish	Tous les oses 	
Réaction de Sélivanoff	Cétoses (Rouge cerise) 	

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).

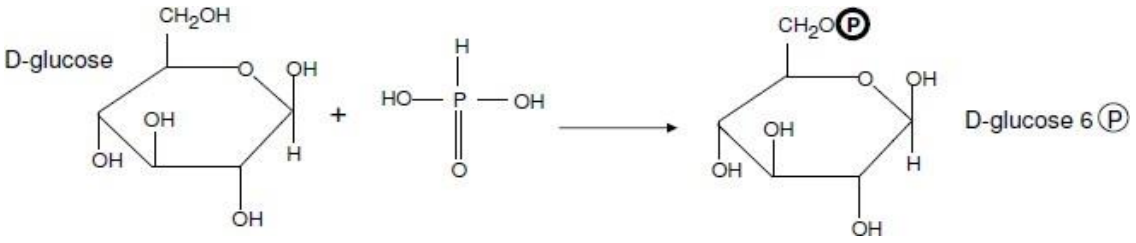


Fig. 30. Formation des esters d'oses.

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 (R-O-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 $(CH_3)_2SO_4$ en milieu alcalin (NaOH) (Fig. 31).

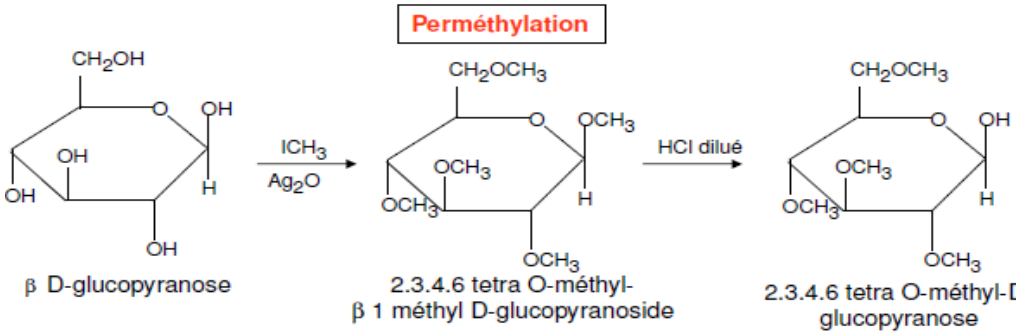


Fig. 31. Réaction de méthylation du glucose.

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 parle 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.

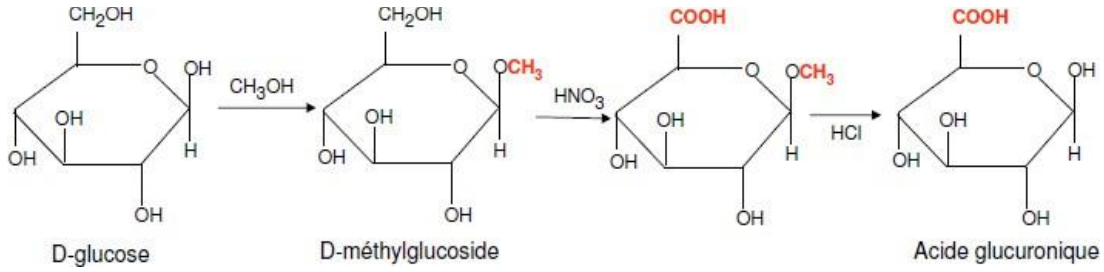


Fig. 32. Formation d'acide glucuronique par oxydation de la fonction alcool primaire du glucose.

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 phenylhydrazone. A chaud, l'ose peut réagir avec deux molécules de phénylhydrazine et former une molécule d'osazone (Fig. 33).

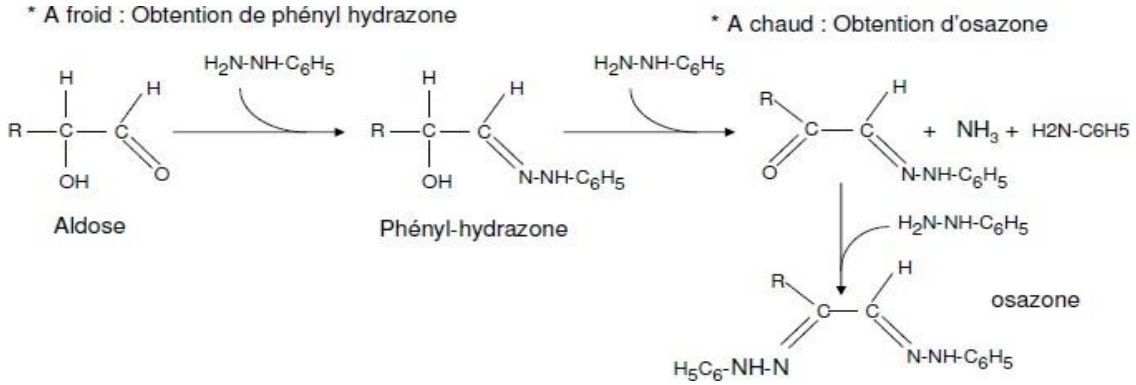


Fig. 33. Action de la phényl hydrazine sur un ose.

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

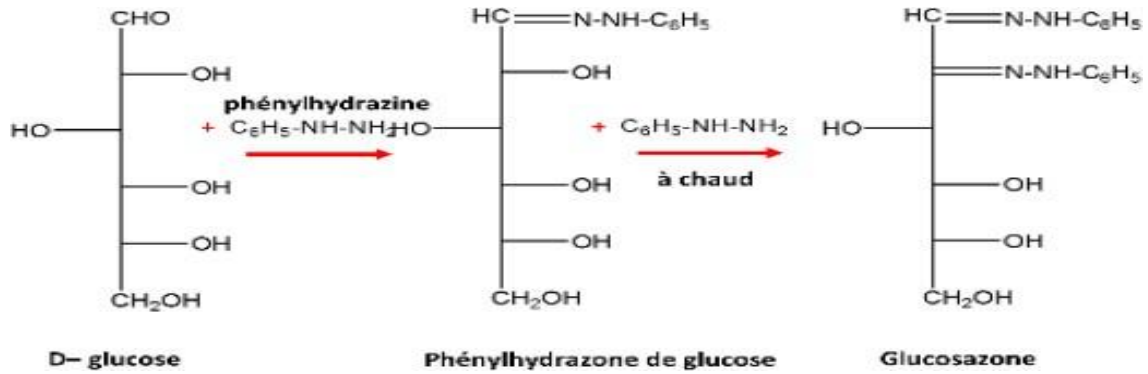


Fig. 34. Les produits de la réaction du D-glucose avec une molécule de phénylhydrazine à chaud et à froid.

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

Dans le trans-ènediol, le carbone C_2 n'est plus asymétrique, il peut subir un réarrangement pour donner un cis-ènediol (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.

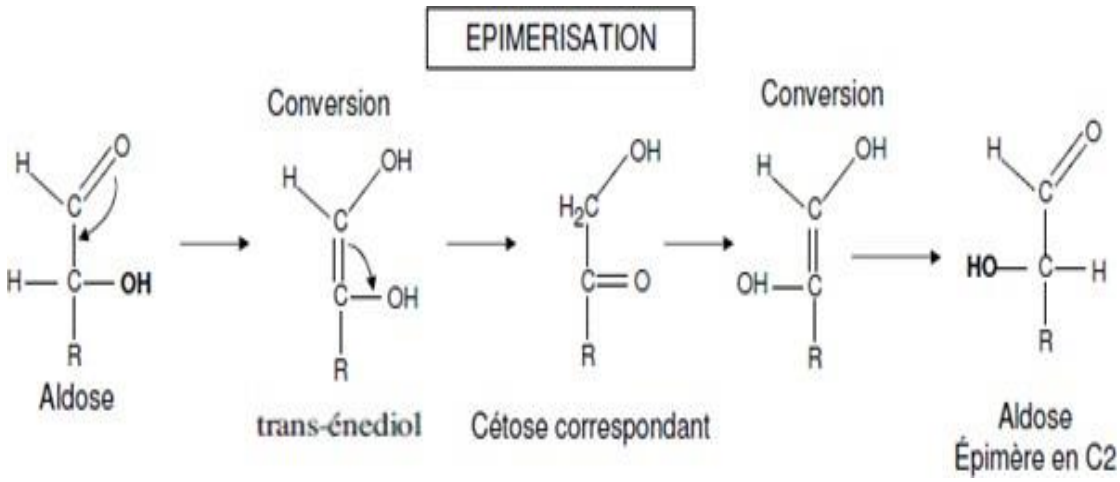


Fig. 36. Phénomène d'interconversion des oses.

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.

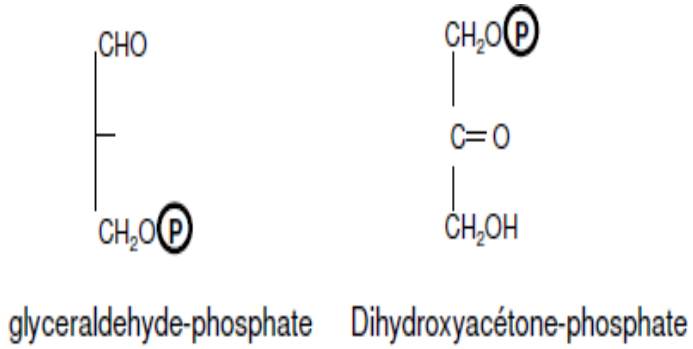


Fig. 37. Les dérivés phosphorylés du glycéraldéhyde.

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 polyosides de matrices extracellulaires animales, ou comme ose de branchement des glycanniques 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 polyoside 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).

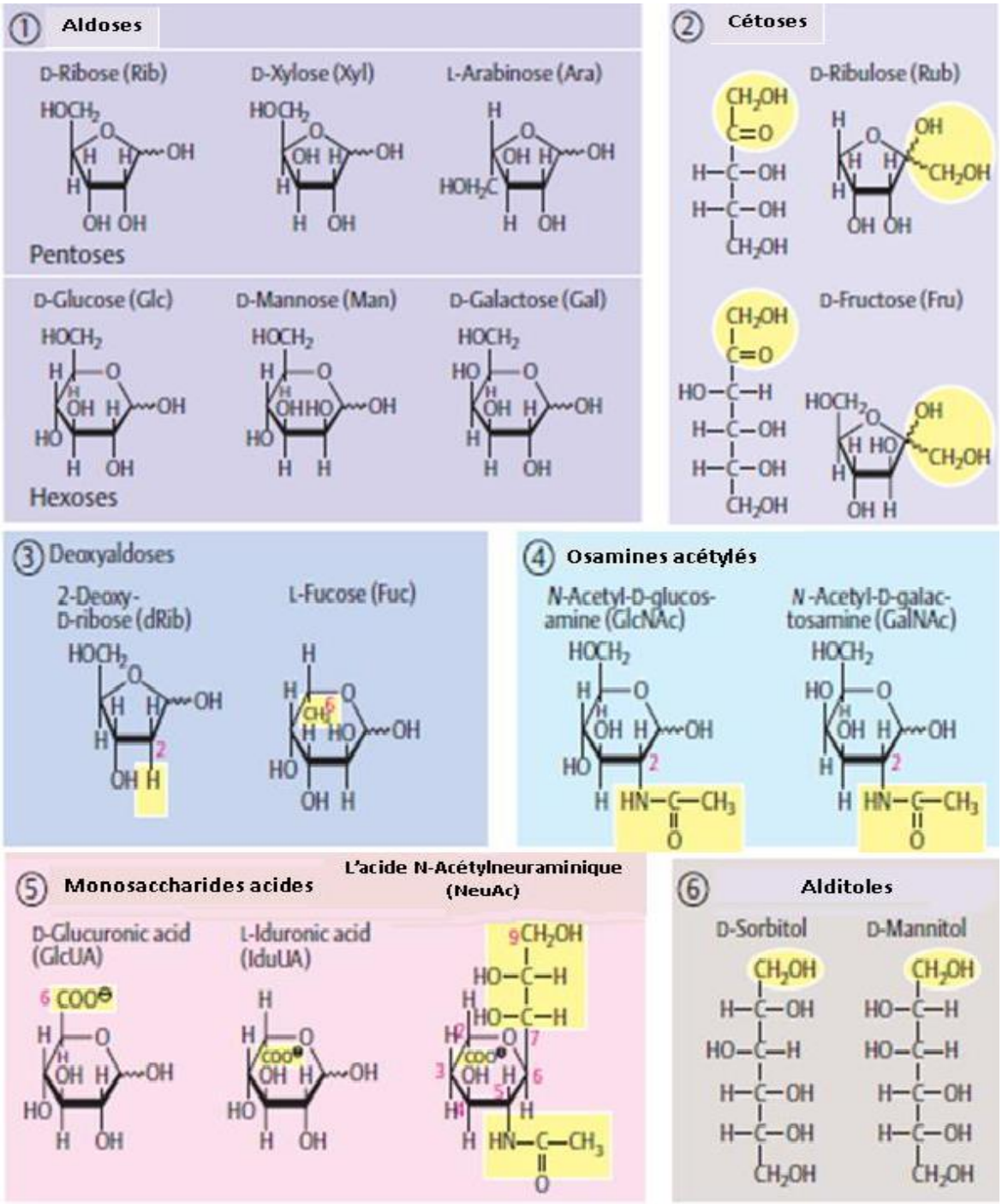


Fig. 38. Principaux monosaccharides et leurs dérivés rencontrés dans la nature.

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 C_2 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 polyosides 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.

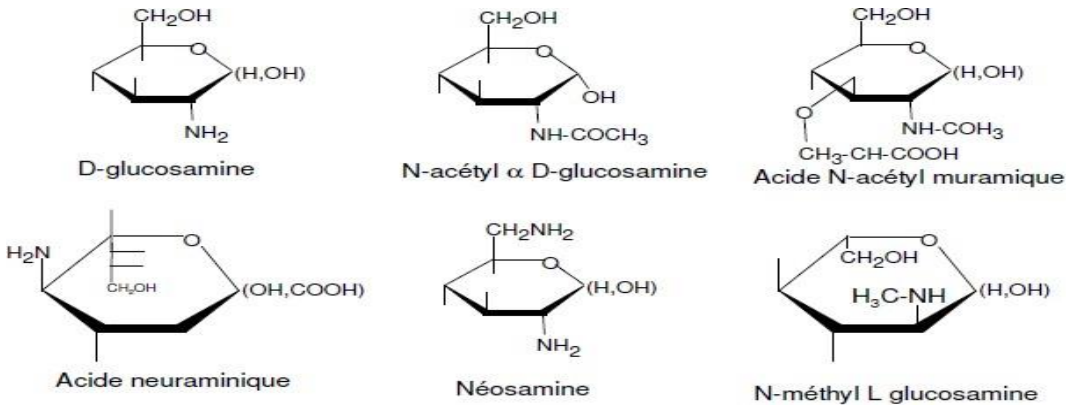


Fig. 39. Structures de quelques hexoamines.

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 C1) 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.

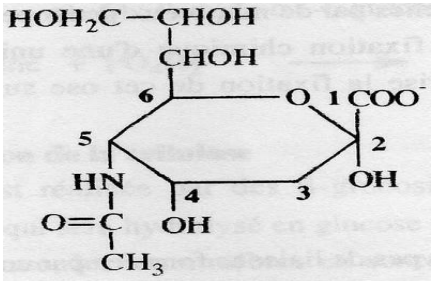


Fig. 40. Structures de l'acide sialique:
NeuNAc acide N-acétylneuraminique

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-gulanique. Son pouvoir réducteur lui permet d'être facilement oxydable en acide déhydroascorbique.

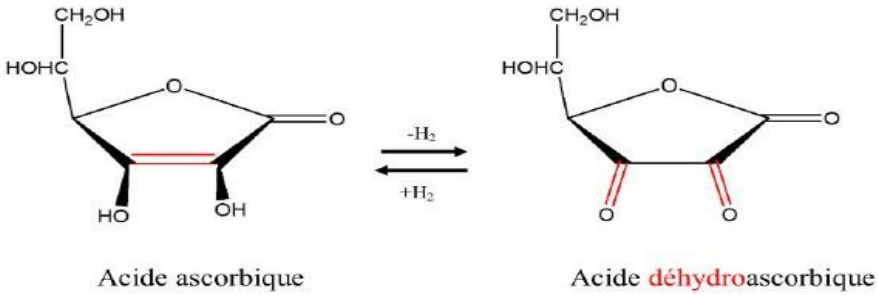


Fig. 41. Structure de la vitamine C.

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 gommes, mucilages et pectines des végétaux.

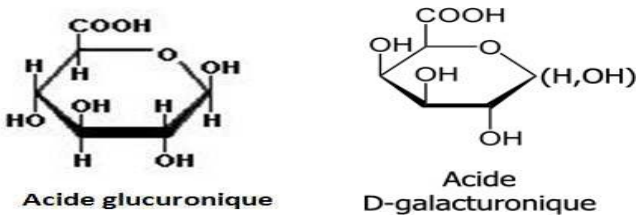


Fig. 42. Structure des deux acides glucuronique et galacturonique.

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 glycéraldéhyde, 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 êtres 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 polyosides 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 cétoses), en position α ou β, avec un hydroxyle d'un autre ose (Fig.43).

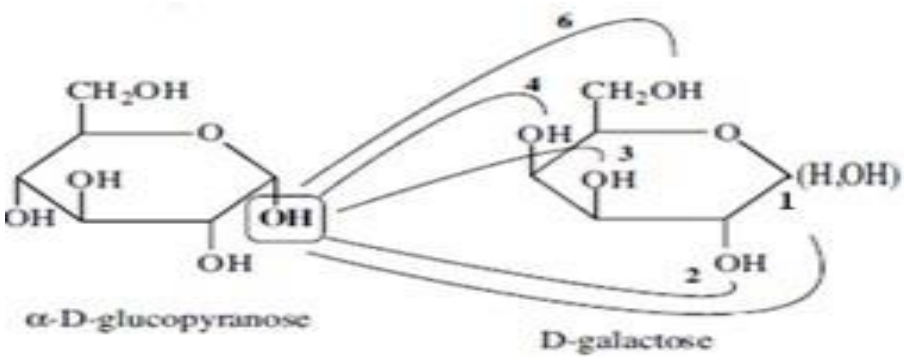


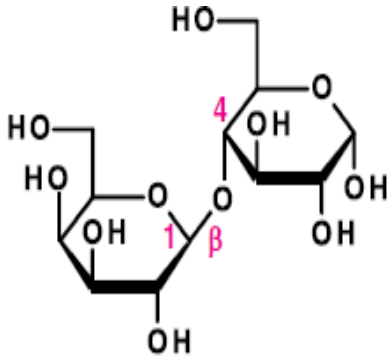
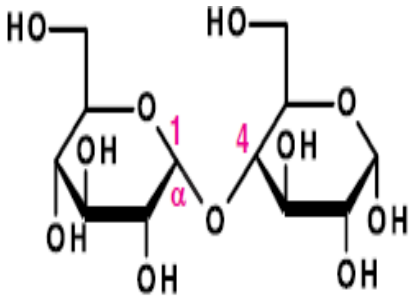
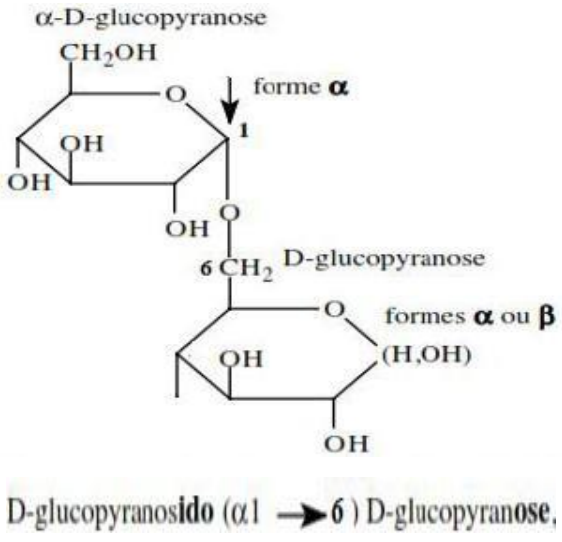
Fig. 43. Les différentes possibilités pour lier l'α D-glucopyranose par son –OH hémiacétalique à l'α D-galactopyranose.

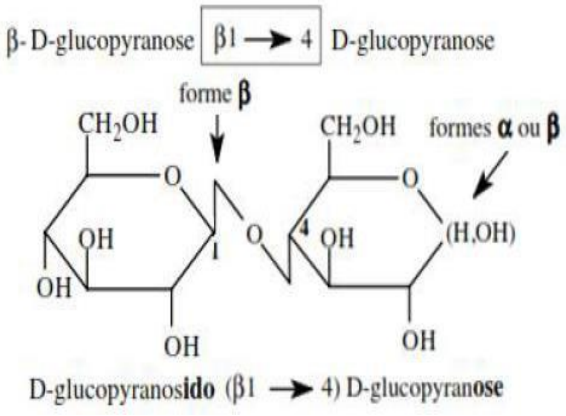
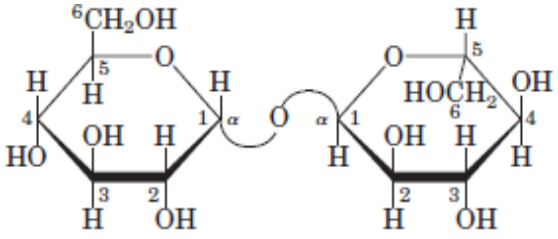
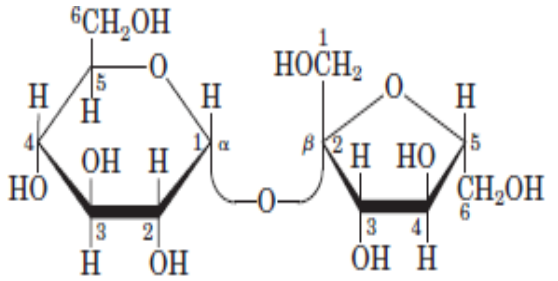
La liaison osidique d'un holoside est caractérisée par l'anomérie, la série, les types d'oses et la forme de leurs cycles (pyrane ou furane) tout en commençant par l'ose qui est le plus à gauche ou en haut par rapport à la molécule. Le nom du 1er ose et ceux qui sont en position intermédiaire se termine 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)  D-glucopyranosido (β1 → 4) D-glucopyranose	**β-D-glucose** **+ α ou β** **D-glucose** **β(1→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(α1↔1α)Glc	**α-D-glucose** **+** **α-D-glucose** α(1→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(α1↔2β)Fru	**α-D-glucose** **+** **β-D-fructose** **α(1→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 (α1→ α1).

Saccharase ou sucrase : enzyme intestinale, α-glucosidase, qui hydrolyse la liaison (α1→ β2) du saccharose mais aussi la liaison (α1→ 4) du maltose.

Invertase : c'est une β-fructosidase spécifique de la liaison (α1→β2). Elle hydrolyse le saccharose mais n'hydrolyse pas le maltose.

Maltase : enzyme intestinale qui est une α-glucosidase spécifique de la liaison (α1→4) du maltose et de la liaison (α1→ β2) du saccharose.

Isomaltase : enzyme intestinale qui est une α-glycosidase spécifique de la liaison (α1→ 6) de l'isomaltose.

Lactase : enzyme intestinale qui est une β-galactosidase spécifique de la liaison (β1→ 4) du lactose. Elle n'hydrolyse pas le cellobiose.

Cellobiase : une β-glucosidase spécifique de la liaison (β1→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 (α1→6) **Saccharose** ou encore : D-galactopyranos**ido** (α1→6) D-glucopyranos**ido** (α1→ β2) D-fructofuran**oside. Le gentianose** est présent dans la gentiane. Il est noté Glc (α1→6) Saccharose.

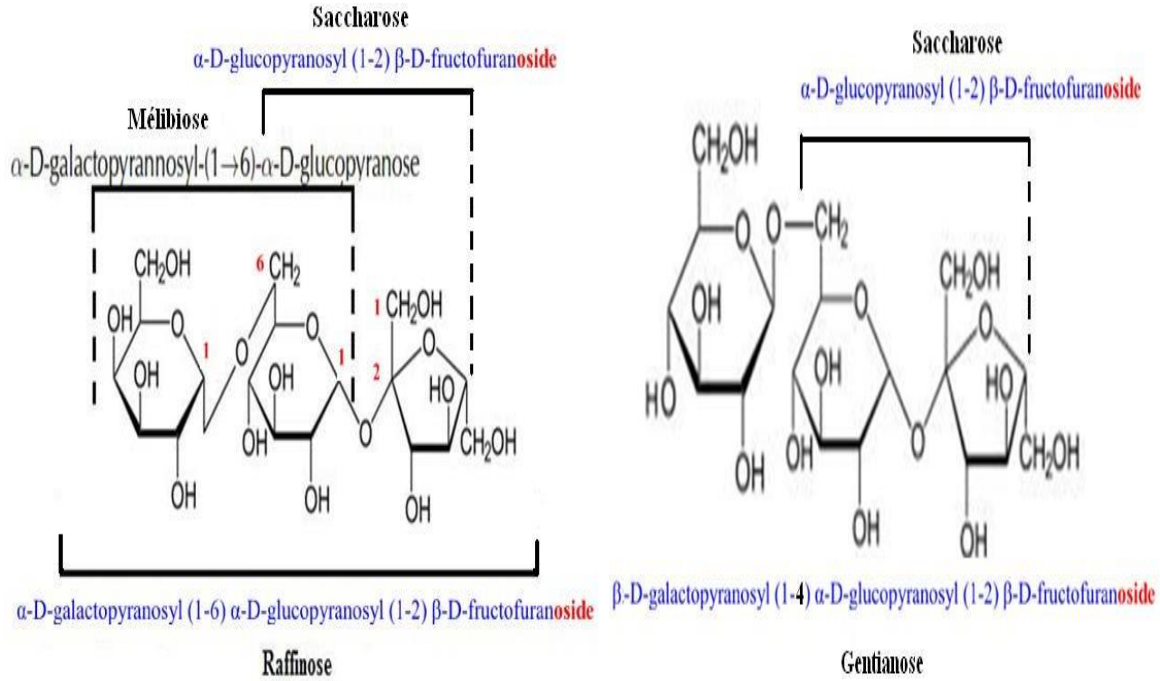


Fig. 44. Structure du raffinose et du gentianose.

II. 4. 4. Polysaccharides

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

Appelés aussi homoglucanes, 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-Glc*p*	α1→4	Glucane
Cellulose	linéaire	D-Glc*p*	β1→4	Glucane
Chitine	linéaire	D-Glc*p*N(Ac)*p*	β1→4	Chitosane
Amylopectine	ramifiée	D-Glc*p*	α1→4	Glucane
Glycogène	ramifiée	D-Glc*p*	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 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...). Cet 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 (α1→ 4). Sa masse moléculaire varie de 150 000 à 600 000.

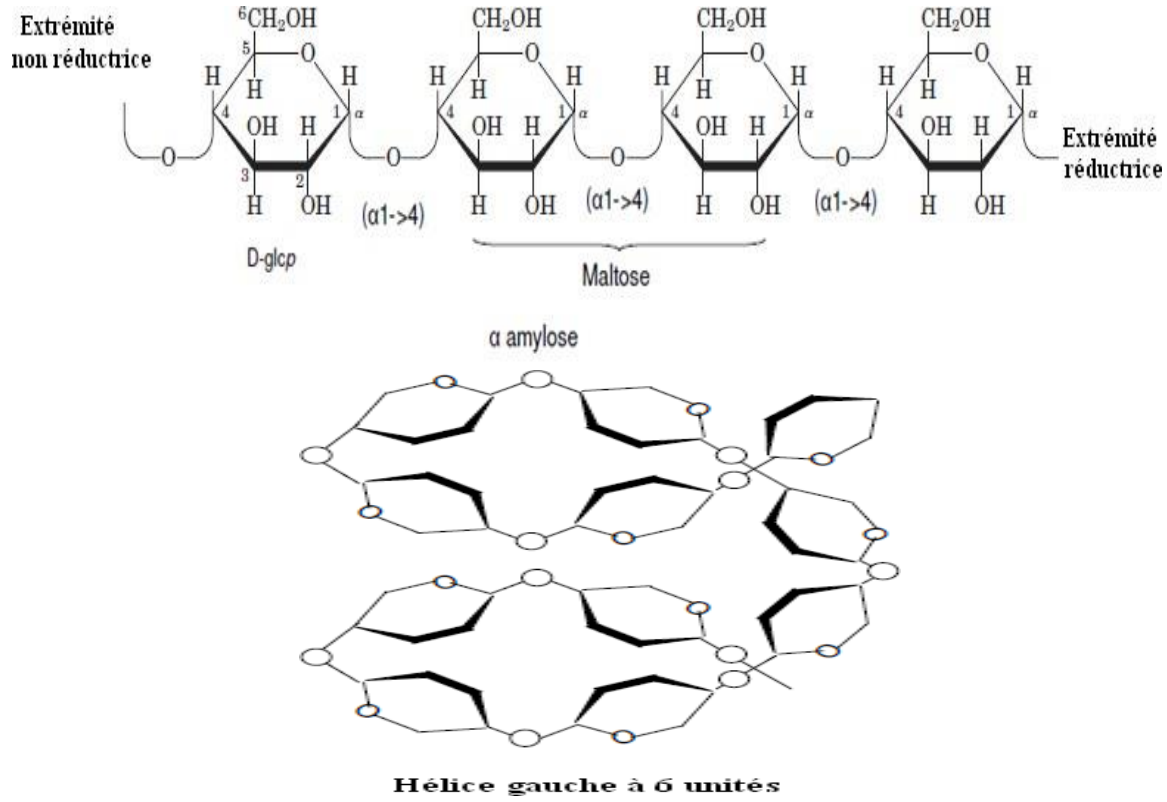


Fig. 45. Structure de l'amylose.

L'analyse des cristaux aux rayons X révèle une structure en hélice gauche par rotation autour de la liaison glycosidique (α1→ 4) et maintenue par une liaison hydrogène entre les hydroxyles en $\mathbf{C_2}$ du premier cycle et $\mathbf{C_3}$ du deuxième cycle, hélice à 6 glucoses par tour.

L'action de l'amylase 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 (α1→4) des points de branchement, se répétant environ tous les 20 à 30 résidus, sont formés par une liaison (α1→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.

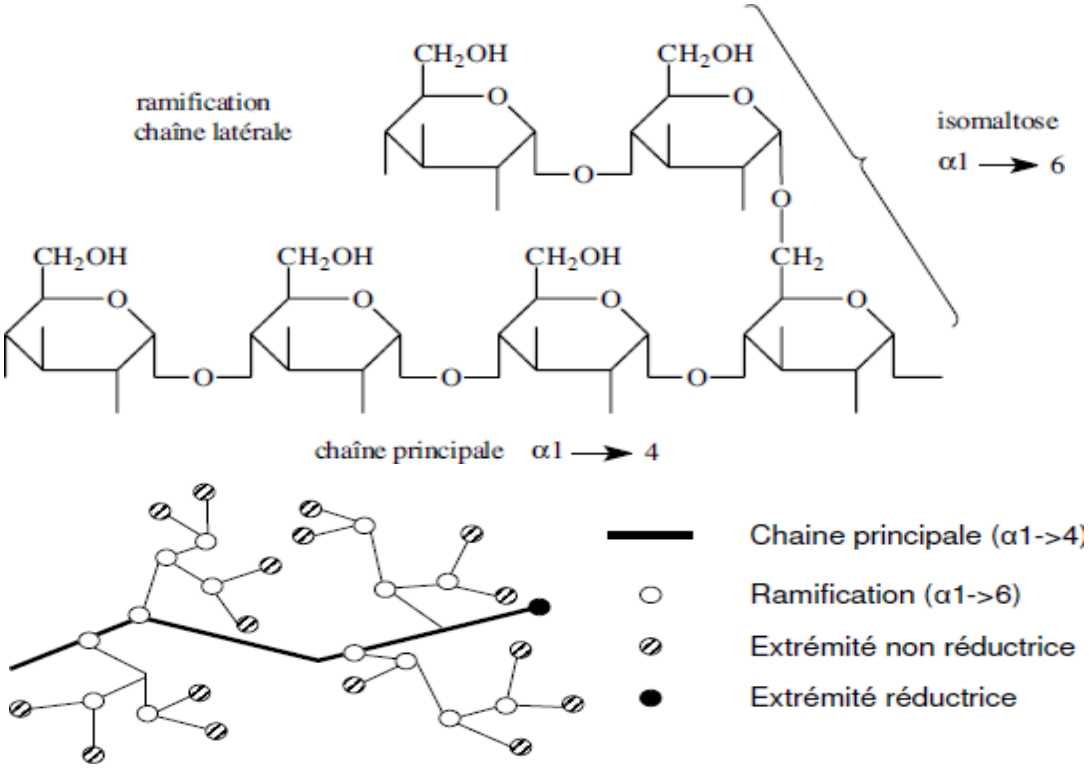


Fig. 46. Structure de l'amylopectine.

Les amylases peuvent libérer, comme pour l'amylose, des maltoses à partir de l'amylopectine précisément en coupant les liaisons α (1→4). La liaison α (1→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 chaines

linéaires par des liaisons osidiques de type (α1→4), avec des ramifications par branchement entre chaines par des liaisons de type (α1→6).

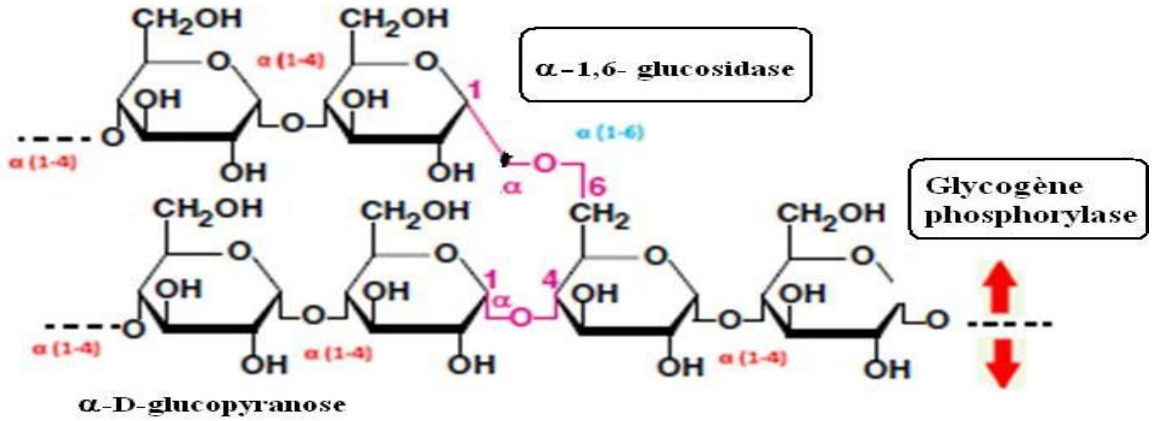


Fig. 47. Structure du glycogène.

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'ou 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 (α1→ 6) : l'amylo α1-6 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 (β2→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 (α1→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 : (β1→ 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 **C_3** du monomère suivant.

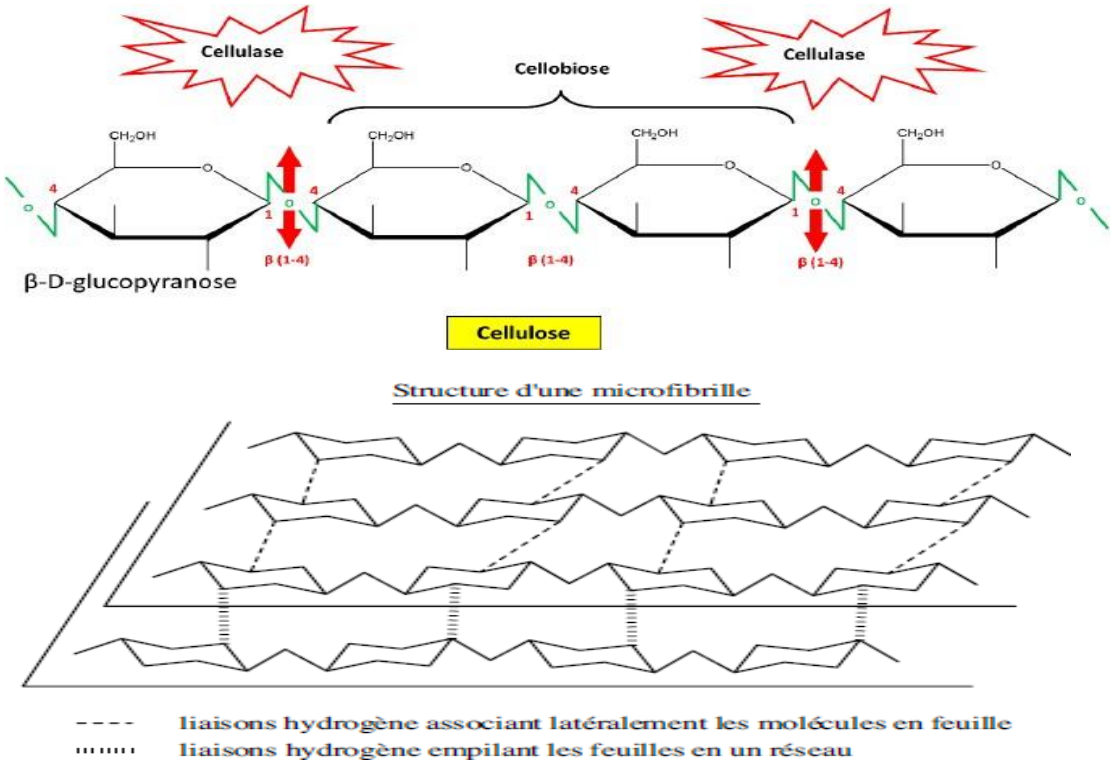


Fig. 48. Structure de la cellulose.

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 (β1→ 4)

La chitine (Fig. 49) est un polymère non ramifié de résidus *N*-acétylglucosamine unis par des liaisons (β1→4). Elle diffère de la cellulose que par le **C_2** 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).

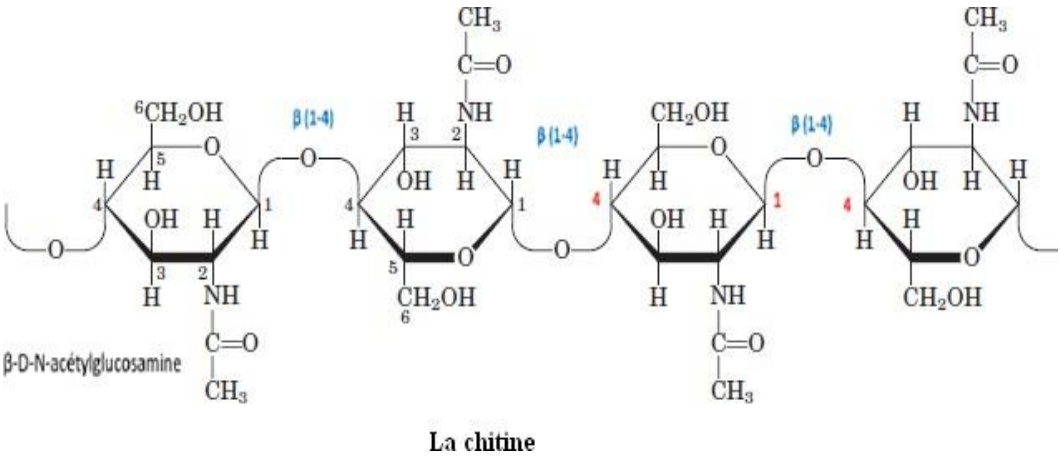


Fig. 49. Structure de la chitine.

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 + SO_4^{--}). 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 (α1→ 4).

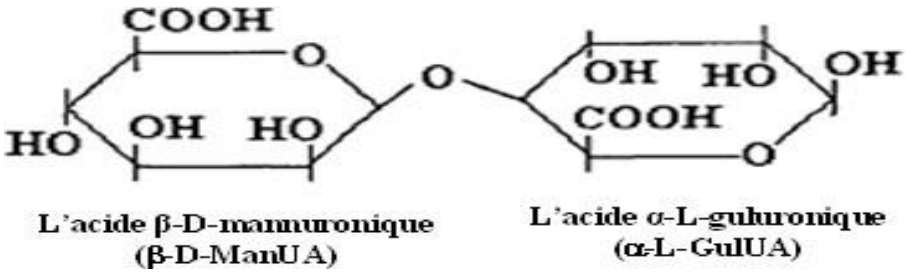


Fig. 50. Structure des alginates.

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 (β1→ 4).

Ces carrabioses sont liés entre eux dans la chaîne par des liaisons (α 1→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 : kappa (k) carrabiose, iota (i) carrabiose , lambda (l) carrabiose (Fig. 50).

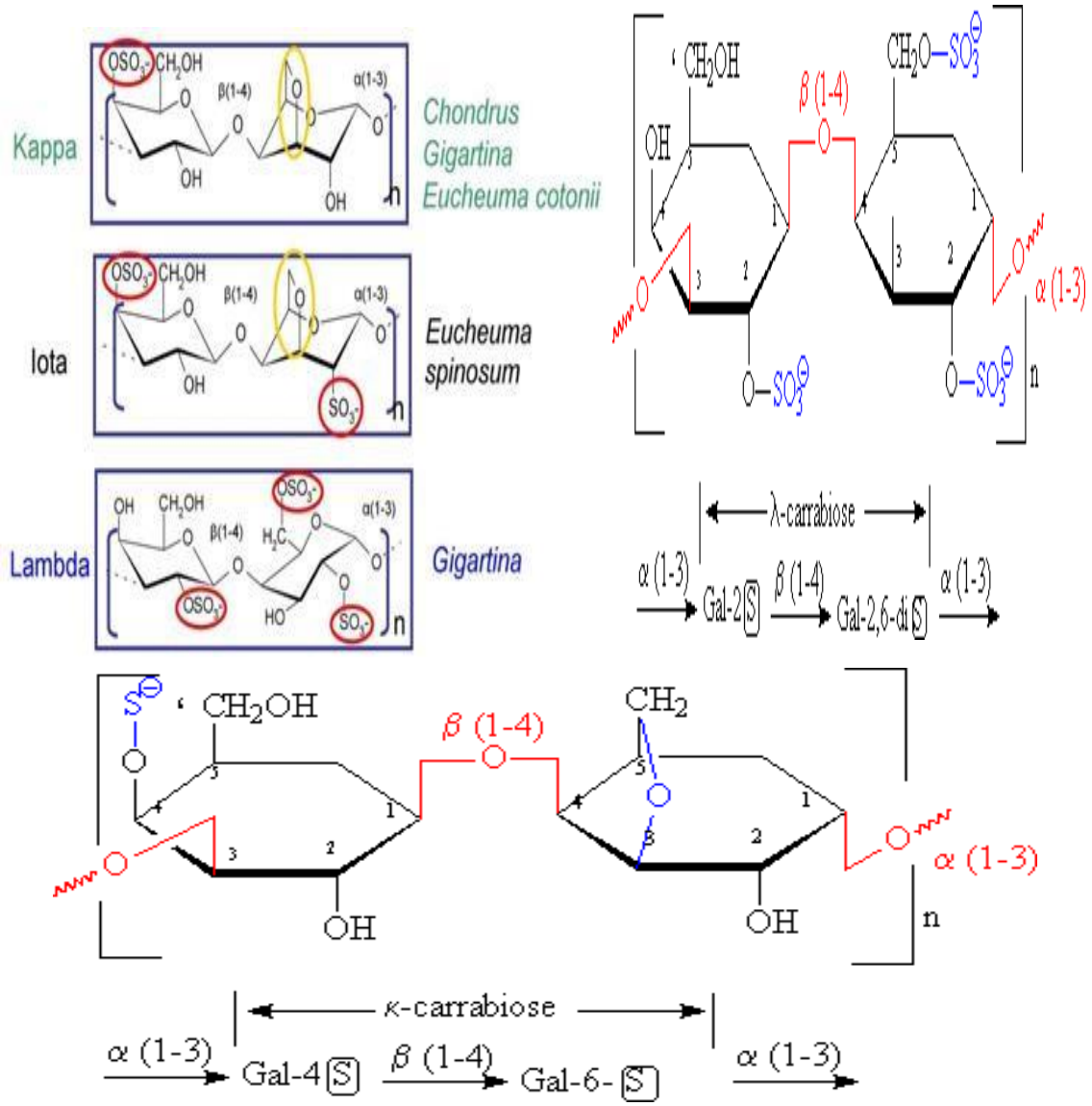


Fig. 51. Structure des différents types de carrabioses.

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).

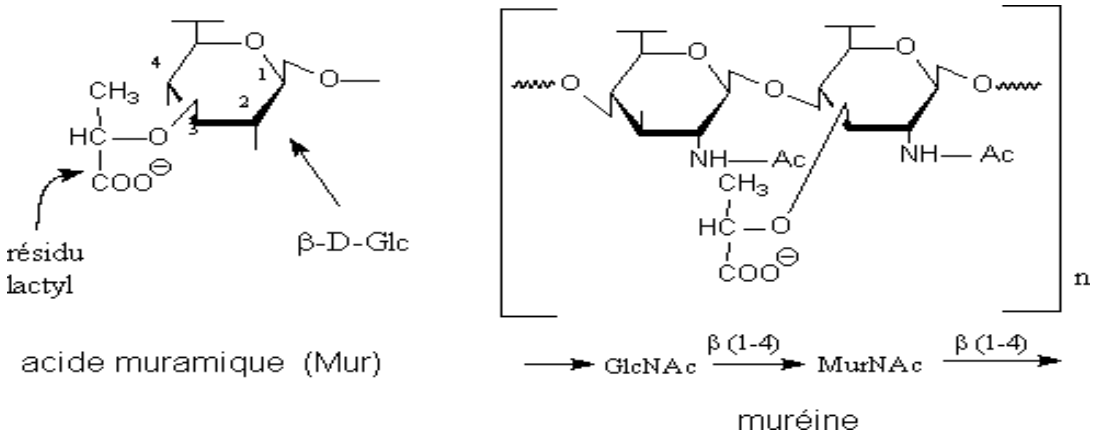


Fig. 52. Structure des polysaccharides bactériens.

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 g**lycolipides**. 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 glycoglycérolipides, 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 **thréonine)**.

d- Protéoglycannes (PG)

Ce sont des polyosides 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 protéoglycanes 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).

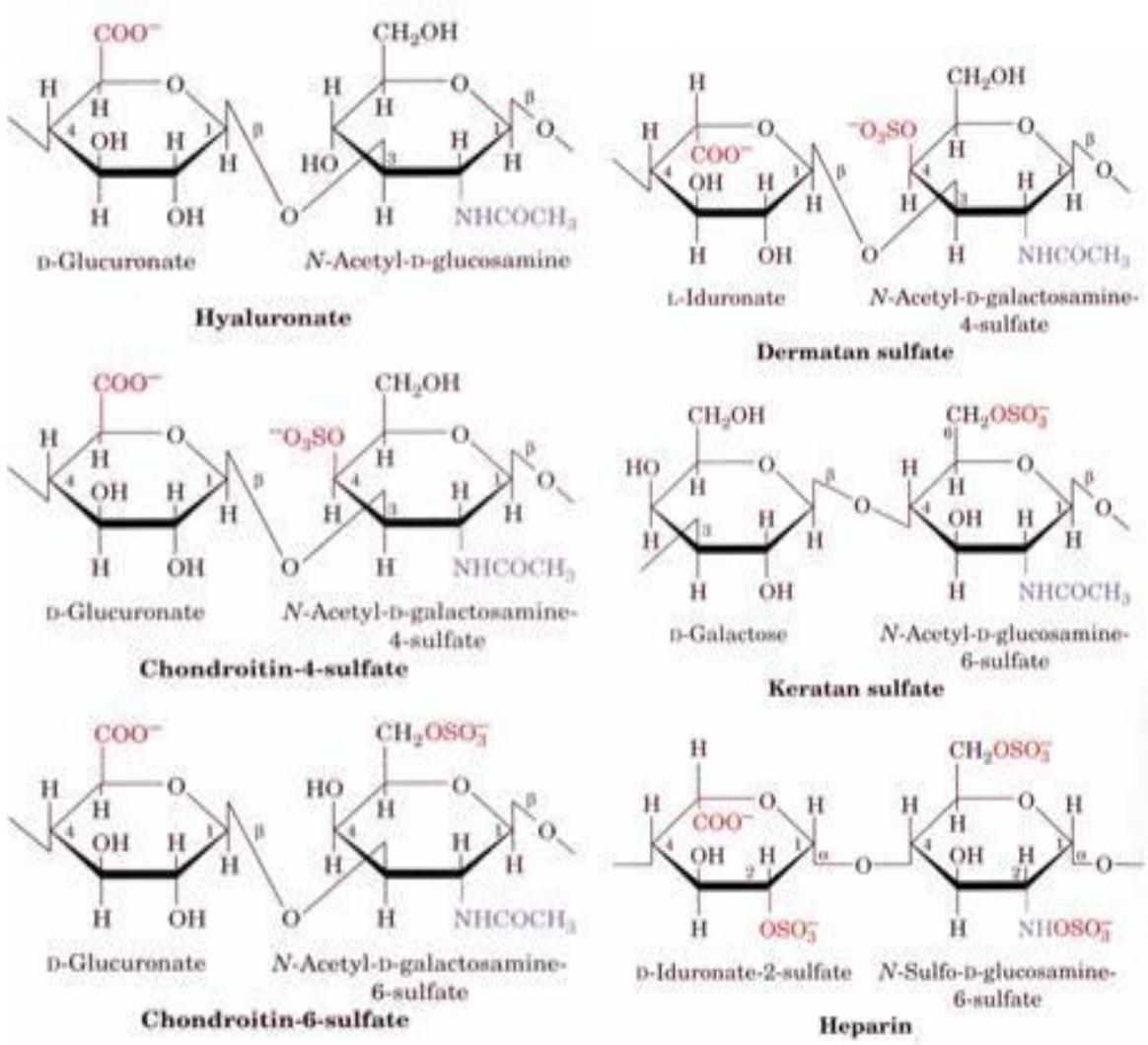


Fig. 53. Structure de certains protéoglycannes.

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 **C_3** avec l'acide lactique (acide muramique) et de deux oligopeptides : un tétrapeptide 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 tétrapeptide. Le pentapeptide relie les tétrapeptides de deux chaînes par son extrémité N-terminal avec l'extrémité C-terminal d'un tétrapeptide et par son extrémité C-terminal avec le NH_2 de la lysine, 3ème aminoacide de l'autre tétrapeptide.

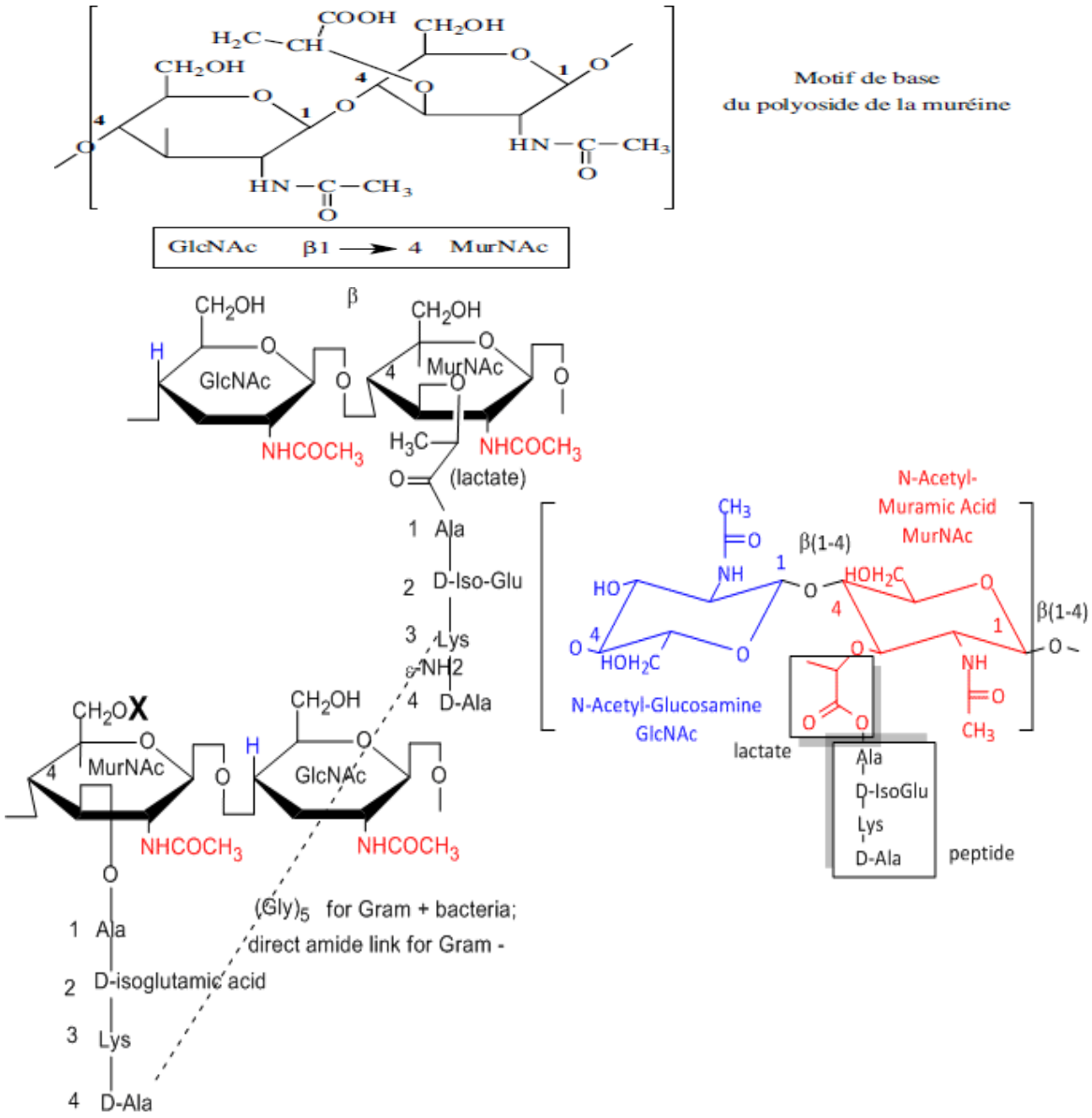
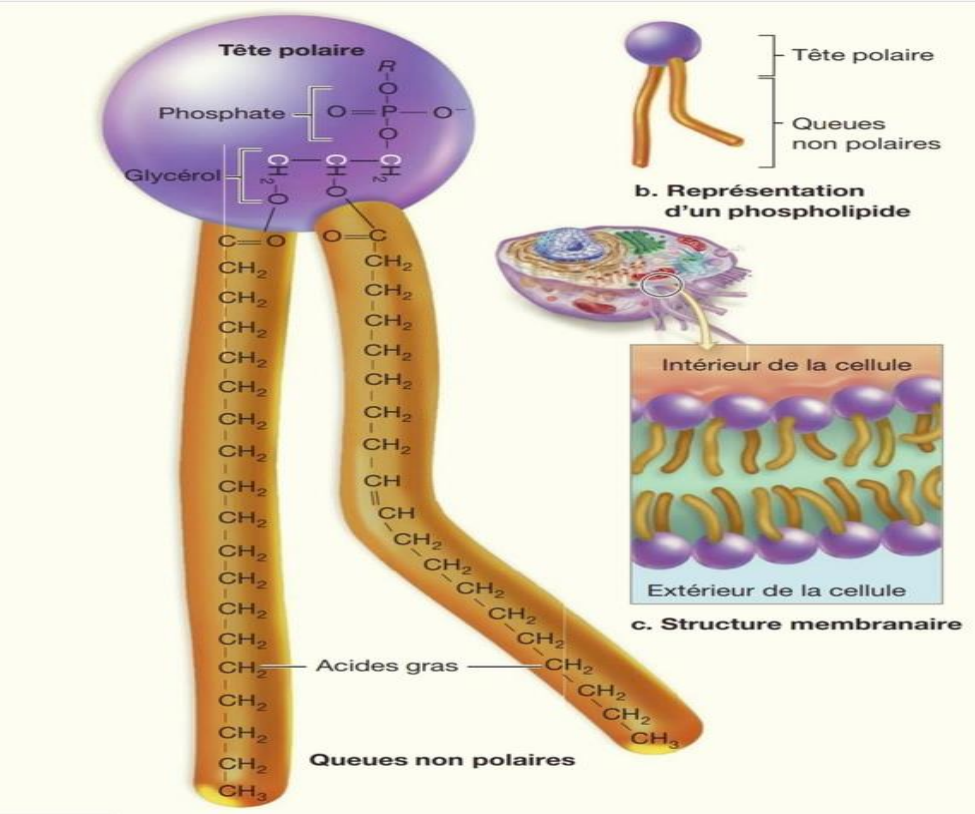


Fig. 54. Structure du peptidoglycanne formant la paroi des bactéries

CHAPTIRE III :

Lipides : Structure et propriétés physicochimiques



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.

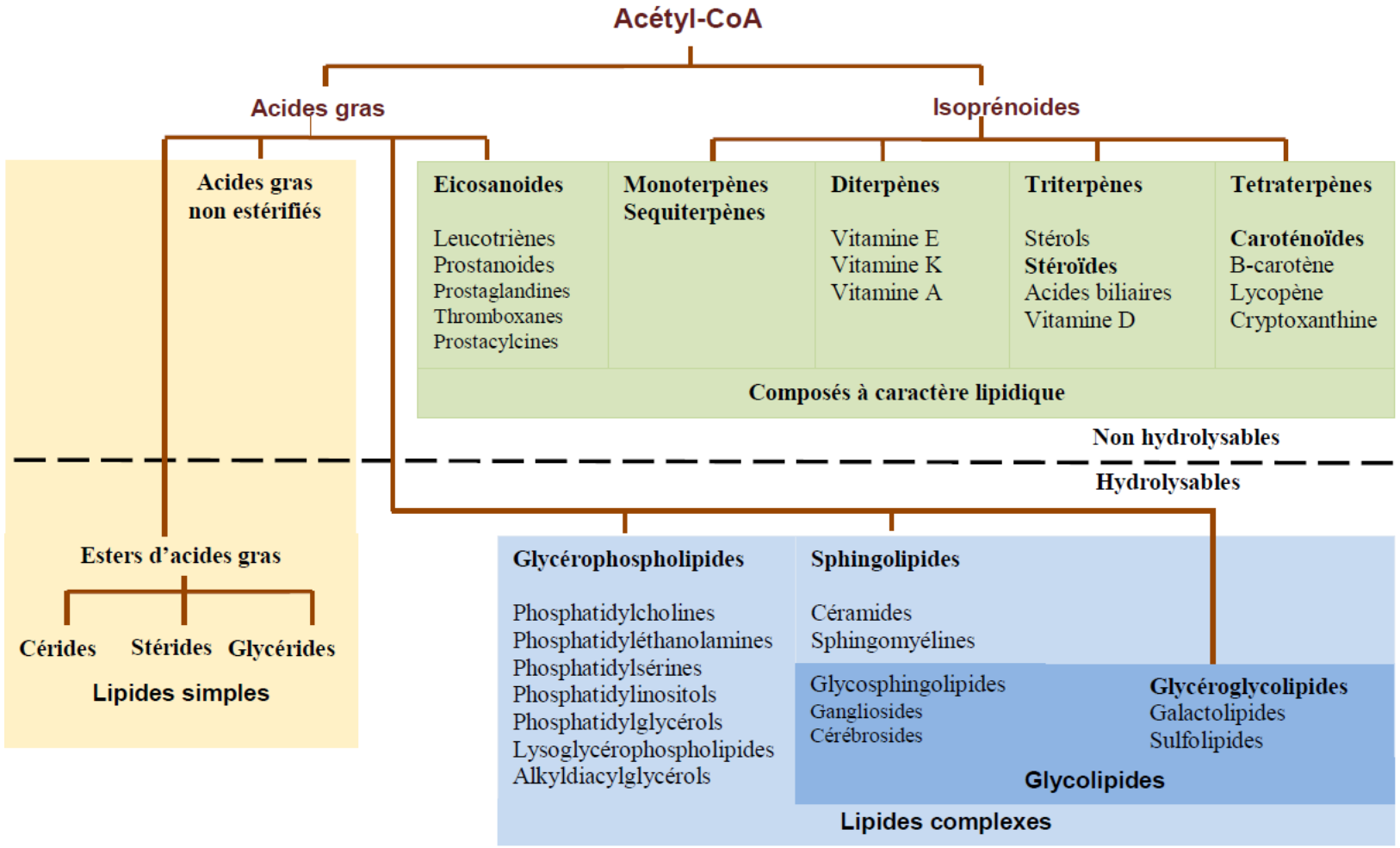


Fig. 55. Classification des lipides.

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.

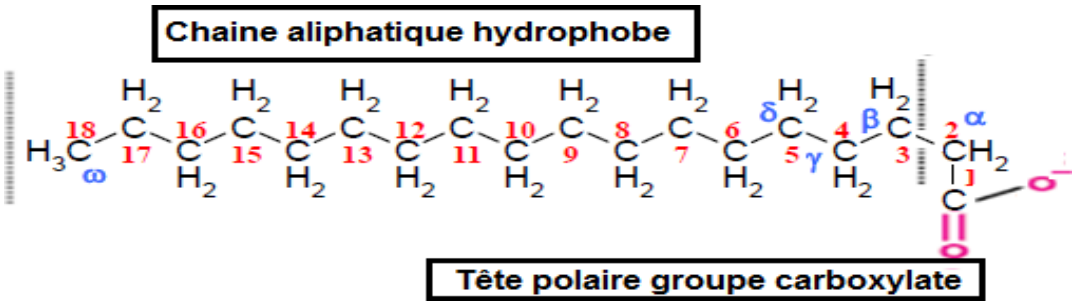


Fig. 56. Structure d'un acide gras.

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 propanoique et l'acide butyrique (C_4 : 0) ou acide butanoique.

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 CH_3 - $(CH_2)n$ – 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 **C_{16} :0**.

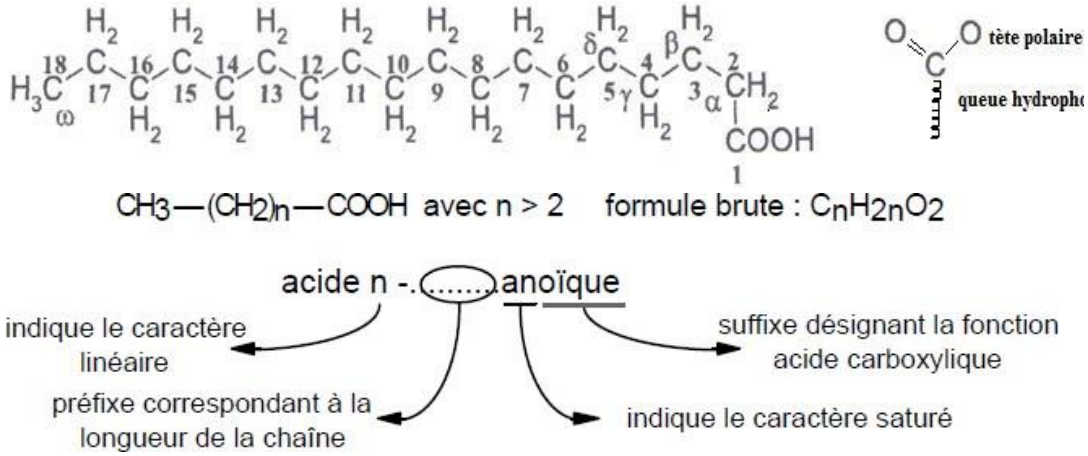


Fig. 57. Structure et nomenclature d'un acide gras saturé.

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 –HC=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 :1Δ^9. Exemple : *l'acide oléique* en C_{18} possède une double liaison en position 9. La présence de ces doubles liaisons leur confère des propriétés physico-chimiques particulières.

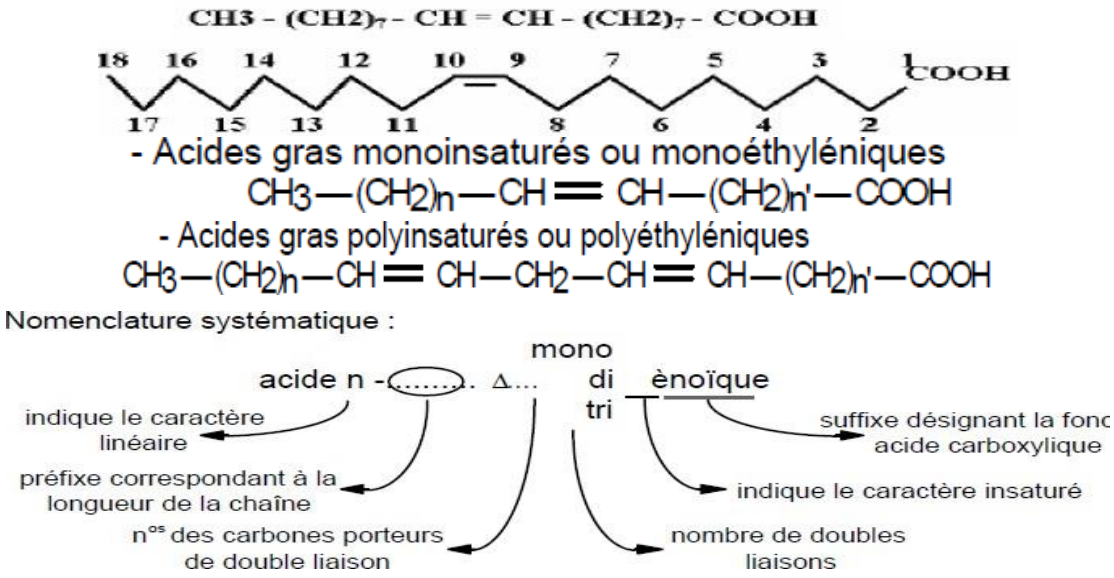


Fig. 58. Structure et nomenclature d'un acide gras insaturé.

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°.

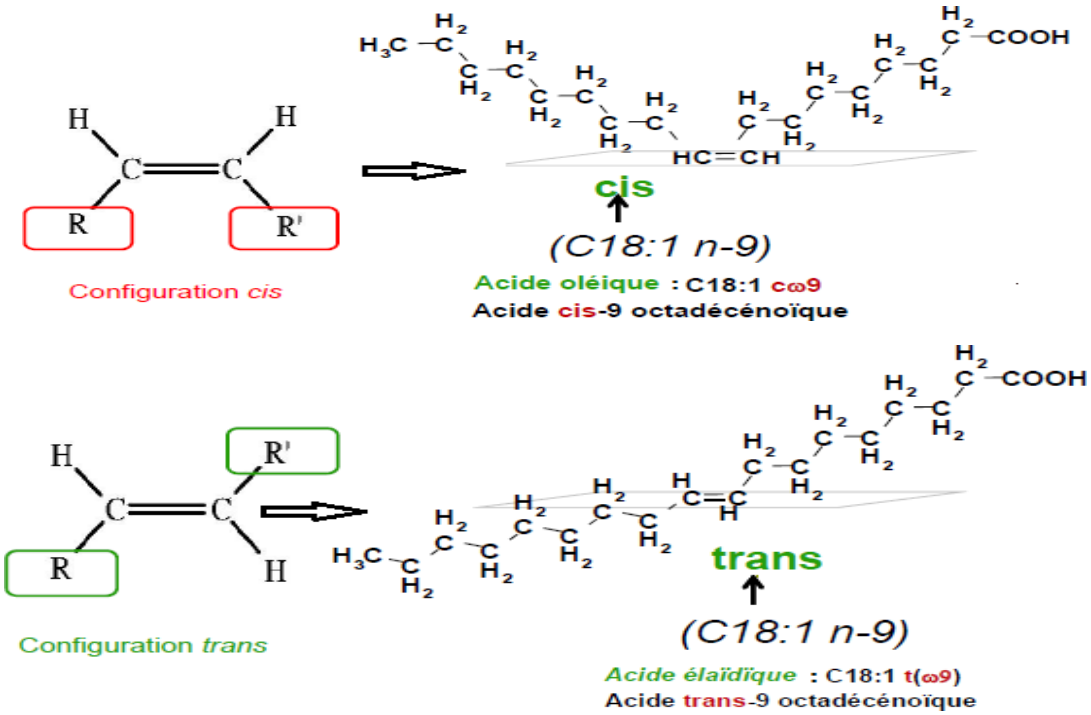


Fig. 59. Les configurations cis et trans d'un acide gras.

Dans la plupart des acides gras monoinsaturés (Tableau 9), la double liaison se situe entre les carbones C_9 et C_{10} (Δ^9). Les acides gras polyinsaturés comportent dans leurs chaînes plusieurs doubles liaisons toujours séparées par un ou plusieurs groupes méthylènes : –CH=CH–CH_2 – CH_2–CH=CH–CH_2–. Les doubles liaisons sont en configuration cis et

souvent en position C_9, C_{12}, C_{15} (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 ω1. Il existe 4 séries principales : ω3, ω6, ω7 et ω9.

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

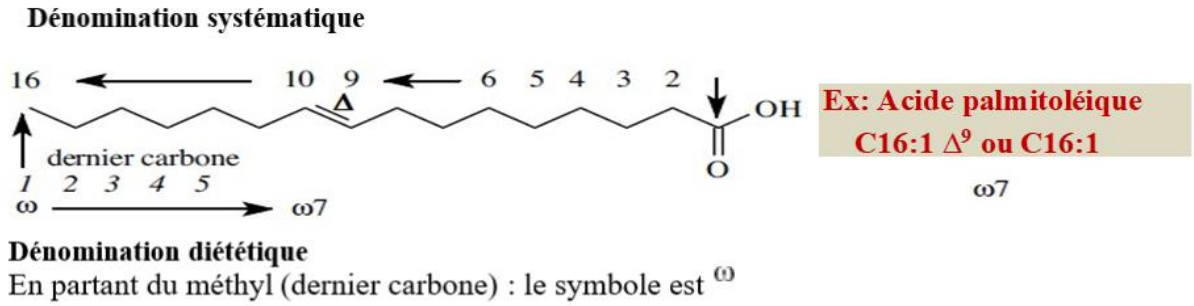


Fig. 60. Les deux nominations possibles d'un acide gras.

Les ω3 ont une double liaison sur le troisième carbone en partant de ω1, ainsi 18:3 ω3 est l'acide α linolénique. Les ω6 ont une double liaison sur le sixième carbone en partant du méthyle ω1 (18:2 ω6 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 C_9, ne peuvent pas synthétiser ces deux acides gras appelés « **acides gras essentiels** ». L'homme doit trouver les acides gras ω3 et ω6 dans son alimentation. L'importance des ω3 et ω6 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 O_2 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 18:1Δ^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-Butanoique	Ac butyrique	C4 :0	Beurre, rumen
	6	0	n-Hexanoique	Ac caproique	C6 :0	Lait de vache
	8	0	n-Octanoique	Ac caprylique	C8 :0	
	10	0	n-Décanoique	Ac caprique	C10 :0	
Chaine moyenne	12	0	n- Dodécanoique	Ac laurique	C12 :0	Laurier
	14	0	n-Tétradécanoique	Ac myristique	C14 :0	Muscade
	16	0	n-Hexadécanoique	Ac palmitique	C16 :0	Graisses animales et végétales (Huile de palme)
	16	**1**	**Cis 9- Hexadécénoique**	**Ac palmitoléique**	**C16 :1Δ^9 ou C16 :1 ω^7**	Graisses animales (poissons marins)
	18	0	n- Octadécanoique	Ac stéarique	C18 :0	Graisses animales
	18	**1**	**Cis 9- Octadécénoique**	**Ac oléique**	**C18 :1Δ^9 ou C18 :1 ω^9**	Huile d'olive
	18	**1**	**Cis 11- Octadécénoique**	**Ac vaccénique**	**C18 :1Δ^{11}ou C18 :1 ω^7**	Bactéries
	18	**2**	**Cis, cis 9, 12- Octadécadiénoique**	**Ac linoléique**	**C18 :2Δ^9 C18 :2 ω^6**	Huiles végétales (tournesol, soja, mais)
	18	**3**	**Tout Cis 9, 12, 15 - Octadécatriénoique**	**Ac linolénique**	**C18 :3Δ^9 C18 :3 ω^3**	Huiles végétales (colza, soja)
Chaine longue	20	0	n-Eicosanoique	Ac arachidique	C20 :0	Arachide
	20	**4**	**Toutes Cis 5, 8, 11, 14 Eicosatétraènoique**	**Ac arachidonique**	**C20 :4$\Delta^{5,8,11,14}$ ou C20:4 ω^6**	**Animaux**
	20	**5**	**Tts Cis 5, 8, 11, 14, 17 Eicosapentaènoique**	**Ac EPA**	**C20 :4$\Delta^{5,8,11,14,17}$ ou C20:5 ω^3**	**Huiles de poisson**
	22	0	n-Docosanoique	Ac béhénique	C22 :0	
	22	**0**	**Cis 13 Docosanoique**	**Ac érucique**	**C22 :1Δ^{13}**	**Colza, Moutarde**
	22	**0**	**Ttes Cis 4, 7, 10, 13, 16, 19 Docosahexadécènoique**	**Ac cervonique ou DHA**	**C22 :6Δ4,7,10,13,16,19 C22:6 3**	Poissons gras
	24	0	n-Tetracosanoique	Ac lignocérique	C24 :0	Cerveau
	24	**1**	**Cis 15 Tetracosènoique**	**Ac nervonique**	**C24 :1Δ^{15} ou C24:1 ω^9**	Cerveau
	26	0	n- Hexacosanoique	Ac cérotique	C26 :0	Cires des plantes Bactéries Insectes
	28	0	n- Octacosanoique	Ac montanique	C28 :0	
	30	0	n-Triacontanoique	Ac mélissique	C30 :0	
	32	0	n- Dotriacontanoique	Ac lacéroique	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-octadecénoïque) 18 : $1\omega^9$ (Fig. 61). Certains des ces acides gras hydroxylés servent à la formation de la cutine.

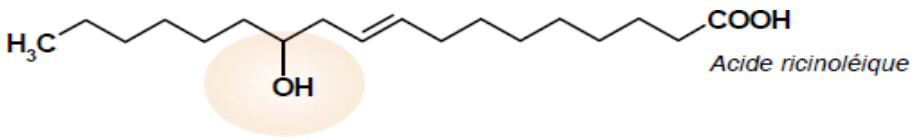


Fig. 61. Structure de l'acide ricinoléique : un acide gras hydroxylé présent chez les végétaux.

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 chaine carbonée. Un exemple est fourni par l'acide-15-méthylhexadécenoique, particulièrement abondant chez les bactéries Gram$^+$.

Dérivé du phytol, l'acide phytanique (l'acide 3, 7, 11, 15 méthyl héxadécanoique) 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 chaine. La chaine principale peut avoir jusqu'à 70 carbones. Elle peut être ramifiée, hydroxylée, porteuse de groupe cétonique ou de cycle propanique.

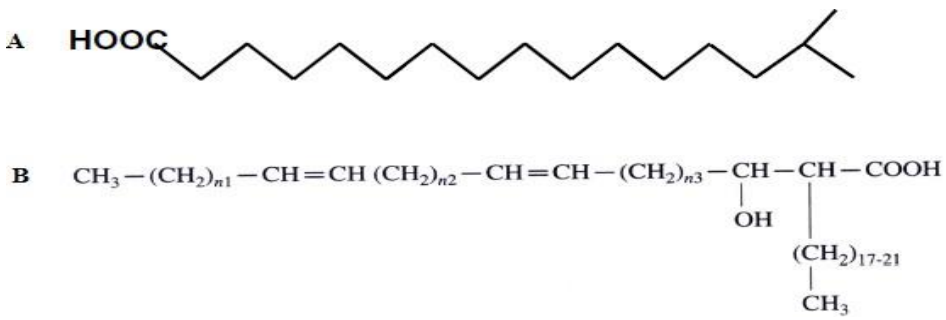


Fig. 62. Structure de l'acide phytanique (A) et des acides mycoliques (B).

III. 3.1.4.3. Prostaglandines et leukotriènes

Les prostaglandines et leukotriènes (Fig. 63) dérivent des acides gras polyinsaturés à 20 carbones ω3 et ω6 (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.

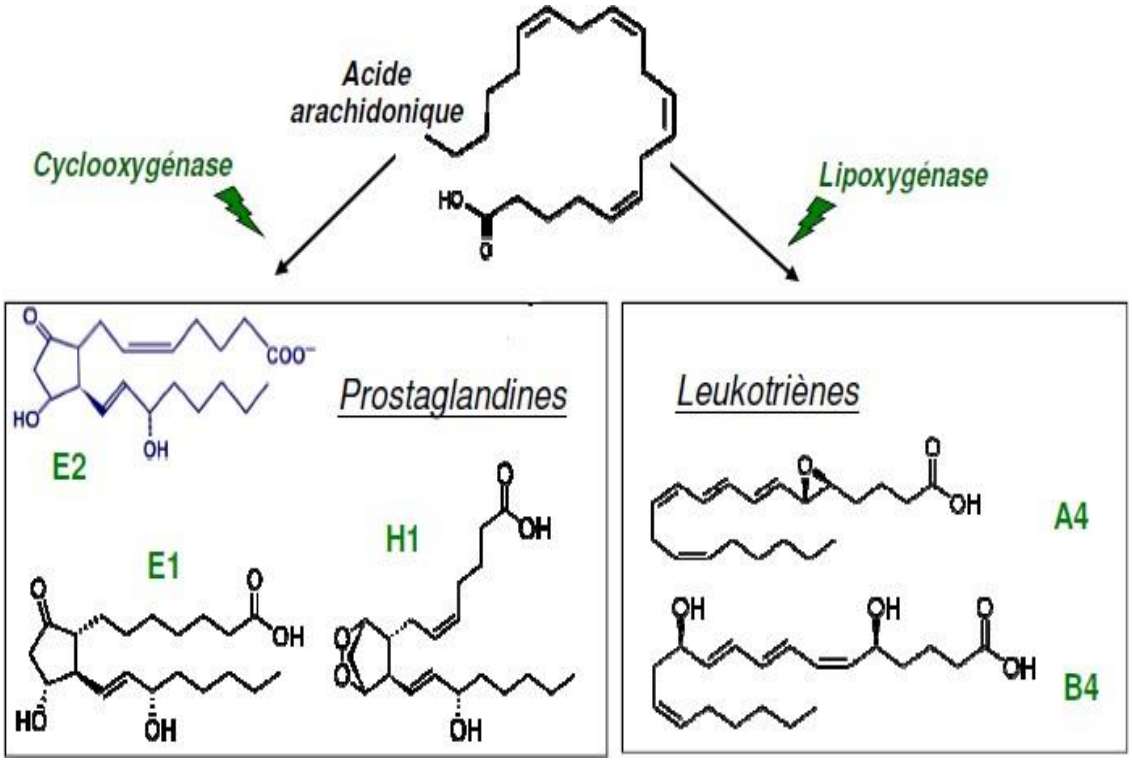


Fig. 63. Structure des prostaglandines et leukotriènes.

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 chaine 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 chaine 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).

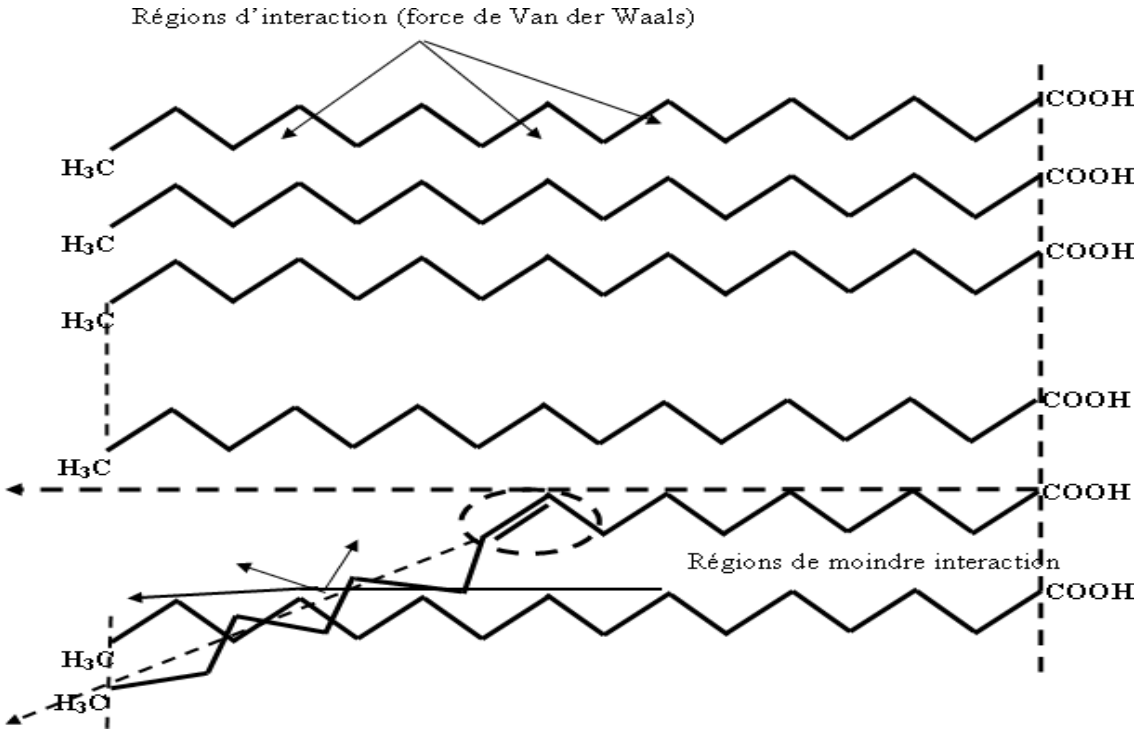


Fig. 64. Déviation de la chaine aliphatique par la présence d'une double liaison.

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.

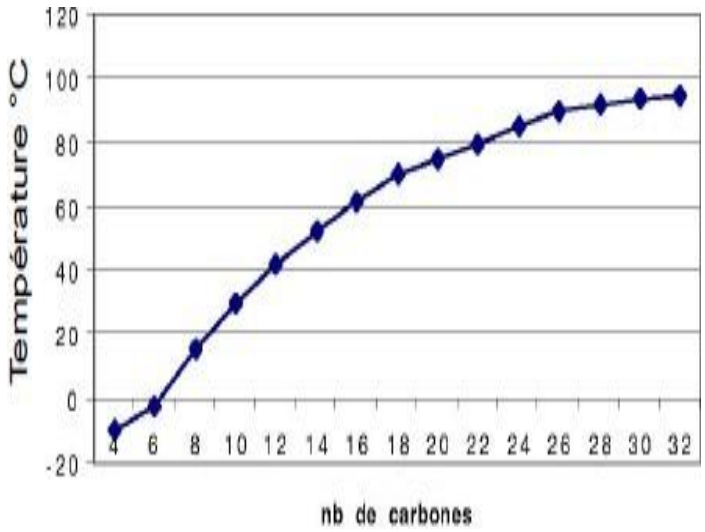


Fig. 65. Température de fusion des acides gras saturés

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. linolénique	-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, tétrahydrofuranne), des hydrocarbures halogénés (chloroforme, dichlorométhane), les hydrocarbures (hexane, le benzène, le cyclohexane, l'isooctane) ou leurs mélanges.

Les acides gras à courte chaines 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 chaine aliphatique. Ceci impliquera que la solubilité dans l'eau des acides gras diminuera lors de l'augmentation du nombre de carbones.

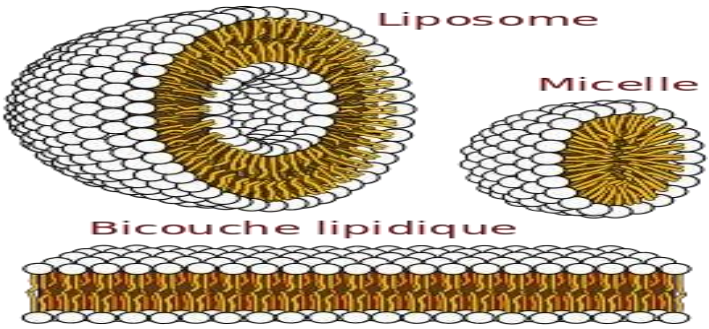


Fig. 66. Comportement des lipides dans un milieu aqueux.

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 180C° (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 dures, liquide avec le KOH ou savons moues). 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 souillure et le linge ce qui la libère et la fait passer dans la phase aqueuse.

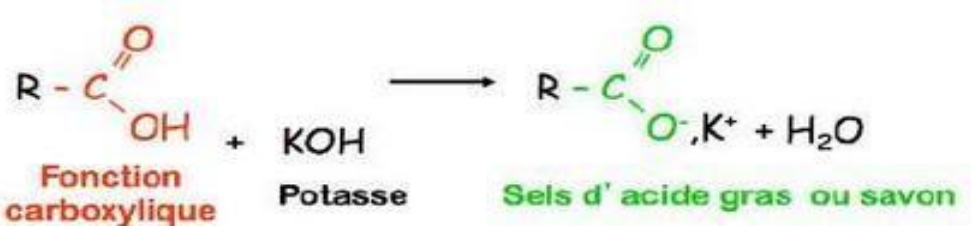


Fig. 67. Réaction de saponification.

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.

a. 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 CH_3OH, en présence d'un catalyseur) qui permettent le fractionnement des acides gras par distillation ou par chromatographie.

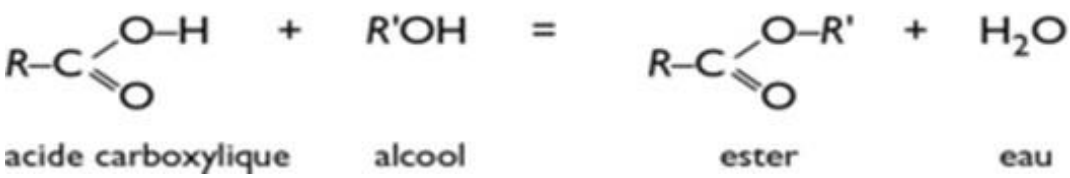


Fig. 68. La réaction d'estérification des lipides.

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 chaine 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.

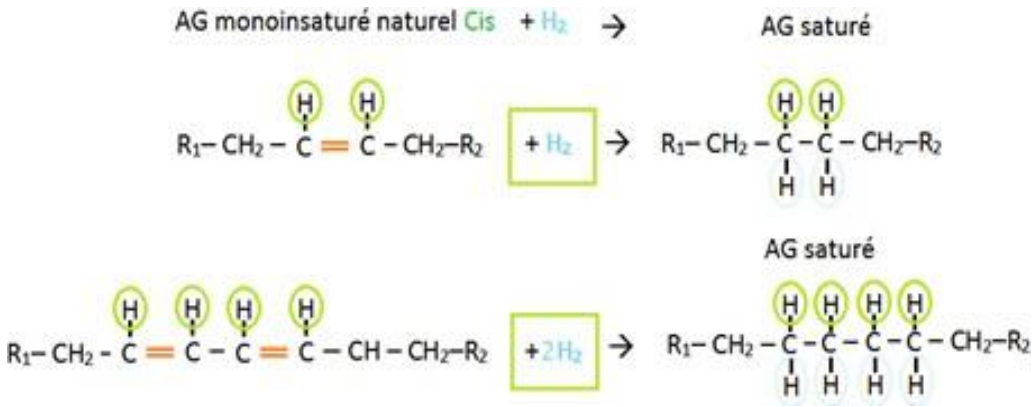


Fig. 69. Hydrogénation totale d'un acide gras insaturé

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.

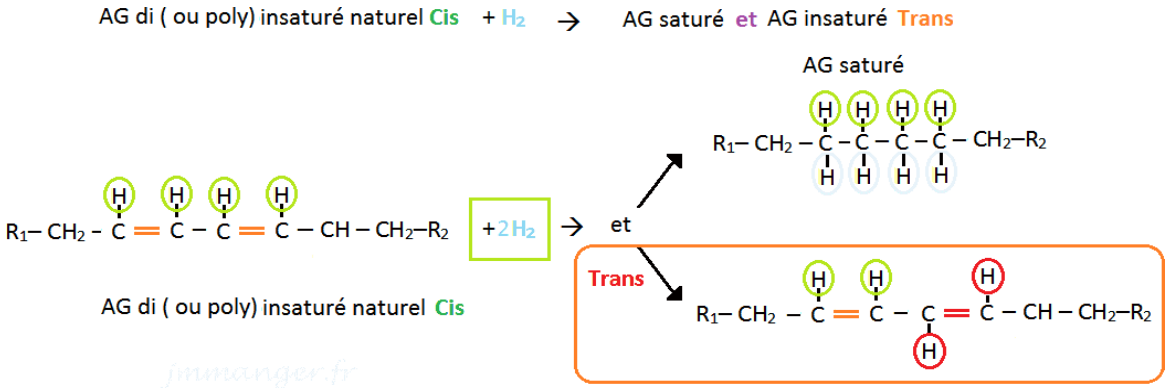


Fig. 70. Hydrogénation partielle d'un acide gras insaturé avec production d'un AG trans.

b. Halogénation 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 halogénation 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. II permet de connaitre 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 KMnO4

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.

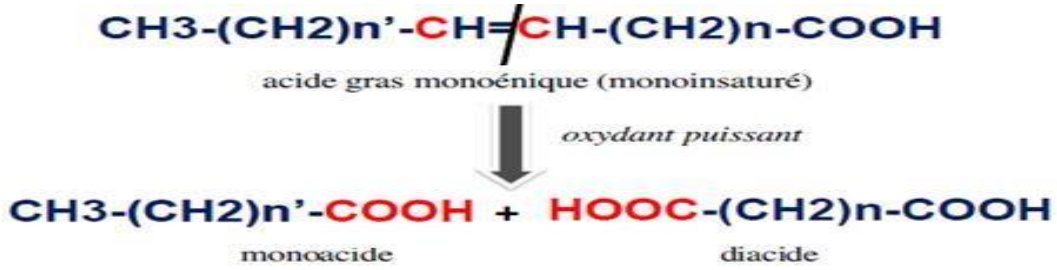


Fig. 72. Action du permanganate de potassium sur un acide gras insaturé.

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 cancérigènes.

III. 6. Classes des lipides

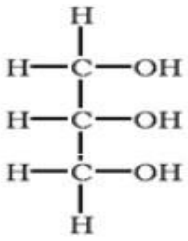
Les lipides ont fait l'objet de nombreuses classifications mais la plus usitée est celle basée sur la structure où on distingue : ***Les lipides simples*** (homo-lipides) qui englobent les acyl-glycérols (ou glycérides), les cérides et les stérides ; ***Les lipides complexes*** (hétéro-lipides) qui englobent 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 chaine 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).



Glycérol (glycérine)
Propan-1,2,3-triol

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.

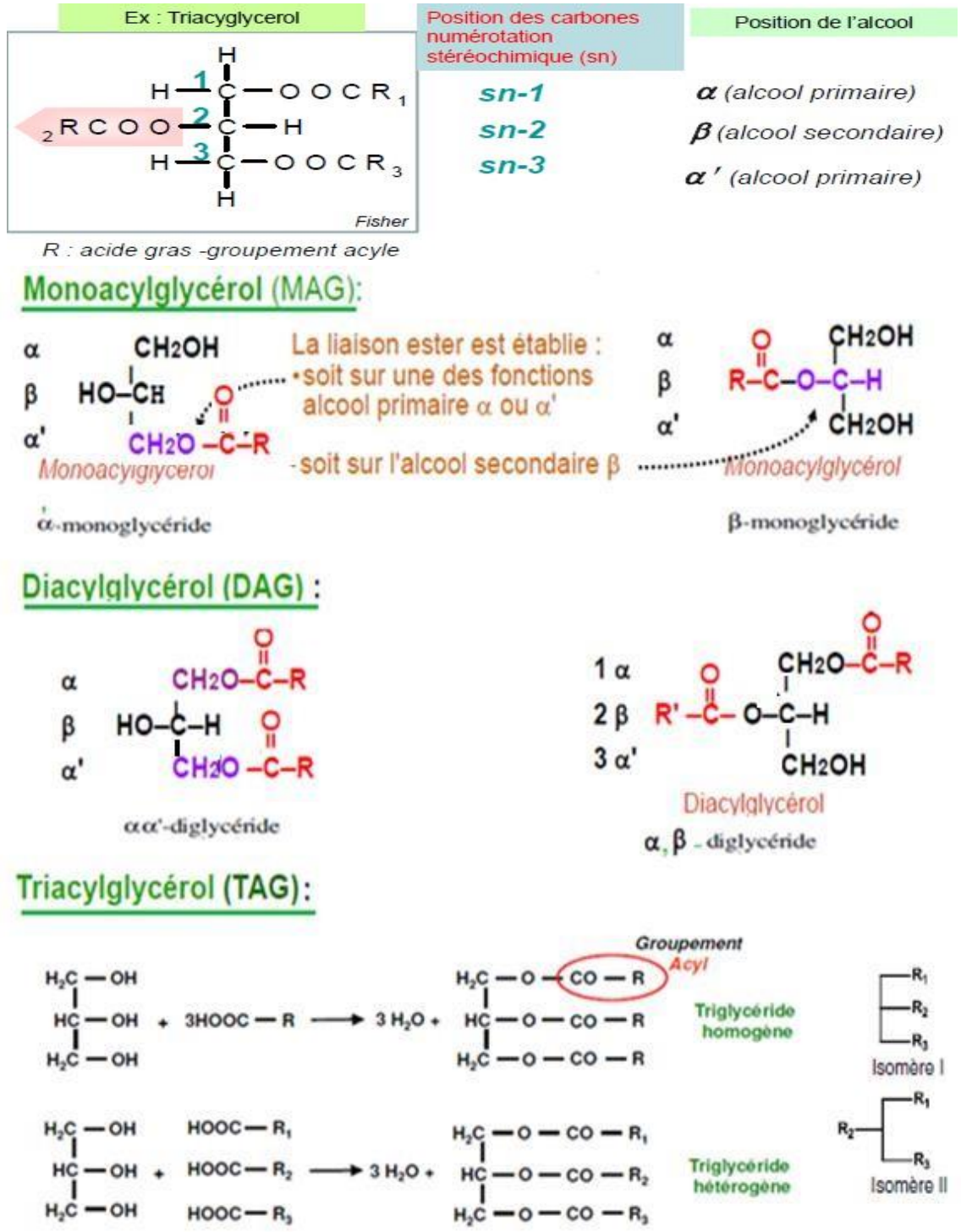


Fig. 74. Nomenclature des acides gras liés au glycérol dans la structure des glycérides.

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" ...

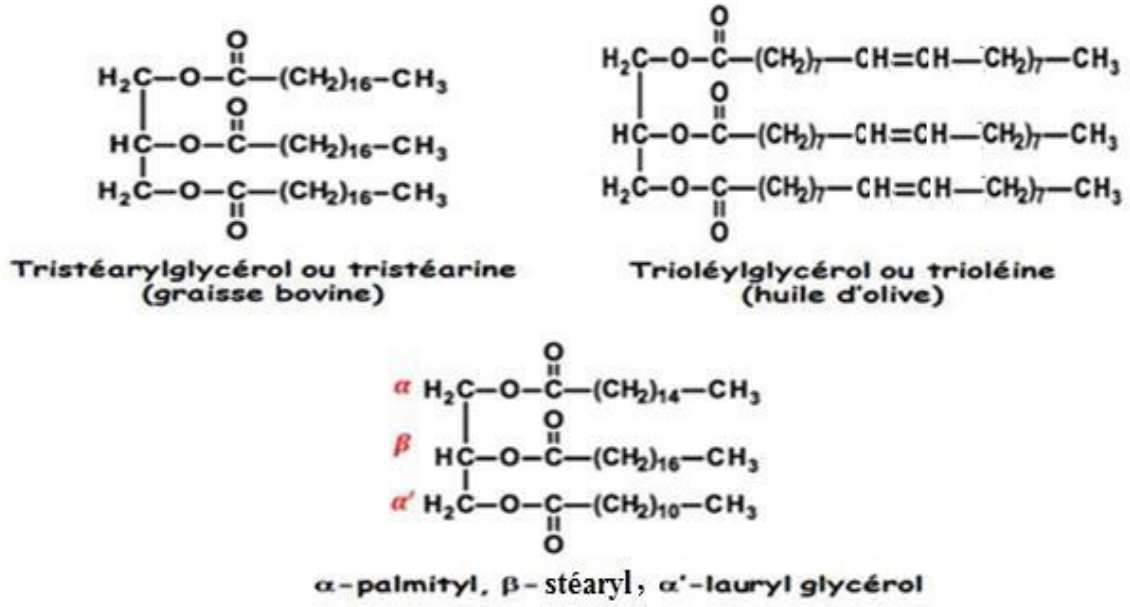


Fig. 75. Nomenclature des acides gras dans la structure d'un glycéride.

Hydrolyse chimique

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

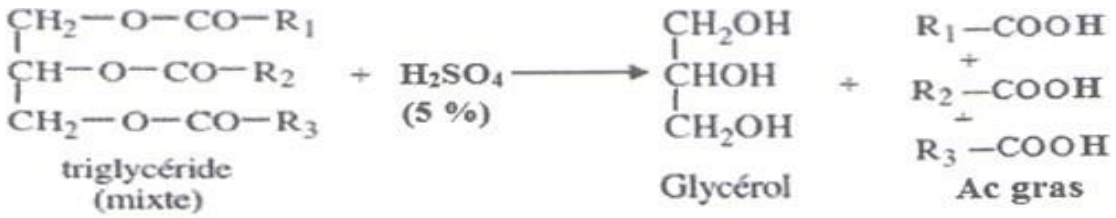


Fig. 76. L'hydrolyse acide d'un triglycéride .

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).

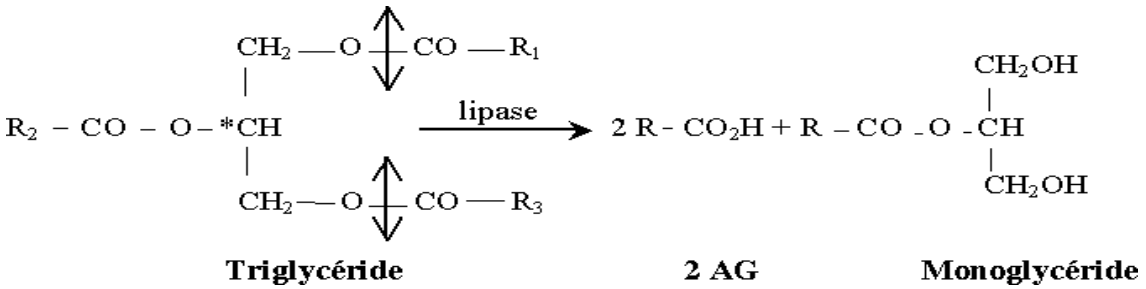


Fig. 77. L'hydrolyse enzymatique d'un triglycéride .

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).

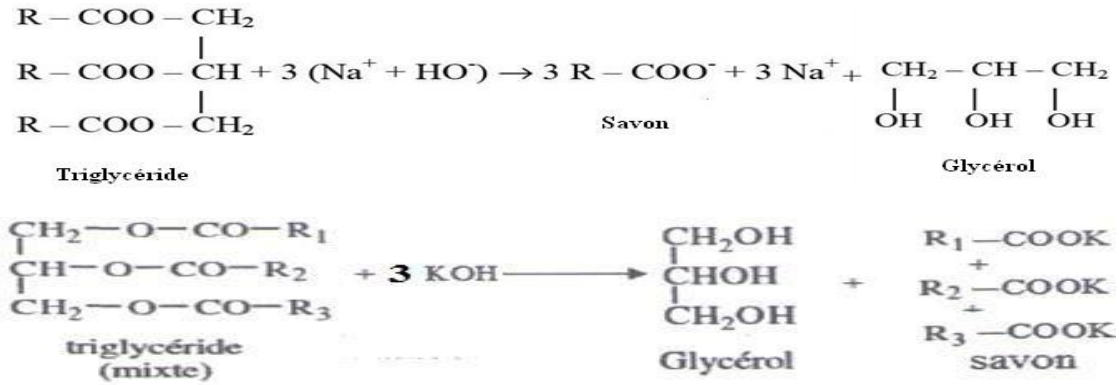


Fig. 78. La saponification d'un triglycéride.

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 C_{16} : 0 (présent

chez les Cétacés), alcool cérylique C_{26} : 0 (présent dans les cires) et l'alcool myricylique C_{30} : 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.

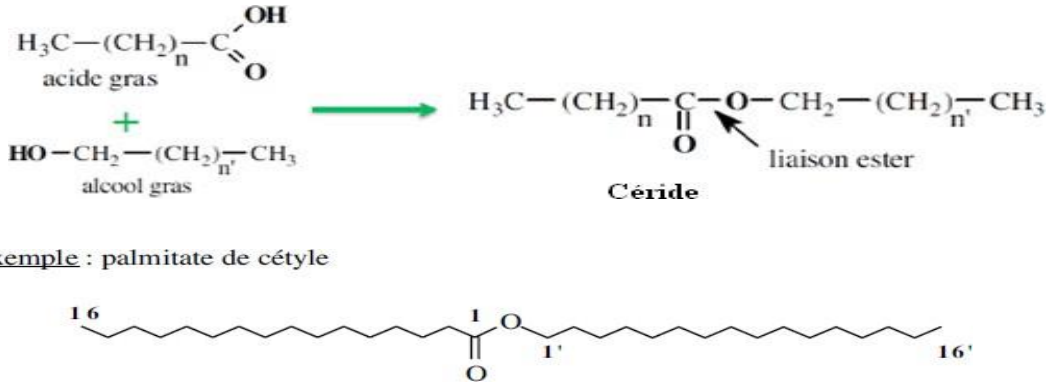


Fig. 79. Structure d'un céride.

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).

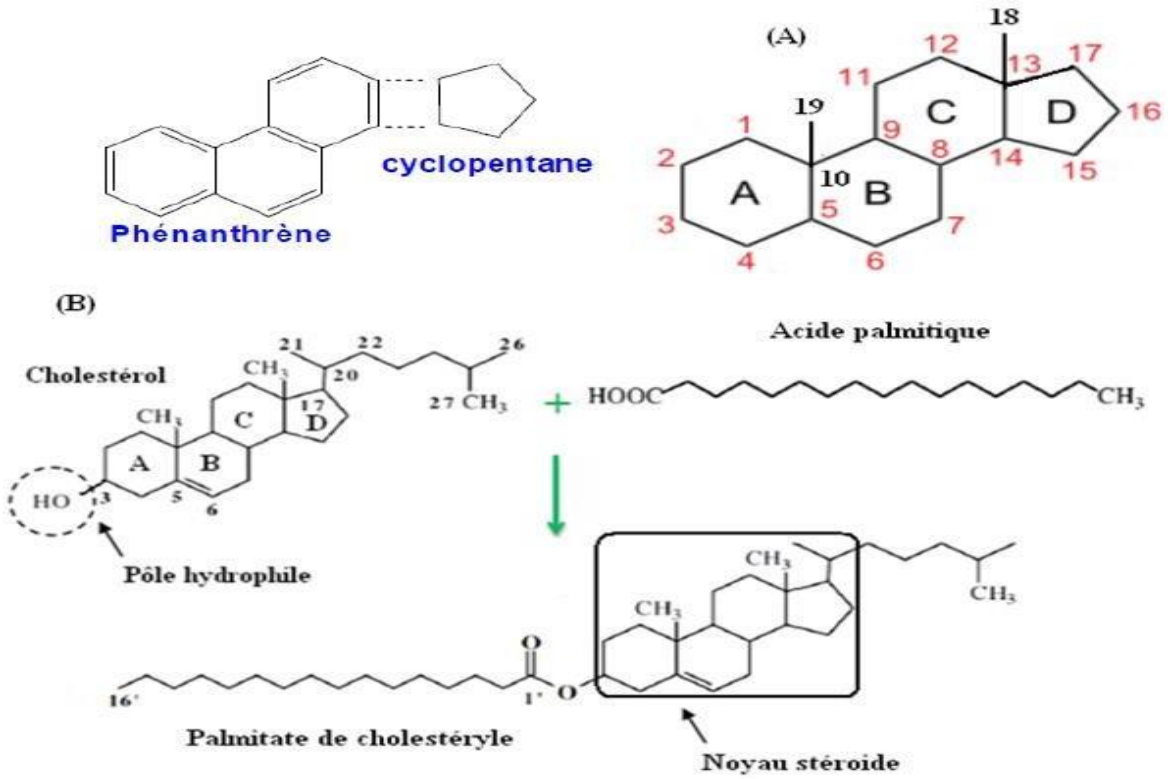


Fig. 80. (A) Le noyau stérane. **(B)** Structure d'un stéride : le palmitate de cholestéryle.

Les dérivés du stérane sont simplement appelés **stéranes** 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 sphingoide (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 chaine hydrocarbonée longue (≥ 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.

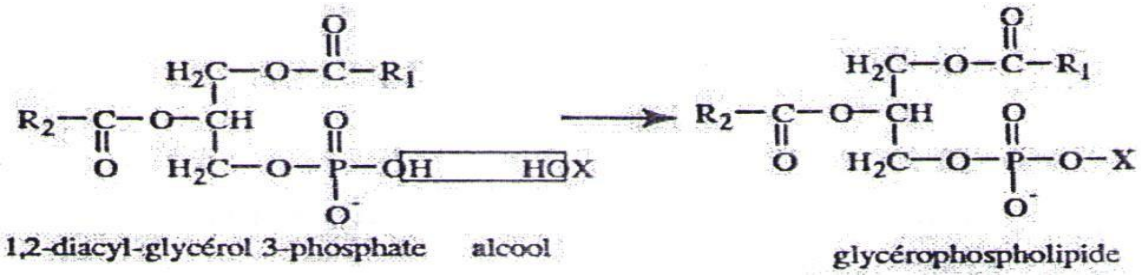


Fig. 82. Formation d'un glycérophospholipide par association de l'acide phosphatidique et un alcool.

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 alcool (aminé ou sans azote), que l'on trouve. L'alcool intervenant dans l'estérification de l'acide phosphorique peut être un alcool 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 alcool 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, cireuses et insolubles dans l'acétone. Elles sont particulièrement répandues dans le foie, le cerveau et le jaune d'œuf.

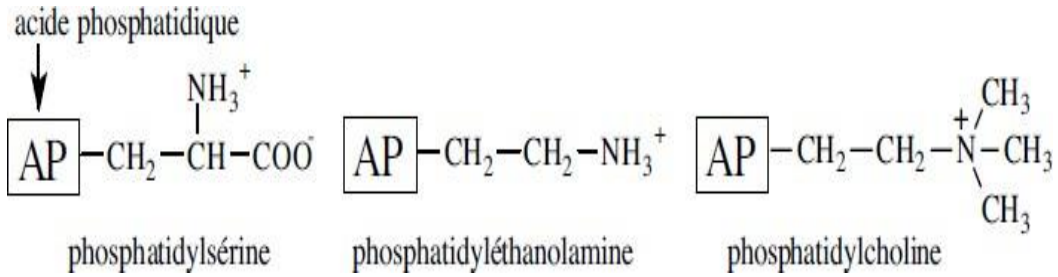


Fig. 83. Structure des différents types de glycérophospholipides azotés.

➢ 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).

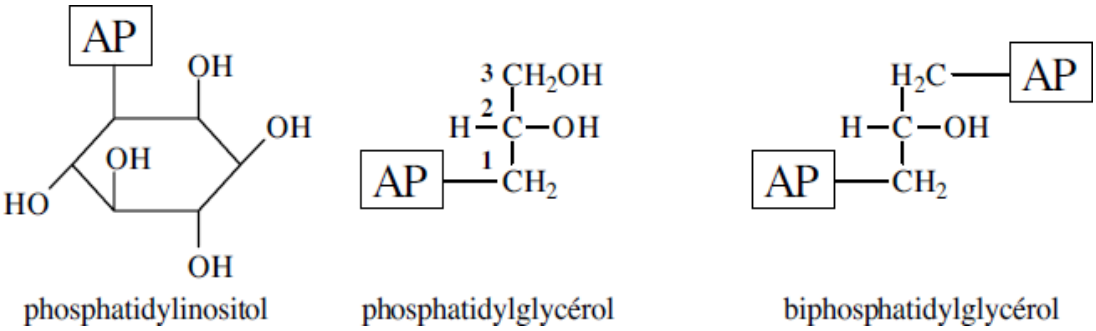


Fig. 84. Structure des différents types de glycérophospholipides non azotés.

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 (pKa=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 A_1, A_2, C et D, spécifiques des liaisons (Fig. 85, Tableau 11). Les phospholipases A_1 (présente dans le pancréas, moisissures) et A_2 (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.

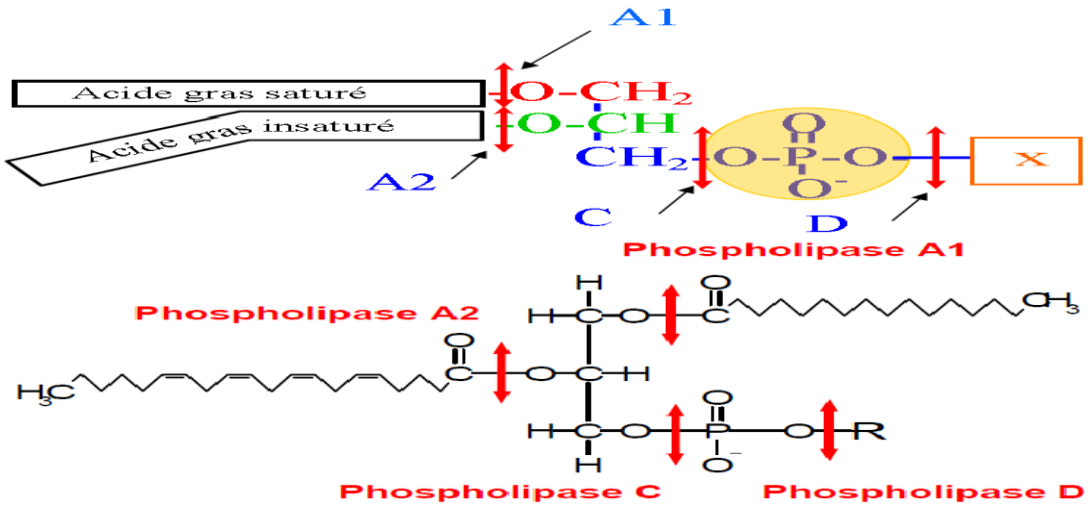


Fig. 85. Action des phospholipases A1, A2, C et D.

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 A_2 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'IP_3 à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate (Fig. 86).

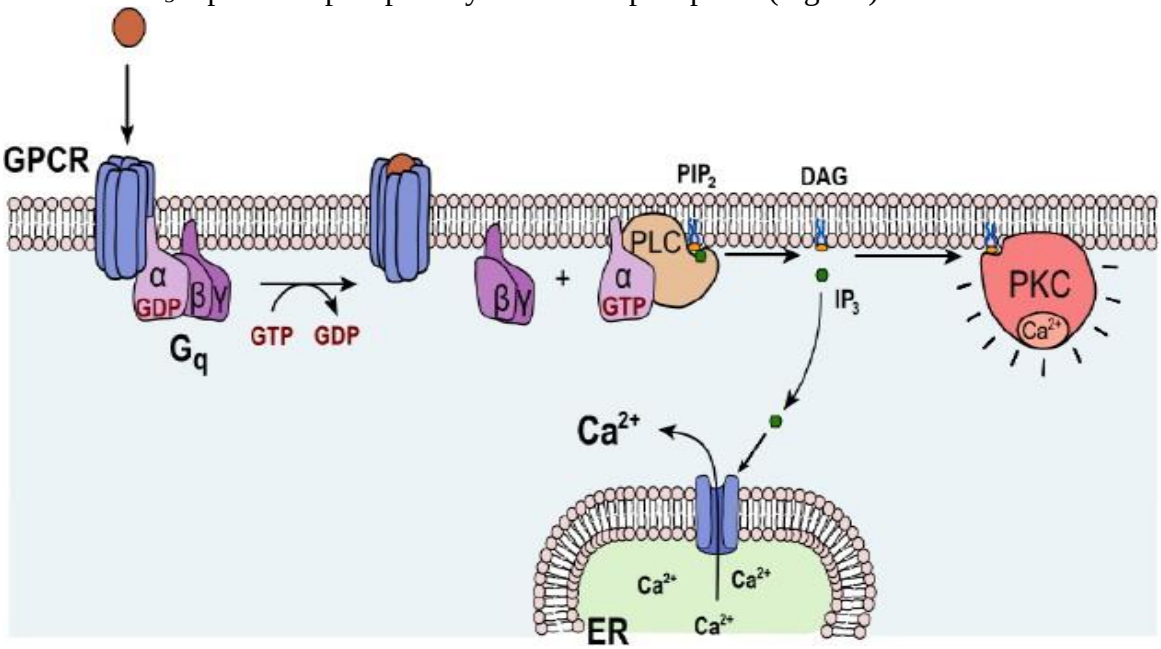


Fig. 86. Génèse du DAG et de l'IP_3 à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate par la phospholipase C.

- 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 A_1 et d'une phospholipase A_2 (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.

- Plasmalogene

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

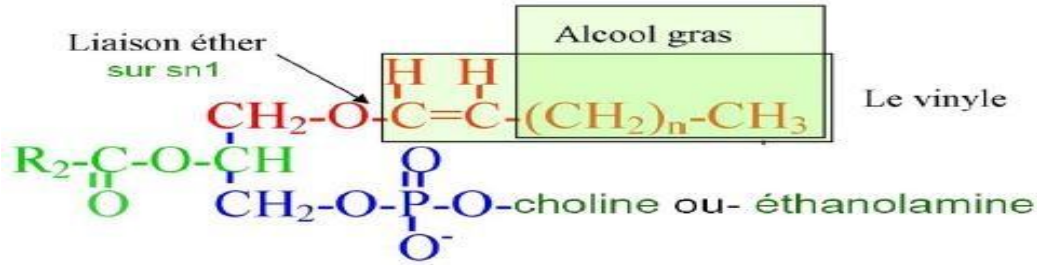


Fig. 87. Structure d'un étherphospholipide : le plasmalogene.

- 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).

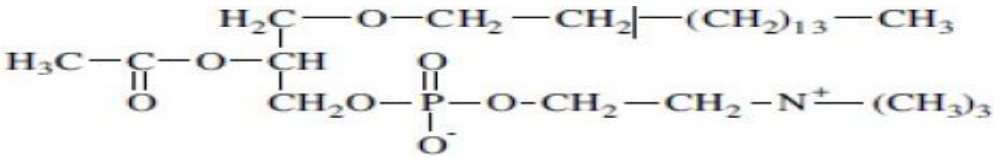


Fig. 88. Structure du PAF (Platelet-activating-factor).

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 chaine carbonée (18C) ayant deux fonctions OH sur C_1 et C_3, une fonction amine primaire en C_2 et une double liaison trans (Fig. 89).

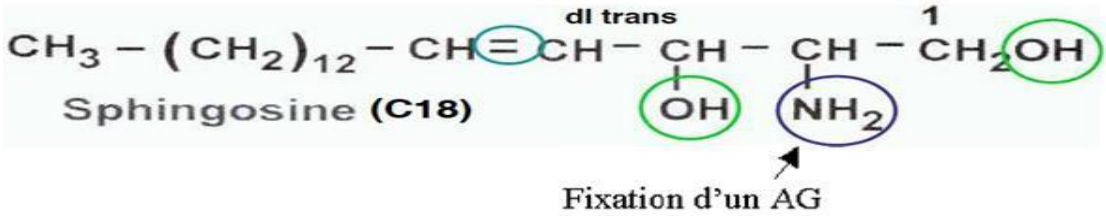


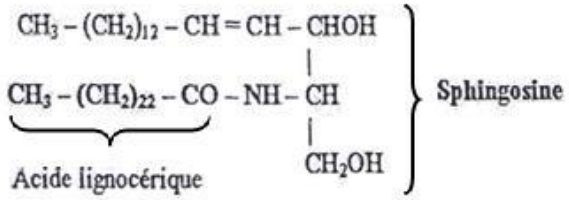
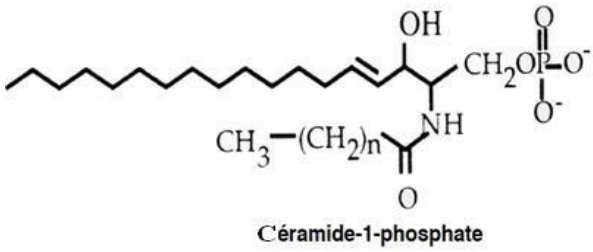
Fig. 89. Structure de la sphingosine.

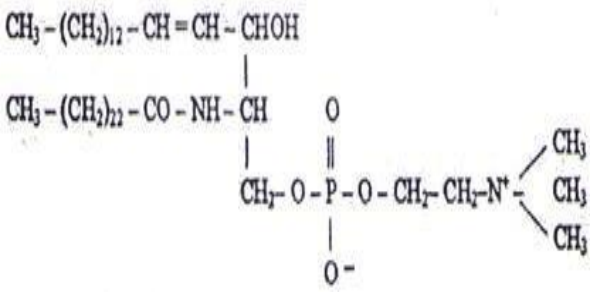
Ce sont ***des amides*** de la sphingosine qui se forment par liaison du carboxyle de l'AG sur le NH_2 de la sphingosine. La fixation d'un acide gras sur le groupe amine (liaison amide : ce n'est donc plus une liaison ester comme dans les autres lipides) donne un ***céramide*** ou acylsphingosine qui est la molécule précurseur des lipides de ce groupe.

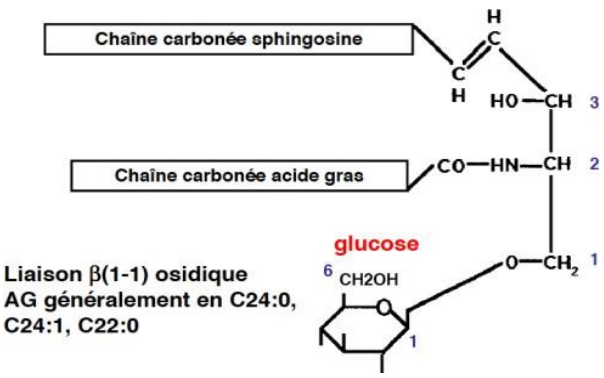
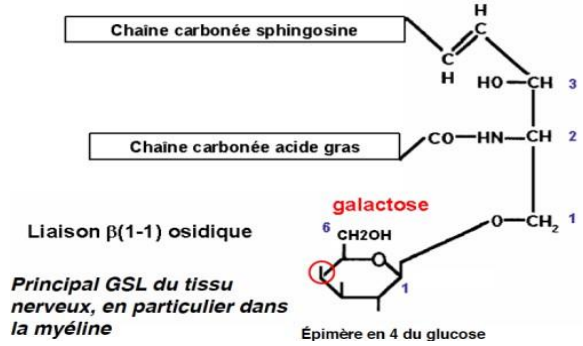
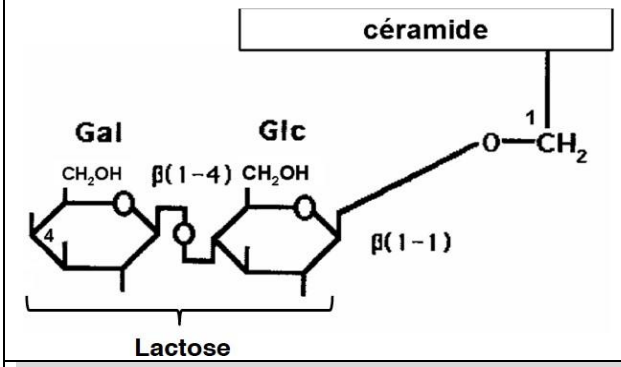
Les céramides libres sont mineures dans la cellule car toxiques et entraine la mort cellulaire par apoptose. Ils possèdent un rôle dans le processus de différenciation et de prolifération cellulaire.

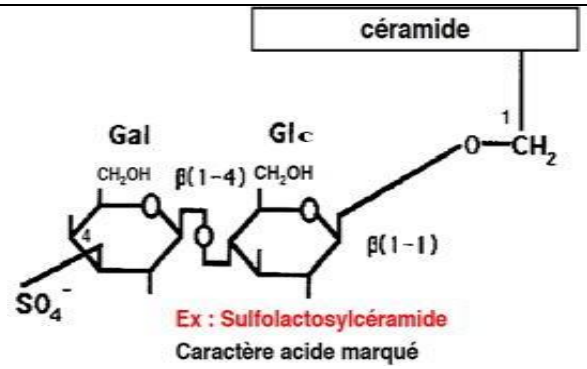
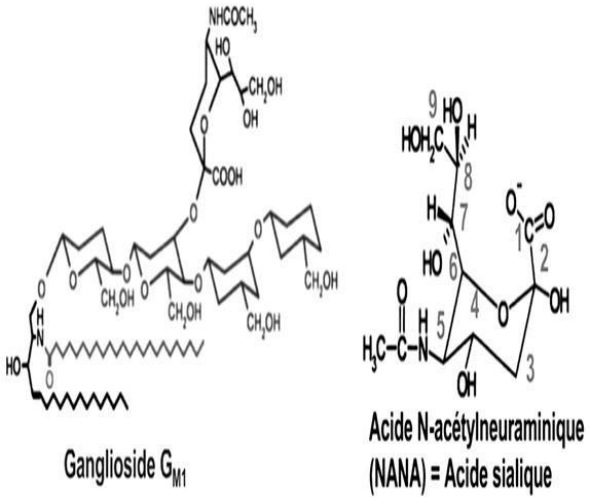
L'acide gras est principalement l'acide lignocérique ($C_{24}H_{48}O_2$) ou stéarique ($C_{18}H_{36}O_2$). De plus, le OH terminal de la sphingosine peut être lié à un autre groupement X, qui est la phosphocholine ou un ose (ou dérivé d'ose). En fonction du substituant on détermine deux groupes de sphingolipides : les phosphosphingolipides et les glycosphingolipides (Tableau 12).

Tableau 12 : Principales classes des sphingolipides.

<table>
<tr><th colspan="2">PHOSPHOSPHINGOLIPIDES</th></tr>
<tr><td>a- Acylsphingosine ou céramide :
sphingosine + AG
 
</td><td>- Le plus simple des sphingolipides
- L’AG est saturé et à longue chaine</td></tr>
<tr><td>b- Le céramide 1-phosphate
 

Céramide-1-phosphate</td><td>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</td></tr>
<tr><td>c- Sphingomyéline :
sphingosine + AG + Phosphorylcholine
 
</td><td>- L’AG le plus fréquent est l’acide lignocérique (C_{24}: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.
- 2ème phospholipide le plus abondant dans le plasma
- En quantité importante dans le cerveau, la cornée et la myéline</td></tr>
<tr><th colspan="2">GLYCOSPHINGOLIPIDES</th></tr>
<tr><td colspan="2">La fonction alcool I du céramide fixe une chaine 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</td></tr>
<tr><th colspan="2">Glycosphingolipides neutres</th></tr>
<tr><td>Mono- glycosylcéramides (cérébrosides)
- Glucosylcéramide (glucosylcérébroside)</td><td>Céramide + glucose par une liaison β1→1
L’AG est souvent le C_{24} :0 ou C_{24} :1
Glycolipide majeur des tissus extra neuraux (peau)
Un déficit de l’enzyme le clivant entraîne une hépatosplénomégalie</td></tr>
</table>

<table>
<tr><td> 
</td><td></td></tr>
<tr><td>Galactosylcéramide (galactosylcérébroside) :
Céramide + galactose par une liaison β1→1
 
</td><td>C’est le principal glycosphingolipide du tissu nerveux surtout dans la myéline</td></tr>
<tr><td>Oligo-glycosylcéramides (Les globosides : oligoside ≤ 6 résidus)
Lactosylcéramide (galactose +glucose)
Céramide + lactose (β1→4) par liaison β1→1
 
</td><td>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).</td></tr>
<tr><td colspan="2">Glycosphingolipides acides</td></tr>
<tr><td colspan="2">Un résidu osidique porte un groupement acide minéral (sulfurique) ou organique (sialique)</td></tr>
<tr><td>Sulfoglycosphingolipides ou sulfatides
Sulfogalactosylcéramide
Galactosylcéramide + acide sulfurique sur le galactose</td><td>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</td></tr>
</table>

<table>
<tr>
<td> 
</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Sialoglycosphingolipides ou gangliosides
 
</td>
<td>Le substituant R_1 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
.</td>
</tr>
</table>

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 A_2 (Fig. 90).

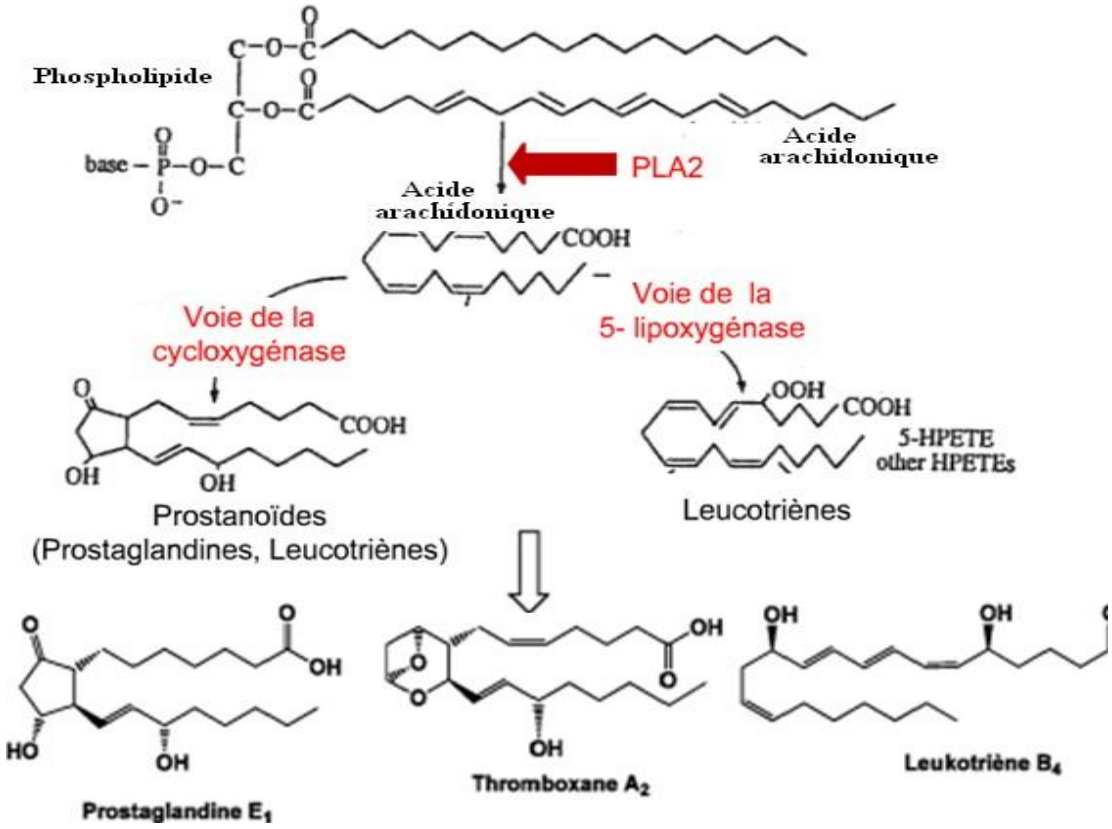


Fig. 90. Biosynthèse des éicosanoïdes (prostaglandines et leucotriènes): à partir de l'acide arachidonique sous l'action de la phospholipase A_2.

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 prostanoides.

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 saguin 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).

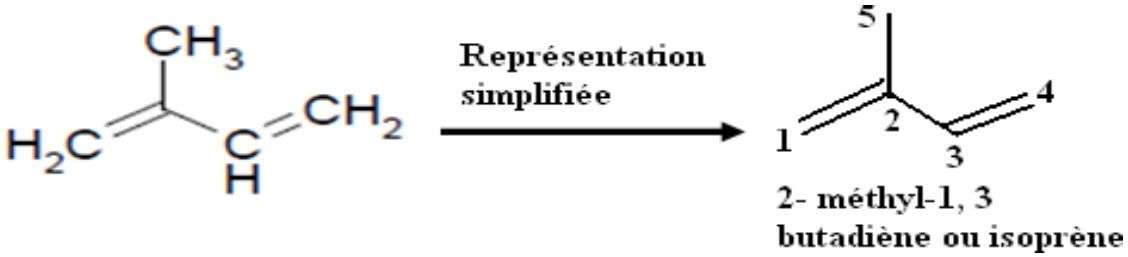


Fig. 91. Structure de l'unité isoprène.

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) :

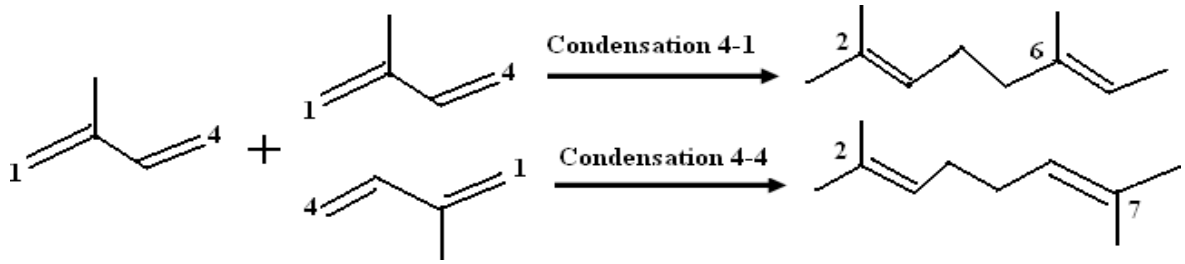


Fig. 92. Condensation des unités isoprènes : Liaison « tête à queue » ou « tête à tête».

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, camhre, menthol
Sesquiterpènes	3	farnésol
Diterpènes	4	Vitamines (A), E, K
Triterpènes	6	Stéroides (cholestérol, Vit. D…)
Tétraterpènes	8 6 – 10 700- 5000	Caroténoides 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.

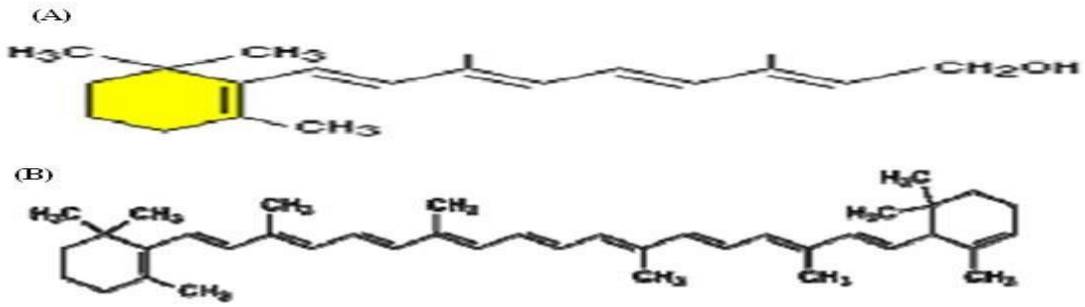


Fig. 93. (A) Rétinol (une des formes majeures de la vitamine A, dérive de la coupure du ß - carotène. (B) Structure du ß- carotène.

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 C_{10}, C_{13} sont liés à un groupe méthyle -CH_3 et le carbone C_{17} 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 C_3 (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 D_3 et les acides biliaires.

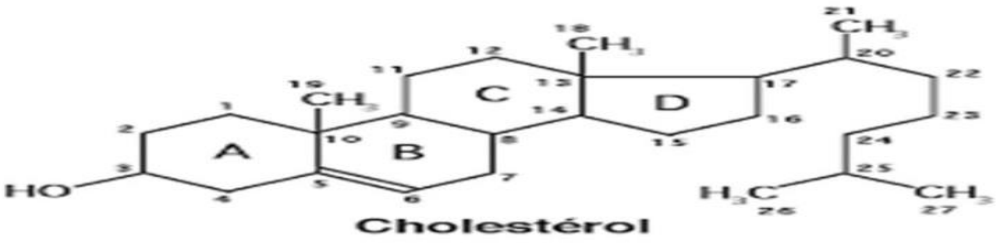


Fig. 94. Structure du cholestérol

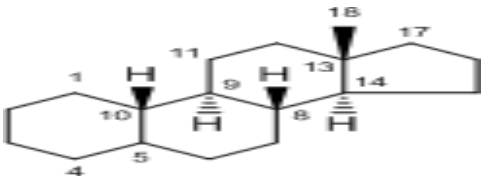
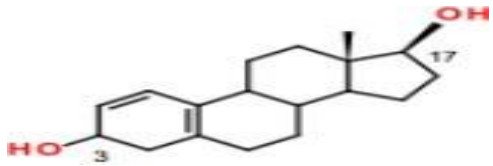
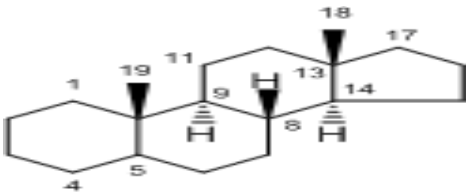
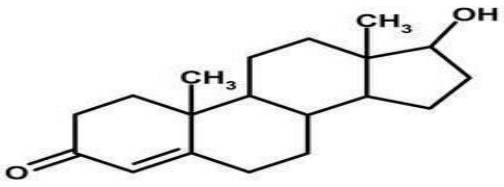
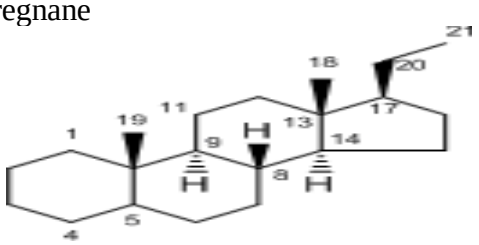
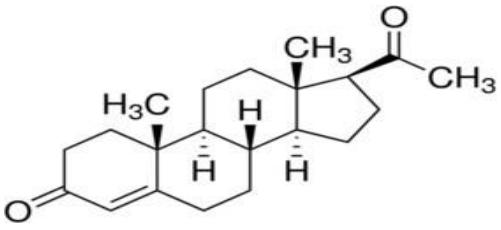
Stéroïdes hormonaux

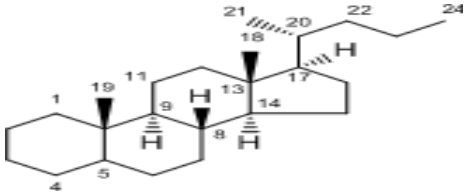
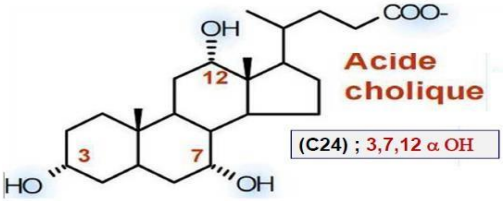
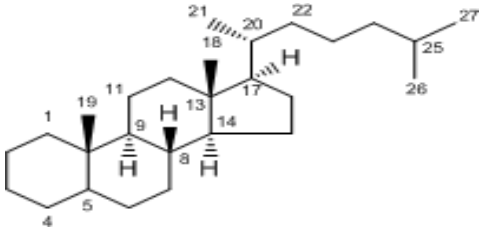
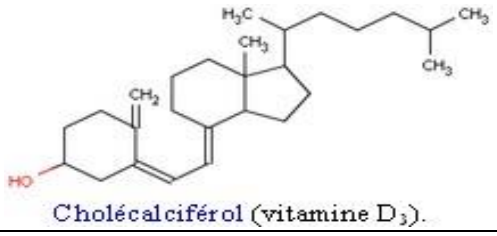
Ces molécules sont présentes chez les animaux et les végétaux et sont des molécules "informatives", régulateurs de métabolisme ou médiateurs cellulaires.

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.

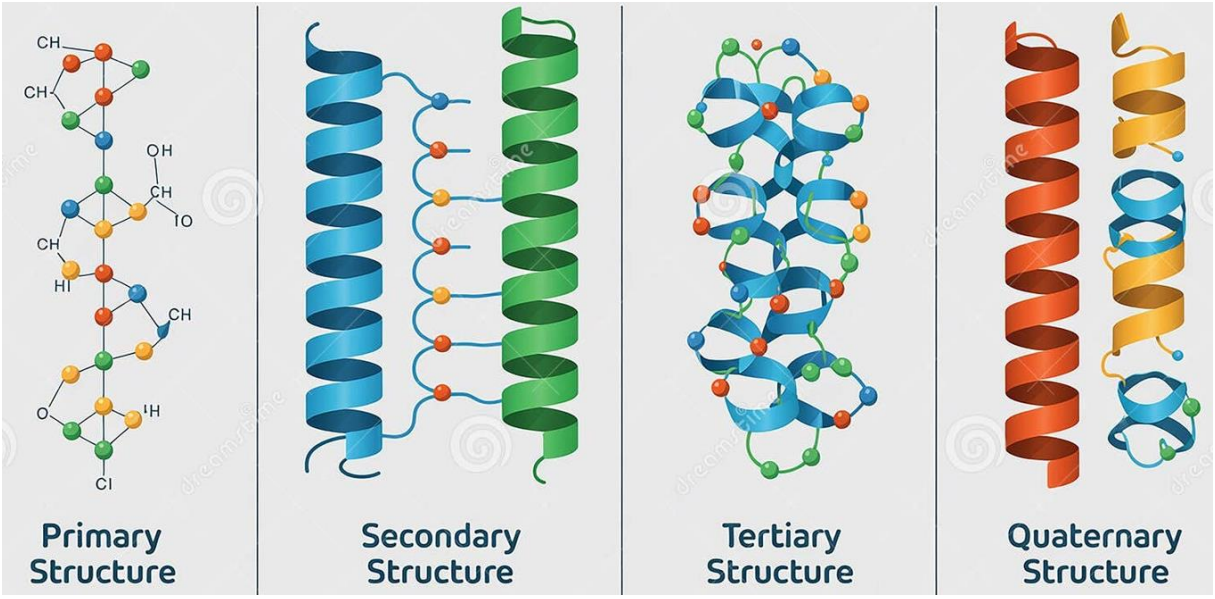
Noyaux	C	Exemples
Estrane 	18	Estradiol 
Androstane 	19	Testostérone 
Pregnane 	21	Progestérone 

Cholane 	24	Sels biliaires 
Cholestane	27	Cholestérol, Vitamine D
		

CHAPITRE IV :

Aminoacides, peptides, protéines:

Structure et principales propriétés



CHAPITRE IV

Aminoacides, peptides, protéines : Structure et principales propriétés

IV. 1. Les acides aminés 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.

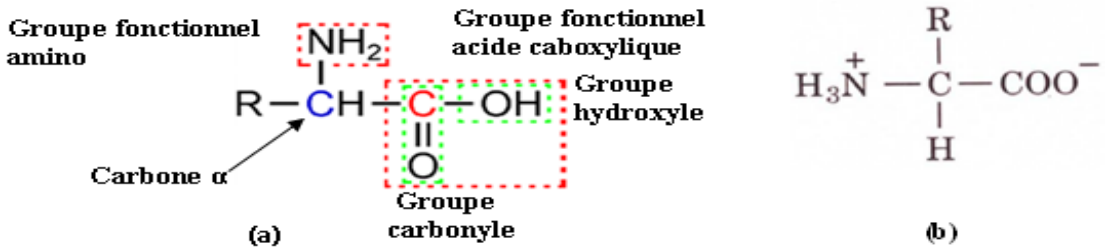


Fig. 95. Structure générale d'un acide amine : (**a)** Structure théorique : n'existe pas en réalité. (**b)** Forme zwitterionique : présente aux valeurs de pH physiologique.

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 glycocolle. Outre qu'elle entre dans la composition des protéines, la glycine participe au niveau du foie à des processus de détoxification (réaction e 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 égalemnt 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 ($-NH_3^+$) 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

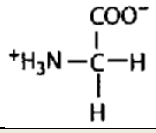
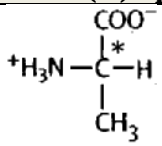
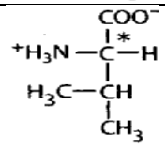
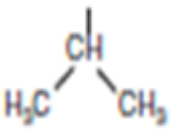
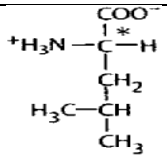
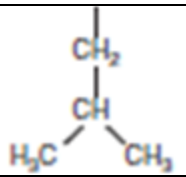
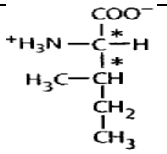
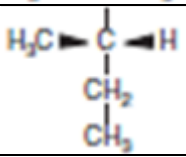
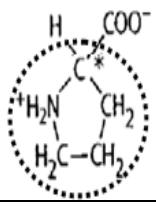
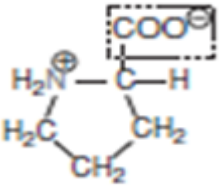
La **phénylalanine (Phe ou F)** fait partie des acides aminés indispensables. Comme son nom l'indique, sa structure est celle de l'alanine substituée par un groupement phényl, formant

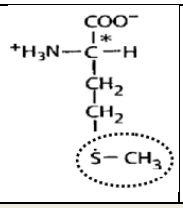
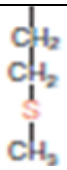
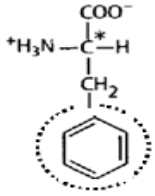
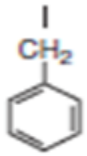
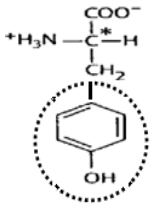
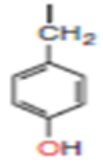
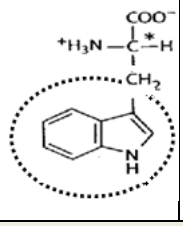
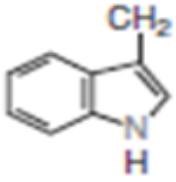
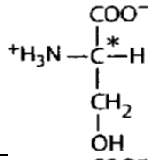
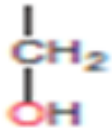
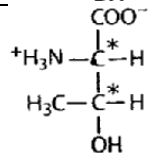
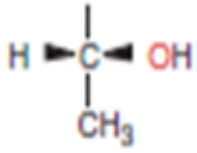
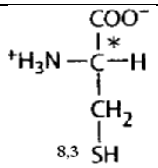
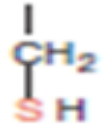
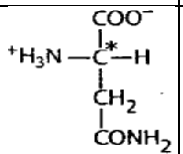
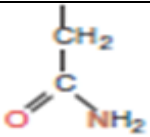
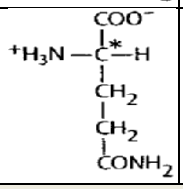
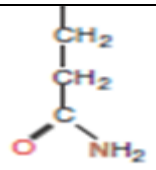
un radical hydrophobe. La **tyrosine :** obtenue par hydroxylation de la phénylalanine, sa chaine latérale devient hydrophile (Tableau 16). Ces deux acides aminés sont importants car ils servent de précurseurs de la biosynthèse des cathécolamines (adrénaline et noradrénaline). La tyrosine participe à 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 B_3.

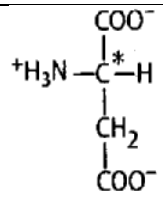
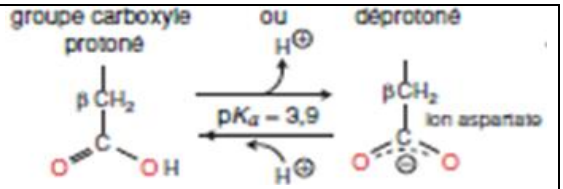
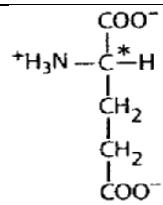
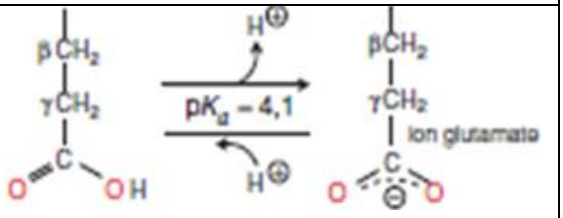
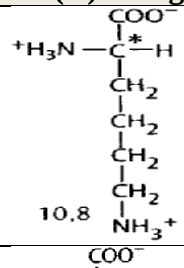
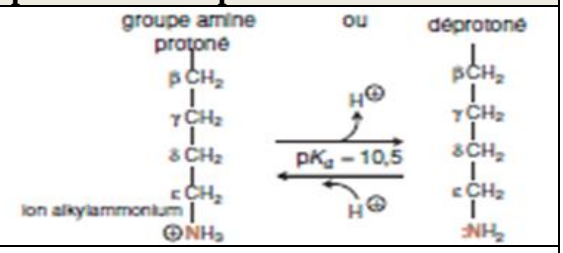
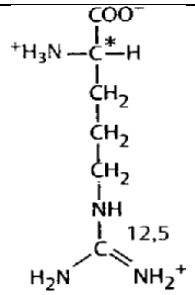
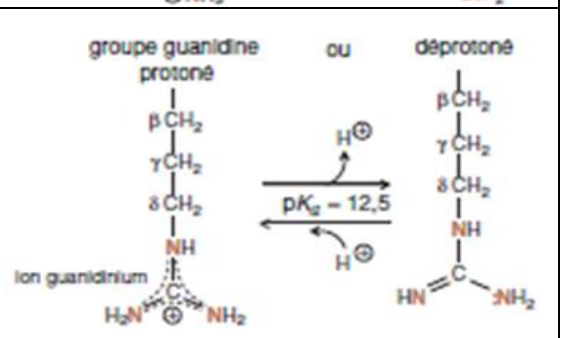
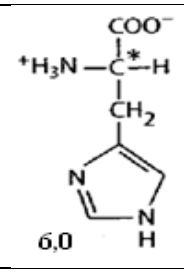
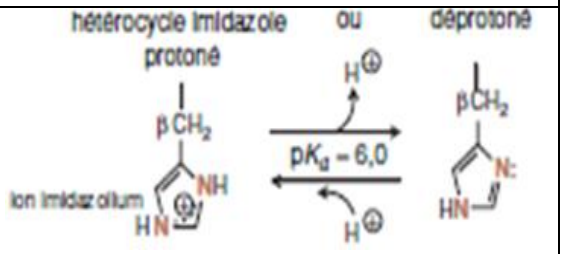
h. Les acides aminés hétérocycliques

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 chaine 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**		**Groupe fonctionnel**
Glycine	**Gly, G**		
Chaine latérale (R) apolaire aliphatique			
Alanine	**(Ala, A)**		
Valine	**(Val, V)**		
Leucine	**(Leu , L)**		
Isoleucine	**(Ile, I)**		
Proline	**(Pro, P)**		

Méthionine	**(Met, M)**		 **Thioéther**
Chaine latérale (R) aromatique			
Phénylalanine	**(Phe, F)**		 **Cycle benzénique**
Tyrosine	**(Tyr, Y)**		 **Cycle phéol**
Tryptophane	**(Try, W)**		 **Cycle indol**
Chaine 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)**		
Chaine latérale (R) chargée négativement à pH 7			

Aspartate	**(Asp, D)**		
Glutamate	**(Glu, E)**		
Chaine latérale (R) chargée positivement à pH 7			
Lysine	**(Lys, K)**		
Arginine	**(Arg, R)**		
Histidine	**(His, H)**		

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 comprend 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 : **Leu**cine, **Thr**éonine, **Lys**ine, **Tryp**tophane, **Phé**nylalanine, **Val**ine, **Mét**hionine, et enfin **I**so**le**ucine. 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 cétogènes

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 **cétogènes),** c'est-à-dire qu'ils contribuent à la formation des corps cétoniques (Tableau 17).

Tableau 17 : Les acides aminés glucoformateurs et cétoformateurs.

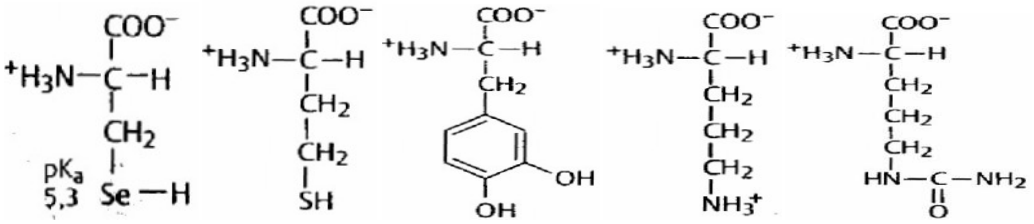
Glucoformateurs stricts	Cétogènes stricts	Mixtes
Gly, Ala, Ile, Trp, Phe, Arg, Gln, Asn, Thr, Asp, Glu, Cys, His, Pro	Leu, Lys	Ser, Met, Tyr, Val

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 chaine latérale est allongée d'un groupement CH_2 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 cathécolamines 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).



Sélénocystéine (Sec) | **L-Homocystéine (Métabolisme de la méthionine)** | **L-Dopa (Synthèse des cathécolamines)** | **Ornithine (Cycle de l'urée)** | **Citrulline (Cycle de l'urée)**

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 (NH_2, 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-isomérie

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 isomérie 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 $–NH_3^+$ 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 tous les êtres vivants connus appartiennent à la série L.

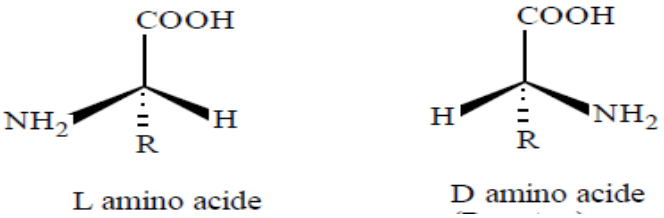


Fig. 97. Les stéréoisomères d'acides aminés.

Il existe quatre acides aminés constitutifs des protéines qui possèdent deux carbones asymétriques. Dans ce cas le nombre de stéréoisomères est égal à 2^n 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).

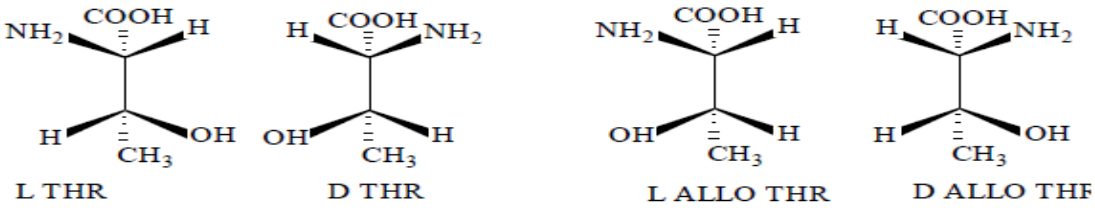


Fig. 98. Les diastéréoisomères d'acides aminés.

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 :

$$A = \varepsilon_M . l . [C] \text{ et } A = \log (Io / I)$$

ε_M coefficient d'absorption molaire (molaire-1.cm-1) : ε_M = 5600 (TRP à 280 nm) ; ε_M = 1400 (TYR à 275 nm) ; ε_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 λ_{max} et avec une solution limpide et suffisamment diluée.

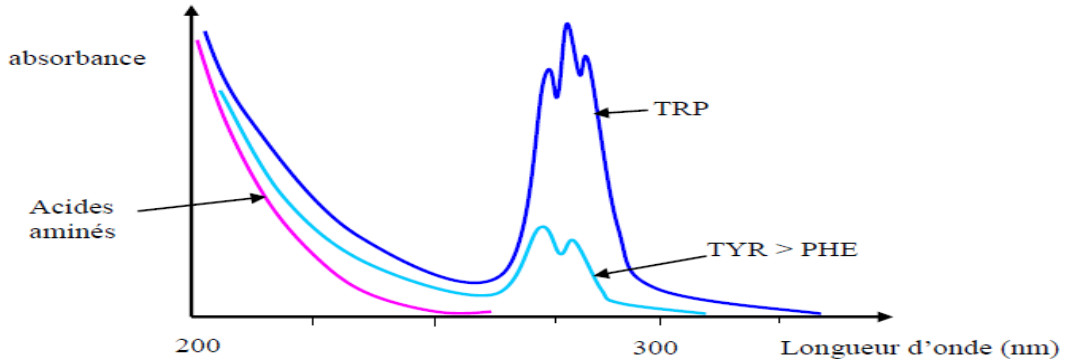


Fig. 99. Spectres d'absorption des aminoacides dans l'ultra-violet.

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).

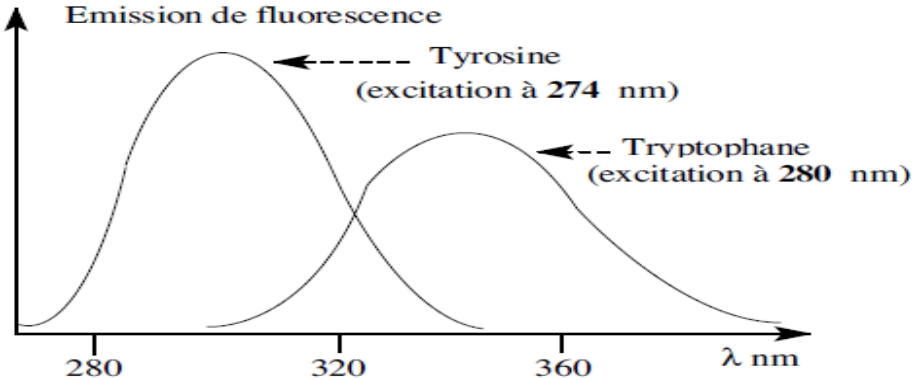


Fig. 100. Fluorescence du tryptophane (spectres d'émission et d'excitation).

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 apparait 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'aminoacide sera sous forme pleinement protonisée. Au fur et à mesure que la concentration en proton diminue (ou que la concentration en OH^- augmente), l'aminoacide cède des protons selon les étapes suivantes :

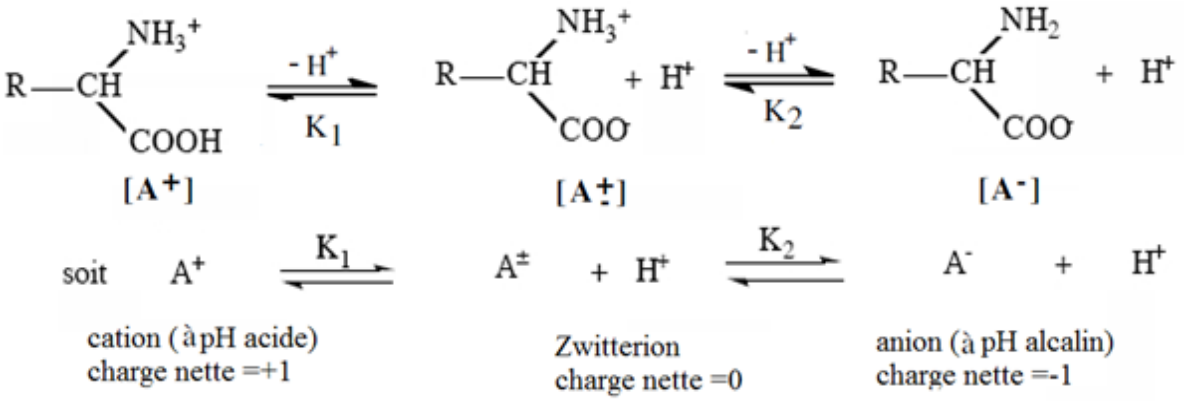


Fig. 101. Equation de déprotonation d'un aminoacide.

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'aminoacide 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'aminoacide. 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 aminé ionisé et non ionisé 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 :

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

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 ya 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**:

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

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-NH3)	pK_R (chaine 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	**lle**	**Isoleucine**	2,32	9,76	-	6,05	131	5,3
K	**Lys**	**Lysine**	2,16	9,06	10,54	9,60	146	5,9
I	**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**	**Sélénocystéine**	-	-	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 pKs 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 $pK_{\alpha COOH}$ est de l'ordre de 2 et le pK $_{\alpha NH2}$ de l'ordre de 10 (Fig. 102 et 103). Le pHi où l'acide aminé est amphotère se calcule par la formule : $\mathbf{pH_i = \frac{(pK1+pK2)}{2}}$

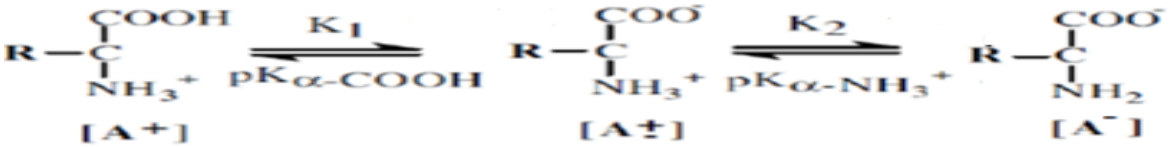


Fig. 102. Equilibre protonique d'un aminoacide neutre.

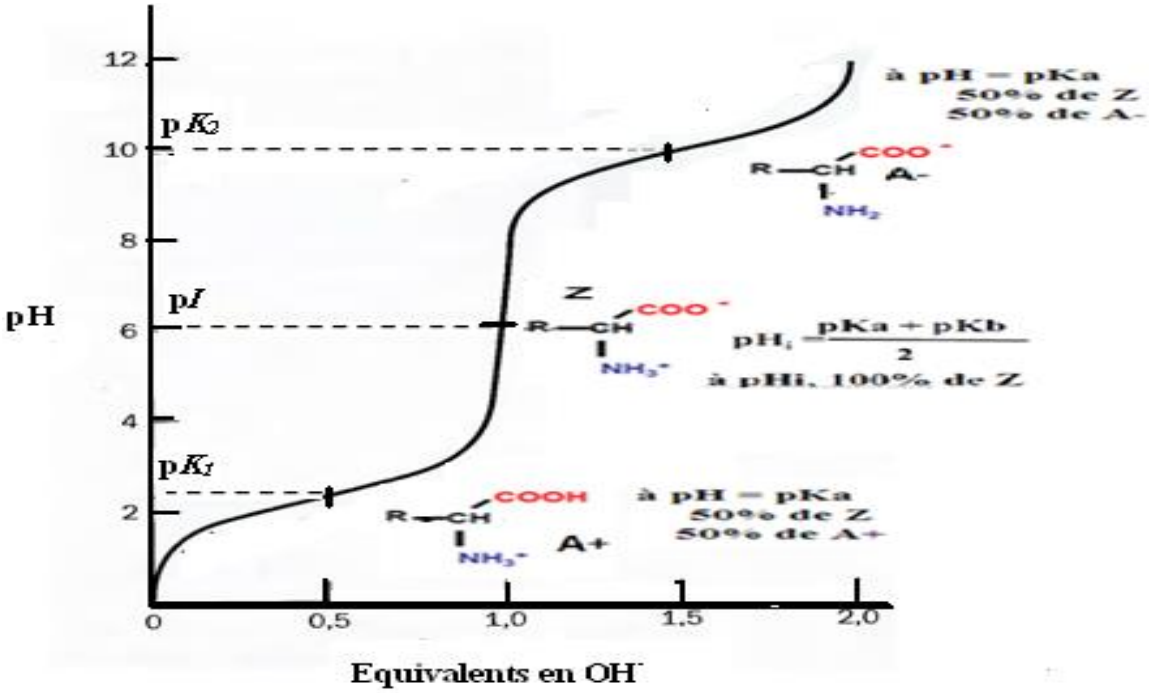


Fig. 103. Courbe de titration d'un acide aminé neutre (la glycine) par la soude.

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 protonée, 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 $pK_{\alpha COOH}$ 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 pks intervenants de part et d'autre de la forme amphotère, au niveau de l'équation de dissociation.

$$\mathbf{pH_i = \frac{(pK1 + pK2)}{2}}$$

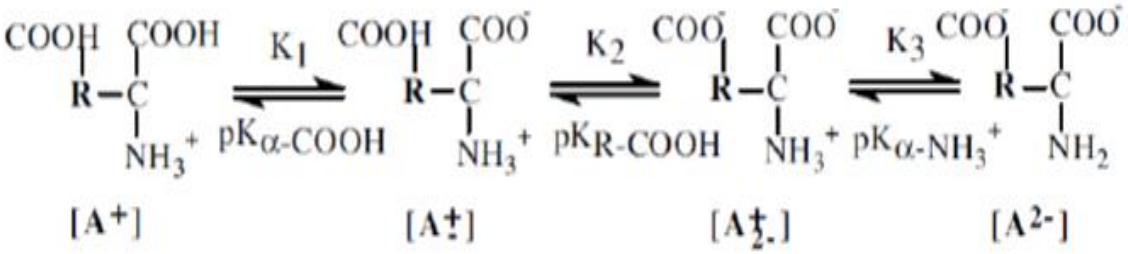


Fig. 104. Etat ionique d'un aminoacide acide en fonction du pH.

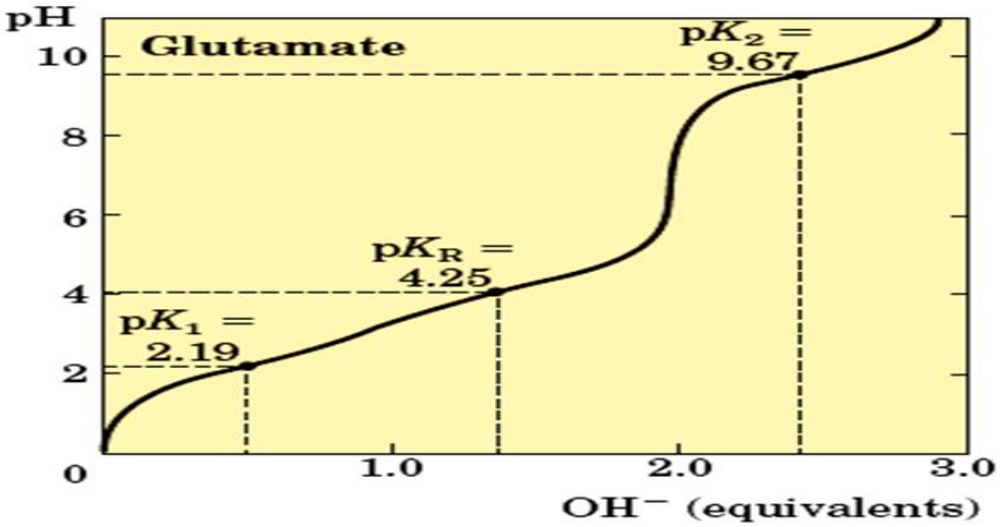


Fig. 105. Courbe de titration d'un acide aminé acide (l'acide glutamique) par la soude.

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

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

$$\mathbf{pH_i = \frac{(pK2+pK3)}{2}}$$

Pour l'arginine et la lysine, le $pK_{\alpha NH2}$ est de l'ordre de 12 et le pH_i s'étende de 7,8 à 10,8.

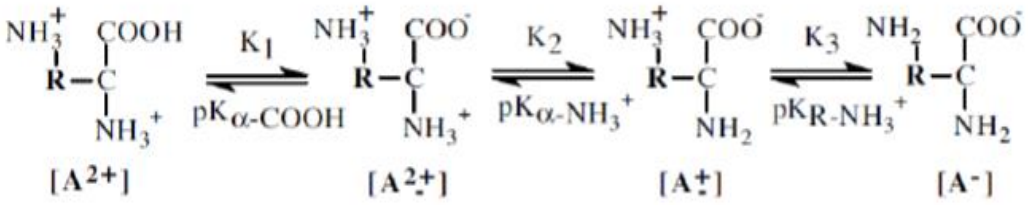


Fig. 106. Etat ionique d'un aminoacide basique en fonction du pH.

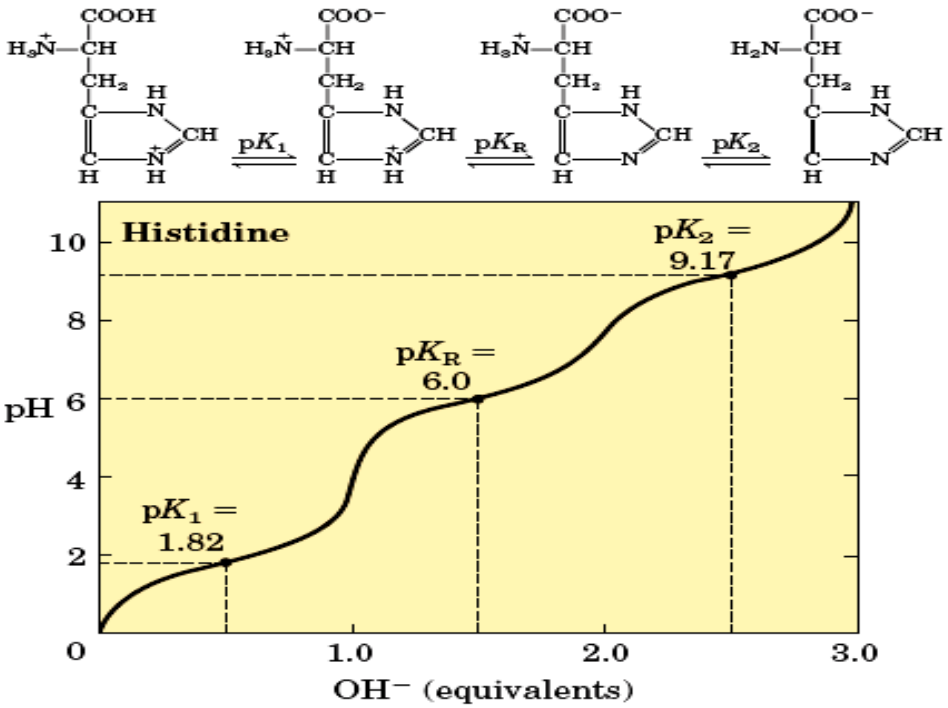
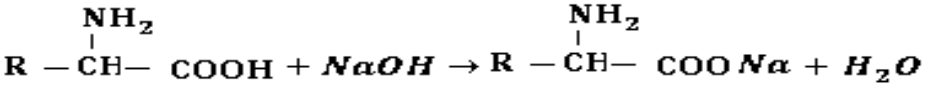


Fig. 107. Courbe de titration d'un acide aminé basique (l'histidine) par la soude.

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).

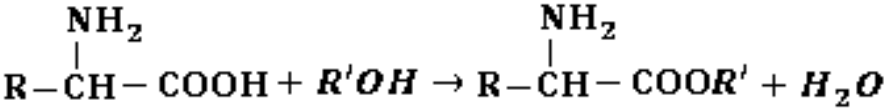


Acide aminé **base** **sel**

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 fractionné ou par chromatographie phase gazeuse.

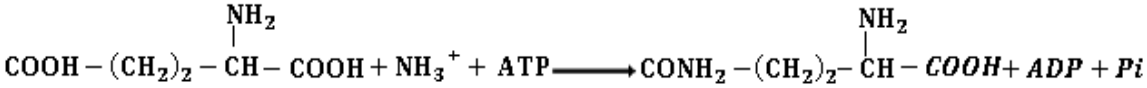


Acide aminé **Alcool** **Ester**

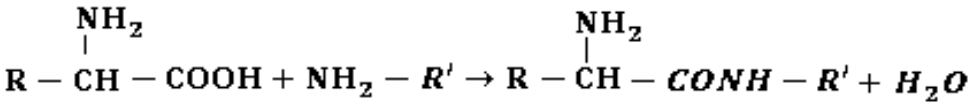
Fig. 109. Réaction d'un aminoacide avec un alcool.

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'urogènèse et de l'ammoniogénèse. Cette réaction (catalysée par la glutamine synthétase) intervient à partir de l'acide glutamique.



Acide glutamique **Ammoniaque** **Glutamine**



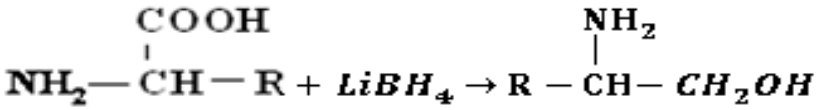
Acide aminé **Amine** **Amide** **Eau**

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 NH_2 situé dans une autre position (β-COOH, γ-COOH, ε-NH_2), la liaison est dite **peptoide** (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 $LiBH_4$ ou $NaBH_4$ 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.

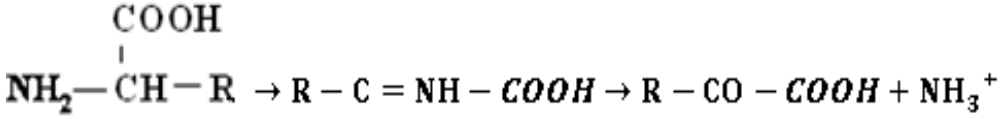
Ac. aminé	Amine	Fonction
Aspartate	α-alanine β-alanine	Dans les protéines Composant du coenzyme A
Glutamate	γ-Amino-butyrate	Neurotransmetteur (GABA) Médiateur du système nerveux central
Cystéine	Cystéamine	Composant du coenzyme A
Sérine	Ethanolamine	Composant des phospholipides
Histidine	Histamine	Médiateur, 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 NH_3 (Fig. 112). Elle peut être réalisée par voie chimique (acide nitreux HNO_2) 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.

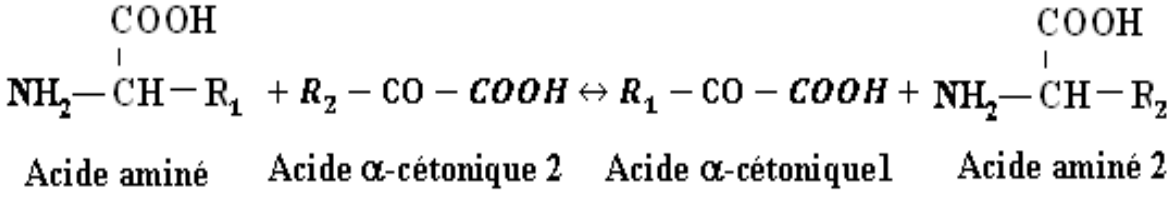


Acide aminé **Acide α-iminé** **Acide α-cétonique**

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).



Acide aminé **Acide α-cétonique 2** **Acide α-cétoniquel** **Acide aminé 2**

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.

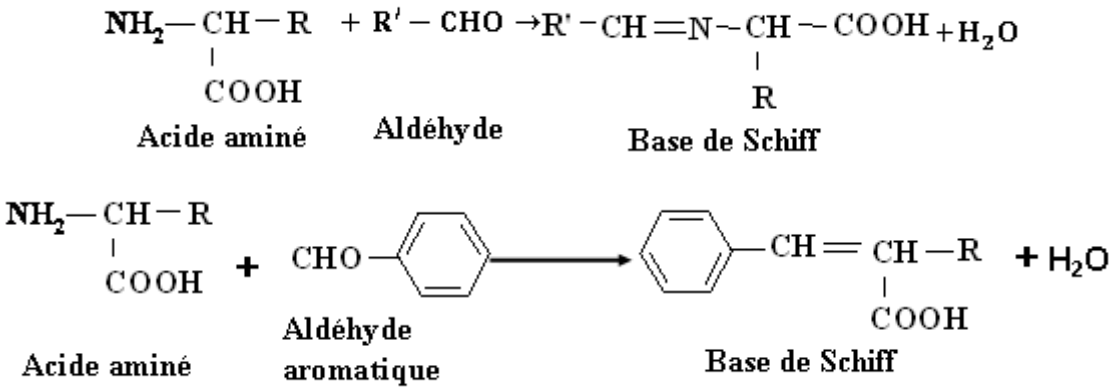


Fig. 114. Réaction d'un aldéhyde avec un aminoacide.

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), arômatique (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.

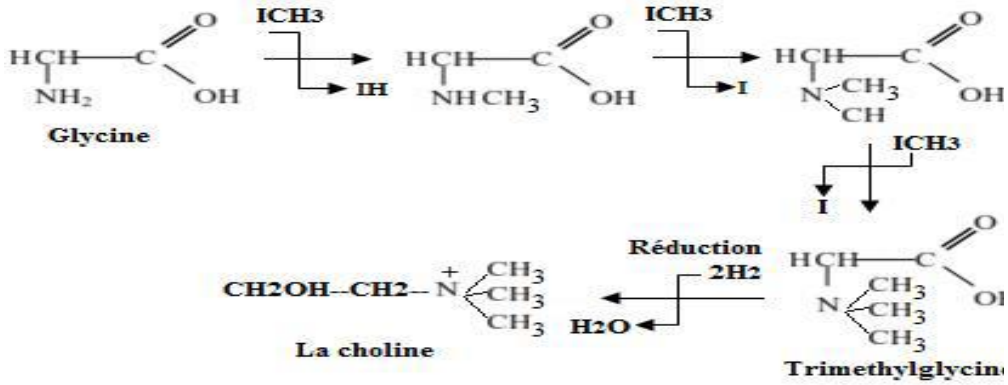


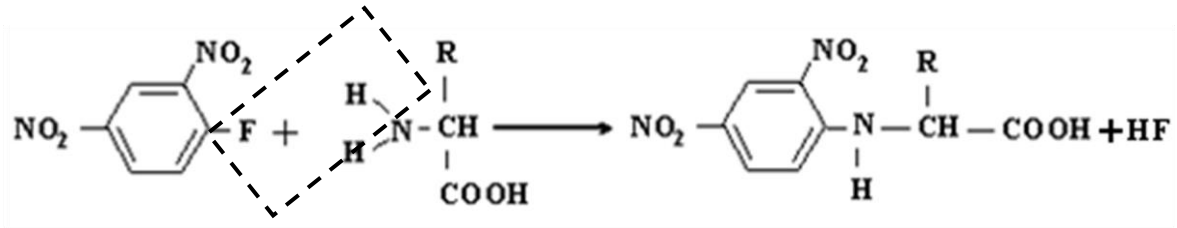
Fig. 115. La méthylation de la Glycine.

- 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 360 nm.



Réactif de Sanger (DNFB) **Acide aminé** **DNP-aa (2,4- dinitrophényl aminoacide)**

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

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.

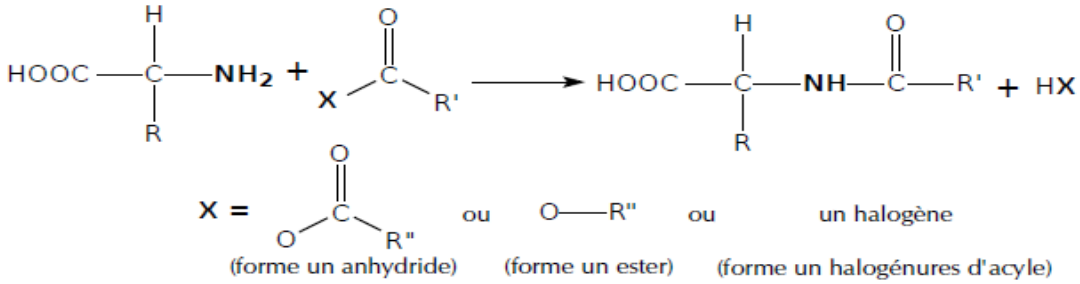
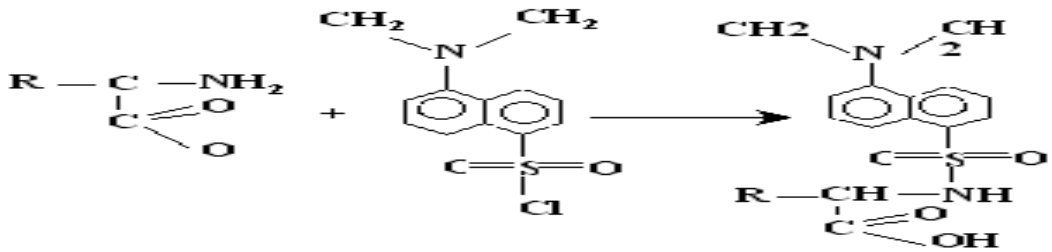


Fig. 117. Réaction de N-acylation.

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

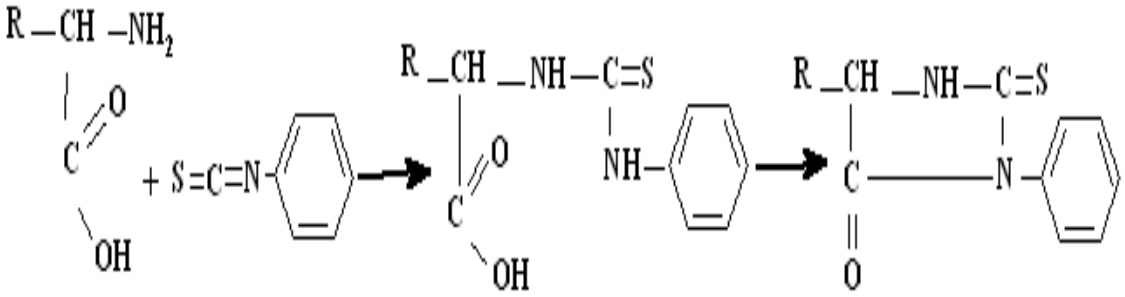


Acide aminé **Cholrure de Dansyl** **Dansyl-aminoacide**

Fig. 118. Réaction avec le chlorure de dansyl.

- **La carbamylation**

La réaction dite de carbamylation (méthode d'Edman) avec le phénylisothiocyanate (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).

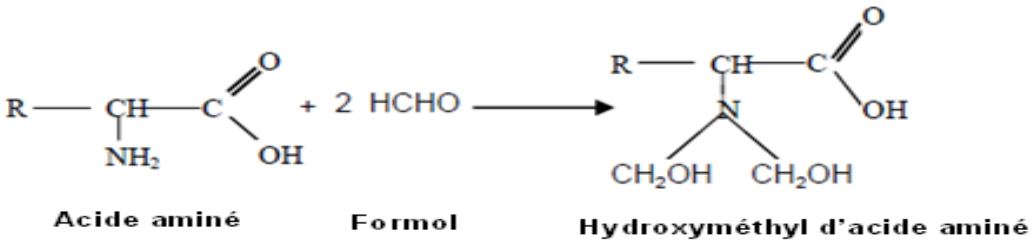


Acide aminé **Phénylisothiocynanate PITC** **Acide phénylhydantoine aminoacide** **Phénylhydantoine aminoacide (PTH aa)**

Fig. 119. Réaction du phénylisothicyanate 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.



Acide aminé **Formol** **Hydroxyméthyl d'acide aminé**

Fig. 120. Réaction de substitution du α-NH_2 d'un aminoacide par le formol.

IV. 1. 3. 5. Réactions liées au groupe COOH et NH_2

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 ($\lambda = 570$nm) et avec les amines secondaires (cas de la proline) une coloration jaune ($\lambda = 440$nm). La réaction comporte plusieurs étapes (Fig. 121).

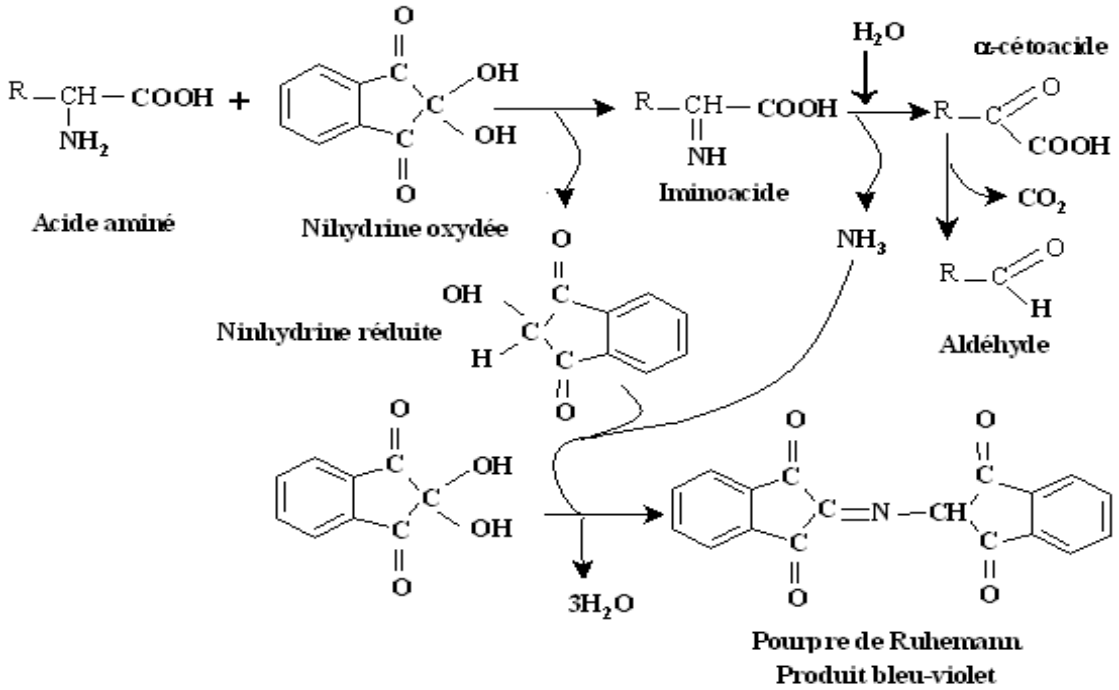


Fig. 121. Réaction des aminoacides avec la ninhydrine.

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'aminoacide 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-naphtol en présence d'hybobromite ou hypochlorite de sodium) et en milieu basique réagit avec le groupement guanidine ($NH=C-NH_2$) 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 thyroidiennes (Fig. 122).

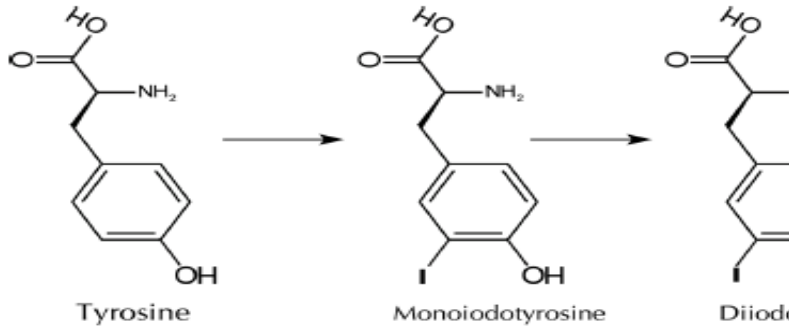


Fig. 122. Iodation de la tyrosine.

- *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-naphtol) 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.

Groupement 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 O_2 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.

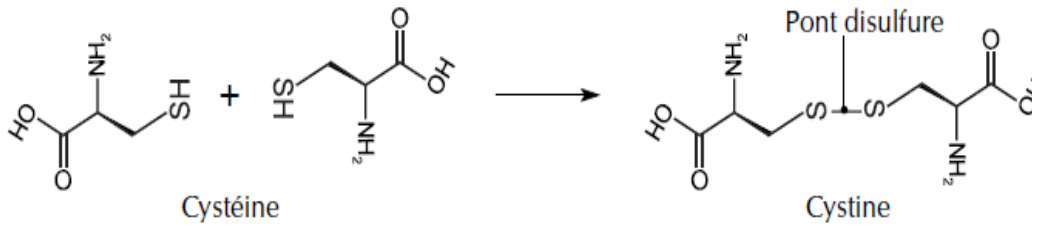


Fig. 123. Formation d'un pont disulfure.

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 naphtoquinone-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) :

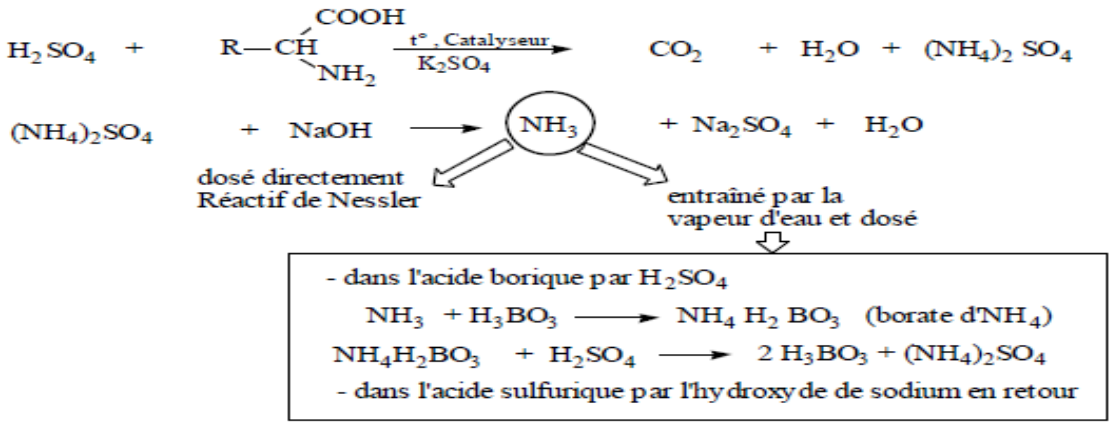


Fig. 124. Réactions impliquées dans la méthode de dosage des acides aminés totaux selon *Kjeldahl.*

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 Sörensen « 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 hydrolysat 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).

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.

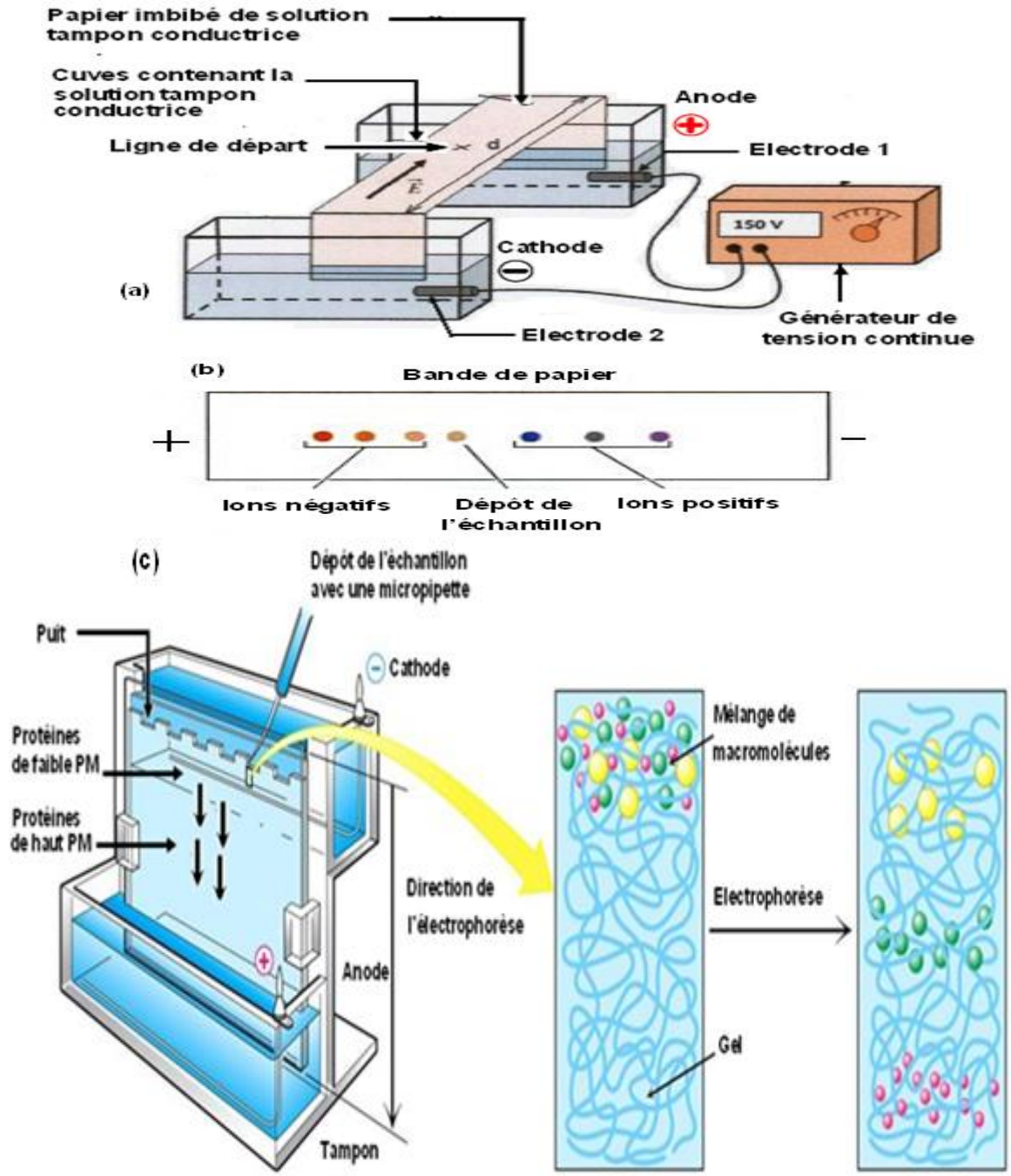


Fig. 125. La technique d'électrophorèse. (a) L'appareil d'électrophorèse horizontale sur papier. (b) Représentation de l'électrophorégramme obtenu. (c) L'appareil d'électrophorèse verticale sur gel.

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).

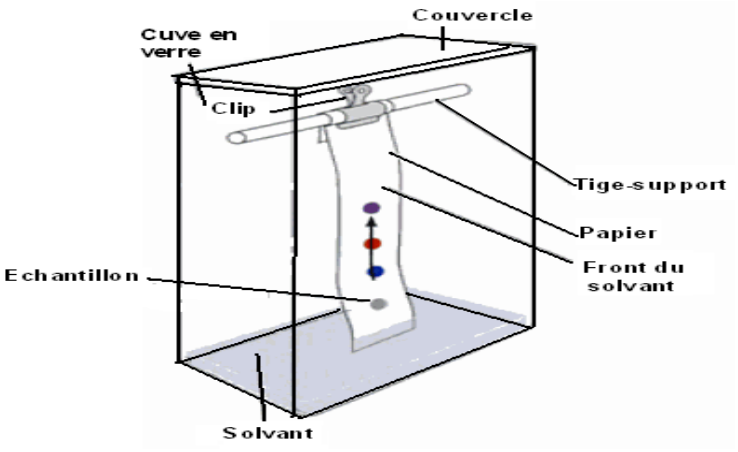


Fig. 126. Dispositif expérimental pour chromatographie ascendante sur papier.

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 = Distance de migration du composé / 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 1ère dimension se fait avec un

premier solvant organique puis le papier est tourné d'un ¼ 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.

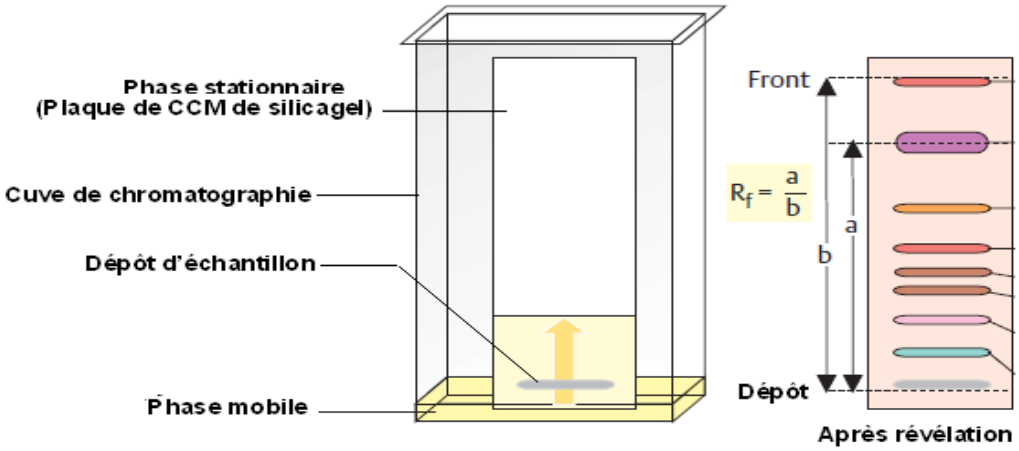


Fig. 127. Matériel pour chromatographie ascendante sur couche mince.

- **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).

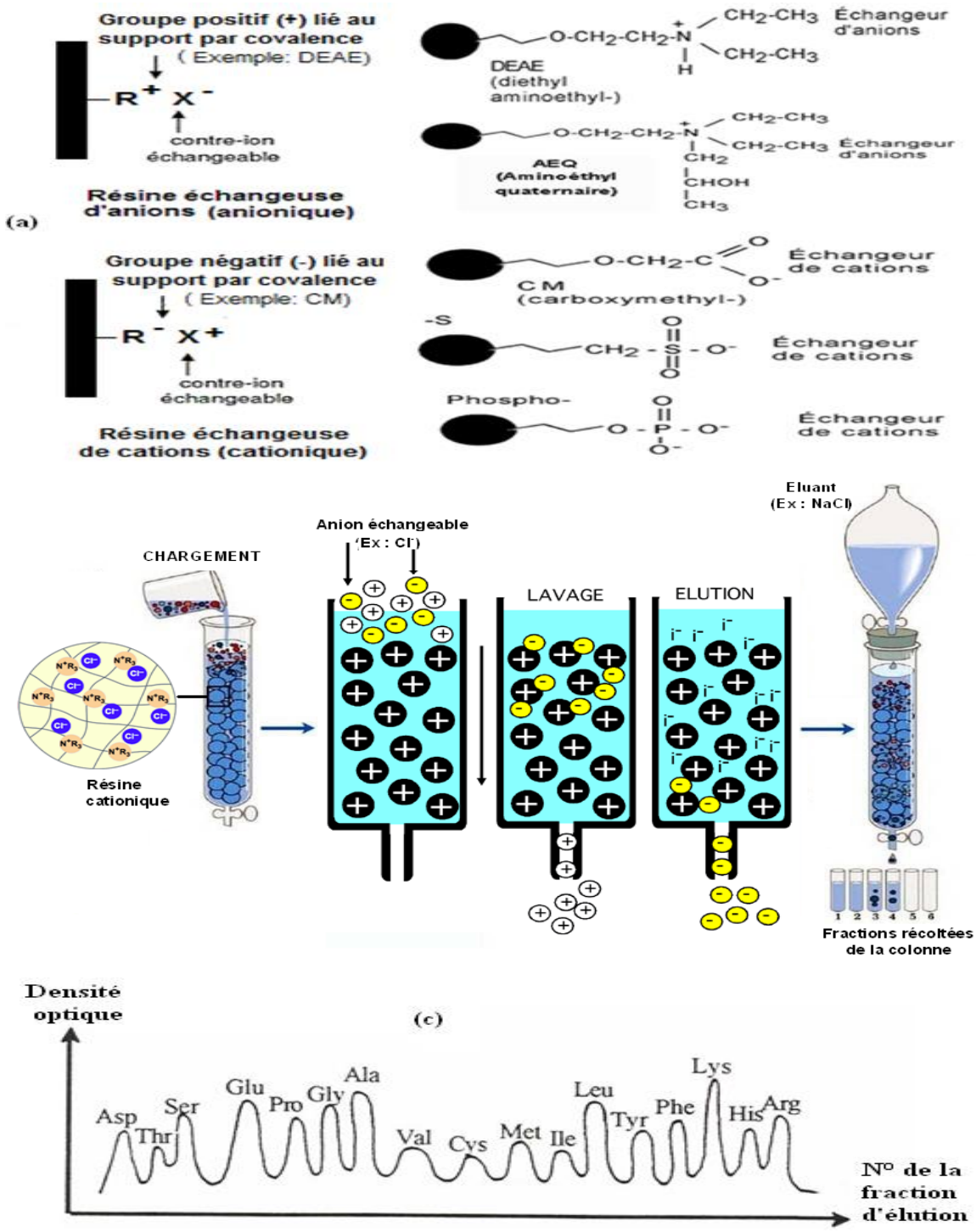


Fig. 128. (a) Les groupements chargés greffés sur une résine synthétique d'une colonne de chromatographie. **(b)** Dispositif et principe de la chromatographie échangeuse d'ions. **(c)** Chromatogramme des acides aminés après chromatographie échangeuse d'ions.

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 pics 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 NH_2 situé dans une autre position (βCOOH, γ COOH, ε NH_2) on parle de **liaison peptidoïde**.

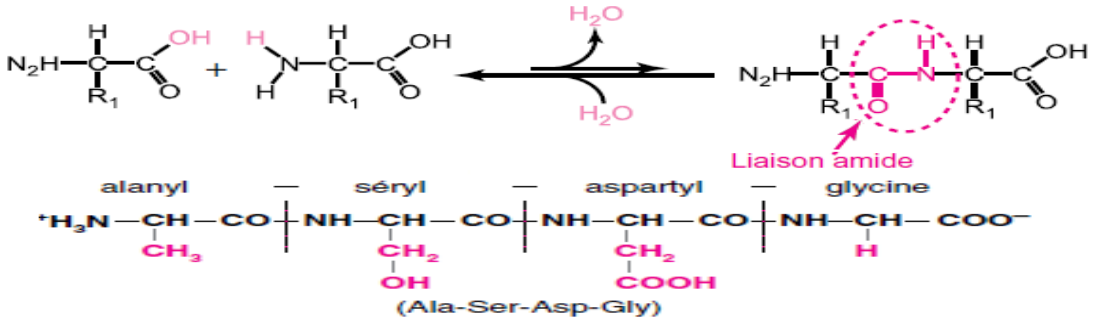


Fig. 129. Formation de la liaison peptidique.

L'enchainement 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 NH_2 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 chaines latérales des résidus d'aminoacides.

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

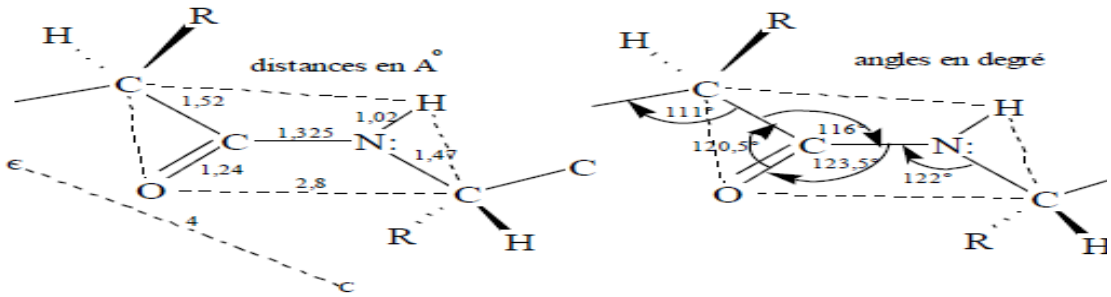


Fig. 130. Distances et angles d'une liaison peptidique.

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 γGlu-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 co

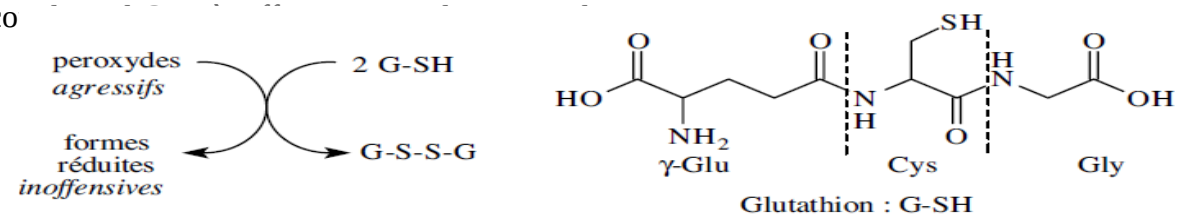


Fig. 131. Structure du glutathion.

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

IV. 2. 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 **bradykinin**e 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'aminoacides (Fig. 132):

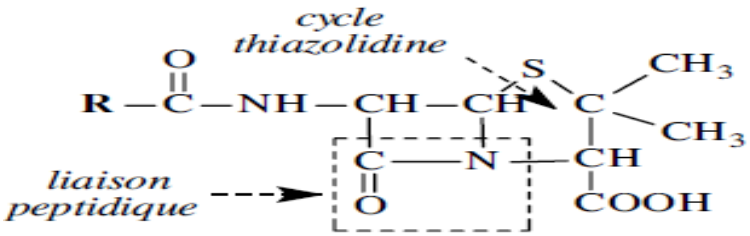


Fig. 132. La pénicilline (R dépend de la souche de Penicillium).

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 C_9), spécifique des cyclosporines : 2-amino-3-hydroxyl-4-méthyl-6octénoïque.

IV. 3. 1. 1. 1. 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 donnée 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 disulfures.

Méthode de Stein et Moore. Elle comprend plusieurs étapes :

– Hydrolyse acide (HCl 6 $mol.L^{-1}$, 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 phénylisothiocyanate 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).

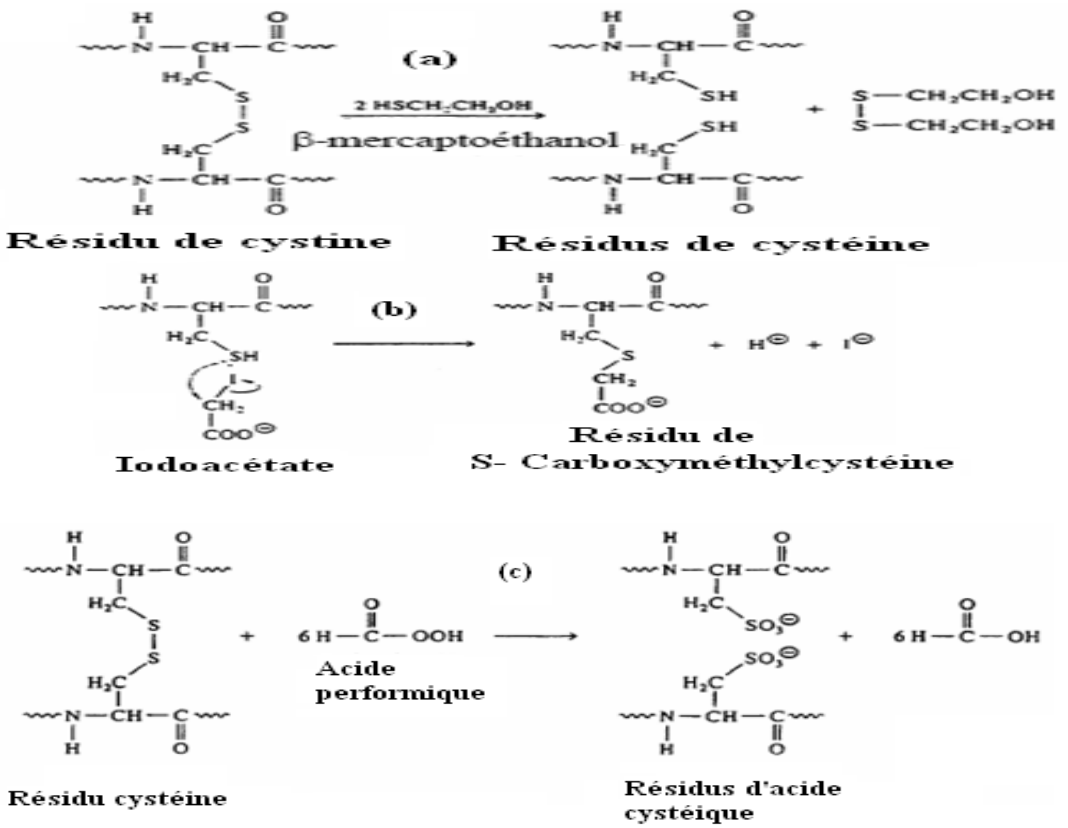


Fig. 133. Scission de ponts disulflures au β-mercaptoéthanol et substitution par l'iodoacétate.

(a) En présence de β-mercaptoéthanol, la protéine échange avec celui-ci ses groupes S-S : 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-carboxvméthvlcystéine. Ainsi substitués, les sulfhydriles sont soustraits à la réoxydation en SS. **(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 **hydrolysat** 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 spectro-photométriquement grâce à sa couleur jaune. La mise en évidence de plusieurs α-DNPaa est la preuve de l'existence de plusieurs chaînes peptidiques.

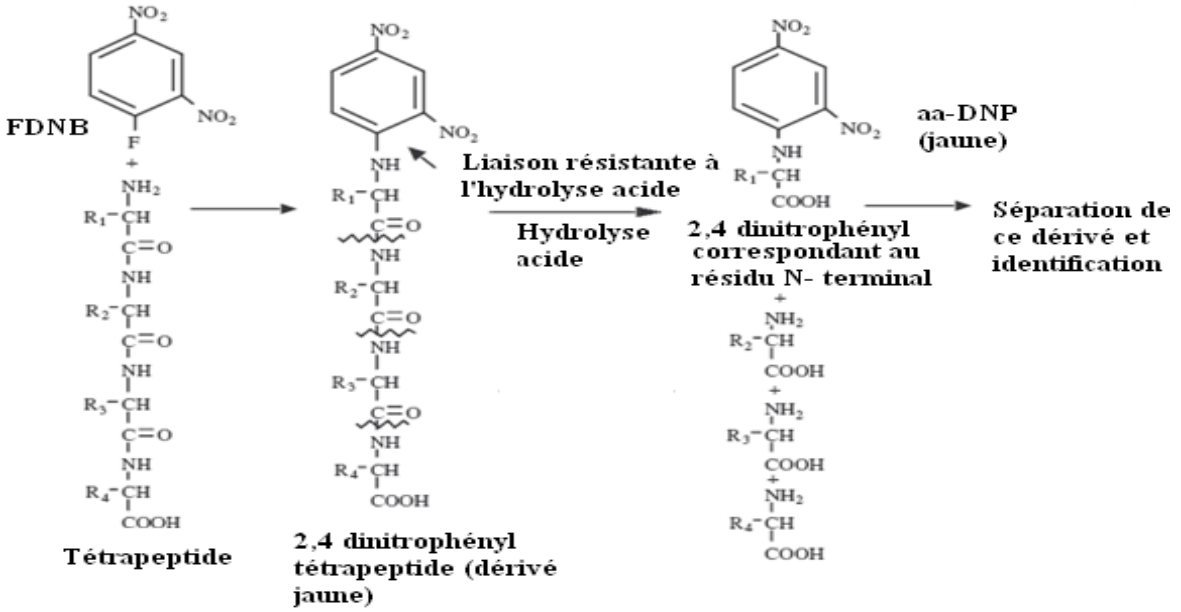


Fig. 134. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de Sanger.

- **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).

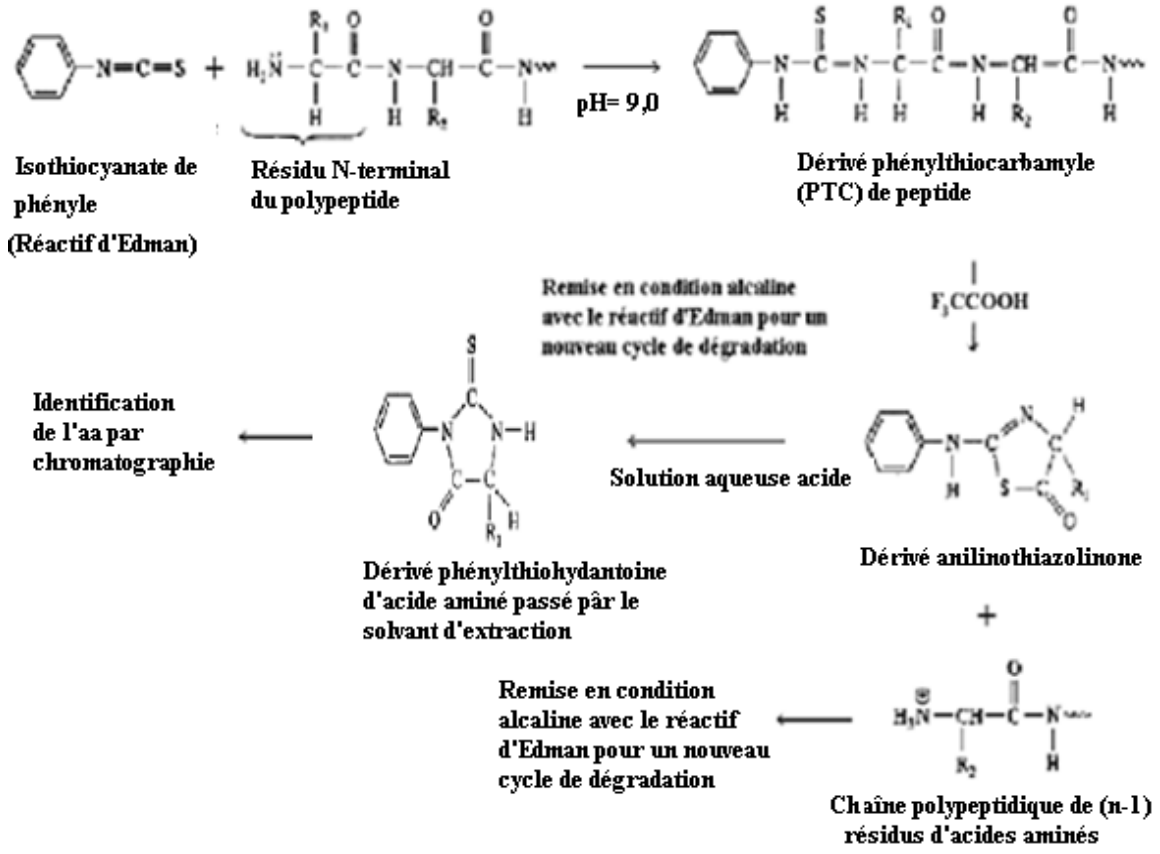


Fig. 135. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode d'Edman.

De plus, la réaction avec l'acide aminé terminal d'une protéine libère 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 phénylthiohydantoine-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).

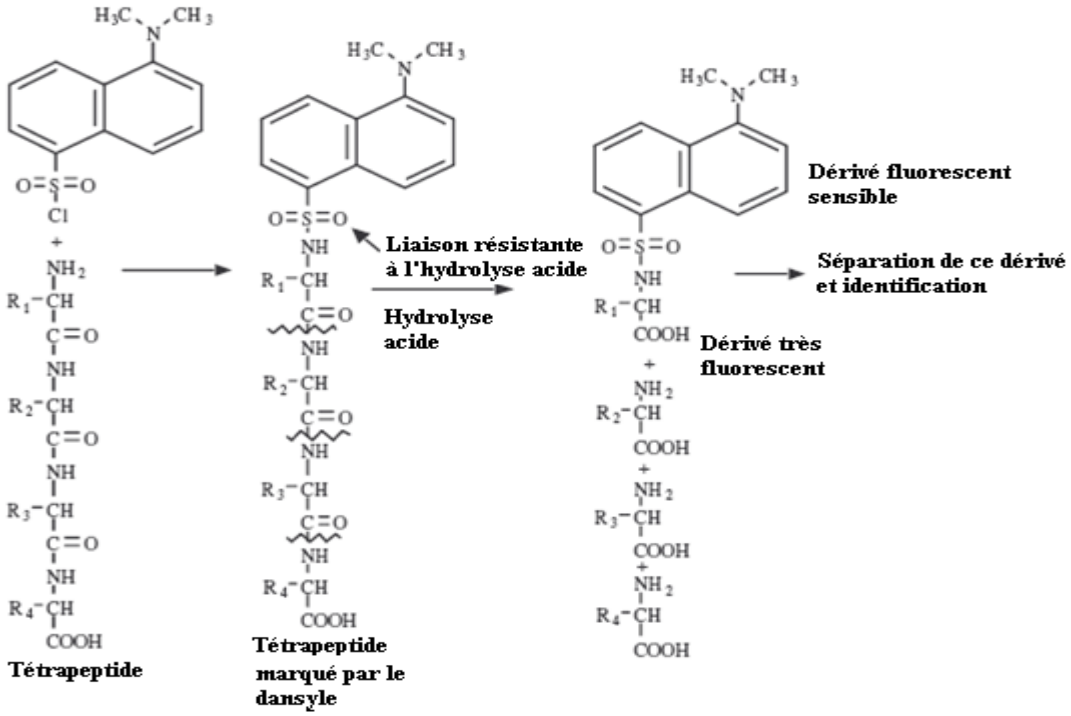


Fig. 136. Détermination de l'acide aminé N-terminal par la méthode de chlorure de dansyle.

- **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'hythazino1yse à 100 C° permet la coupure des liaisons peptidiques avec formation d'hydrazides sauf au niveau du résidu C-terminal qui apparait sous forme d'acide aminé facilement identifiable (Fig. 137b).

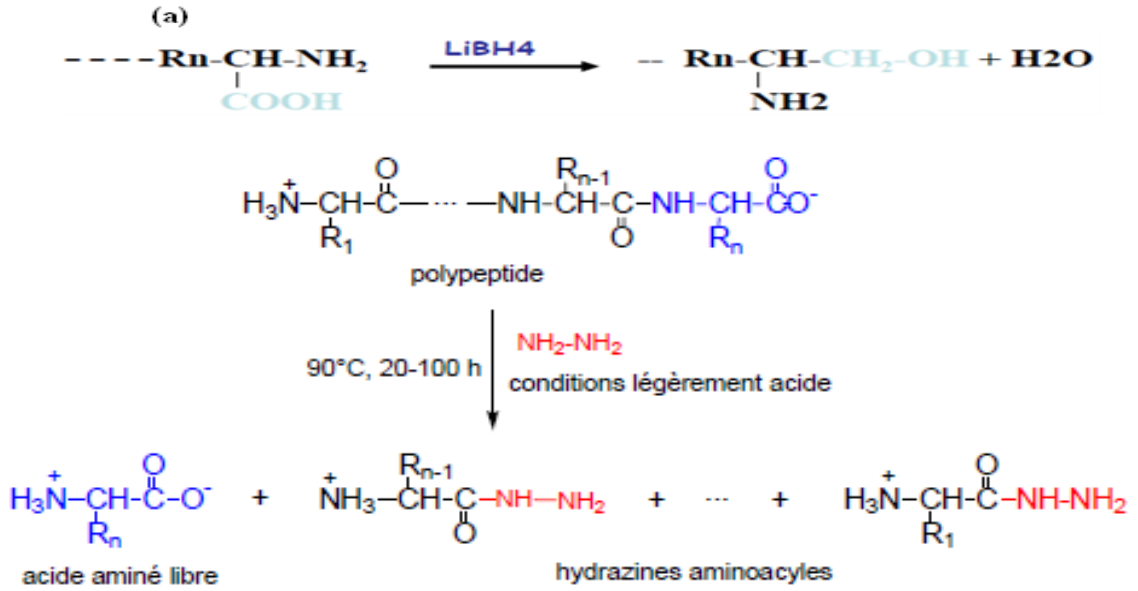


Fig. 137. Détermination de l'acide aminé C-terminal par réduction (a) et grâce à l'hydrazynolyse (b).

- **Méthodes enzymatiques**

Les carboxpeptidases 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 amine C-terminal est Arg, Lys ou Pro (clive l'acide aminé C-terminal lorsque celui-ci est acide ou neutre).

La carboxvpeptidase 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 chaines 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).

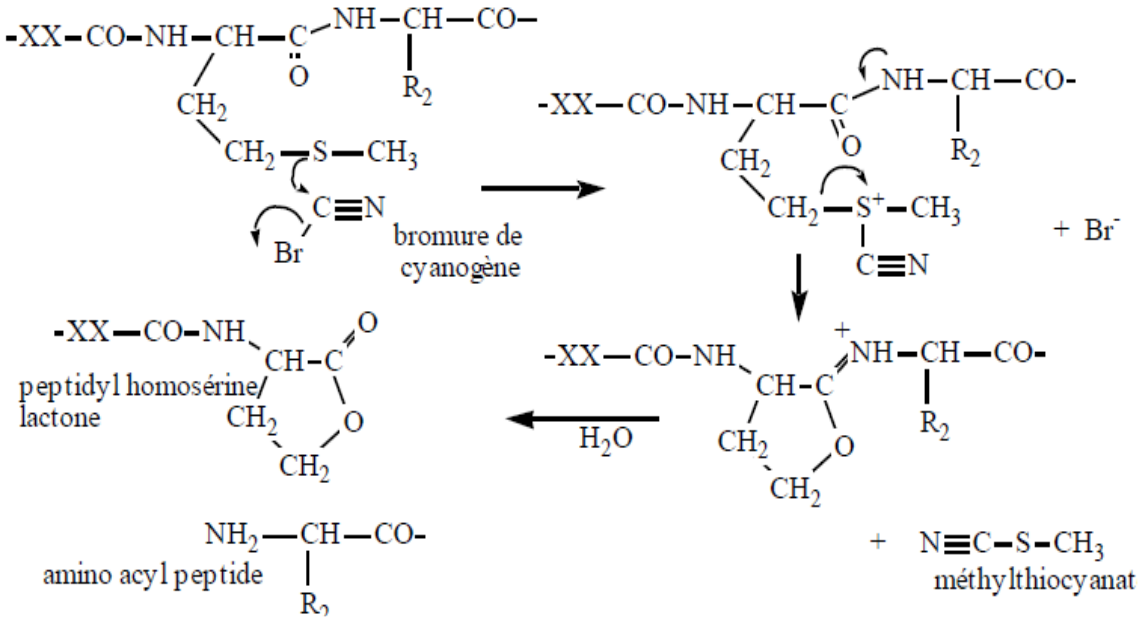


Fig. 138. Site de coupure de la chaine peptidique par le bromure de cyanogène **(**BrCN).

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.

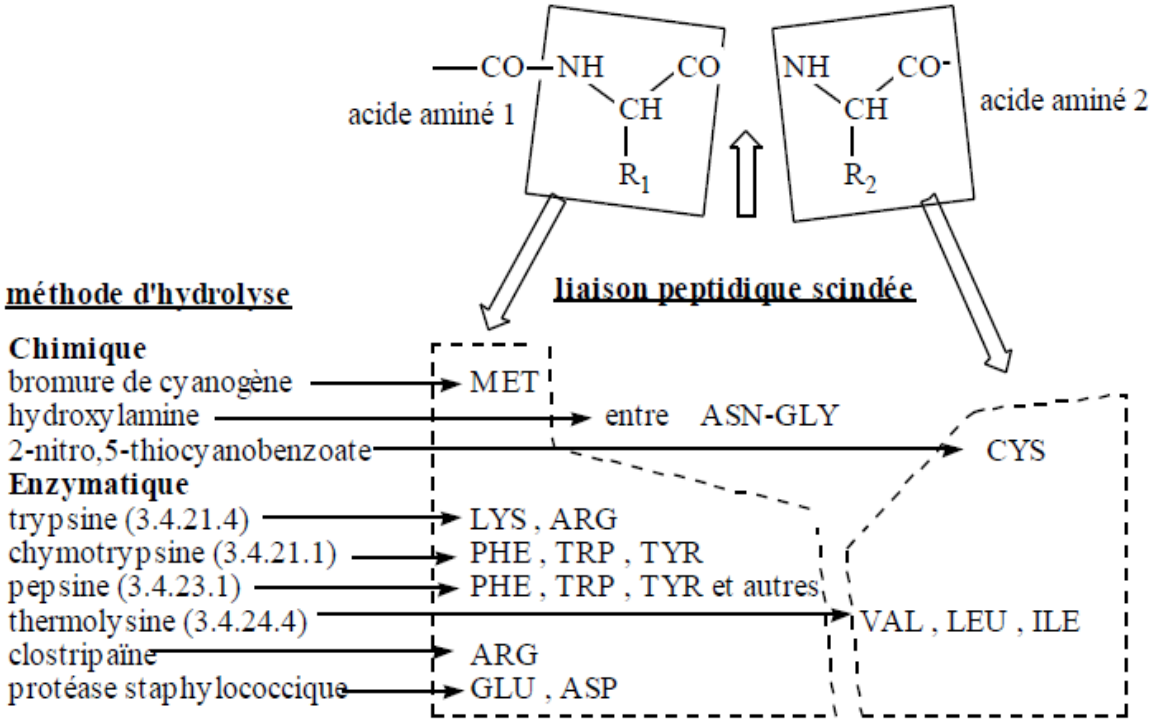


Fig. 139. Méthodes d'hydrolyse spécifiques de la liaison peptidique.

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 Rn+1=Pro.

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

Thermolysine : spécifique des acides aminés hydrophpobes (Ala, Val, Leu, Ile, Met) avec une coupure du côté amino de la liaison peptidique sauf si Rn-1=Pro.

Protéinase V8 : spécifique des acides aminés acides avec une coupure du côté carboxylique aprés **Asp, Glu** sauf si Rn+1=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 (chaines 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).

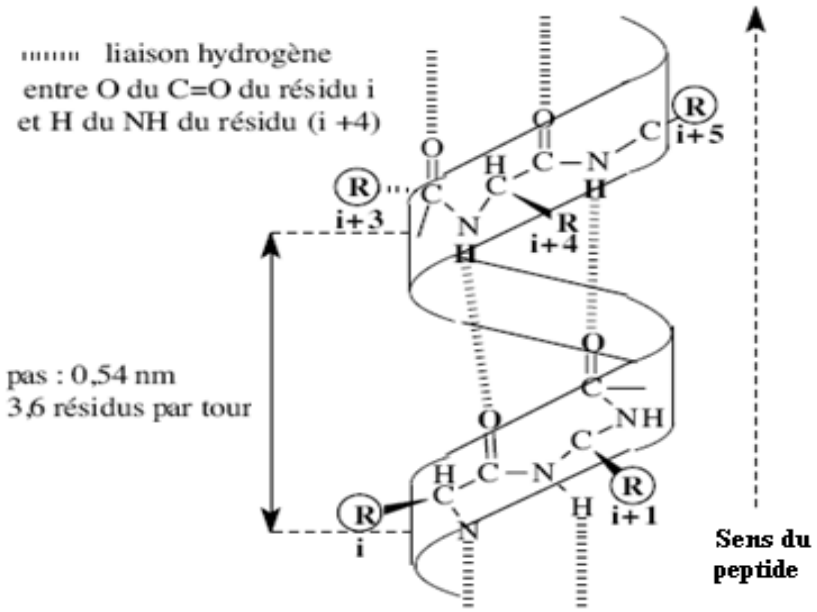


Fig. 140. Structure d'une hélice α droite.

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 × 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).

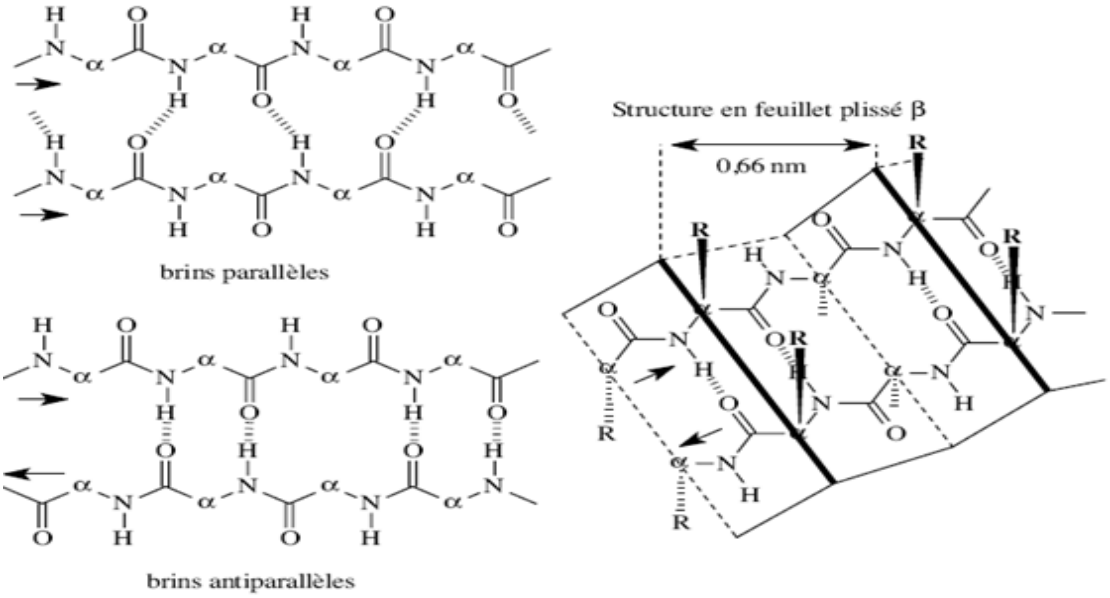


Fig. 141. Structure en feuillet plissé β.

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.

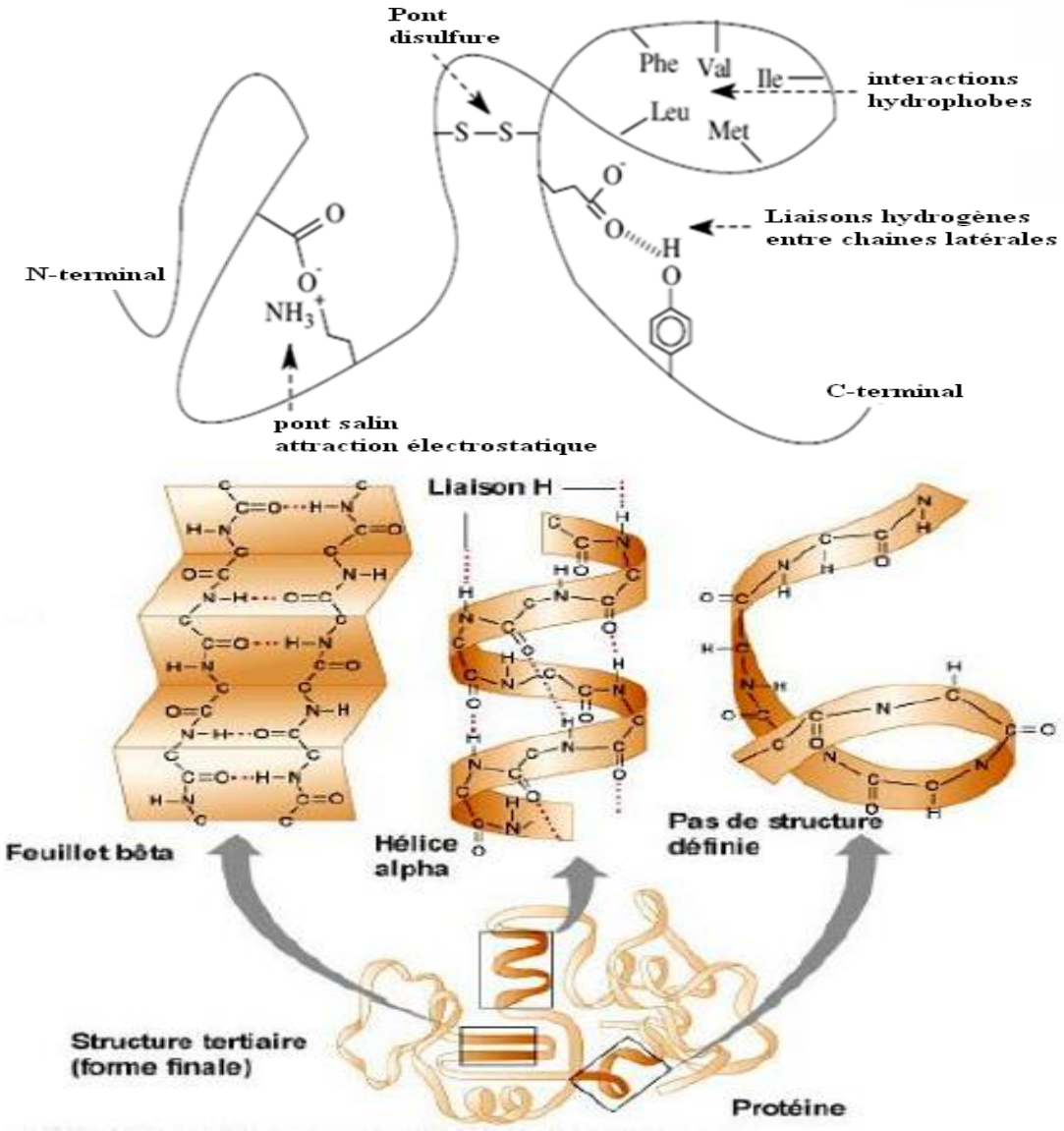


Fig. 142. Les liaisons ou interactions entre chaines latérales des résidus, impliquées dans la structure tertiaire des protéines.

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**.

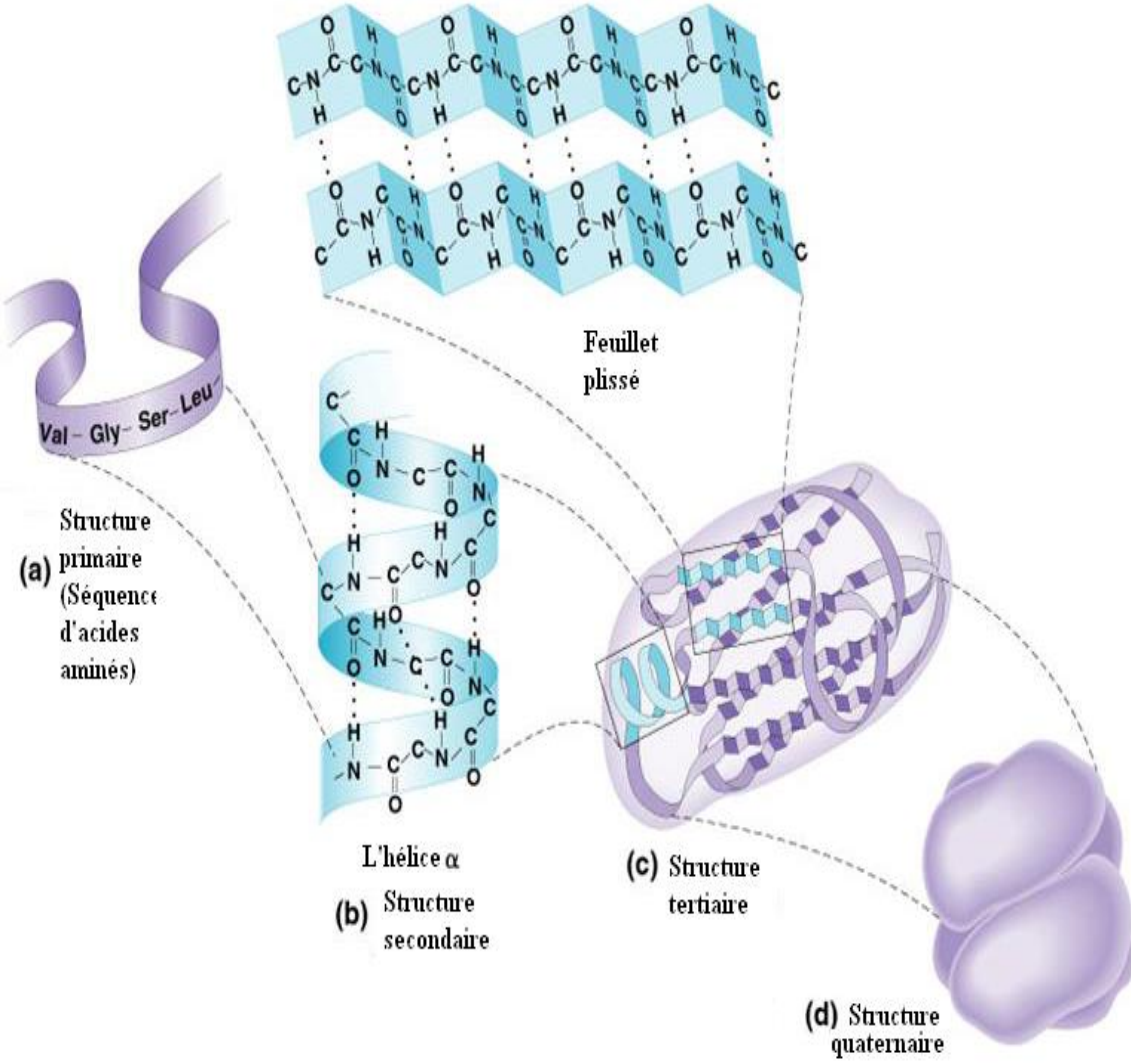


Fig. 143. Les quatre niveaux de structure d'une protéine.

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'œuf 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.

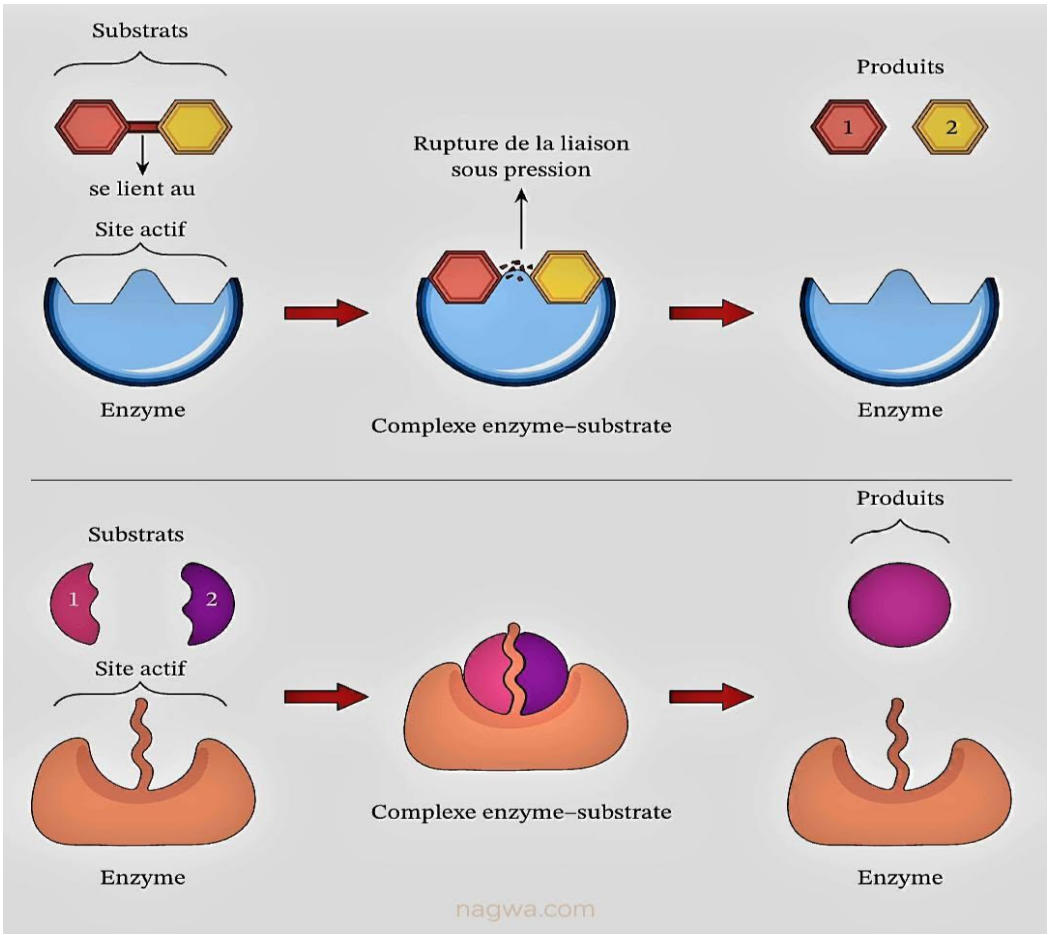
IV. 3. 3. Isolement, fractionnement et purification des protéines

L'obtention d'une protéine pure à partir d'un homogénat de cellules est en général une tâche longue et délicate, car en 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



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 ; ces 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).

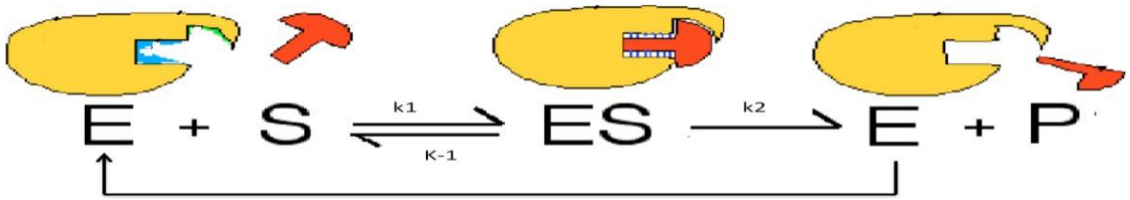


Fig. 144. La réaction de transformation d'un substrat en produit catalysée par une enzyme.
Avec k = constante de vitesse.
k_1 = constante de vitesse de formation du complexe ES
k_{-1} = constante de vitesse de dissociation du complexe ES
k_2 = constante de vitesse de formation de P «Turnover» nombre 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.

III. 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) :

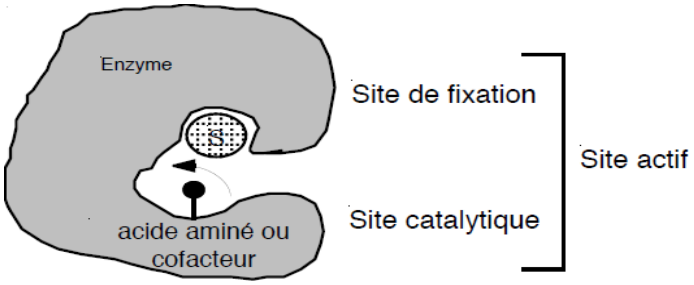


Fig. 145. Représentation schématique d'une enzyme.

- le site de fixation reconnait 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 C_6 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 :

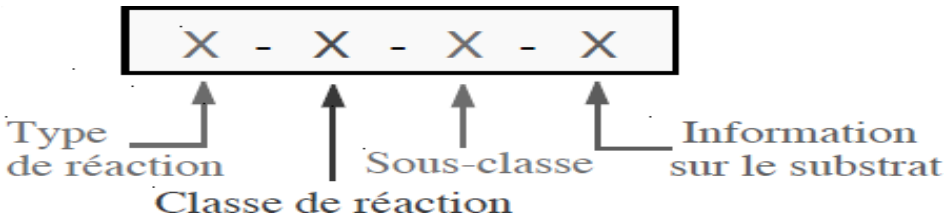


Fig. 146. Nomenclature des enzymes

X_1 : 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 H_2O)

4: Lyases (Coupure des liaisons par d'autres modes autres que l'hydrolyse, sans consommation de H_2O).

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.

X_2 : Le 2ème définit la sous-classe (son mécanisme d'action). Dans le cas des oxydoréductases on distingue les déshydrogénases, les monooxygénases et les dioxygénases.

X_3 : Le 3ème nombre désigne sous sous classe : la nature de la molécule qui sert d'accepteur, lorsqu'il s'agit d'un transfert d'électrons.

X_4 : Le 4ème 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

Unités de mesure de l'activité catalytique des enzymes

- **Unité internationale d'activité (UI) :** une unité est la quantité d'enzyme transformant une µmole de substrat par minute dans les conditions optimales de dosage (**UI= µ mol/min).**

- **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).

- **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.

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

- **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.

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

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.

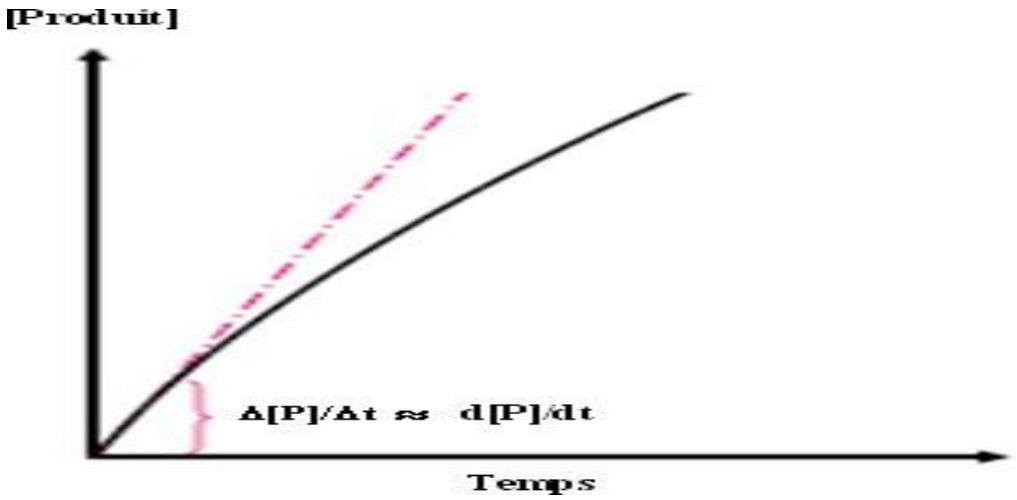


Fig. 147. Détermination de la vitesse initiale d'une réaction.

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) :

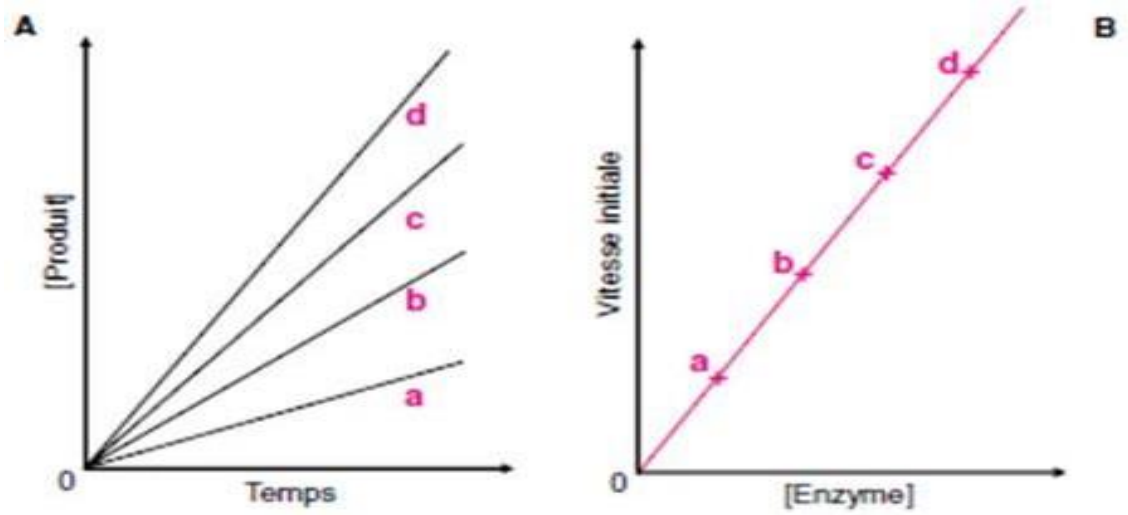


Fig. 148. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale.

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.

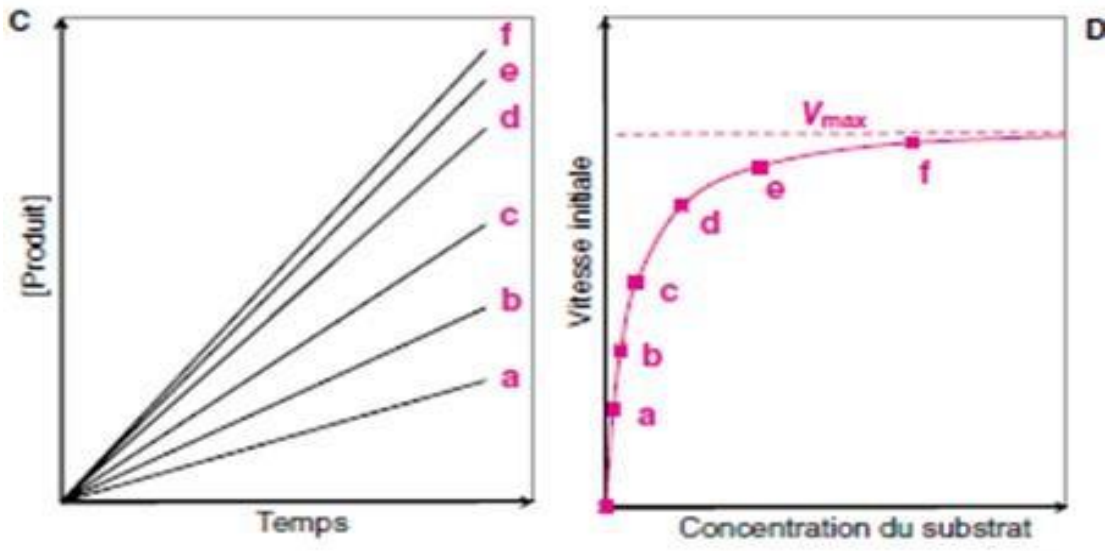


Fig. 149. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale.

V. 6. 4. Modèle de Michaëlis-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 :

$$E + S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\leftrightarrow}} ES \xrightarrow{K_3} E + P \quad (1)$$

Dans ce schéma :

• K_1 : constante de vitesse de formation du complexe *ES*, dimension mol. L^{-1}. s^{-1} ; la vitesse de formation du complexe [ES] est : $\mathbf{V1 = K_1\,[E][S]}$

• K_2 : constante de vitesse de dissociation du complexe *ES*, dimension s^{-1} ; la vitesse d'élimination du complexe [ES] est : $\mathbf{V = (K_2 + K_3)\,[ES]}$

- 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 : $\boldsymbol{V_0 = k_{cat}[ES]}$

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 : $\boldsymbol{V = -d[S]/dt = d[P]/dt}$

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

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

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 : $\boldsymbol{V_1 - V_2 = V_3}$ **donc** $\boldsymbol{K_1[E][S] = (K_2 + K_3)[ES]}$

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

En appelant $[E_T]$ la concentration totale en enzyme, la concentration en enzyme libre est égale à: $\boldsymbol{[E] = [ET] - [ES]}$ et $\boldsymbol{Km = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{([ET]-[ES])[S]}{[ES]}}$

$$\boldsymbol{Km + [S] = \frac{[ET][S]}{[ES]} \Rightarrow [ES] = \frac{[ET][S]}{Km + [S]}}$$

V= vitesse de la réaction enzymatique = V_3

$\boldsymbol{V = V_3 = k_3[[ES]]}$ donc $\boldsymbol{V = \frac{k3.[ET].[S]}{Km + [S]}}$

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 :

$\boldsymbol{V_{max} = K_{cat}[ET]}$ et par conséquent : $\boldsymbol{V_i = \frac{V_{max}.[S]}{K_m + [S]}}$ C'est l'équation de Michaelis et Menten, avec:

Vi : vitesse initiale de la réaction enzymatique pour une concentration de substrat (en µMol/min) ;

$\boldsymbol{V_{max}}$: Vitesse maximale mesurée pour une concentration saturante de substrat (en µM/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).

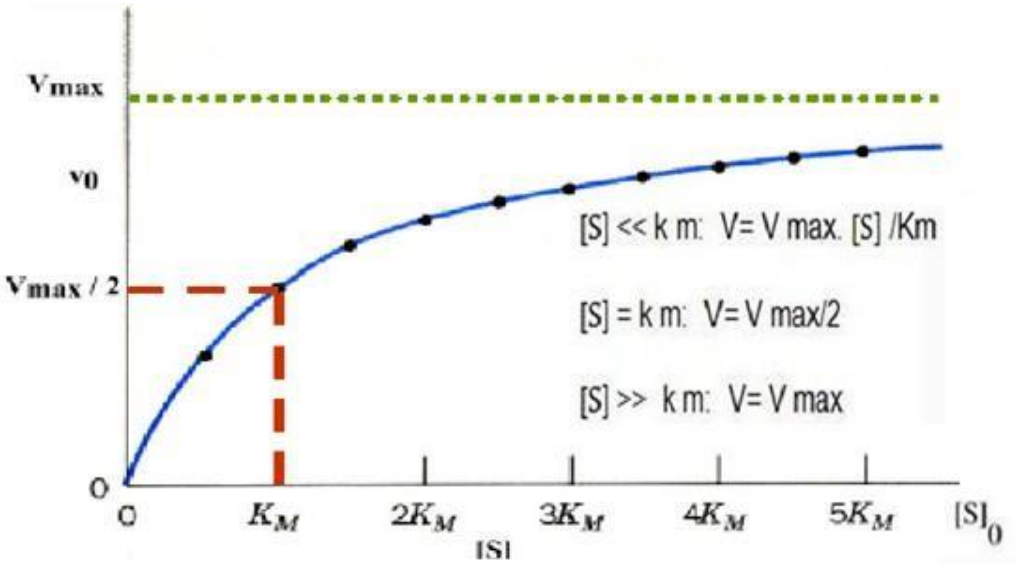


Fig. 150. Représentation de Michaelis montrant la vitesse en fonction de la concentration du substrat.

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 :

$$\frac{1}{V} = \frac{Km + [S]}{Vm + [S]} = \frac{Km}{Vm\,[S]} + \frac{1}{Vm}$$

Qui est du type y = ax + b (équation d'une droite) dans laquelle :

$$\mathbf{1.}\ y = \frac{1}{V}\ ,\ \mathbf{2.}\ a = \frac{K_m}{V_{max}}\ ,\ \mathbf{3.}\ x = \frac{1}{[S]}\ \text{et}\ \mathbf{4.}\ b = \frac{1}{V_{max}}$$

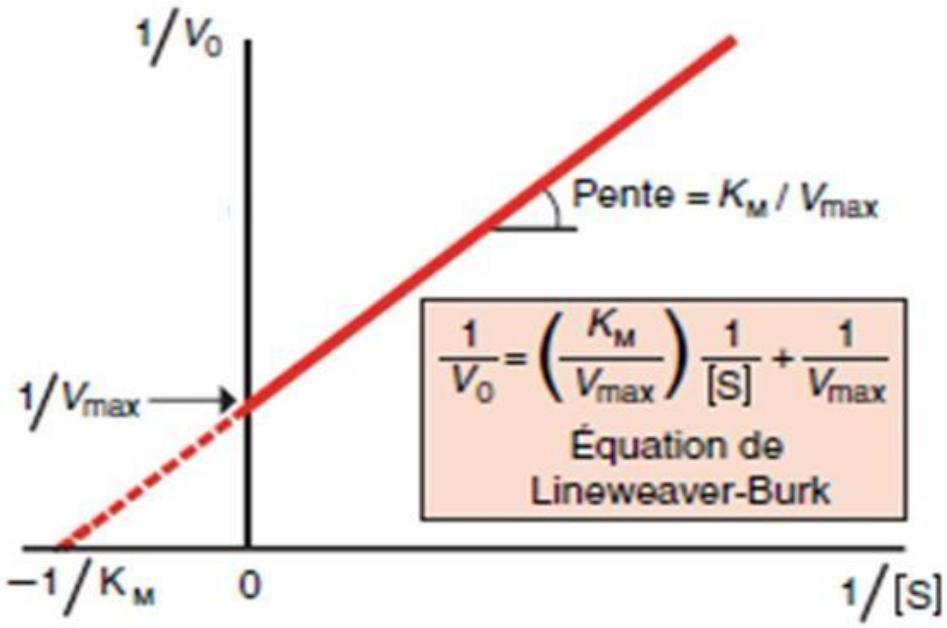


Fig. 151. Représentation de Lineweaver-Burk..

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):

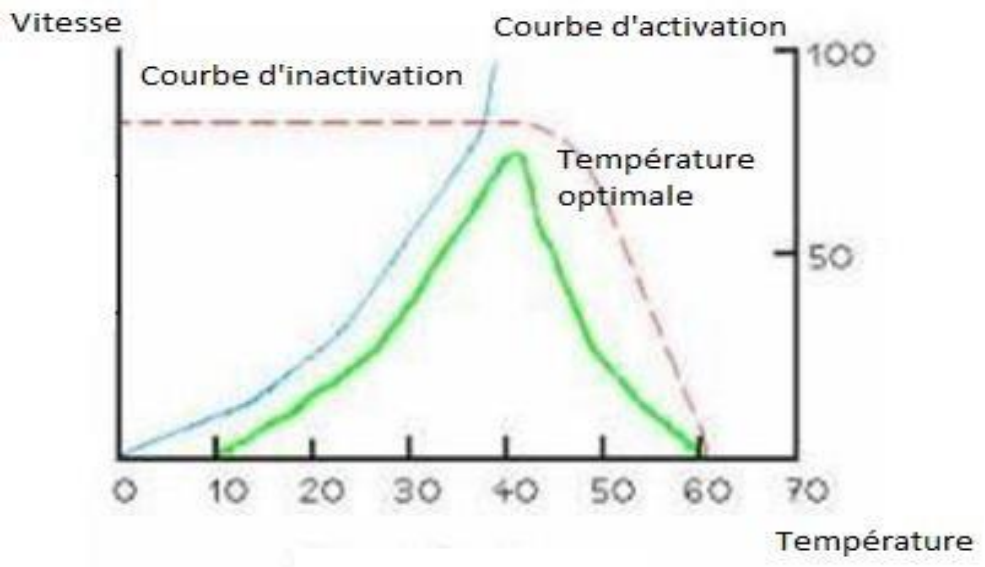


Fig. 152. Influence de la température sur la vitesse d'une réaction enzymatique

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).

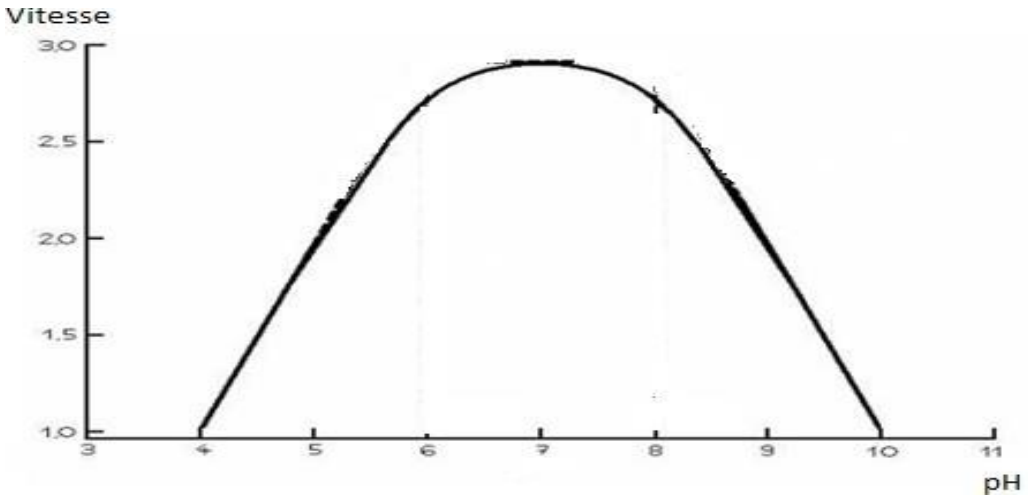


Fig. 153. Influence du pH sur la vitesse d'une réaction enzymatique

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):

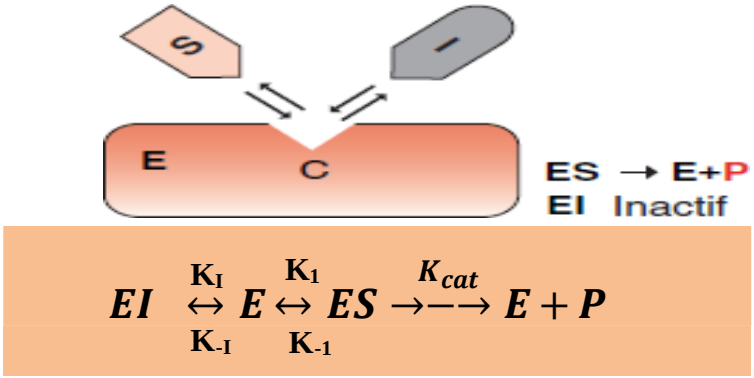


Fig. 154. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition compétitive.

La fixation réversible de l'inhibiteur sur l'enzyme est caractérisée par la constante de dissociation $\mathbf{K_I}$: $K_I = \frac{[\![E]\!][\![I]\!]}{[\![EI]\!]} = \frac{K_{-I}}{K_I}$

Et l'expression de la vitesse initiale de la réaction en fonction des concentrations de substrat et d'inhibiteur : $\frac{1}{V} = \frac{1}{Vm} + \frac{Km}{Vm}\left(1 + \frac{[I]}{KI}\right)\frac{1}{S}$

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 : $\boldsymbol{K_{mapp} = K_m\,(1 + \frac{[\![I]\!]}{K_I})}$

L'équation de la représentation en double inverse selon Lineweaver-Burk est :

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m}\left(1 + \frac{[\![I]\!]}{K_I}\right)\frac{1}{S}$$

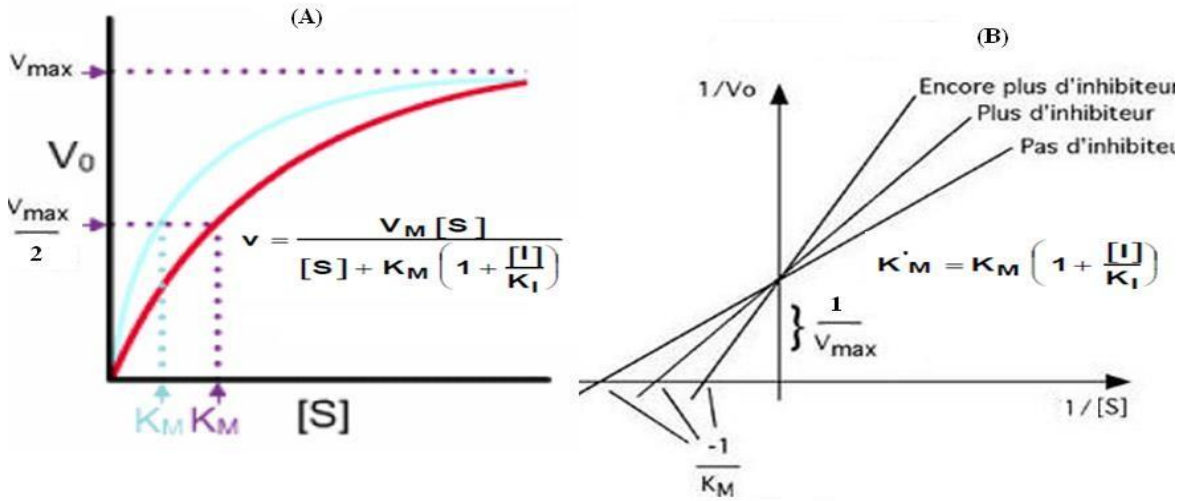


Fig. 155. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver- Burk (B) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition compétitive. Pente de la droite est multipliée par un facteur : 1+ [I]/Ki, V max non modifiée, La constante de Michaelis est augmentée: Dissociation de ES est favorisée, 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 :

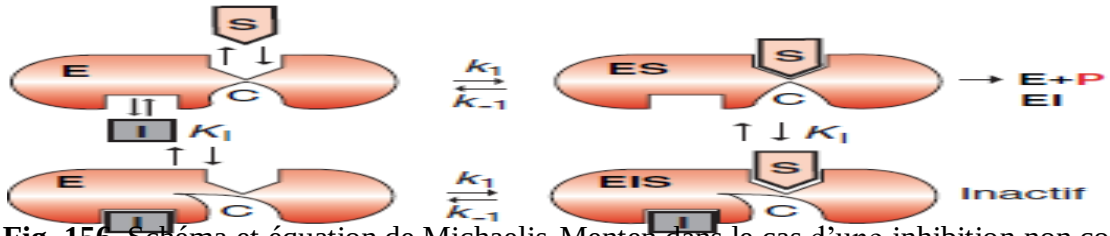


Fig. 156. Schéma et équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition non compétitive.

Avec : $$\mathbf{KI = \frac{[\![E]\!][\![I]\!]}{[\![EI]\!]} = \frac{[\![ES]\!][\![I]\!]}{[\![EIS]\!]} = \frac{K_{-I}}{K_I}}$$

Le schéma réactionnel est traduit par l'équation de vitesse initiale en fonction des concentrations de substrat et d'inhibiteur : $$\mathbf{V = \frac{Vmax[\![S]\!]}{[\![S]\!]+Km} \times \frac{1}{1+\frac{[\![I]\!]}{K_I}}}$$

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 : $$\boldsymbol{V_{max\,app} = \frac{Vmax}{1+\frac{[\![I]\!]}{K_I}}}$$

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 liés à l'inhibiteur) ne peut plus transformer le substrat en produit. On a donc une apparente diminution de la quantité d'enzymes actives.

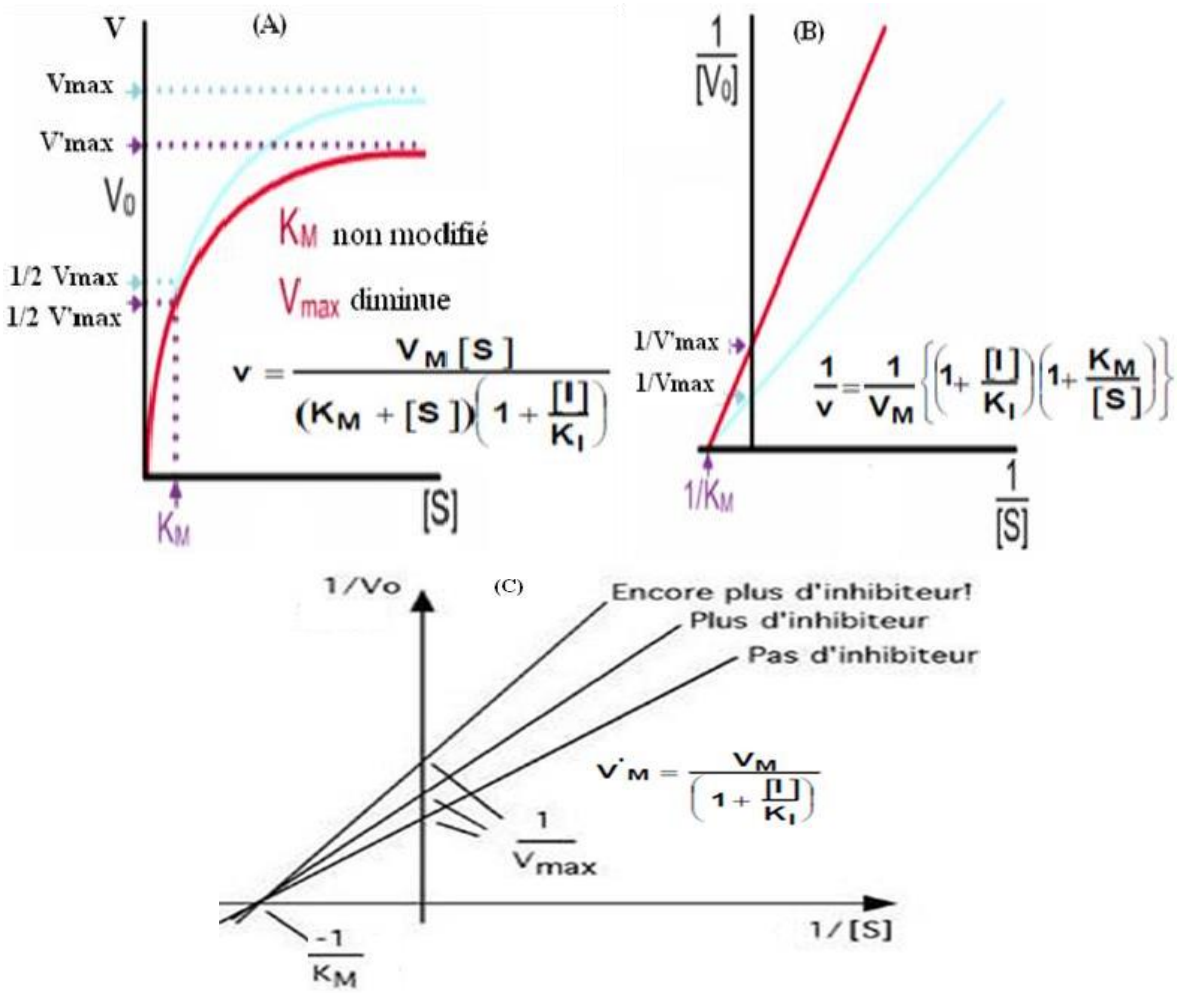


Fig. 157. Représentation de Michaelis-Menten (A), de Lineweaver-Burk (B, C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition non compétitive. Km inchangée, Vmax est abaissée.

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 :

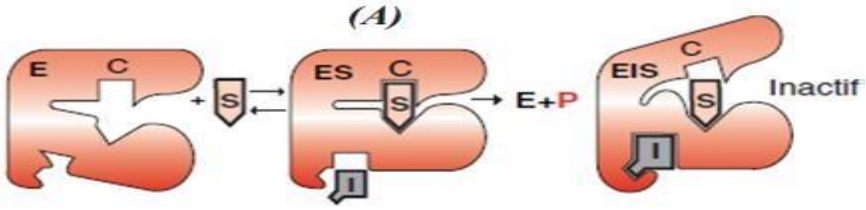


Fig. 158. Schéma réactionnel en cas d'inhibition incompétitive.

La formation de ce complexe est régie par la constante de dissociation : $\mathbf{KI = \frac{[\![ES]\!][\![I]\!]}{[\![ESI]\!]} = \frac{K_{-I}}{K_I}}$

En régime d'état stationnaire, ce schéma conduit à l'équation de vitesse :

$$\mathbf{V = \frac{Vmax\ [\![S]\!]}{[\![S]\!]\ (1 + \frac{[\![I]\!]}{KI}) + Km}}$$

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 :

$$\mathbf{V_{max\ app} = \frac{Vmax}{(1+\frac{[\![I]\!]}{KI})}} \quad ; \quad \mathbf{Km\ app = \frac{Km}{(1+\frac{[\![I]\!]}{KI})}}$$

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.

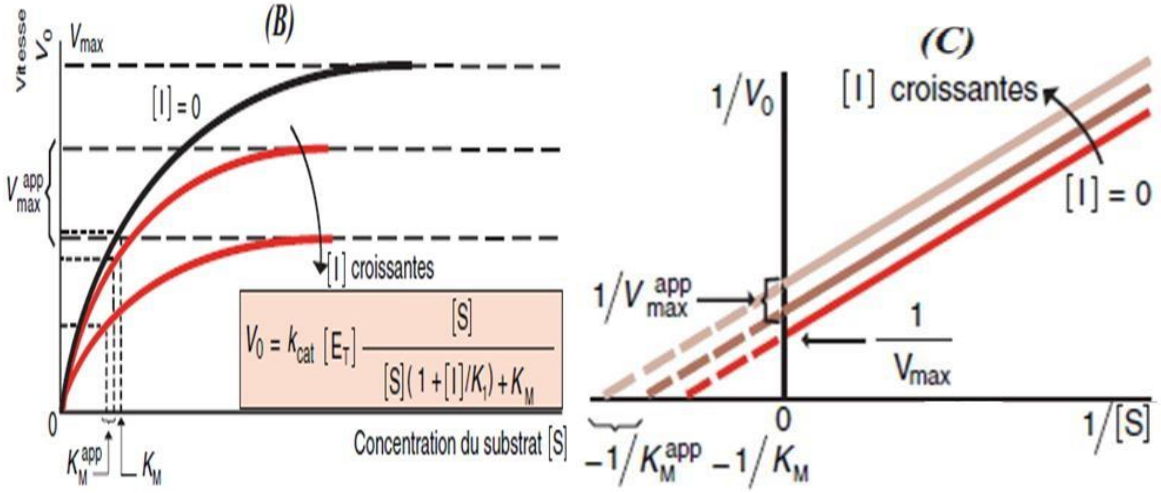


Fig. 159. Représentation de Michaelis-Menten (B), de Lineweaver-Burk (C) et détermination des constantes cinétiques en cas d'inhibition incompétitive.

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):

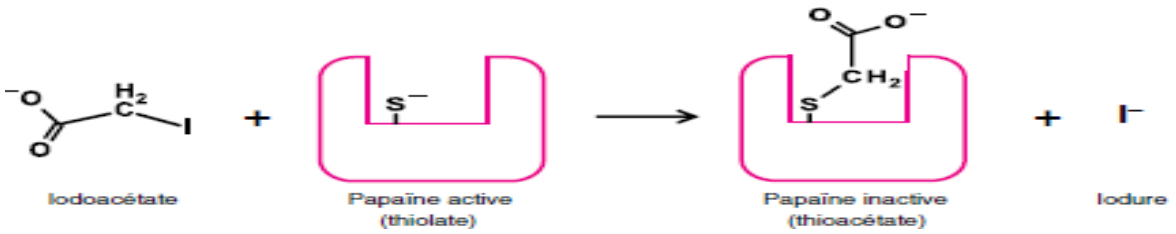


Fig. 160. Effets de l'iodoacétate sur la papaine.

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*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 reconnait 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):

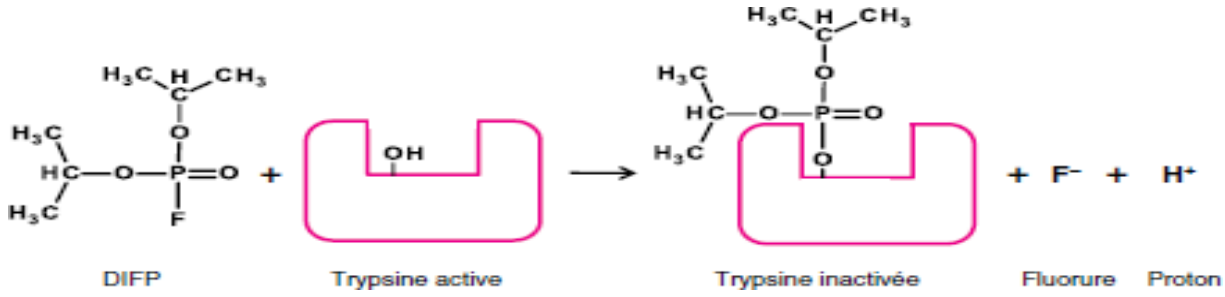


Fig. 161. Effets du *di*-isopropylfluorophosphate (DIFP) sur l'activité de la trypsine.

V. 7. 2. 5. 3. Analogues de l'état de transition

Lorsqu'ils ne forment pas de liaison covalente ave 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 oligomèriques. Chaque protomère possède un site actif pouvant fixer au moins deux molécules : le substrat et l'effecteur allostérique (activateur ou inhibiteur).

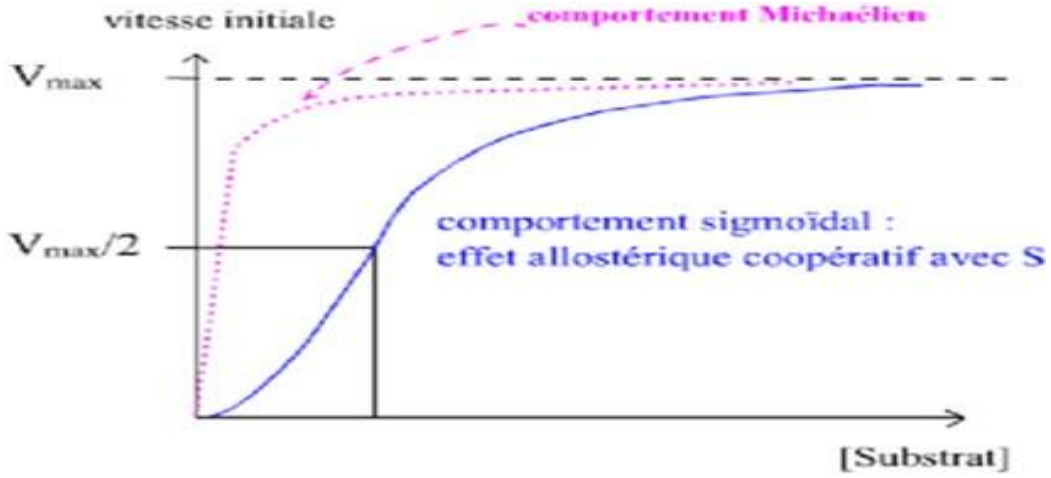


Fig. 162. Allure des courbes dans le cas d'une enzyme Michaélienne et allostérique.

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).

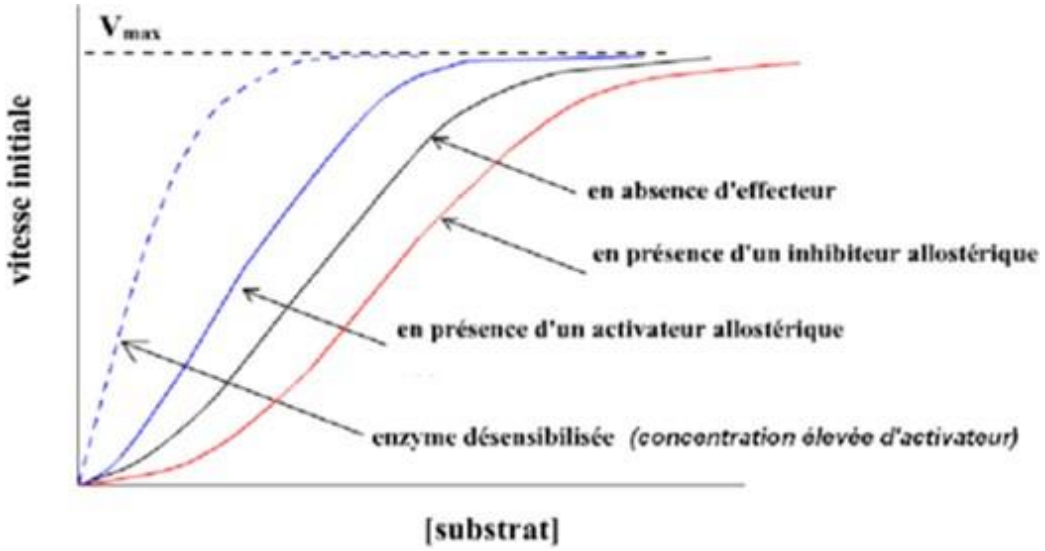


Fig. 164. Cinétique $v_i = f([S])$ pour une enzyme allostérique, à effet coopératif du substrat en absence d'effecteur et en présence d'un activateur ou d'un inhibiteur allostérique.

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.

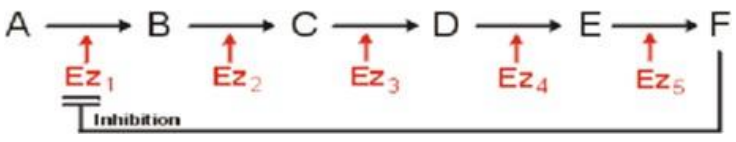


Fig. 165. L'effet de rétrocontrôle négatif.

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 resipration 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.

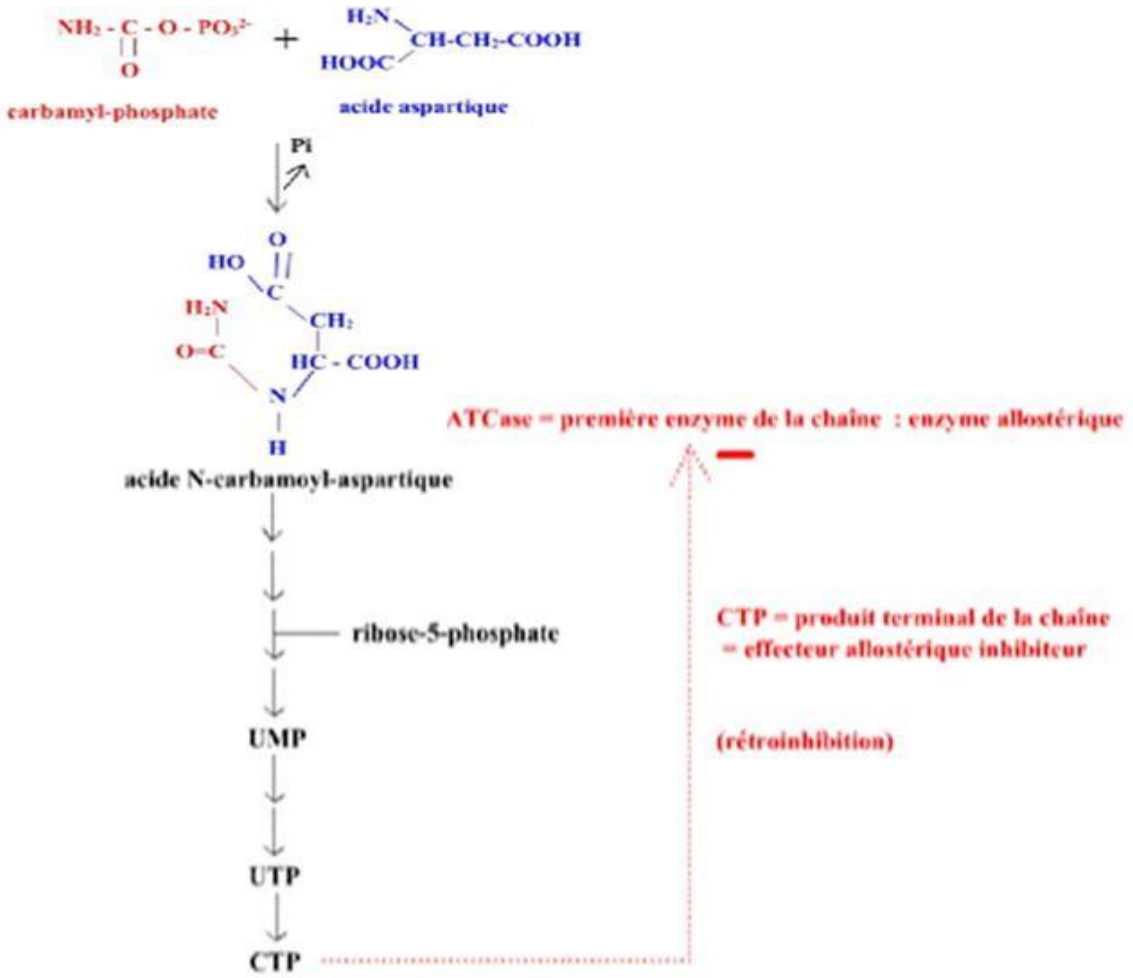


Fig. 166. La première réaction de la voie de biosynthèse des nucléotides pyrimidiques catalysée par l'aspartate transcarbamylase ATCase.

Cette enzyme allostérique présente une cinétique sigmoïdale Vi= f([aspartate] en absence d'effecteur : effet coopératif positif du substrat apspartate ; 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 mainiendrait à l'état R (stimulation).

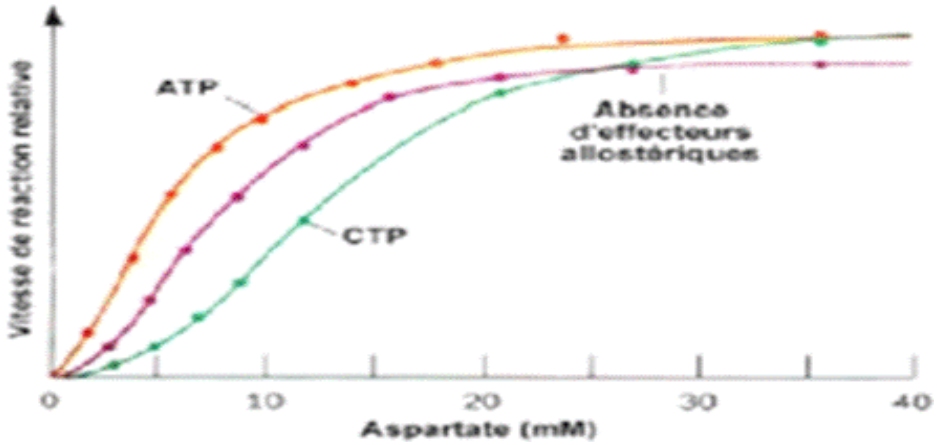
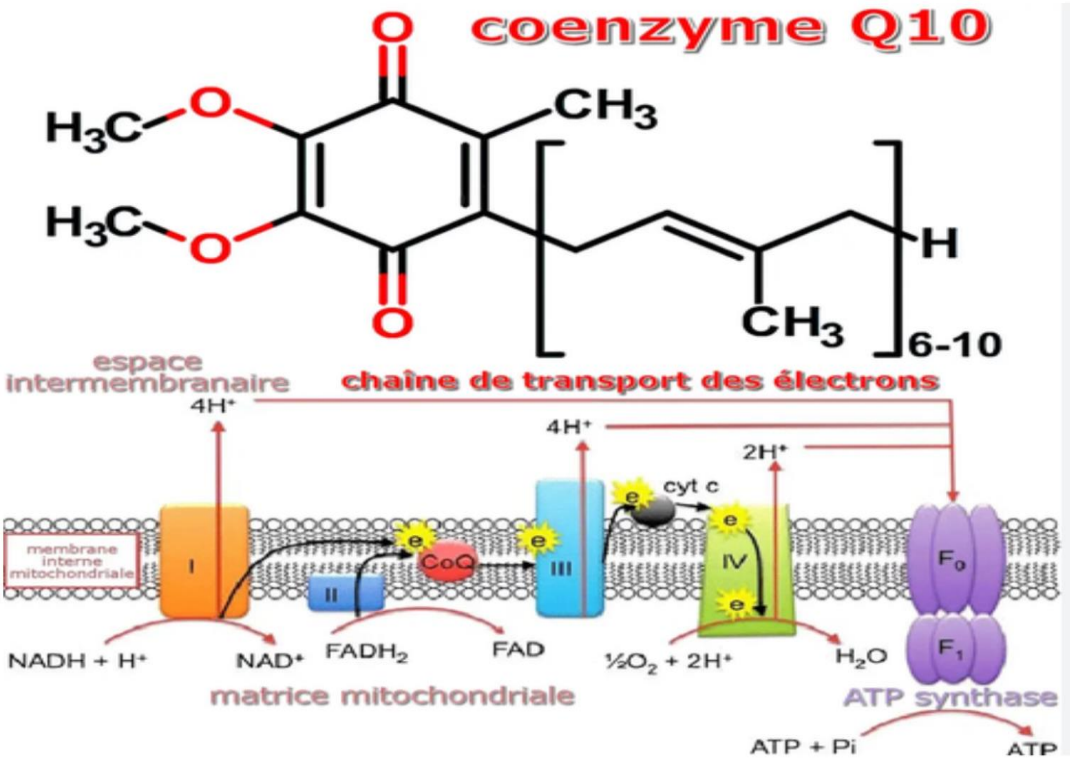


Fig. 167. Cinétique résultante de l'ATCase en présence de l'ATP, du CTP, et sans effecteur allostérique.

CHAPITRE VI :

Vitamines et coenzymes



CHAPITRE VI Vitamines et coenzymes

VI.1- Vitamines

VI.1.1- Définition et nomenclature

Étymologiquement, « amines nécessaires à la vie », les vitamines ont en fait des structures variées et ne sont pas toutes des amines. À la différence des oligo-éléments, ce sont des molécules organiques sans valeur énergétique indispensables que l'organisme est incapable de synthétiser (ou alors, en quantité insuffisante). Par conséquent elles doivent être apportées par l'alimentation. Quelques vitamines font exception car il existe pour elles d'autres sources pouvant remplacer les apports alimentaires : exposition de la peau aux ultra-violets solaires pour la vitamine D, synthèse à partir du tryptophane pour la niacine, synthèse par la flore microbienne digestive pour la vitamine K.

Les besoins quotidiens en vitamines ne sont que de quelques fractions de microgramme à quelques milligrammes. Ceci est dû au fait que la plupart agissent comme des coenzymes ou des cofacteurs au cours des réactions enzymatiques. Certaines vitamines, comme la vitamine C, participent telles quelles à des réactions enzymatiques, mais la grande majorité de ces molécules subissent des transformations avant d'être utilisées finalement comme coenzymes.

On sépare les vitamines en deux groupes en fonction leur solubilité (Tableau 23) : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles.

Tableau 23: Les différents types de vitamines.

MOLECULE	ABREVIATION	UNITE USUELLE
VITAMINES HYDROSOLUBLES		
Thiamine	Vitamine B_1	mg
Riboflavine	Vitamine B_2	mg
Acide pantothénique	Vitamine B_5	mg
Pyridoxine	Vitamine B_6	mg
Niacine	Vitamine PP ou B3	mg
Acide folique	Vitamine B_9	µg
Cobalamine	Vitamine B_{12}	µg
Acide ascorbique	Vitamine C	mg
Biotine	Vitamine H ou B_8	µg
VITAMINES LIPOSOLUBLES		
Rétinol	Vitamine A	Unité internationale (1UI= 0.3µg)
Calciférol	Vitamine D	Unité internationale (1UI= .025µg)
Tocophérol	Vitamine E	Unité internationale (1UI= 1 mg acétate)
Phytoménadione phylloquinone	Vitamine K_1	µg

Une carence vitaminique entraîne des troubles importants si le déficit n'est pas corrigé rapidement (Tableau 24).

Tableau 24 : Les différents troubles provoqués en cas de carence en certains types de vitamines.

Vitamine	**Conséquence d'un déficit**
Thiamine (B1)	Bribéri
Acide nicotinique	Pellagre
Acide folique	Anémie
B12	Anémie, Acidose méthylmalonique
C (acide ascorbique)	Scorbut
A	Héméralopie
D	Rachitisme, ostéolacie
E	Inhibition de la production du sperme
K	Hémorragie sous-cutanée

VI.1.2- Les vitamines hydrosolubles

VI.1.2.1- Les vitamines du groupe B

VI.1.2.1- La vitamine B_1

Il s'agit de la première vitamine découverte, isolée de l'enveloppe des grains de riz en 1913. Également appelée **thiamine** (ou **aneurine**), elle présente une structure hétérocyclique soufrée et azotée et comporte un noyau pyrimidine et un noyau thiazole (Fig. 168). La phosphorylation de la thiamine conduit au coenzyme, la **thiamine diphosphate** ou TPP.

II existe une source endogène pour cette vitamine possible grâce à l'activité biosynthétique de la flore intestinale (microbiote), qui ne permet en aucun cas de couvrir les besoins. L'apport alimentaire reste donc indispensable.

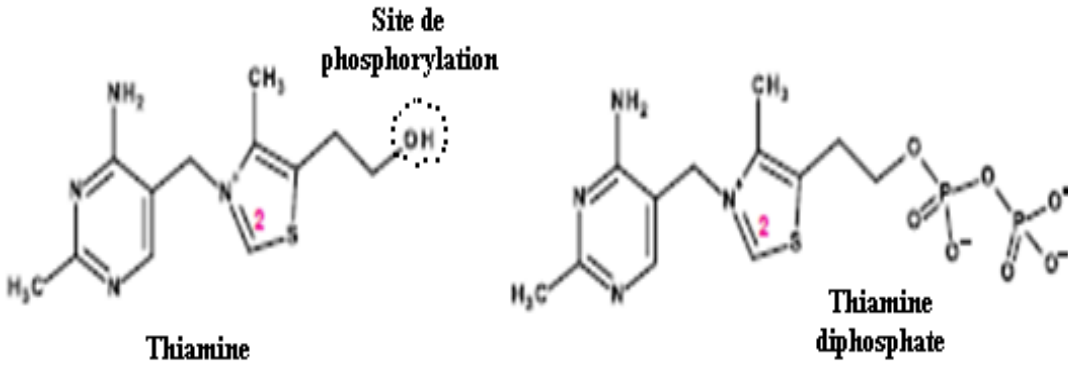


Fig. 168. Structure de la thiamine.

Dans l'alimentation, la thiamine existe sous deux formes: forme libre, surtout dans les aliments d'origine végétale (céréales, champignons...); forme phosphorylée (thiamine

pyrophosphate, TPP) surtout dans les aliments d'origine animale (foie, viandes, produits laitiers...).

La thiamine est absorbée dans l'intestin grêle (duodénum et jéjunum) par les entérocytes. Une fois dans l'entérocyte, la TPP est déphosphorylée; c'est donc exclusivement sous la forme libre que la thiamine passe dans le sang. Son transport est essentiellement assuré par les cellules sanguines (hématies et leucocytes). Il est ensuite distribué aux cellules consommatrices (foie, cœur, reins et cerveau) où elle est phosphorylée en TPP qui est sa forme coenzymatique active. II n'y a pas de stockage possible de la vitamine B_1. Son élimination se fait par voie rénale sous forme de métabolites (forme dégradée ne pouvant pas bénéficier d'un mécanisme de réabsorption).

La carence en vitamine B_1 est responsable du béribéri, se caractérisant par des dysfonctionnements des systèmes nerveux, circulatoire et gastro-intestinal.

VI.1.2.2- La vitamine B_2 (Ribovlavine)

La vitamine B_2 résulte de la condensation dune flavine (hétérocycle azoté à 3 noyaux) et d'un alcool, le ribitol, d'où le nom de riboflavine (Fig. 169).

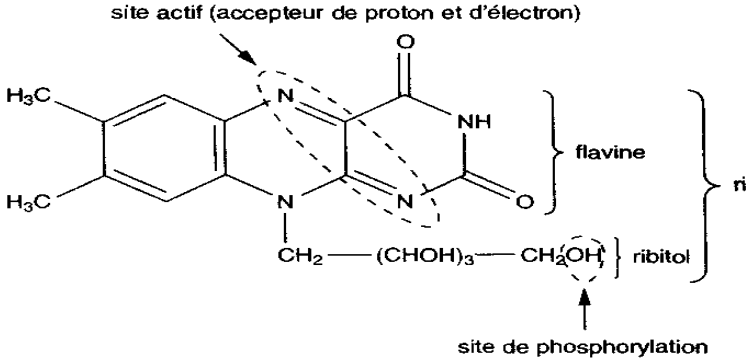


Fig. 169. Structure de la riboflavine.

Elle entre dans la composition de deux coenzymes d'oxydoréduction importants sur le plan métabolique: le FMN (flavine mononucléotide) et le FAD (flavine adénine dinuléotide) (Fig.170).

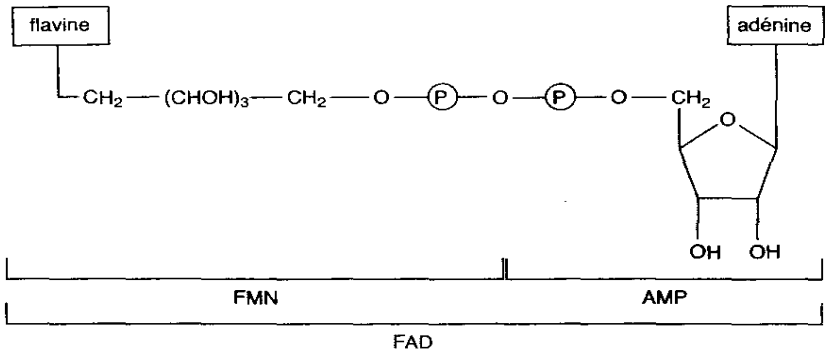


Fig. 170. Structure schématique de FMN et FAD.

La biosynthèse par la flore intestinale est possible mais insuffisante pour couvrir les besoins de l'organisme.

La vitamine B_2 est présente dans les aliments d'origine animale (foie, produits laitiers, poisson) et végétale (en quantité plus limitée : céréales et champignons).

Elle s'y retrouve sous la forme libre, de FMN et de FAD. Seule la forme libre peut être absorbée au niveau de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum essentiellement). Les formes coenzymatiques font donc l'objet dune hydrolyse. Grâce à un transport actif, la vitamine B_2 passe dans les entérocytes où la plus grande partie est phosphorylée en FMN, puis dans le sang où le transport (de B_2 et FMN) est facilité par l'albumine et les hématies.

Au niveau des cellules consommatrices, la vitamine B_2 est transformée en FMN et surtout en FAD, sa principale forme active (environ 80 %) (Fig. 171). Cette biosynthèse des coenzymes est sous le contrôle des hormones thyroïdiennes.

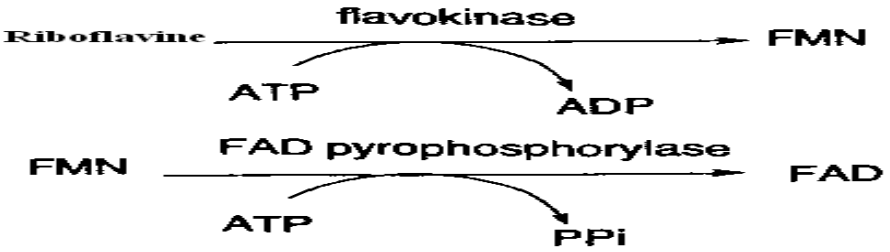


Fig. 171. Phosphorylation de la riboflavine.

Ils sont le plus fréquemment localisés dans le foie, le cœur et les reins, ce qui peut être considéré comme une réserve permettant une autonomie d'environ 2 semaines.

L'élimination se fait par voie urinaire, essentiellement sous forme libre.

La carence en vitamine B_2 est relativement rare et entraine des symptômes peu spécifiques (problèmes cutanés, nausées, vomissements…), souvent liés à d'autres carences vitaminiques et protidiques.

VI.1.2.3- La vitamine B_3 (vitamine PP ou niacine)

La vitamine B_3 (Fg. 172) existe sous deux formes moléculaires l'acide nicotinique et le nicotinamide (la fonction carboxylique est remplacée par une fonction amide).

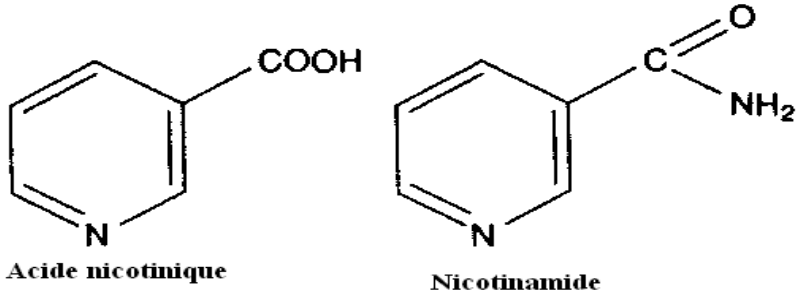


Fig. 172. Structure de la vitamine B_3.

Le nicotinamide entre dans la composition de deux coenzymes d'oxydoréduction d'une grande importance sur le plan biochimique: le NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) et le $NADP^+$ (NAD phosphorylé) (Fig. 173).

Dans les aliments (foie, viandes, pain complet…), la niacine est surtout présente sous la forme de NAD et NADP (dans les céréales, on la trouve aussi sous la forme de nicotinyl ester, moins bien assimilable).

La vitamne B_3 peut avoir une origine endogène. II est possible de la synthétiser à partir du tryptophane (Trp) qui fait toutefois partie des acides aminés indispensables. Cette possibilité est malgré tout insuffisante.

Grâce au suc intestinal, les formes coenzymatiques sont hydrolysées, permettant l'absorption (par transport facilité) de la vitamine B_3 par les entérocytes tout le long de l'intestin grêle. La distribution tissulaire (par voie sanguine) est facilitée par les hématies. Une fois dans la cellule utilisatrice, la vitamine B_3 est transformée en NAD (ou NADP) dans le cytosol et la matrice mitochondriale (ces coenzymes ne peuvent pas franchir les membranes biologiques).

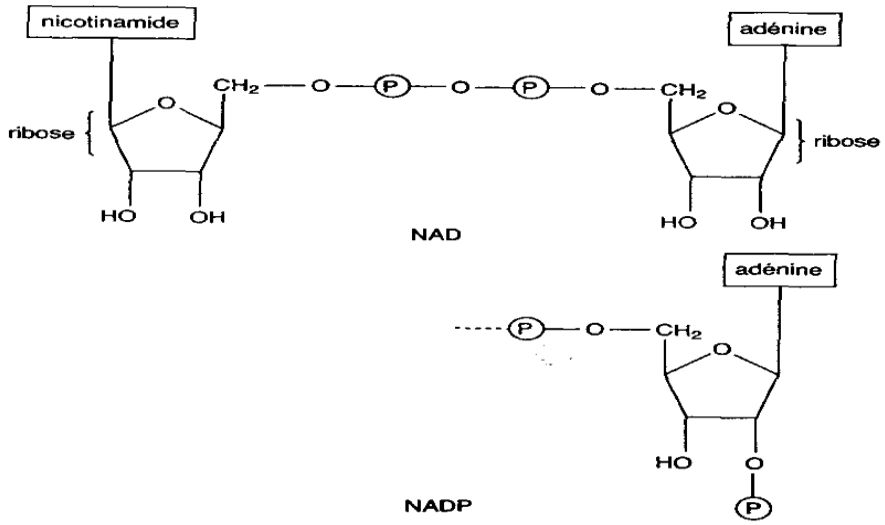


Fig. 173. Structure schématique de NAD et NADP.

La transformation du Trp en NAD est également intracellulaire et nécessite la vitamine B_6. On estime que 60 mg de Trp permettent d'obtenir 1 mg de nicotinamide (parfois noté 1 équivalent niacine). Même si le foie, les muscles et les reins sont riches en vitamine B_3, il n'y a pas de stockage significatif.

L'élimination se fait par voie urinaire, essentiellement sous la forme de métabolites.

Une carence prononcée en vitamine B_3 est relativement rare et entraîne la pellagre (d'où le nom de vitamine PP, pour *pellgra preventive factor*), qui se manifeste par des troubles cutanés, des lésions des muqueuses et des troubles psychiques

VI.1.2.4- La vitamine B_5 (acide pantothénique)

Cette vitamine résulte de la condensation entre l'acide pantoique et la β-alanine (la fonction amine est portée par le carboneβ) grâce à une liaison amide (Fig. 174).

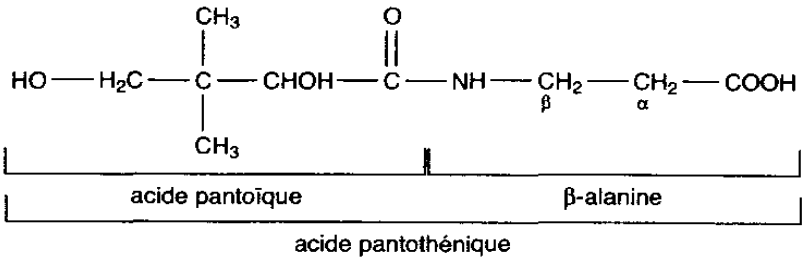


Fig. 174. Structure de la vitamine B_5.

Elle entre dans la composition d'une coenzyme de transfert dune grande importance sur le plan métabolique, la coenzyme A notée CoA-SH.

L'acide pantothénique (sous une forme phosphorylée) entre aussi dans la composition de **l'acyl synthase** (au niveau de la sous-unité notée ACP), complexe enzymatique qui catalyse la biosynthèse des acides gras.

Son absorption au niveau de l'intestin grêle nécessite une hydrolyse de la forme coenzymatique. Grâce à un transport actif, l'acide pantothénique est capté par les entérocytes, puis passe dans le sang pour une distribution tissulaire sous forme libre. La vitamine B_5 est transformée en CoA-SH dans le cytosol et dans la matrice mitochondriale des cellules utilisatrices. Là aussi, la biosynthèse a lieu dans chaque compartiment car le CoA-SH ne peut franchir les membranes biologiques. Il n'y a pas de stockage possible.

L'élimination de la vitamine B_5 se fait par voie urinaire sous forme libre. La vitamine B_5 étant largement répandue dans l'alimentation, l'état de carence est très rare et révélateur d'une grande dénutrition globale.

VI.1.2.5- La vitamine B_6 (pyridoxine)

Sous le terme de vitamine B_6 se regroupent trois formes vitaminiques : la pyridoxine (pyridoxol), le pyridoxal (une fonction alcool est remplacée par une fonction aldéhyde) et la pyridoxamine (la fonction alcool est substituée par une fonction amine).

Cette vitamine j[illegible] de pyridoxal (Fig. 175).

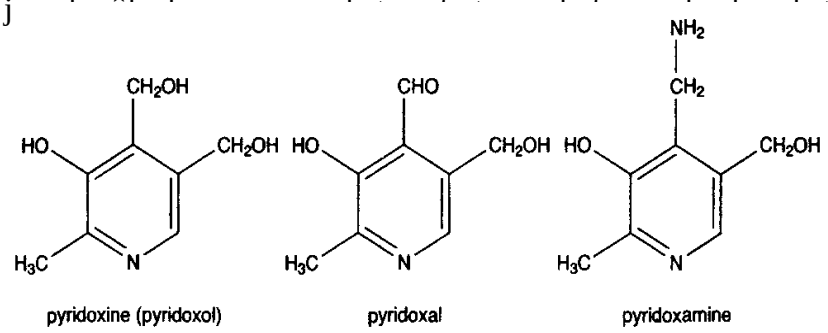


Fig. 175. Différentes formes de la vitamine B_6.

La vitamine B_6 est présente sous différentes formes dans l'alimentation. Toutefois, elle est majoritairement sous la forme de pyridoxamine dans les végétaux (céréales, légumes verts, fruits, lentilles…) avec une moins bonne biodisponibilité que le phosphate de pyridoxal. C'est la forme majoritaire dans les aliments d'origine animale (foie, viande, poisson...).

Son absorption, essentiellement jéjunale, n'est possible que sous la forme déphosphorylée. La vitamine B_6 se retrouve dans le sang pour être ensuite transportée vers le foie qui convertit les différentes formes en pyridoxal (conversion nécessitant la présence de la vitamine B_2 sous forme de FMN). Elle repasse dans le sang pour être distribuée au niveau des différents tissus. Son transport sanguin est facilité par l'albumine.

C'est dans la cellule utilisatrice que le pyridoxal est phosphorylé pour devenir un coenzyme actif.

Son stockage est très limité, avec une petite capacité au niveau du muscle strié. Son élimination se fait par voie urinaire sous la forme de métabolites (formés dans le foie et le rein).

VI.1.2.6- La vitamine B_8 (biotine)

Cette vitamine est constituée d'un double cycle azoté et soufré portant une fonction carboxylique, qui permettra sa liaison à l'apoenzyme (Fig.176).

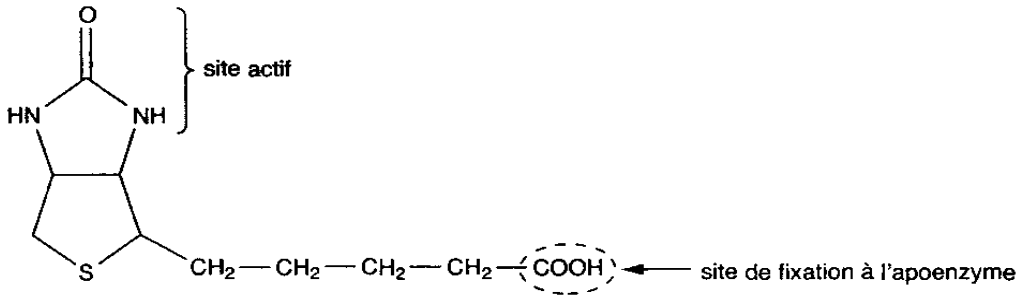


Fig. 176. Structure de la vitamine B_8.

Dans les aliments (foie, œuf, champignons. légumes verts…), la vitamine est surtout liée à l'apoenzyme par une liaison amide (et non peptidique). Il faut donc l'intervention d'une enzyme pancréatique spécifique : la biotinidase.

Cette vitamine peut avoir une source endogène. La flore intestinale est capable de la biosynthétiser mais l'apport alimentaire reste nécessaire.

Essentiellement absorbée dans le jéjunum, la vitamine B_8 passe ensuite dans le sang où le transport est facilité par une protéine plasmatique spécifique. Une fois dans la cellule utilisatrice, elle s'associe à une apoenzyme (par une liaison covalente) pour jouer son rôle de coenzyme de transfert.

II n'y a pas de stockage possible et son élimination se fait sous forme libre via la voie urinaire.

II n'existe pas de carence spontanée en vitamine B_8 chez l'adulte. Elle peut être exceptionnellement rencontrée chez l'enfant en raison d'une maladie génétique entrainant un déficit en biotinidase d'où une malabsorption de la vitamine, pouvant entrainer des troubles cutanéomuqueux et neuropsychiatriques (retards psychomoteurs).

VI.1.2.7. La vitamine B_9 (acide folique)

La vitamine B_9 est une molécule complexe composée d'un noyau ptéridine, d'une molécule d'acide para-aminobenzoique et dune molécule d'acide glutamique (Glu).

La vitamine B_9 donne naissance à de nombreux dérivés regroupés sous le terme de folates. Elle peut présenter plusieurs résidus Glu; on parle alors d'acide folique polyglutamate (Fig. 177).

Grâce à l'intervention de protéases digestives, l'absorption se fait au niveau du jéjunum sous la forme d'acide folique monoglutamate. Une fois dans le sang, via la veine porte, la vitamine B_9 gagne le foie où elle est transformée (par fixation de quatre protons sur le noyau ptéridine) en tétrahydrofolate, sa forme active. II y a à ce niveau une possibilité de stockage, permettant une autonomie d'environ 3 mois.

La forme active peut repasser dans le sang; son transport est alors facilité par l'albumine. Une fois dans la cellule utilisatrice, le tétrahydrofolate est substitué par cinq résidus Glu, formant une coenzyme active qui participe aux réactions de transfert de radical monocarboné. L'élimination se fait par les selles (via la bile) et les urines.

La carence en acide folique se traduit par des problèmes d'anémie, d'asthénie, d'anorexie ainsi que des retards de croissance chez l'enfant.

VI.1.2.8. La vitamine B_{12} (cobalamine)

La vitamine B_{12} est une macromolécule d'une telle complexité que l'on se limitera à sa formula brute : $C_{63}H_{88}O_{14}N_{14}$ P Co. II est intéressant de noter la présence d'un atome de cobalt (logé au cœur de la structure).

Elle est présente exclusivement dans l'alimentation d'origine animale (foie, viandes poisson, œufs…). Elle est alors liée à des protéines alimentaires.

La carence en vitamine B_{12}, se caractérise par des troubles hématologiques (anémie), cutanéomuqueux et nerveux (perte de sensibilité périphérique).

Dans la cavité gastrique, grâce à l'action combinée de l'acide chlorhydrique et de la pepsine, la vitamine B_{12} est libérée et prise en charge par une glycoprotéine spécifique: le facteur intrinsèque, fabriqué dans la muqueuse gastrique par les cellules pariétales (également

productrices de HCl). Le complexe facteur intrinsèque-vitamine B_{12} passe ensuite dans l'intestin grêle. C'est dans l'iléon qu'a lieu l'absorption grâce à un récepteur membranaire localisé dans la membrane apicale des entérocytes. Une fois fixé au récepteur, le complexe est dissocié, ce qui permet l'absorption de la cobalamine.

Une fois dans le sang, elle est liée à une protéine de transport (transcobalamine). Une partie importante est récupérée par le foie, qui offre une possibilité de stockage importante puisque l'autonomie est de l'ordre de l'année.

Son élimination se fait essentiellement par la bile et les fèces, avec toutefois l'existence d'un cycle entéro-hépatique (similaire à celui des sels biliaires), permettant un recyclage de la molécule. La fore intestinale est capable de synthétiser la vitamine B_{12}, mais elle est non assimilable.

Rôle comme coenzyme

Sur le plan biochimique, la cobalamine sert de **coenzyme de transfert** dans les réactions de méthylation et d'isomérisation. Ainsi, elle intervient dans le catabolisme de certains acides aminés (Val, Ile, Met, Tyr) en succinylCoA.

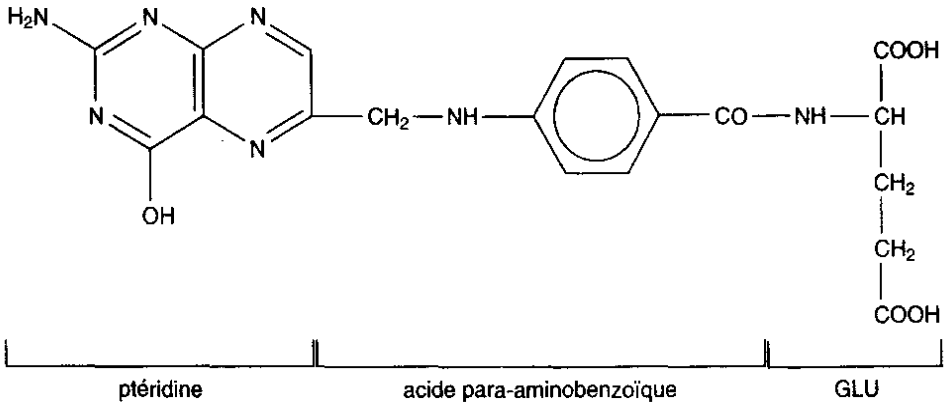


Fig. 177. Structure de l'acide folique.

Elle contribue à la biosynthèse de l'ADN en participant à la réduction du ribose en désoxyribose. Elle favorise par là même la formation et la maturation des hématies.

VI.1.2.9. La vitamine C (acide ascorbique)

L'acide ascorbique existe sous deux formes, oxydée et réduite, qui confèrent à la vitamine C des propriétés réductrices (

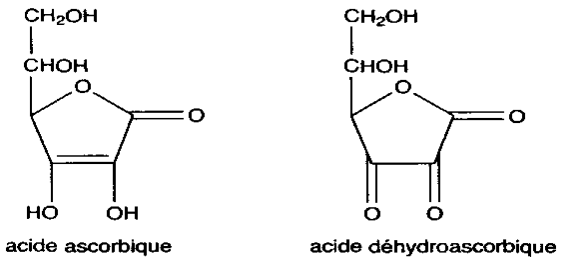


Fig. 178. Structure de la vitamine C.

On la retrouve en quantité importante dans l'alimentation d'origine végétale (cassis, kiwi, persil, argumes, fraise, pomme de terre….), mais elle est aussi présente en plus petite quantité dans certains aliments d'origine animale (foie, viande…).

Elle est absorbée grâce à un transport actif, essentiellement dans l'iléon. Une fois dans le sang, la vitamine C est distribuée aux différents tissus consommateurs. II n'y a pas de stockage possible et son élimination se fait par voie urinaire avec possibilité de réabsorption tubulaire.

Rôle comme coenzyme

Une fois dans la cellule, la vitamine C joue le rôle de coenzyme dans les **réactions d'oxydoréduction et d'hydroxylation**. La vitamine C intervient au niveau :

- de la biosynthèse du collagène : cette protéine est fabriquée par les fibroblastes (cellules du tissu conjonctif). Initialement, la biosynthèse génère du procollagène. Sa transformation en collagène nécessite de la vitamine C. Elle permet l'hydroxylation des résidus lysine et proline (formation d'hydroxylysine et d'hydroxyproline), renforçant les qualités de résistance et de plasticité du collagène et, par répercussion, du tissu conjonctif ;
- de la biosynthèse des catécholamines : elle a pour précurseur la phénylalanine ou la tyrosine. Cette biosynthèse nécessite des réactions d'hydroxylation où intervient la vitamine C (Fig. 179);
- de la biosynthèse de la carnitine (formée à partir de la lysine). Cette molécule permet le transport des acylCoA dans la matrice mitochondriale;
- de la biosynthèse des sels biliaires à partir du cholestérol (on peut de ce fait attribuer un effet hypocholestérolémiant à la vitamine C);
- de l'inhibition de la transformation des nitrites en nitrosamine, molécule ayant des effets cancérigènes, dans l'estomac. Les nitrites proviennent de l'alimentation ou de la transformation des nitrates puisés dans l'eau de boisson ou les légumes;
- de l'activité du cytochrome P450, qui joue un rôle actif dans les processus de détoxication hépatique;
- de l'absorption du fer et de sa distribution tissulaire en permettant la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Ce fer peut notamment entrer dans la composition de l'hémoglobine. Ainsi, de façon indirecte, la vitamine C a un rôle antianémique;
- de la neutralisation des radicaux libres, en synergie avec la vitamine E;

- de la réponse immunitaire en augmentant la résistance aux infections bactériennes et virales. Elle contribuerait à la mobilité des leucocytes et augmenterait l'efficacité de la réponse humorale (via les immunoglobulines).

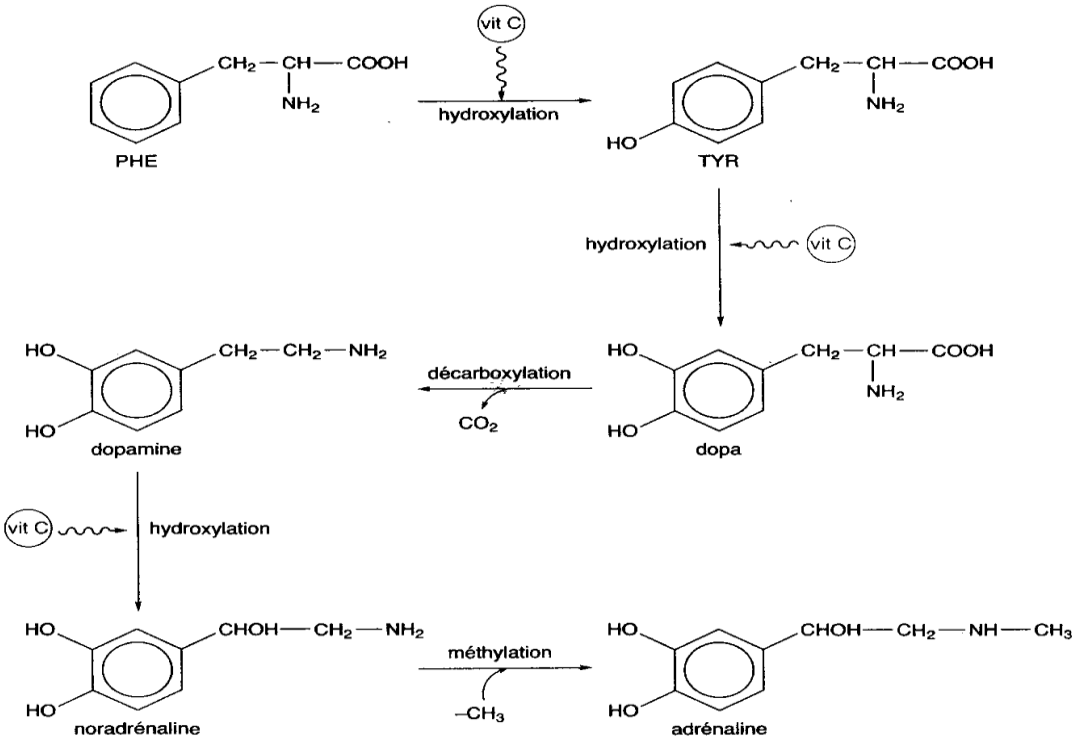


Fig. 179. Biosynthèse des catécholamines.

VI.1.2- Les vitamines liposolubles

Cette famille comprend les vitamines A, D, E et K, solubles dans les huiles et les graisses. Ces composés présentent plusieurs points communs : ils sont globalement apolaires, électriquement neutres, et dérivent tous de **composés isopréniques**.

VI.1.2.1- La vitamine A (rétinol)

Cette molécule est constituée d'un cycle carboné et dune chaine aliphatique dont l'extrémité est occupée par une fonction alcool primaire. II s'agit donc d'un alcool (Fig. 180).

Le **rétinol**, vitamine A, est le précurseur de deux molécules actives, le **rétinal** et l'**acide rétinoïque**.

Le rétinal, l'aldéhyde dérivé du rétinol (*ol* : alcool ; *al* : aldéhyde) est le groupement prosthétique des rhodopsines des cellules en cônes et des cellules en bâtonnets de la rétine. L'acide rétinoïque est un facteur de croissance des cellules épithéliales ; de plus, c'est une hormone dont dépend le développement de l'embryon.

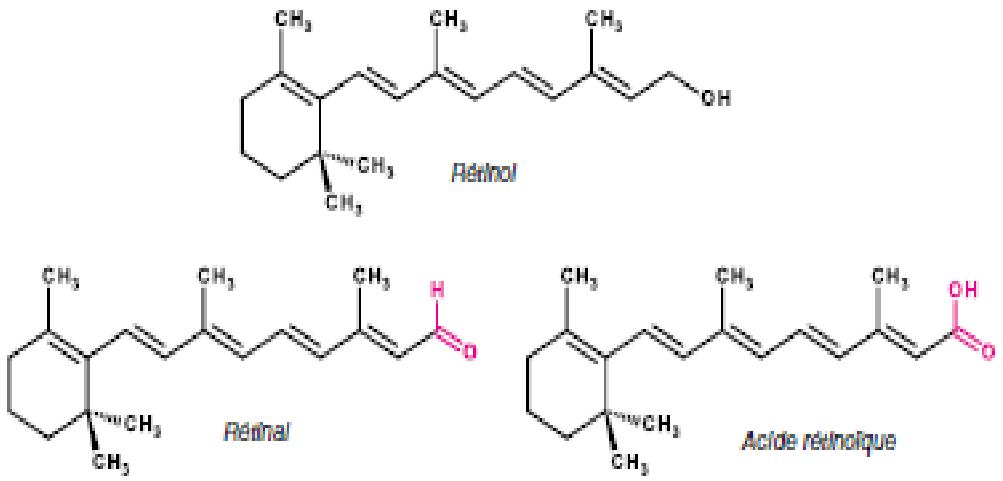


Fig. 180. Structure du rétinol (vitamine A) : le précurseur du rétinal et de l'acide rétinoïque.

Dans les aliments d'origine animale (huile de foie de poisson, foie, beurre, oeuf...), la vitamine A est présente sous la forme estérifiée, le plus souvent avec l'acide palmitique. On parle alors de palmityl-rétinol. Tout comme les lipides, il faut l'action combinée des sels biliaires et d'une lipase pancréatique pour permettre la digestion et l'absorption de la vitamine A au niveau de l'intestin grêle par les entérocytes.

Dans les aliments d'origine végétale (carotte, épinard, melon...), on la trouve sous la forme de provitamine A. Cette molécule fait partie des caroténoïdes dont elle est le principal représentant; on parle ici de β-carotène (Fig. 181).

Après son absorption intestinale, une partie importante du β-caroténe est transformée dans l'entérocyte en rétinol (le reste est transformé au niveau du foie).

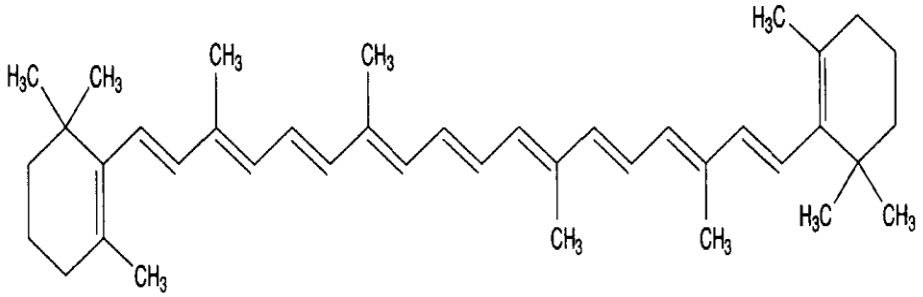


Fig. 181. La β-carotène (provitamine A).

La vitamine A bénéficie d'une efficacité d'absorption d'environ 70 %; elle n'est que de 50% pour le β-carotène en raison de son caractère hydrophobe plus important. Une fois dans l'entérocyte, le rétinol est réestérifié et incorporé aux chylomicrons qui passent dans la lymphe puis dans le sang. Is sont finalement récupérés par le foie. Cet organe assure le

stockage du rétinol estérifié, permettant une autonomie de plusieurs mois, ce qui est exceptionnel pour une vitamine.

La distribution tissulaire, via le plasma, est assurée par une protéine de transport spécifique notée RBP (retinol binding protein). Cette protéine est fabriquée par le foie et le tissu adipeux.

Le principal rôle de la vitamine A concerne la vision, notamment l'adaptation à l'obscurité (on parle de vision crépusculaire).

Elle agit sous la forme de rétinal (à fonction alcool primaire est remplacée par une fonction aldéhyde) en association avec une protéine : l'opsine. L'ensemble forme la rhodopsine qui est une chromoprotéine photosensible, spécifique à la rétine (cellules à bâtonnets).

La vitamine A présente aussi une action physiologique sous la forme d'acide rétinoïque (la fonction alcool est remplacée par une fonction carboxylique). Cette molécule est impliquée dans le processus de croissance et de différenciation cellulaire, dans le processus de cicatrisation chez a femme enceinte, le rétinol joue un rôle important dans la croissance du fœtus.

La provitamine A possède, quant à elle, des propriétés antioxydantes, c'est-à-dire qu'elle contribue à la neutralisation des radicaux libres.

L'élimination de la vitamine A se fait en partie par les selles (via la bile) et en partie par les urines.

Il est important de préciser qu'un surdosage en vitamine A est toxique. Une telle hypervitaminose entraîne des troubles digestifs et neurologiques. Elle peut entraîner chez la femme enceinte des risques de malformation fœtale.

VI.1.2.2- La vitamine D (calciférol)

Cette molécule fait partie des stérols. Elle est présente en petite quantité dans l'alimentation d'origine végétale. On pane alors de vitamine D_2 (ergocalciférol, issue d'un stérol végétal : ergostérol).

On la trouve surtout dans l'alimentation d'origine animale (poisson gras, foie, jaune d'œuf...). On parle alors plus précisément de vitamine D_3 (cholécalciférol) (Fig.182).

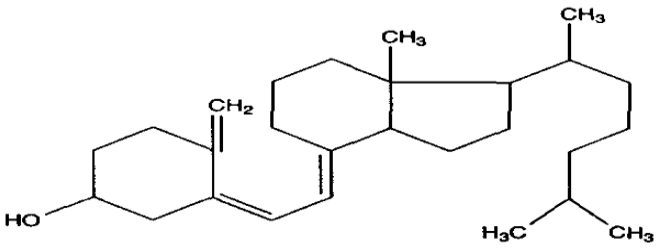


Fig. 182. Structure de la vitamine D (cholécalciférol).

La vitamine D peut être obtenue par l'alimentation ou synthétisée à partir d'un dérivé du cholestérol le 7-déhydrocholestérol (Fig. 183). Dans la peau, cette molécule subit une photolyse par les rayons ultra-violets : le cycle B est ouvert au niveau de la liaison 9-10. Cette vitamine D_3, inactive (également nommée cholécalciférol) est transformée en calcitriol, la vitamine active après deux hydroxylations, dans le foie en C_{25} puis dans le rein en C_1. Le rôle principal de la vitamine D est d'augmenter l'absorption intestinale du Ca^{2+} qui est finalement capté par les os.

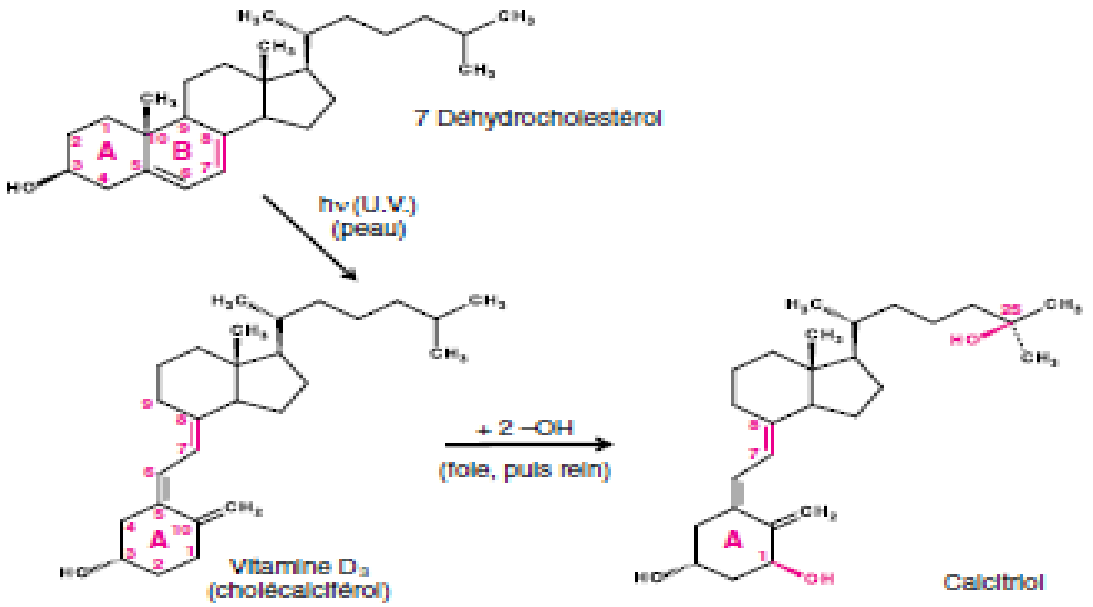


Fig. 183. Synthèse de la vitamine à partir du D 7-déhydrocholestérol.

La vitamine D a pour précurseur le cholestérol. Dans un premier temps, le cholestérol fait l'objet d'une réaction de déshydrogénation (Ce qui fait apparaitre une deuxième double liaison au niveau du cycle B). On obtient alors du 7-déshydrocholestérol. Sous l'effet d'ultraviolets (réaction photochimique), il y a ouverture du cycle B, ce qui aboutit à la vitamine D_3.

La particularité importante est que l'organisme est capable de réaliser cette biosynthèse. Elle a lieu au niveau du derme; cela constitue donc une source endogène, naturellement dépendante de l'exposition au soleil.

De la même façon que la vitamine A, la vitamine D se retrouve au niveau du foie. Elle y fait l'objet d'une réaction d'hydroxylation (on pane alors de 25(OH) D car la nouvelle fonction alcool est positionnée sur le carbone 25). Ensuite, grâce à une protéine de transport plasmatique spécifique (notée DBP), cette molécule parvient aux reins. Elle y subit une nouvelle réaction d'hydroxylation, qui aboutit à la formation de calcitriol, forme active de la vitamine D. Le calcitriol est un facteur hormonal qui agit à trois niveaux:

- au niveau intestinal il stimule l'absorption, par les entérocytes (intestin grêle), du calcium et du phosphore;
- au niveau du tissu osseux. Le calcitriol a une action sur les ostéoclastes et surtout sur les ostéoblastes. Ainsi, il favorise le remaniement du tissu osseux et la minéralisation du cartilage de croissance
- au niveau des reins : il stimule la réabsorption tubulaire du phosphore et du calcium. Cette action est toutefois moins marquée.

Le calcitriol a donc pour rôle global d'augmenter la concentration sérique phosphocalcique de façon a faciliter le développement du tissu osseux. II agit en synergie avec la parathormone (produite par les parathyroides), qui est également hypercalcemiante et ce, d'autant plus qu'elle stimule la réaction d'hydroxylation rénale, donc la formation de calcitriol.

Le calcitriol stimule aussi le transport placentaire du calcium et contribue ainsi à la minéralisation du squelette fœtal.

II a également un rôle au niveau des glandes mammaires en contrôlant la concentration du lait en calcium.

L'élimination de la vitamine D se fait par les selles (via la bile). Insistons sur le risque de surdosage de la vitamine D, pouvant entraîner des hypercalcémies. Si elles sont répétées et importantes, elles peuvent provoquer des troubles nerveux et digestifs et des dépôts calciques, notamment au niveau du rein.

VI.1.2.3- La vitamine E (tocophérol)

Cette molécule fait partie des phénols (cycle aromatique avec une fonction alcool), présentant de plus une chaine latérale carbonée renforçant le comportement hydrophobe (Fig. 184).

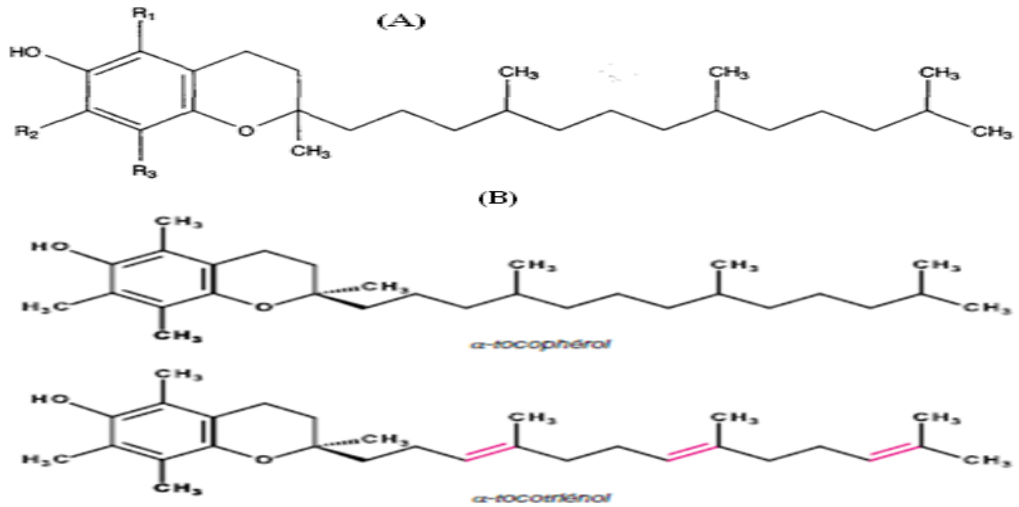


Fig. 184. Structure de la vitamine E (A). En fonction de R, R_2, R_3 (-H ou $-CH_3$), on obtient les différentes formes de tocophérols (α, β, γ, δ). La forme la plus fréquente étant l'α-tocophérol ($R_1 = R_3 = -CH_3$) (B).

On doit parler de la famille des vitamines E, qui comprend les groupes des **tocophérols** et des **tocotriénols**. L'α-tocophérol, la vitamine la plus active du premier groupe est un antioxydant ; il inhibe la formation des **espèces réactives de l'oxygène** (ERO) et prévient la peroxydation des acides gras poly-insaturés.

Les tocotriénols sont des molécules voisines des tocophérols dont ils se distinguent par la présence de trois doubles liaisons dans la chaîne isoprénique (d'où leur nom, toco*triénols*), ce qui leur confère une solubilité accrue dans les milieux apolaires et augmente leur pouvoir protecteur des acides gras polyinsaturés.

Cette molécule est présente dans l'alimentation sous la forme d'ester de tocophérol (germe de céréale, huile de tournesol, huile d'arachide…).

Son absorption intestinale (essentiellement au niveau du jéjunum) nécessite l'intervention des sels biliaires et d'une lipase pancréatique. Une fois dans l'entérocyte, la vitamine E est incorporée dans les chylomicrons puis passe dans la lymphe et la circulation sanguine (au niveau de la veine thoracique). Elle est ensuite récupérée par le foie et distribuée aux tissus par l'intermédiaire des lipoprotéines (LDL et HDL).

II existe pour cette vitamine une possibilité de stockage au niveau du tissu adipeux, du foie et des glandes surrénales.

L'élimination se fait essentiellement par les fèces via a sécrétion biliaire, une toute petite partie est éliminée par les voies urinaires.

La vitamine E a un rôle antioxydant, c'est-a-dire qu'elle est capable de neutraliser les radicaux libres. L'oxygène, bien qu'indispensable à la vie est aussi à l'origine de la formation de molécules toxiques pour les cellules: les radicaux libres. Ce sont des molécules présentant un nombre impair d'électrons, ce qui leur confère une forte réactivité notamment vis-à-vis des lipides membranaires (mais aussi au niveau des protéines et des acides nucléiques). La cytotoxicité s'exprime par exemple au niveau des acides gras insaturés. La présence de doubles liaisons rend ces molécules particulièrement sensibles aux radicaux libres qui les transforment en peroxydes, fragilisant du même coup les membranes plasmiques.

La vitamine E a donc pour rôle de stabiliser les membranes cellulaires. Cette protection est notamment importante au niveau des cellules sanguines, plaquettes et hématies (limite l'hémolyse). L'action antioxydante de la vitamine E est également importante au niveau des LDL. Elle limite leur transformation en LDL oxydé (lipoprotéine la plus athérogène).

A noter que l'action de la vitamine E a lieu en synergie avec la vitamine C, cette dernière participant à la régénération de la vitamine E suite à la neutralisation de radicaux libres.

VI.1.2.4- La vitamine K

La famille des vitamines K regroupe des molécules chimiquement voisines qui sont constituées d'un noyau **naphtoquinone** et d'une **chaîne polyisoprénique** (Fig. 185). Les deux principales formes sont :

- La vitamine K_1 (phylloquinone), d'origine végétale (chou, épinards, persil...);
- La vitamine K_2 (ménaquinone), surtout d'origine animale (foie, viande...).

Les vitamines K sont synthétisées par les végétaux. De plus, la particularité de cette vitamine est qu'il existe une source endogène puisque la flore intestinale (microbiote) est capable de la biosynthétiser (sous la forme K_2). Par absorption intestinale, la vitamine K se retrouve au niveau des chylomicrons. Elle est ensuite récupérée par le foie où il existe une possibilité de stockage (limitée). La distribution au niveau des différents tissus se fait par les LDL.

Son élimination se fait par les selles (via la bile) et en petite partie via les urines sous forme de métabolites.

Sur le plan biochimique, la vitamine K agit comme cofacteur de certaines carboxylases. Cela concerne notamment les réactions de carboxylation de certaines protéines au niveau de la chaine latérale de l'acide glutamique, en augmentant l'affinité de la protéine pour les ions Ca^{2+} et en induisant du coup un effet biologique.

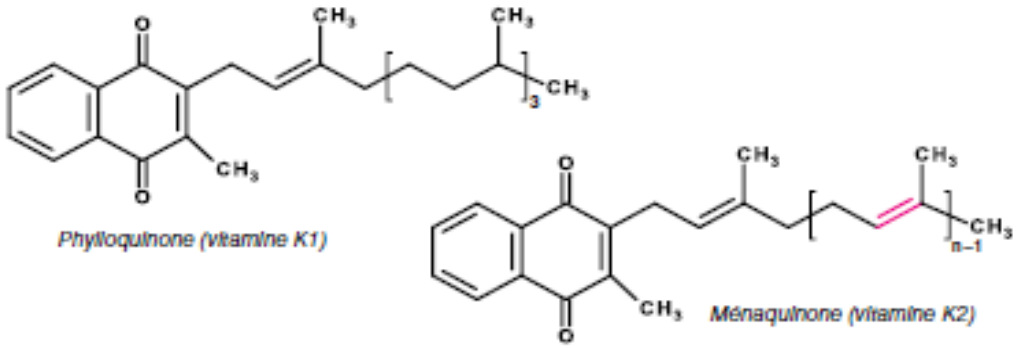


Fig. 185. Structure des vitamines K1 et K2.

La carence en vitamine K provoque des hémorragies, d'où le nom de la vitamine (K pour l'allemand *koagulation*).

Les vitamines K sont les précurseurs de coenzymes de γ-glutamyl carboxylases, enzymes nécessaires à la modification post-traductionnelle d'un groupe de protéines intervenant dans la coagulation du sang (prothrombine, facteur de coagulation VII, IX, X). Les résidus γ-carboxyl-glutamate permettent à ces protéines de complexer très fortement l'ion Ca^{++}. Une fois ces complexes formés, ces protéines se fixent aux membranes des plaquettes sanguines et des cellules endothéliales et participent activement au processus de coagulation.

Le principal rôle physiologique de cette vitamine est antihémorragique. Elle est indispensable au fonctionnement de certains facteurs de coagulation (protéines subissant la réaction de carboxylation) : prothrombine, proconvertine...

VI.2- Les coenzymes

VI.2.1- Définition et propriétés

Les coenzymes ou cofacteurs sont des métabolites non protéiques, de faible masse moléculaire comparée à la masse moléculaire des enzymes. Ils ont une structure simple et agissent à faible concentration et doivent, comme les enzymes, être régénérés à la fin d'une réaction ou d'une séquence de réactions. Ils sont libres ou associés à l'enzyme et ils sont thermostables.

Les coenzymes sont introduits dans l'organisme des mammifères par l'alimentation sous forme de vitamines ou de facteurs de croissance.

Presque toutes les vitamines hydrosolubles et liposolubles connues sont impliquées dans la structure des coenzymes sauf la vitamine C (hydrosoluble) et la vitamine A (liposoluble).
Les coenzymes ont des fonctions d'accepteurs et de transporteurs de radicaux libérés au cours de la catalyse. Ils fixent et transportent :

- des hydrogènes et des électrons dans les réactions d'oxydoréduction.
- des radicaux autres que l'hydrogène et les électrons dans les autres réactions.
- Ils transportent le radical d'un composé A à un composé B.

VI.2.2- Classification des coenzymes

Les principaux coenzymes sont répertoriés dans le Tableau 25. Ils ont des origines diverses. Certains coenzymes sont synthétisés à partir d'intermédiaires du métabolisme ; ce sont pour la plupart des nucléotides ou des dérivés nucléotidiques. D'autres coenzymes dérivent des vitamines.

VI.2.2.1 - Les coenzymes d'oxydoréduction

Ils participent aux réactions d'oxydoréductions en transportant des atomes d'hydrogène sous forme d'électrons et de protons (NAD^+, FAD, etc.) ou uniquement des électrons (cytochromes, etc.). On les rencontre dans toutes les réactions d'oxydoréduction cellulaire et dans les séquences de transports d'électrons organisés comme la respiration ou la photosynthèse. Les enzymes qui catalysent les réactions dans lesquelles sont impliqués ces coenzymes sont des ***déshydrogénases*** ou des ***réductases***. On distingue : les coenzymes nicotiniques ou pyridiniques, les coenzymes flaviniques, les coenzymes quinoniques, les métalloporphyrines et les protéines fer-soufre.

Tableau 25: Les principaux coenzymes.

Coenzyme	Rôle métabolique	Origine vitaminique
Principaux coenzymes activateurs		
Flavine mononucléotide (FMN)	Réaction d'oxydoréduction impliquant le transfert d'un ou de deux électrons	Riboflavine (Vitamine B2)
Flavine adénine dinucléotide (FAD)		
Thiamine pyrophosphate (TPP)	Transfert de groupes aldéhyde	Thiamine (Vitamine B1)
Pyridoxal phosphate (PLP)	Transfert de groupes appartenant à des aminoacides	Pyridoxine (Vitamine B6)
Biotine	Carboxylations et transfert de carboxyles	Biotine (Vitamine H)
Adénosylcobalamine Méthylcobalamine	Réarrangements intramoléculaires et transfert de méthyles	Cobalamine (Vitamine B12)
Lipoamide	Oxydation d'un groupe hydroxyalkyle	Vitamine A
Cis-Rétinal	Vision	Vitamine K
Vitamine K	Carboxylation de résidus glutamate	
Principaux coenzymes transporteurs		
Adénosine triphosphate (ATP)	Transfert de méthyles	
S-Adénosylméthionine	Transfert de sulfuryles	
Oses nucléotidylés	Transfert de groupes carbohydrate	
Alcools cytidylés	Transfert d'alcools dans la synthèse des lipides	
Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+) Nicotinamide adénine dinucléotide (NADP)	Réactions d'oxydoréduction impliquant le transfert de deux électrons	Niacine
Coenzyme A	Transfert d'acyles	Pantothénate
Tétrahydrofolate	Transfert de groupes nonocarbonés	Folate
Ubiquinone	Transport d'électrons	

A - Coenzymes nicotiniques ou pyridiniques

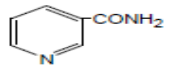
Ces coenzymes dérivent du nicotinamide ou vitamine PP et ont une répartition universelle puisque toutes les cellules en contiennent (Fig. 186). Les deux types les plus représentés sont : NAD^+ (Nicotinamide Adénine Dinucléotide) et $NADP^+$ (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate).

Propriétés et structure

Ce sont des petites molécules solubles, trouvées en partie à l'état libre dans les mitochondries, chloroplastes et dans le cytosol. Ils interviennent tous les deux dans les réactions d'oxydoréduction de l'alcool vers l'acide carboxylique ou vice-versa. La réaction catalysée est la suivante à partir des alcools primaires:

$$R\text{-}CH_2OH + NAD(P)^+ \longleftrightarrow R\text{-}CHO + NAD(P)H,H^+$$

$$R\text{-}CHO + NAD(P)^+ + H_2O \longleftrightarrow R\text{-}COOH + NAD(P)H,H^+$$



Nicotinamide

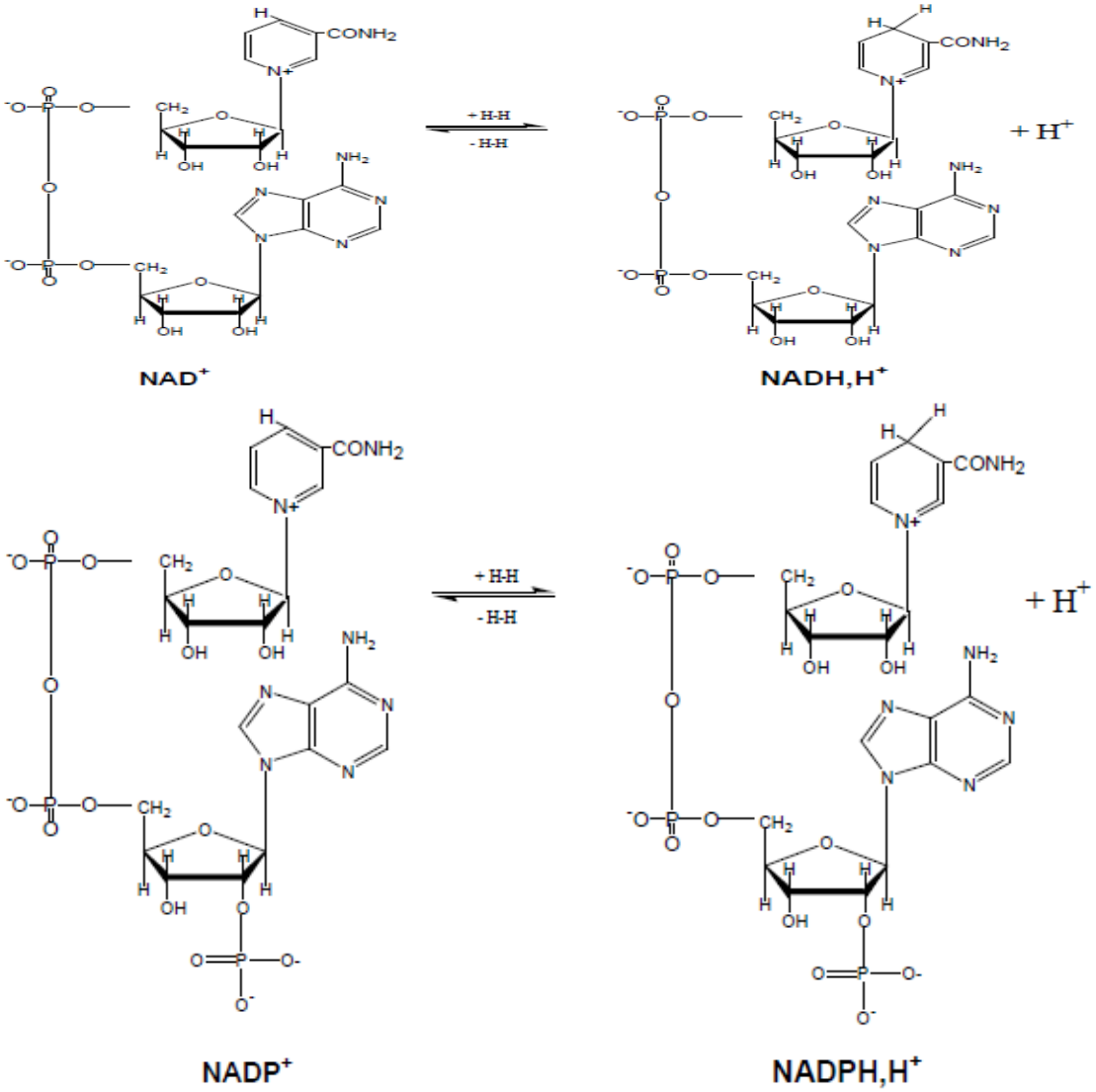


Fig. 186. Structure des deux coenzymes nicotiniques dérivés du nicotinamide (Vit PP). Le couple $NAD^+/NADH,H^+$ est un accepteur ou donneur dans les réaction d'oxydo-réduction du catabolisme. Le couple $NADP^+/NADPH,H^+$ intervient par sa forme réduite comme donneur d'électrons dans les réactions de biogenèse.

Le NAD^+ intervient généralement sous forme oxydée et prend en charge les électrons et les protons dans les déshydrogénations cataboliques, autrement dit, NAD^+ intervient dans les systèmes de dégradation ou de catabolisme conduisant à la récupération d'énergie.

Le $NADP^+$ intervient souvent sous forme réduite ($NADPH,H^+$) et est associé aux ***déshydrogénases*** (***réductases***) dans les réactions de synthèse. Dans la cellule, il y a des déshydrogénases à $NADH,H^+/NAD^+$ et des déshydrogénases à $NADPH,H^+/NADP^+$ bien que certaines acceptent les deux. Ces deux couples sont rarement interchangeables car les produits peuvent êtres très différents.

Sur le plan biochimique, la niacine agit donc comme **coenzyme d'oxydoréduction**. Le NAD (forme oxydée) intervient dans d'importants et nombreux métabolismes en association avec des déshydrogénases; il sert d'accepteur de protons (2) et d'électrons (2) dans les réactions d'oxydation :

- lors de la glycolyse en association par exemple avec la glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase;
- lors de a décarboxylation oxydative du pyruvate, pour former de l'acétylcoA;
- dans le cycle de Krebs, en association par exemple avec l'isocitrate déshydrogénase;
- dans la chaine respiratoire;
- dans le catabolisme des acides gras, en association avec la β-OH acyl déshydrogénase;
- lors de la fermentation lactique (muscle lors d'un effort intensif) où le pyruvate est transformé en lactate. C'est ici le $NADH,H^+$ (forme réduite) qui intervient.

Le $NADP^+$, en association avec des déshydrogénases, intervient au niveau de la voie des pentose-phosphates.

Le $NADPH, H^+$ sert de coenzyme des réductases. II intervient dans la biosynthèse des acides gras et du cholestérol. II joue aussi un rôle important au niveau érythrocytaire, en association avec la glutathion réductase.

B - Les coenzymes flaviniques

Les coenzymes flaviniques FMN et FAD sont des composés hydrosolubles, de couleur jaune qui dérivent de la vitamine B_2 ou riboflavine. Ils sont liés à leur apoenzyme par une liaison covalente pour former la structure d'holoenzyme dite flavoprotéine (Fig. 187). On distingue :

- la flavine mononucléotide (FMN) qui est l'ester phosphorique en 5' de la riboflavine. Elle est membranaire et intervient dans le transport d'électrons dans la chaîne respiratoire;
- et la flavine Adénine nucléotide (FAD), cytosolique, qui comporte un 2e nucléoside uni au premier par une liaison pyrophosphate.

FMN et FAD sont des coenzymes d'une cinquantaine d'enzymes répandues dans toutes les cellules vivantes.

Sur le plan biochimique, FMN et FAD jouent le rôle de coenzyme d'oxydoréduction en association avec des déshydrogénases ou des oxydases. Les coenzymes constituent les groupements prosthétiques de ces enzymes. La partie réactive du FAD et du FMN qui participe à l'oxydoréduction est le noyau diméthylisoalloxazine de la riboflavine (figure 2).

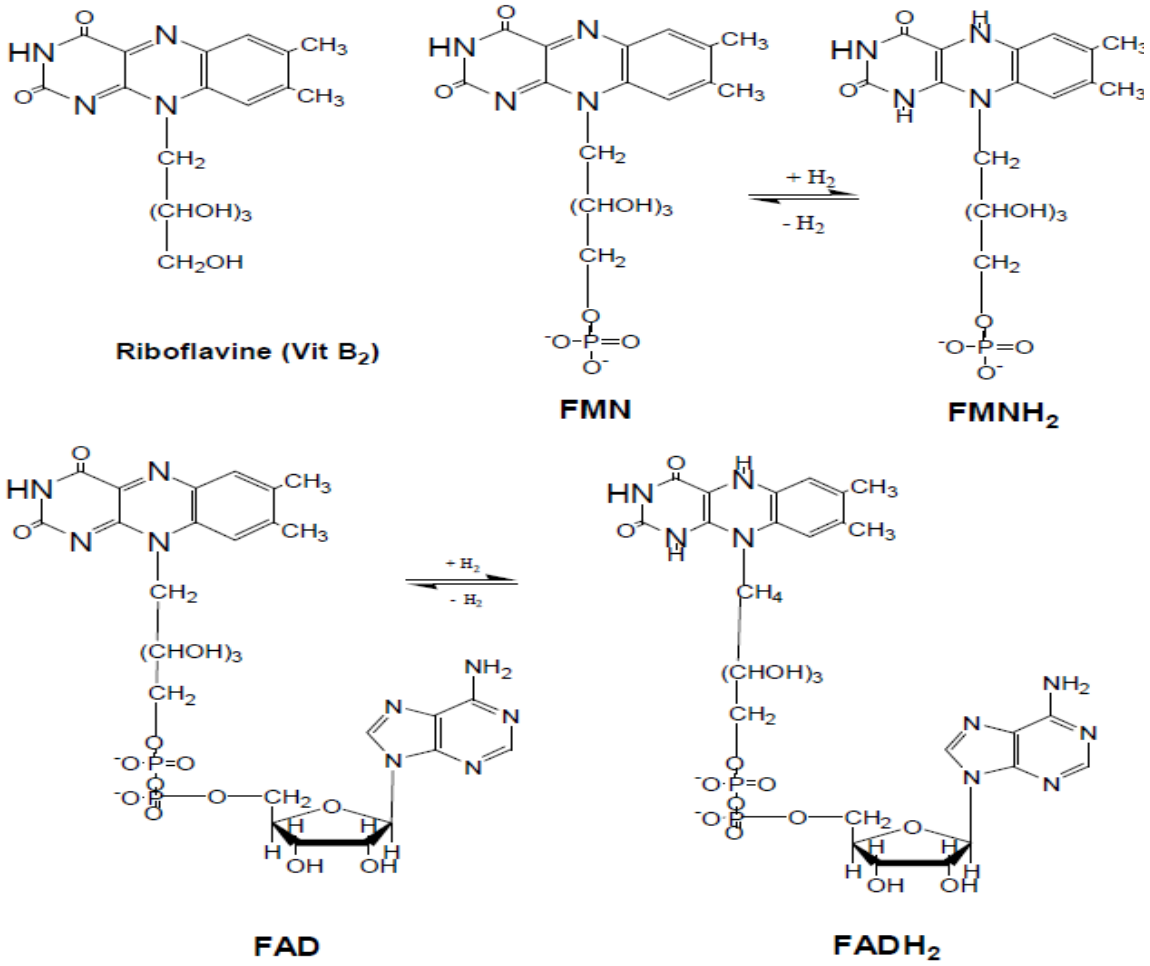


Fig. 187. Structure des deux coenzymes flaviniques dérivés de la riboflavine (Vit B_2). Le couple FMN/FMNH2 ne se rencontre que dans le transport des électrons de la chaîne respiratoire. Le couple FAD/$FADH_2$ est donneur ou accepteur d'électrons dans les réactions de catabolisme.

Le FAD intervient dans de nombreux métabolismes :

- dans le catabolisme des acides gras (β-oxydation), en association avec l'acylCoA déshydrogénase;
- dans le cycle de Krebs, en association avec la succinate déshydrogénase permettant l'oxydation du succinate en fumarate;
- dans la chaine respiratoire (membrane interne des mitochondries);

- dans le catabolisme des acides aminés en participant par exemple à la transformation de la Leu, Ile en acétylCoA et de la Val en succinylCoA;
- dans le catabolisme des bases puriques, en association avec la xanthine oxydase, qui contribue à la formation d'acide urique.

Le FMN intervient au niveau de la chaine respiratoire.

Mécanisme d'action

Le noyau isoalloxazine comporte 2 doubles liaisons conjuguées capables de fixer réversiblement deux atomes d'hydrogène. La forme oxydée présente une bande d'absorption à 450 nm alors que la forme réduite n'en présente pas. Ces ***déshydrogénases*** peuvent recevoir des hydrogènes des coenzymes nicotiniques. On distingue les flavoprotéines membranaires, non auto-oxydables, à structure complexe, et les flavoprotéines auto-oxydables cytoplasmiques qui peuvent transférer l'hydrogène directement à l'oxygène avec formation de peroxydes d'hydrogène. Pour le transport des électrons et des protons elles ont besoin parfois des ions comme le fer et le molybdène.

Les principales flavoprotéines impliquées dans le métabolisme énergétique de la cellule figurent dans le tableau ci-dessous.

Tableau 26: Principales flavoprotéines membranaires.

Flavoprotéines	Dénomination	Coenzymes
NADH,H+ -déshydrogénase	(FP1)	FMN
Succinate déshydrogénase	(FP2)	FAD
Dihydolipoyl déshydrogénase		FAD
Acyl-CoA déshydrogénase	(FP3)	FAD
Glycérol 3-Pdéshydrogénase	(FP4)	FAD

C - Les coenzymes quinoniques : ubiquinone et plastoquinone

L'ubiquinone, encore appelée **coenzyme Q_{10}**, nommée pour sa répartition très large, ubiquitaire, chez les végétaux, animaux et micro-organismes (latin ubique = présent partout). **10** fait référence au nombre d'unités isopréniques (CH_2- CH = C - (CH_3) - CH_2) présentes dans la queue hydrophobe de la molécule (située dans la membrane).

L'ubiquinone, est un coenzyme liposoluble transporteur d'hydrogènes à partir des substrats organiques vers l'oxygène dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Elle n'a pas une origine vitaminique et peut être synthétisée par toutes les cellules. Elle n'est pas attachée à une protéine et peut circuler librement dans la couche phospholipidique de la membrane mitochondriale interne.

Actuellement, plusieurs coenzymes quinoniques sont connus. Ils diffèrent par la longueur de leur chaîne latérale constituée de n radicaux isoprène polymérisés. Le nombre *n* est égal à 10 chez l'Ubiquinone d'où le nom de coenzyme Q_{10}. Dans les végétaux, il ya des quinones appelées plastoquinones qui jouent un rôle équivalent dans les transports d'électrons photosynthétiques. E°' = + 0,1V. L'ubiquinone (forme oxydée) a une bande d'absorption caractéristique entre 270 et 290 nm qui disparaissent quand la quinone est réduite.

Les quinones possèdent deux fonctions quinones qui, par réduction, sont transformées en dihydroquinone par acceptation de 2 électrons et de 2 protons libérés par le substrat (Fig. 188).

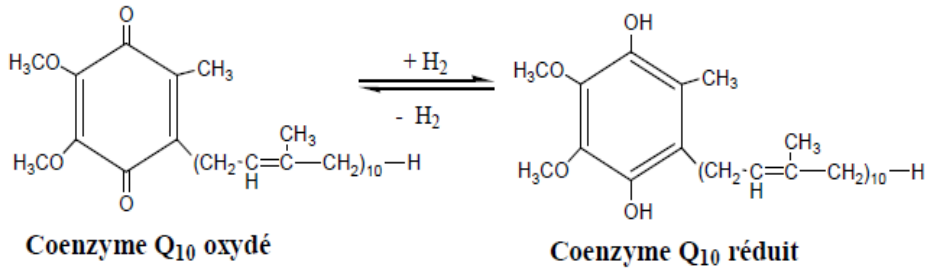


Fig. 188. Ubiquinone ou Coenzyme Q_{10} : Interconversion des formes oxydée et réduite. Ce coenzyme intervient comme accepteur d'électrons dans la chaîne respiratoire.

D - Les métalloporphyrines : cytochromes et peroxydases

Les métalloporphyrines sont de véritables groupements prosthétiques liés à leur apoenzyme respective par des liaisons covalentes. Les métalloporphyrines résultent de l'union, sous forme de complexe, d'un atome de fer et d'une porphyrine (dérivé par substitution du noyau tétrapyrrolique). On les rencontre dans les cytochromes et dans les ***peroxydases***. On distingue :

Les cytochromes

Les cytochromes sont des pigments cellulaires (chromos = couleur) détectables dans l'intervalle 300 à 600 nm du spectre de la lumière. Le terme désigne un ensemble formé d'une protéine et d'un groupe prosthétique (hémochrome) responsable de l'absorption caractéristique de la lumière.

Ces chromoprotéines sont présentes dans toutes les cellules, dans la membrane interne des mitochondries, dans la membrane thylakoide des chloroplastes, et dans le cytoplasme. Le groupement prosthétique ferroprotoporphyrinique est le même (Fig. 189). Seules les apoenzymes qui leur sont solidement accrochées par liaisons covalentes sont différentes (avec des masses moléculaires allant de 13 000 à 250 000) et leur confèrent des potentiels redox différents. Ils ont un rôle de transport séquentiel des électrons grâce au changement de

valence du fer. Dans les mitochondries des cellules animales et végétales et dans les chloroplastes on a isolé et identifié un grand nombre de cytochromes fonctionnant tous sur le même principe. C'est le fer du groupement prosthétique qui transporte les électrons par passage réversible du fer ferrique en fer ferreux (Fig. 189) :

$$\text{Cyt b-Fe}^{+++} + e^- \longleftrightarrow \text{Cyt b-Fe}^{++}$$

Lors du transport des électrons l'ordre d'intervention des cytochromes est déterminé par leur potentiel redox.

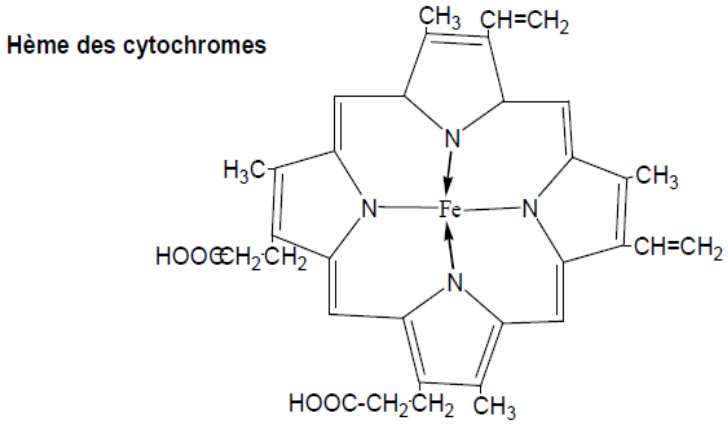


Fig. 189. Structure de l'hème des cytochromes. Les cytochromes sont présents dans toutes les cellules. Ils sont impliqués dans le transport des électrons de la chaîne respiratoire et de la photosynthèse par changement de valence du fer.

Les catalases et peroxydases

Ce sont aussi des chromoprotéines dans lesquelles le fer reste toujours sous forme ferrique et ne change pas de valence. Elles contiennent 4 groupements hématiniques et souvent du cuivre. Les ***catalases*** catalysent la décomposition de l'eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène : $H_2O_2 \rightarrow H_2O + ½\ O_2$

Les ***peroxydases*** oxydent certains substrats à partir d'un peroxyde comme l'eau oxygénée.

Les oxygénases

Ces métalloprotéines catalysent l'incorporation d'un atome (***monooxygénases***) ou d'une molécule d'oxygène (***dioxygénases***) sur un substrat. Certaines sont des cuproprotéines et ferroprotéines (fer non hématinique). Un exemple est donné par la ***tyrosine oxygénase*** et la ***dopamine ß-hydroxylase*** qui participe à la formation de la noradrénaline dans la médullo-surrénale.

Les protéines fer-soufre

Ces protéines fer-Soufre interviennent dans les séquences de transport des électrons aussi bien dans la chaîne respiratoire que dans la photosynthèse. Le fer est non héminique et

le soufre sous forme sulfure. Le fer et le soufre sont en quantité équimoléculaire. L'apoprotéine est liée au fer par l'intermédiaire des cystéines. La figure donne un exemple de la partie non protéique de ces protéines Fer-Soufre. Ces protéines fer-soufre se comportent comme des sous-unités de complexe protéique. Le transport des électrons se fait encore par changement de valence de fer passant réversiblement du fer ferrique au fer ferreux.

VI.2.2.2 - Les coenzymes de transport des radicaux monocarbonés

Les radicaux monocarbonés susceptibles d'être transportés par leurs coenzymes spécifiques sont : CO_2, $-CH_3$, -CHO, $-CH_2OH$, etc. Parmi quelques coenzymes fréquemment rencontrés dans ce cours du métabolisme, on distingue :

A - Coenzyme de transport de CO_2

Le CO_2 est la forme la plus oxydée du carbone. Il se forme abondamment dans la cellule suite à l'oxydation des carbones terminaux d'une molécule organique en particulier sous l'action des ***déshydrogénases***. La dernière réaction est une réaction de décarboxylation spontanée chez les acides organiques ayant une fonction cétone en position ß (carbone 3). La décarboxylation est une réaction courante dans les cellules animales et végétales. La réaction inverse, la carboxylation, est moins fréquente et nécessite de l'énergie et un transporteur. On peut citer la carboxylation du pyruvate et de l'acétyl-CoA, nécessaire à la néoglucogenèse et à la synthèse des acides gras. Une réaction de carboxylation qui occupe une place prépondérante dans le métabolisme des végétaux chlorophylliens est celle du ribulose-1,5-bisphosphate qui est à l'origine de la synthèse des glucides à partir du CO_2. Deux coenzymes servent de transporteurs, la biotine pour les petites molécules et la vit K pour les protéines.

Biotine ou vitamine H

La biotine est un coenzyme qui est réuni à l'apoenzyme par une liaison covalente amide (entre -COOH de la chaîne latérale de la biotine et $-NH_2$ d'une lysine de l'apoenzyme) à un résidu lysine (Fig. 190). Elle est formée de 2 hétérocycles accolés dont l'un contient 2 atomes d'azote et l'autre un atome de soufre.

Sur le plan biochimique, la biotine agit comme coenzyme de transfert du CO_2 pour les réactions de carboxylation. Voici les trois principaux exemples où interviennent des carboxylases dites biotine-dépendantes :

- la pyruvate carboxylase est une enzyme mitochondriale qui permet la transformation du pyruvate en oxaloacétate. Cette réaction est utilisée pour la néoglucogenèse mais aussi pour la navette citrate-malate-pyruvate, sollicitée pour la biosynthèse des acides gras ou encore du cholestérol;

- l'acétylCoA carboxylase est une enzyme cytosolique qui catalyse la première étape de la biosynthèse des acides gras;

- la propionylCoA carboxylase est une enzyme mitochondriale permettant la transformation du propionylCoA en succinylCoA (via le méthylmalonylCoA) qui pourra ensuite entrer dans le cycle de Krebs soit à des fins énergétiques, soit pour des besoins de néoglucogenèse. Le propionylCoA provient du catabolisme des acides gras à nombre impair de carbone et de certains acides aminés (Val, Ile, Met, Thr).

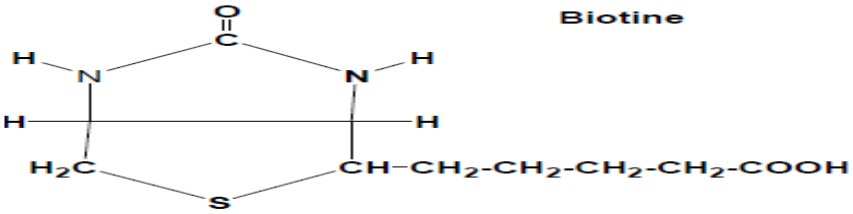


Fig. 190. Structure de la biotine.

VI.2.2.3 - Coenzymes de transport de radicaux autres que CO_2

A - S-Adenosyl methionine

Ce coenzyme dérive de la méthionine, acide aminé indispensable, apporté dans l'alimentation. C'est la forme active de transport et de fixation du radical méthyle ($-CH_3$). Il est formé à partir de la réaction de l'ATP sur la méthionine. C'est la seule réaction dans laquelle l'ATP perd ses 3 groupements phosphates (Fig. 191). Il est donneur de méthyle dans les réactions catalysées par le groupe de ***méthyltransférases*** qui fixent des groupements méthyles aux accepteurs convenables comme :

- les acides nucléiques
- les protéines
- les colamines pour former les cholines
- le nicotinamide pour former le méthylnicotinamide, forme d'élimination de cette vitamine.

La perte du méthyle transforme le cofacteur en S-Adénosyl-Homocystéine.

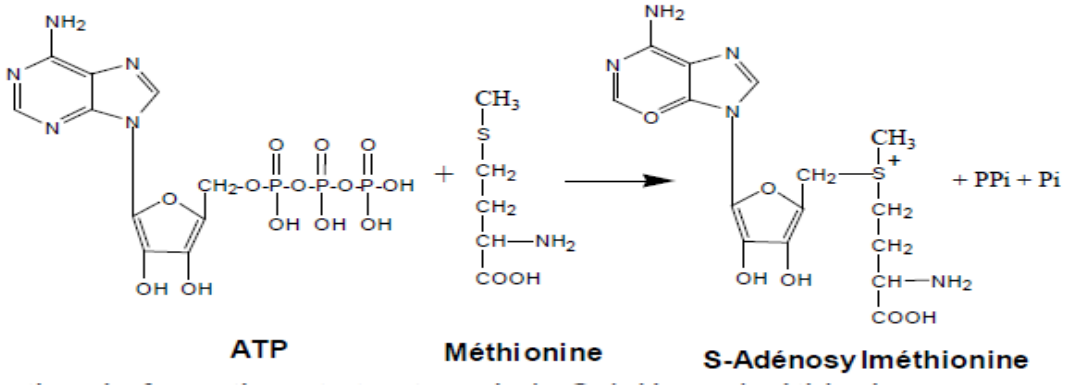


Fig. 191. Réaction de formation et structure de la S-Adénosylméthionine.

B - Acides foliques (les folates)

En fait les acides foliques sont nombreux et sont rencontrés principalement dans les feuilles. Ils contiennent deux noyaux que ne peuvent synthétiser les animaux et certains microorganismes. Il s'agit des noyaux ptérine et le radical p-aminobenzoique. Associés à leur apoenzyme l'ensemble constitue les ptéroprotéines (Fig. 192).

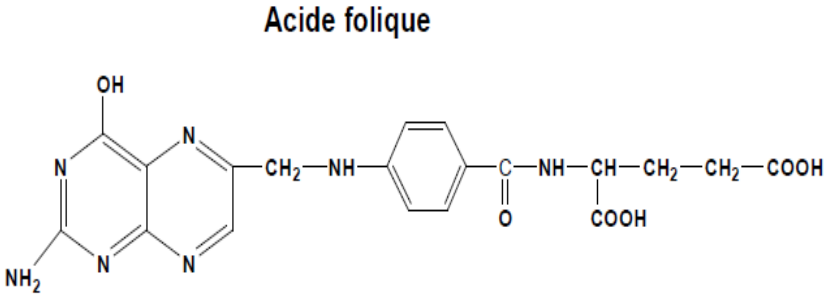


Fig. 193. L'acide folique sous sa forme tétrahydrofolique est un transporteur de radicaux monocarbonés autres que le CO_2.

L'acide tétrahydrofolique (THF ou FH_4) est la forme activée et fonctionne comme cofacteur de nombreux systèmes enzymatiques de transfert de radicaux à un carbone autre que le CO_2. Le radical méthyle est transporté sur l'azote 5 qui peut être transféré ensuite sur la désoxyribo-uridine pour former la désoxythimidine. Le coenzyme peut transporter aussi le groupement formyle sur l'azote N_{10} suivant la formule ci-dessus : La synthèse du noyau purique et des acides nucléiques dépend des réactions de transformylation (transport de –CHO).

Les enzymes fonctionnant avec des coenzymes foliques participant au métabolisme des acides aminés, grâce notamment aux réactions d'interconversion:

- catabolisme de l'histidine, amenant à la formation de l'acide glutamique;
- transformation de la sérine en glycine.

Cette coenzyme intervient également dans la biosynthèse des protéines (lors de la réaction d'initiation) et des bases azotées (purines et pyrimidines), donc des acides nucléiques (ADN, ARN).

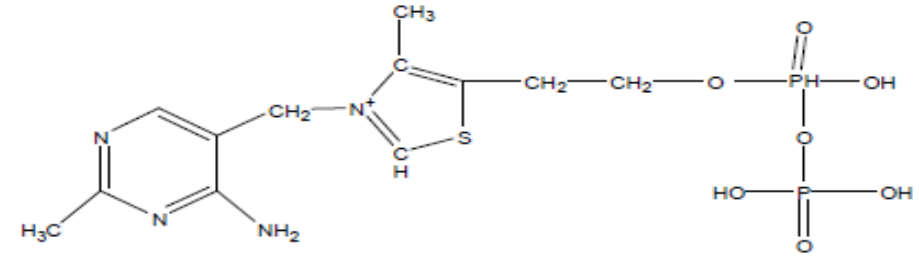
VI.2.2.4 - Coenzymes de transport de radicaux à deux ou plusieurs carbones

Il s'agit des coenzymes chargés de transporter les radicaux : acyle, aldéhyde, carboxyle, etc. Nous étudierons essentiellement 3 coenzymes importants compte tenu de leur implication dans le métabolisme énergétique des glucides. Leur ordre d'intervention dans la transformation du pyruvate en acétyl~CoA va permettre d'illustrer la notion de séquence de réactions et celle du complexe multi-enzymatique.

A - Thiamine pyrophosphate (TPP)

Ce coenzyme (groupement prosthétique) dérive de la thiamine (vit B_1). La thiamine est formée dans de très nombreuses bactéries et végétaux. Il contient un noyau pyrimidique et un noyau imidazole (Fig. 193).

La TPP joue le rôle de coenzyme de transfert. Elle sert de coenzyme aux réactions de décarboxylation (la pyruvate décarboxylase, l'α-cétoglutarate décarboxylase) des acides α-cétoniques, qui ont lieu dans la matrice mitochondriale grâce à des complexes enzymatiques. C'est également le coenzyme de la transcétolase, enzyme de la voie des pentoses phosphate. Au cours des réactions, les carbones des fonctions cétone forment une liaison covalente avec le carbone 2 du noyau thiazole.



Thiamine pyrophosphate

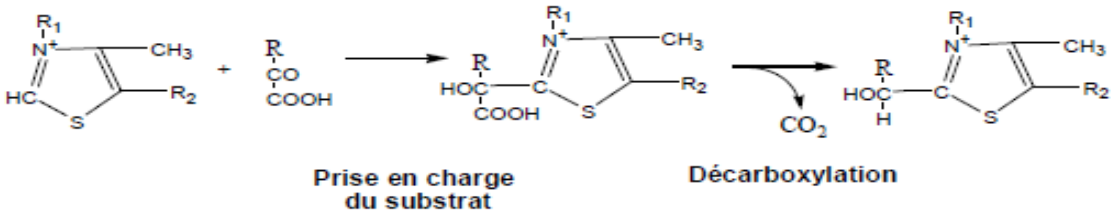


Fig. 193. Structure de la thiamine pyrophosphate, coenzyme dérivé de la vitamine B_1. Mécanisme d'action de la ***déshydrogénase*** au niveau de son coenzyme, groupement prosthétique.

Un des exemples importants est la transformation du pyruvate en acétylCoA par la pyruvate déshydrogénase. II est possible de décomposer cette réaction afin d'apprécier le rôle joué par la TPP (Fig. 194).

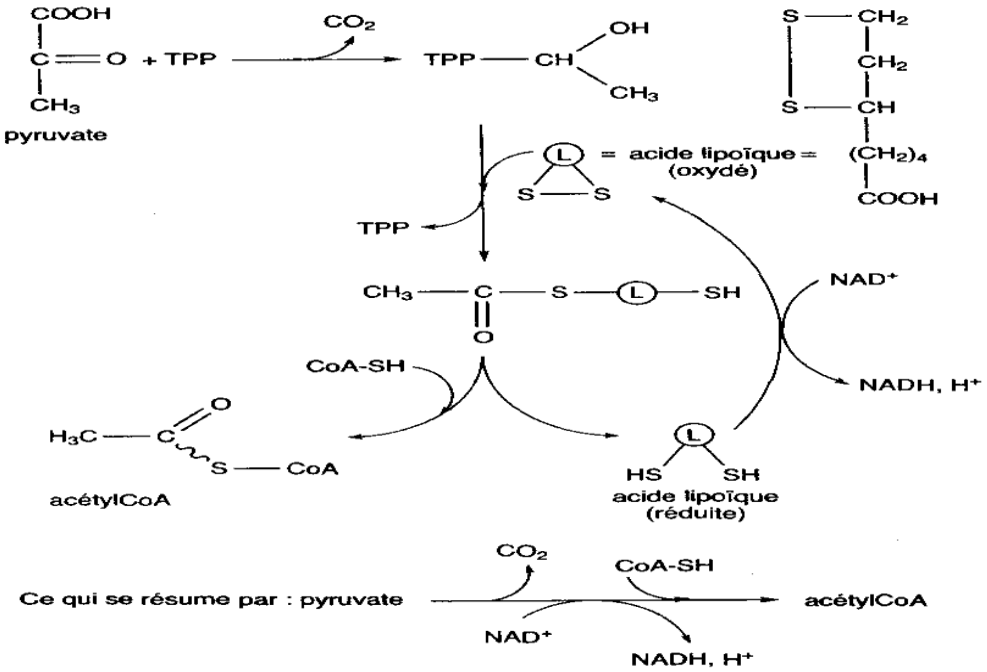
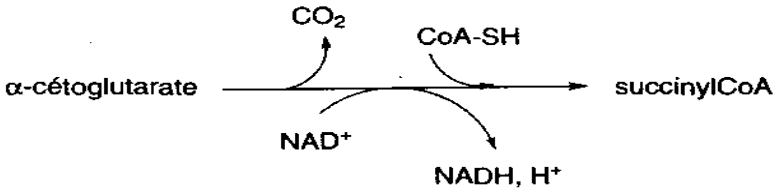


Fig. 194. Intervention de la TPP dans la décarboxylation oxydative du pyruvate.

Cette réaction fait intervenir trois coenzymes d'origine vitaminique: TPP (vitamins B_1); CoA-SH (vitamine B_5) et NAD^+ (vitamine B_3).

De la même façon, la TPP intervient au niveau du cycle de Krebs avec l'α-cétoglutarate déshydrogénase.



α-cetoglutarate déshydrogénase (+ TPP).

La TPP sert de coenzyme dans les réactions de transcétolisation de la voie des pentose-phosphates. Elle intervient également dans les réactions de décarboxylation de certains acides aminés. Ainsi, elle contribue à la transformation de la Leu et de l'Ile en acétyl-CoA; la Val en succinyl-CoA.

B - Acide lipoique et lipoamide

L'acide lipoïque est un acide gras à 8 atomes de carbone qui a un pont disulfure entre les carbones 6 et 8 (figure 10). Il est solidement lié à son apoenzyme. L'holoenzyme formée prend alors le nom de lipoamide.

Comme annoncé précédemment Il sert d'accepteur de radicaux acyles cédés par la thiamine pyrophosphate (Fig. 195). Dans le cas des réactions partant du pyruvate ou de l'α-cétoglutarate, le radical transporté est un acétyle ou un succinyle. La composante du complexe enzymatique, responsable du transport de ces radicaux sur le lipoate est l'enzyme (E_1) qui débute la séquence. Le lipoate n'est pas l'accepteur final des radicaux acyles. Une deuxième composante (E_2) du complexe, la ***dihydrolipoyl-acyltransférase***, transfère le radical acyle sur le coenzyme A. Le lipoate est réoxydé par la composante (E_3), la ***dihydrolipoyl déshydrogénase*** à FAD qui transfère à la fin les électrons et les protons arrachés au pyruvate ou à l'α-cétoglutarate sur NAD^+.

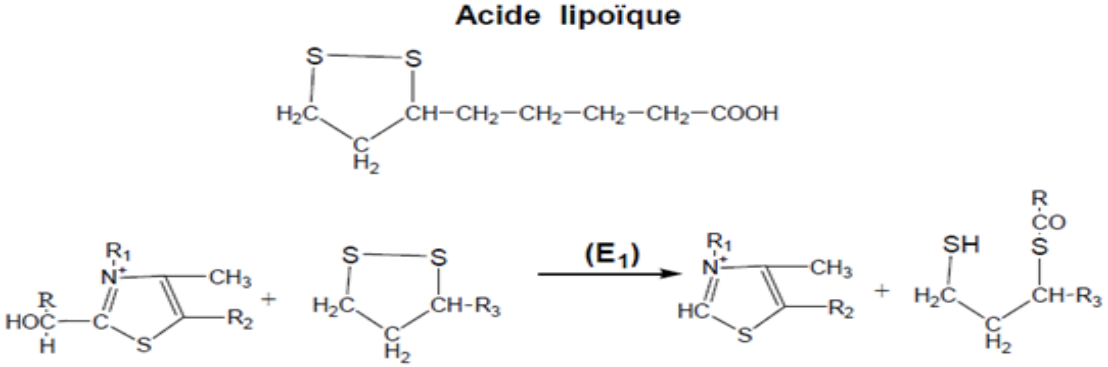


Fig. 196. Structure du lipoate et réaction de transfert des radicaux issus de la thiamine pyrophosphate sur le lipoate.

C - Le coenzyme A (HSCoA)

Ce coenzyme existe dans toutes les cellules. Sa structure présente une analogie avec un dinucléotide (Fig. 197). II correspond à l'association d'une molécule d'acide pantothénique qui est le facteur vitaminique (non synthétisé par les animaux) avec l'adénosine 5'-diphosphate ATP (de structure particulière puisque le troisième phosphate est séparé des deux autres) et d'une cystéamine ou la mercaptoéthylamine (obtenue par décarboxylation de la cystéine). Cette fonction thiol peut se condenser avec un substrat, le plus souvent avec une fonction carboxylique, conduisant à la formation d'une liaison thioester d'un haut potentiel énergétique -CO~SCoA rendant thermodynamiquement possibles des réactions ultérieures (Fig. 197).

Il sert d'activateur des acides gras dans les réactions de dégradations. Il joue en même temps le rôle de transporteur de radical acyle R-CO-. Il est capable de les rendre solubles dans le cytoplasme.

Le CoA-SH, lui-même participe à de nombreux intermédiaires métaboliques dont voici d'importants exemples:

- **l'acétylCoA,** véritable carrefour métabolique, est implique dans la plupart des voies métaboliques (cycle de Krebs, métabolisme des acides gras, des corps cétoniques, catabolisme de certains acides aminés…) ;
- **le malonylCoA** provient de la première étape de la biosynthèse des acides gras. Davantage qu'un simple intermédiaire métabolique, il contribue à la régulation du métabolisme des acides gras (régulation allostérique);
- **le succinylCoA,** intermédiaire important du cycle de Krebs, participe aussi au catabolisme des corps cétoniques, à la biosynthèse de l'hème ou encore à la néoglucogenèse;
- **le HMG-CoA** est un intermédiaire de la cétogenèse et de la biosynthèse du cholestérol.

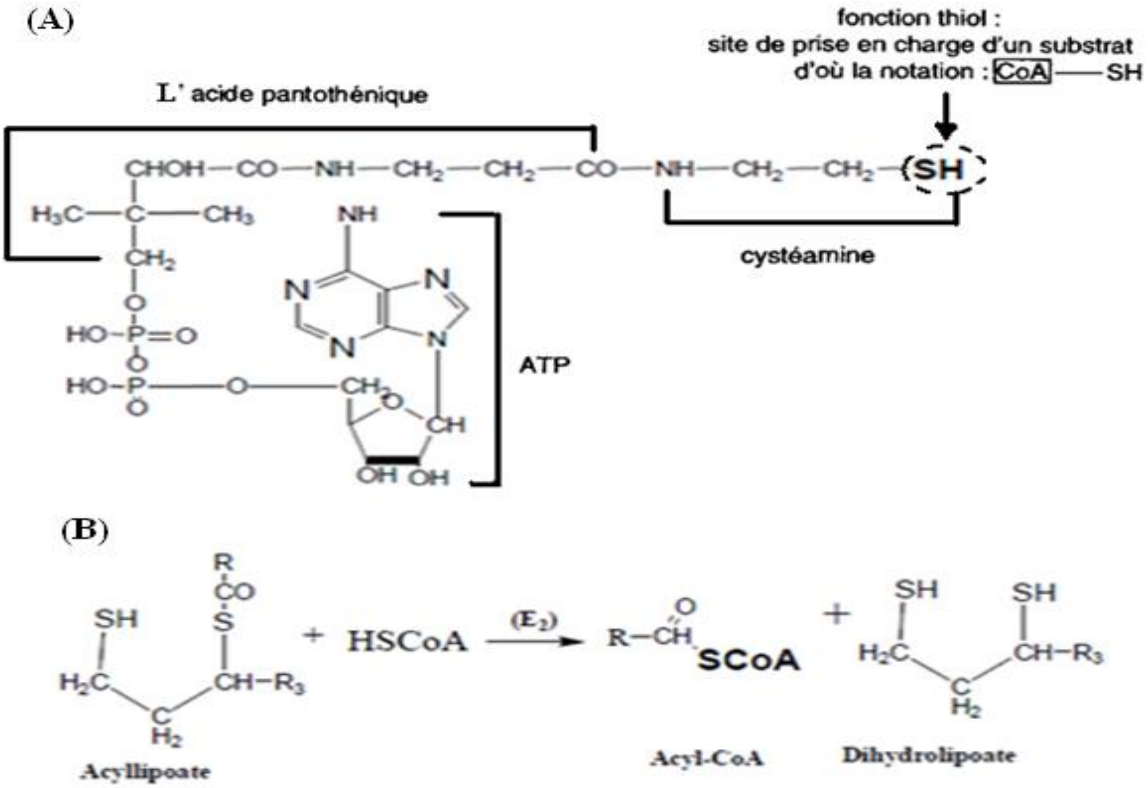


Fig. 197. (A) Structure du coenzyme A (CoA-SH). (B) Réaction de transfert des radicaux acyles de l'acyllipoate sur le coenzyme A

VI.2.2.5 - Coenzyme des aminotransférases : le pyridoxal phosphate

C'est un groupement prosthétique qui est relié à son apoenzyme par liaison covalente avec laquelle elle forme une base de Schiff, imine aromatique. Lors de la catalyse il forme aussi une base de Schiff avec l'acide aminé. Sa structure dérive de la vitamine B_6 comprenant

la pyridoxine, la pyridoxamine, le pyridoxal et le pyridoxal phosphate. Le coenzyme actif est le pyridoxal phosphate (Fig. 198).

Sur le plan biochimique, le pyridoxal phosphate (PLP) est un coenzyme qui intervient comme coenzyme de nombreuses réactions du métabolisme azoté. Il est commun à toutes les ***aminotransférases***. Il agit:

• en association avec les transaminases (Métabolisme azoté);

• lors des réactions de désamination oxydative des acides aminés, aboutissant à la formation d'acide α-cétonique et de NH_3

• avec les décarboxylases, permettant la formation d'amines biogènes à partir d'un acide aminé;

• lors de la transformation du tryptophane (Trp) en vitamine B_3 ou en sérotonine;

• lors de la biosynthèse de l'hème.

Pyridoxal phosphate (PLP)

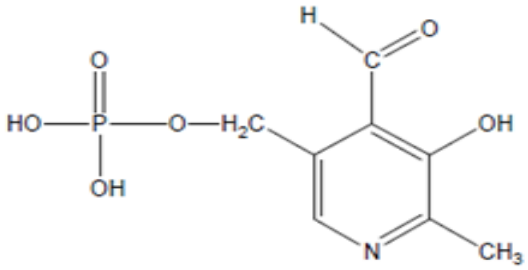
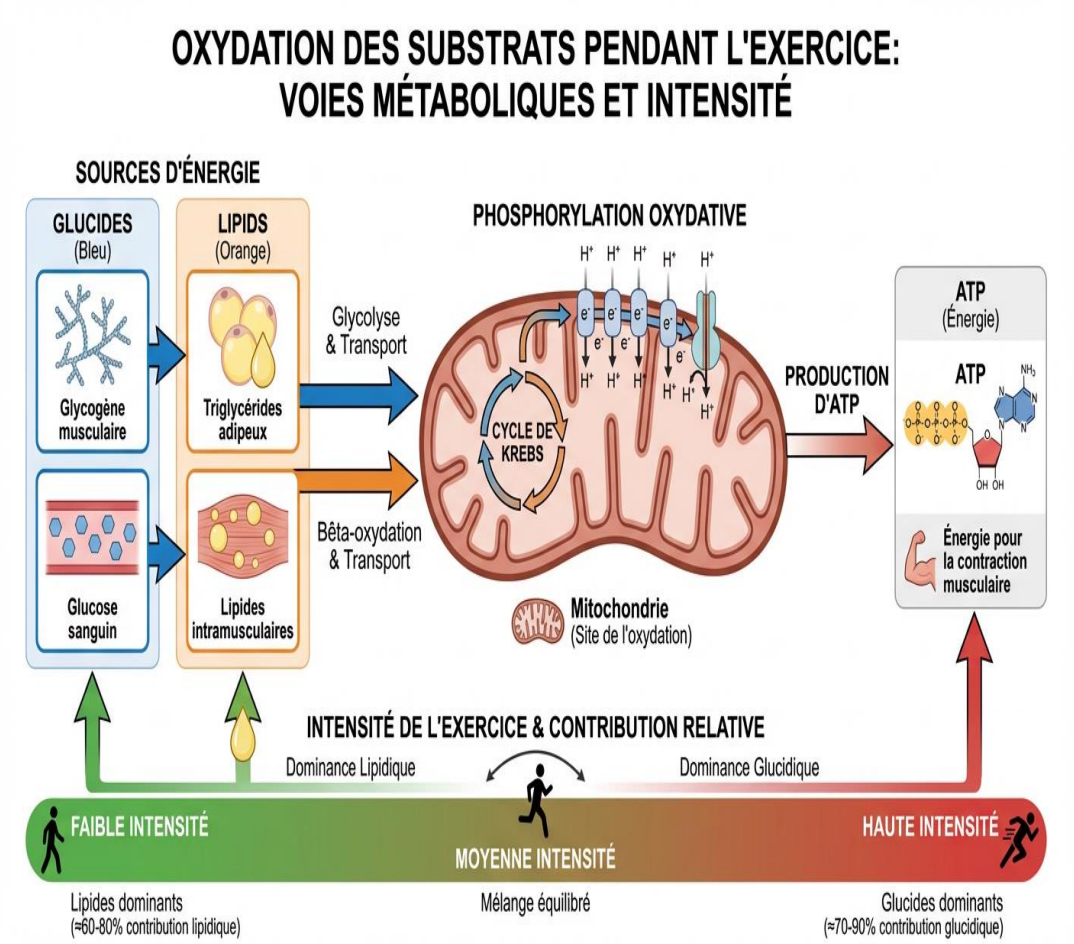


Fig. 198. Structure du pyridoxal phosphate (PLP), coenzyme groupement prosthétique des aminotransférases.

CHAPITRE VII :

ÉNERGÉTIQUE DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES



CHAPITRE VII ÉNERGÉTIQUE DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES

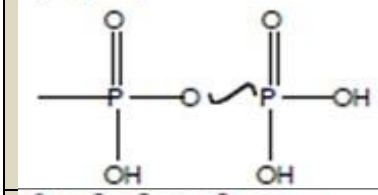
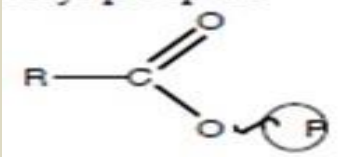
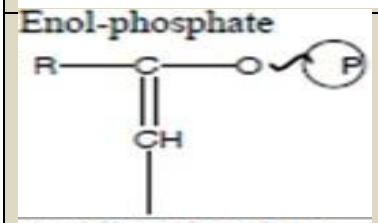
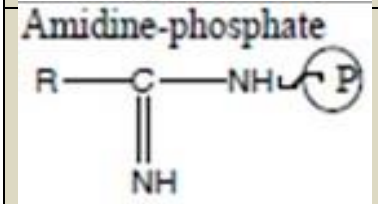
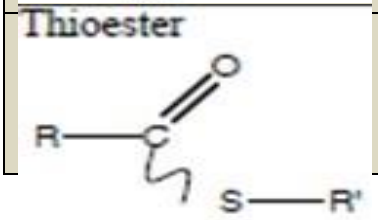
La bioénergétique étudie les échanges énergétiques chez les organismes vivants. Au centre de ces transformations, les couples ATP/ADP ou ATP/AMP qui transfèrent l'énergie des réactions qui en fournissent aux réactions qui en exigent.

VII.1. Composés riches en énergie

VII.1.1. Définition

On appelle composé riche en énergie (Tableau 27) ou composé à haut potentiel d'hydrolyse, un composé qui contient une ou plusieurs liaisons dont l'hydrolyse libère une grande quantité d'énergie ($\Delta G°' < -21$ kJ.mol^{-1}).

Tableau 27 : Les autres composés riches en énergie.

Type de liaison	Exemples de composés	Réaction	AG° (kJ.mol^{-1})
Pyrophosphate 	Nucléosides triphosphate	NTP + H_2O ⇔NDP+Pi	-30
	Nucléosides triphosphate	NDP + H_2O ⇔NMP+Pi	-30
Acyl-phosphate 	1,3-Biphospho-glycérate	1,3 biphosphoglycérate + H_2O ⇔ 3-phosphoglycérate + Pi	-42
Enol-phosphate 	Phosphoénol-pyruvate	Phosphoénolpyruvate + H_2O ⇔ pyruvate + Pi	-54
Amidine-phosphate 	Créatine-phosphate	Créatine- phosphate + H_2O ⇔ créatine + Pi	-44
Thioester 	AcétylCoA	AcétylCoA + H_2O ⇔ CoASH + acétate	-37

VII.1.2. ATP

L'Adénosine Triphosphate (ATP) est le principal composé à haut potentiel énergétique. Il possède deux liaisons riches en énergie (Fig. 199).

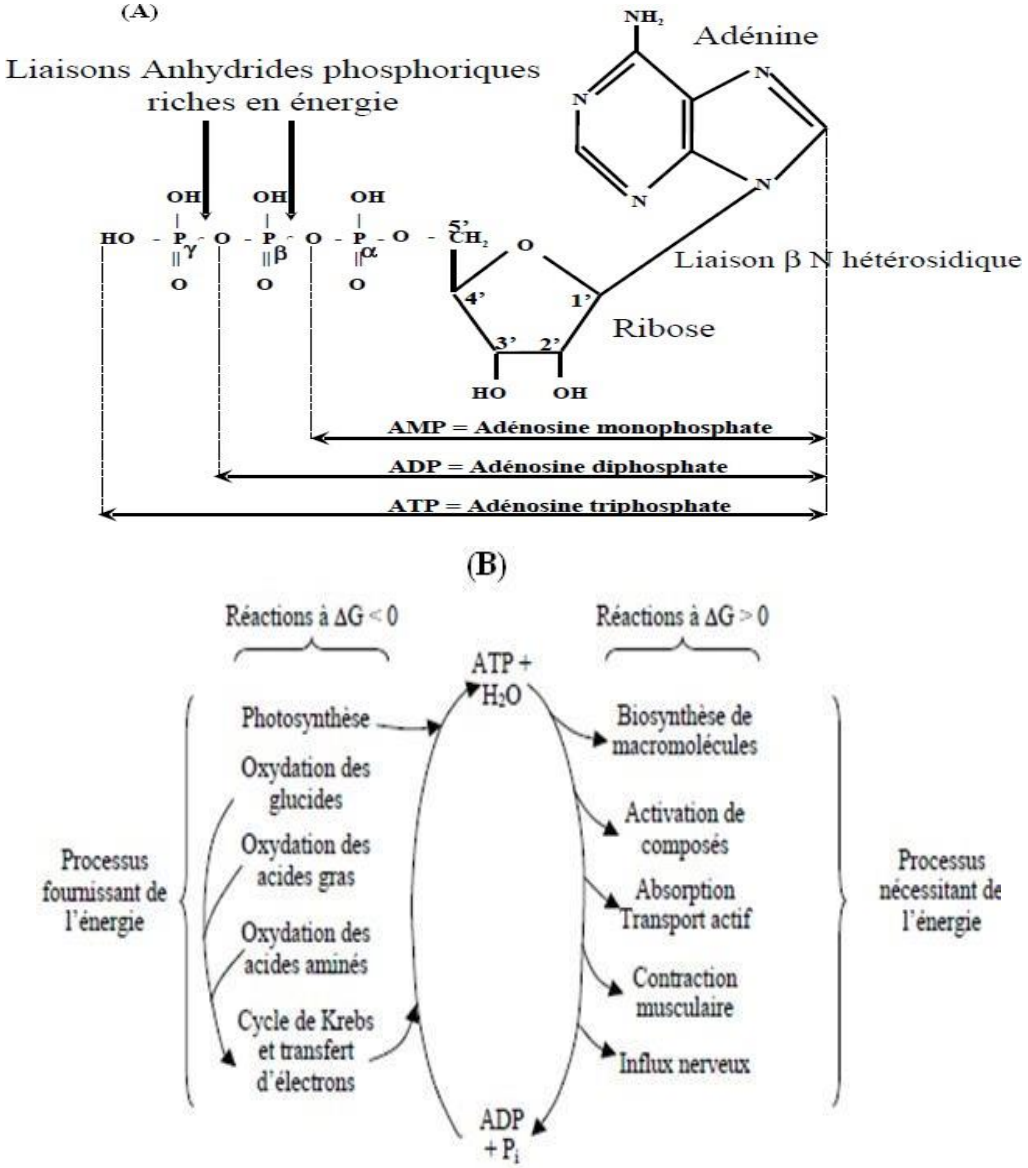


Fig. 199. (A) Structure de la molécule d'ATP. (B) Rôle de l'ATP dans le transfert d'énergie.

L'ATP est hydrolysée selon plusieurs modalités :

$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi$ $\Delta G°' = -30\ kJ.mol^{-1}$

$ADP + H_2O \rightarrow AMP + Pi$ $\Delta G°' = -30\ kJ.mol^{-1}$

$ATP + H_2O \rightarrow AMP + PPi$ $\Delta G°' = -30\ kJ.mol^{-1}$

$AMP + H_2O \rightarrow$ adénosine + Pi $\Delta G°' = -10\ kJ.mol^{-1} > -21\ kJ.mol^{-1}$

L'AMP est recyclé en ADP par l'adénylate kinase : **AMP + ATP → 2 ADP**

L'ADP est ensuite phosphorylé en ATP au cours des oxydations phosphorylantes (respiration) ou de la photosynthèse (photophosphorylation).

VII.2. Oxydations phosphorylantes

VII.2.1. Généralités

Le $FADH_2$ et le NADH sont des coenzymes réduits produits dans la matrice mitochondriale lors des différentes étapes d'oxydation (cycle de Krebs, oxydation des acides gras, etc.) et également dans le cytoplasme lors de la glycolyse. Les molécules de NADH générées lors de la glycolyse ne pouvant pénétrer dans la matrice mitochondriale, ce sont les électrons qui y seront transférés par deux systèmes navette qui sont la navette du glycérol phosphate et la navette malate-aspartate.

Les coenzymes réduits sont réoxydés au niveau de la chaîne respiratoire localisée dans la membrane interne mitochondriale chez les cellules eucaryotes. Cette réoxydation s'accompagne de la formation d'un gradient de protons qui seront utilisés pour la formation d'ATP, d'où le nom d'oxydation phosphorylante

Par conséquent la **phosphorylation oxydative** constitue le processus permettant la phosphorylation de l'ADP en ATP grâce à l'énergie libérée par l'oxydation de donneurs d'électrons par la chaîne respiratoire.

Ce processus est commun à presque tous les organismes aérobies malgré le fait que ces derniers se nourrissent d'une grande variété de nutriments différents qui sont oxydés à travers des voies métaboliques très diverses. Il permet aux cellules de régénérer leurs coenzymes réduites par les réactions du catabolisme, et permet de récupérer sous forme d'ATP l'énergie libérée par la respiration cellulaire. Son rendement énergétique est sensiblement meilleur que celui de la glycolyse ou de la fermentation anaérobie.

La phosphorylation oxydative est une fonction vitale du métabolisme. Elle génère cependant des dérivés réactifs de l'oxygène tels que l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ ou le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 lesquels produisent à leur tour des radicaux libres nocifs.

VII.2.2. La chaîne respiratoire

La chaine respiratoire constitue une partie de la phosphorylation oxydative. Elle catalyse le transport par degrés successifs des électrons depuis le NADH ou l'ubiquinone réduite (QH_2) sur l'oxygène moléculaire.

La membrane interne des mitochondries (Fig. 200A), surtout les crêtes, possède trois complexes enzymatiques respiratoires : la NADH-Q oxydoréductase (Complexe I), la Q-cytochrome *c* oxydoréductase (Complexe III), et la cytochrome *c* oxydase (Complexe IV), susceptibles de pomper des protons de la matrice vers l'espace inter-membranaire. Ils sont associés à deux transporteurs mobiles, l'ubiquinone (coenzyme Q) et le cytochrome *c*, ils constituent la chaîne respiratoire mitochondriale (Fig. 200B).

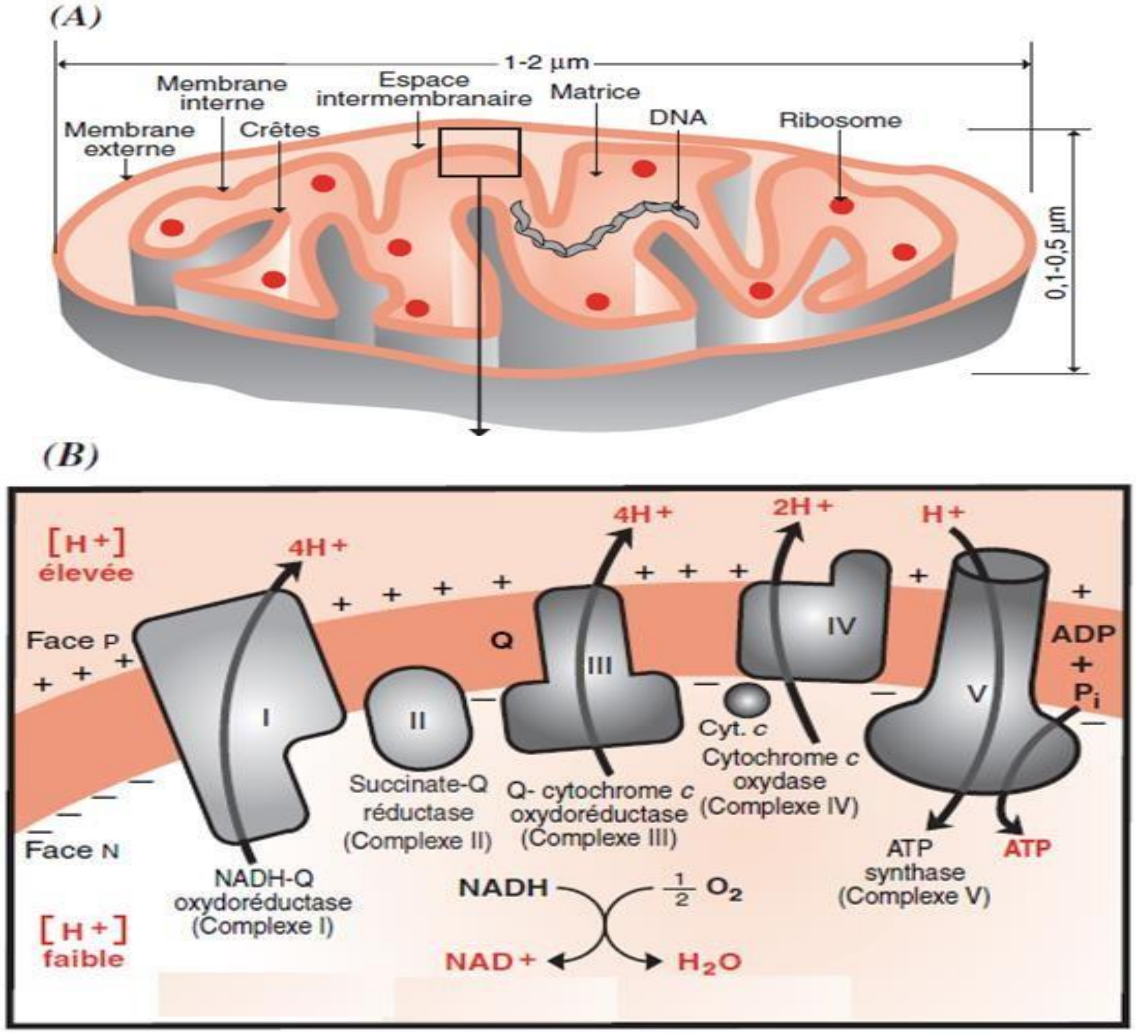


Fig. 200. (A) Structure de la mitochondrie. (B) La chaine respiratoire mitochondriale.

La membrane interne contient aussi une succinate-Q réductase (ou Complexe II), qui transporte vers l'ubiquinone les électrons du $FADH_2$ de la succinate déshydrogénase du cycle de l'acide citrique mais ne pompe pas de protons. Deux autres enzymes, l'acyl CoA déshydrogénase et le glycérol phosphate déshydrogénase, transfèrent de même les électrons de haut potentiel du $FADH_2$ à Q pour former QH_2. La membrane interne possède enfin une ATP synthase (ou Complexe V).

- **Le complexe I ou NADH-ubiquinone oxydoréductase**. Ce complexe transfère les électrons du NADH au coenzyme FMN. Les électrons seront ensuite transférés à l'ubiquinone (CoQ) par l'intermédiaire des protéines fer-soufre (Fe-S). Ce complexe est spécifiquement inhibé par la roténone (Tableau 28).
- **Le complexe II ou succinate-ubiquinone réductase**. Ce complexe possède une activité succinate deshydrogénase qui catalyse le transfert des électrons depuis le succinate au CoQ en utilisant le FAD comme coenzyme. Ce complexe est inhibé par le malonate (Tableau 28).
- **Le complexe III ou ubiquinol-cytochrome c réductase**. Ce complexe transfère les électrons depuis l'ubiquinol ou coenzyme Q réduit ($CoQH_2$) au cytochrome c par l'intermédiaire des cytochromes b et c1. Ce complexe est inhibé par l'antimycine A (Tableau 28).
- **Le complexe IV ou cytochrome-c oxydase**. Ce complexe transfère les électrons depuis le cytochrome c à l'oxygène par l'intermédiaire des cytochromes a et a_3. Ce complexe est inhibé par le cyanure, l'azide ou encore le monoxyde de carbone (Tableau 28).

Les complexes I, III et IV sont des pompes à protons, c'est-à-dire que le transfert des électrons s'accompagne du transfert de protons depuis la matrice vers l'espace intermembranaire.

- Deux **éléments mobiles** sont également présents. Il s'agit de **l'ubiquinone ou coenzyme Q**, lipide membranaire pouvant exister sous forme oxydée ou réduite et **du cytochrome c**, une protéine hydrosoluble localisée sur la face externe de la membrane interne mitochondriale.

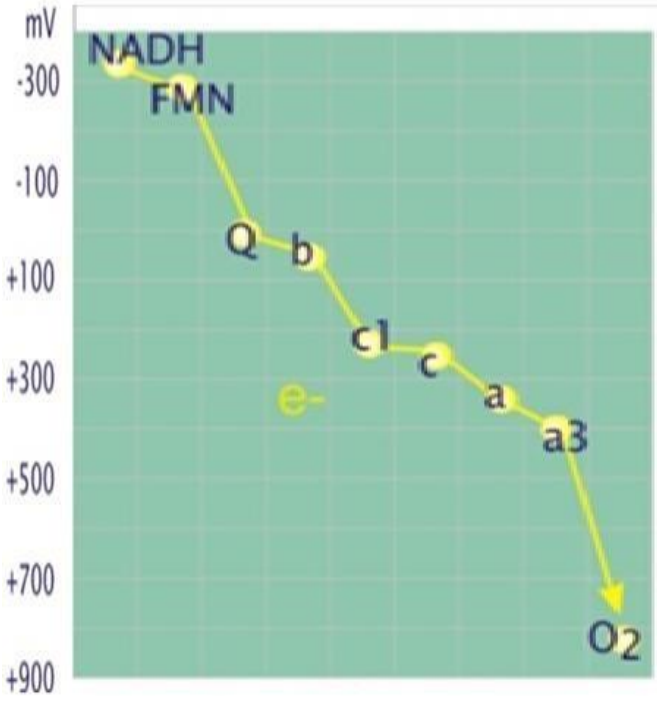
Le tableau 28 ci-dessous donne une idée de la taille et de l'hétérogénéité des complexes de la chaîne respiratoire.

Tableau 28 : Fonctions enzymatiques et caractéristiques structurales des complexes de la chaîne respiratoire.

	Fonction enzymatique	**Poids moléculaire (kDa)**	**Nombre de sous unités**
Complexe I	**NADH –quinone oxydoréductase**	**800**	**25**
Complexe II	**Succinate–quinone oxydoréductase**	**140**	**4**
Complexe III	**Quinol-cytochrome oxydoréductase**	**250**	**9- 10**
Complexe IV	**Cytochrome c oxydase**	**170**	**13**
Complexe V	**ATP synthase**	**380**	**12- 14**

VII.2.3. Fonctionnement de la chaîne respiratoire

La direction du flux d'électrons le long de la chaîne de transport est déterminée par la faculté des composants à perdre ou à gagner des électrons. Par exemple, NAD^+ a une affinité modérée pour les électrons, si bien que sa forme réduite, NADH ($+H^+$), peut facilement céder ses deux électrons. Au contraire, l'oxygène moléculaire a une très forte affinité pour les électrons et est donc un très bon agent oxydant, capable de capturer avidement les électrons des autres molécules. La capacité à « donner » ou à « prendre » des électrons est exprimée par un paramètre nommé **potentiel d'oxydoréduction** (symbole **Eò**), NAD^+ ayant un potentiel de -320mV et l'oxygène moléculaire, un potentiel de +816mV. Les électrons se déplacent des molécules à faible potentiel d'oxydoréduction vers les molécules possédant un potentiel fort ; et donc dans le cas de la chaîne mitochondriale de transport des électrons, du NADH à l'oxygène moléculaire (Fig. 201).



composant de la chaîne respiratoire		Eò (mV)
NADH		-320
complexe I	flavine mononucléotide	- 300
	ubiquinone	+002
complexe III	cytochrome b	+030
	cytochrome c1	+225
	cytochrome c	+235
complexe IV	cytochrome a	+310
	cytochrome a3	+385
O_2		+836

Fig. 201. Les potentiels d'oxydoréduction des composants de la chaine respiratoire.

Les coenzymes réduits (NADH et $FADH_2$) libèrent leurs électrons au niveau des complexes I ou II. À ce niveau, les atomes d'hydrogène sont dissociés en protons et électrons. Les électrons libérés sont transférés au complexe III par le coenzyme Q, puis au complexe IV par le cytochrome c. Les électrons sont transférés des systèmes ayant les potentiels d'oxydo-réduction les plus bas (pour le NADH) aux plus élevés (pour le dioxygène) et s'accompagne de la formation d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane (Fig. 202).

Le gradient électrochimique de protons H^+ génère entre les deux faces de la membrane, une **force proton-motrice** (combinaison de la différence de potentiel électrique et du gradient de proton) qui sera utilisée pour la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de Pi. Cette synthèse est catalysée par le **complexe V** de la chaîne respiratoire ou **complexe ATP synthase-ATPase**. Ce mécanisme a été proposé par Peter Mitchell sous le nom de **théorie chimio-osmotique**.

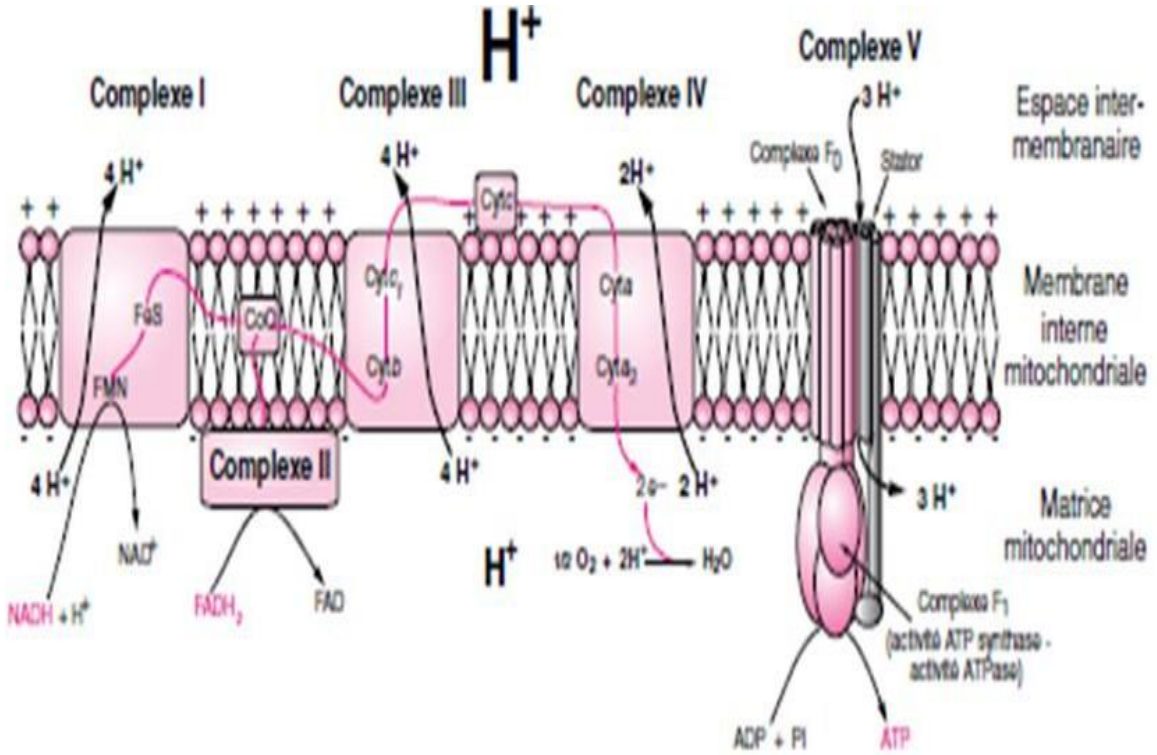


Fig. 202. Organisation de la chaine respiratoire dans la membrane mitochondriale illustrant le trajet des électrons (trait en couleur) et le transport des protons.

L'ATP synthase, l'enzyme qui clôt la phosphorylation oxydative, est un gros complexe protéique en forme de champignon. Chez les mammifères, ce complexe contient 16 sous-unités pour une masse totale d'environ 600 kDa. La région incluse dans la membrane est appelée Fo- le « O » fait référence à l'oligomycine ; il ne s'agit pas du chiffre 0 - et renferme un anneau de sous-unités c ainsi que le canal à protons. La tige et la tête sphéroïdale forment la région F_1 et sont le lieu de production de l'ATP. La tête sphéroïdale à l'extrémité de la région F_1 est formée de six protéines de deux types différents (trois sous-unités α et trois sous-unités β) tandis que la tige est constituée d'une seule protéine, la sous-unité γ, qui se prolonge partiellement dans la tête. Les sous-unités α et β se lient aux nucléotides mais seules les sous-unités β catalysent la biosynthèse de l'ATP (Fig. 203).

Elle est présente chez tous les êtres vivants et fonctionne de la même façon que ce soit chez les eucaryotes ou chez les procaryotes. Elle utilise l'énergie potentielle stockée sous forme de

gradient de concentration de protons à travers une membrane pour actionner la phosphorylation de l'ADP en ATP. Le nombre estimé de protons requis par molécule d'ATP synthétisée varie selon les sources entre trois et quatre, certaines expériences laissant penser que les cellules sont susceptibles de faire varier ce ratio pour s'adapter aux variations des conditions environnementales dans lesquelles elles évoluent.

ADP + phosphate + 4 H^+ $_{intermembranaires}$ ↔ 4 H^+ $_{matriciels}$ + H_2O + ATP.

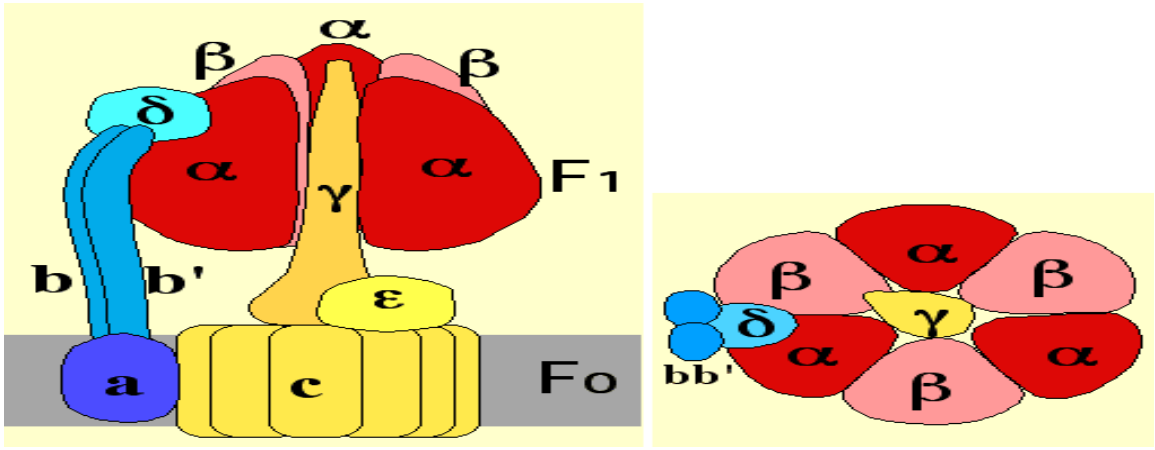


Fig. 203. Structure de l'ATP synthase. Vue de profil (une unité β a été enlevée pour visualiser l'unité centrale ϒ) et vue en coupe.

Les sous-unités α et β sont homologues entre elles. Une vue apicale par rapport à la membrane montre une organisation en anneau (hexamère) dans lequel les sous-unités α et β sont en alternance. La structure cristalline du F1 montre que la sous-unité ϒ forme une tige à l'intérieur de l'anneau constitué par les sous-unités α et β. A la base de la sous-unité ϒ (du côté Fo), on trouve la sous-unité δ et ε associées. Les 3 sites catalytiques de liaison des nucléotides sont situés aux interfaces α β avec une prédominance pour la sous-unité β. Chaque sous-unité α contient un site de fixation de l'ATP, mais ce site est inactif dans la catalyse (régulation). Les nucléotides adényliques se fixent aux sous-unités α et β avec le Mg^{2+} (cation indispensable). La sous-unité δ participe à la liaison de l'anneau des sous-unités α et β au domaine membranaire de l'enzyme. Le domaine Fo est un complexe protéique intégré à la membrane.

VII.2.4. Inhibiteurs

Plusieurs médicaments et toxines bien connus sont des inhibiteurs de la phosphorylation oxydative (Tableau 29). Bien que chacune de toxines n'inhibe qu'une seule enzyme de la chaîne respiratoire, l'inhibition d'une étape quelconque de cette chaîne bloque l'ensemble du processus. Par exemple, lorsque l'ATP synthase est inhibée par l'oligomycine, les protons ne peuvent plus regagner la matrice mitochondriale à travers la membrane interne.

Les pompes à protons deviennent ainsi incapables d'expulser des protons hors de la matrice lorsque les électrons circulent à travers la chaîne respiratoire car le gradient de concentration en protons devient trop élevé à travers la membrane. Le NADH n'est plus oxydé en NAD^+ et le cycle de Krebs cesse à son tour de fonctionner faute d'une concentration suffisante en NAD^+.

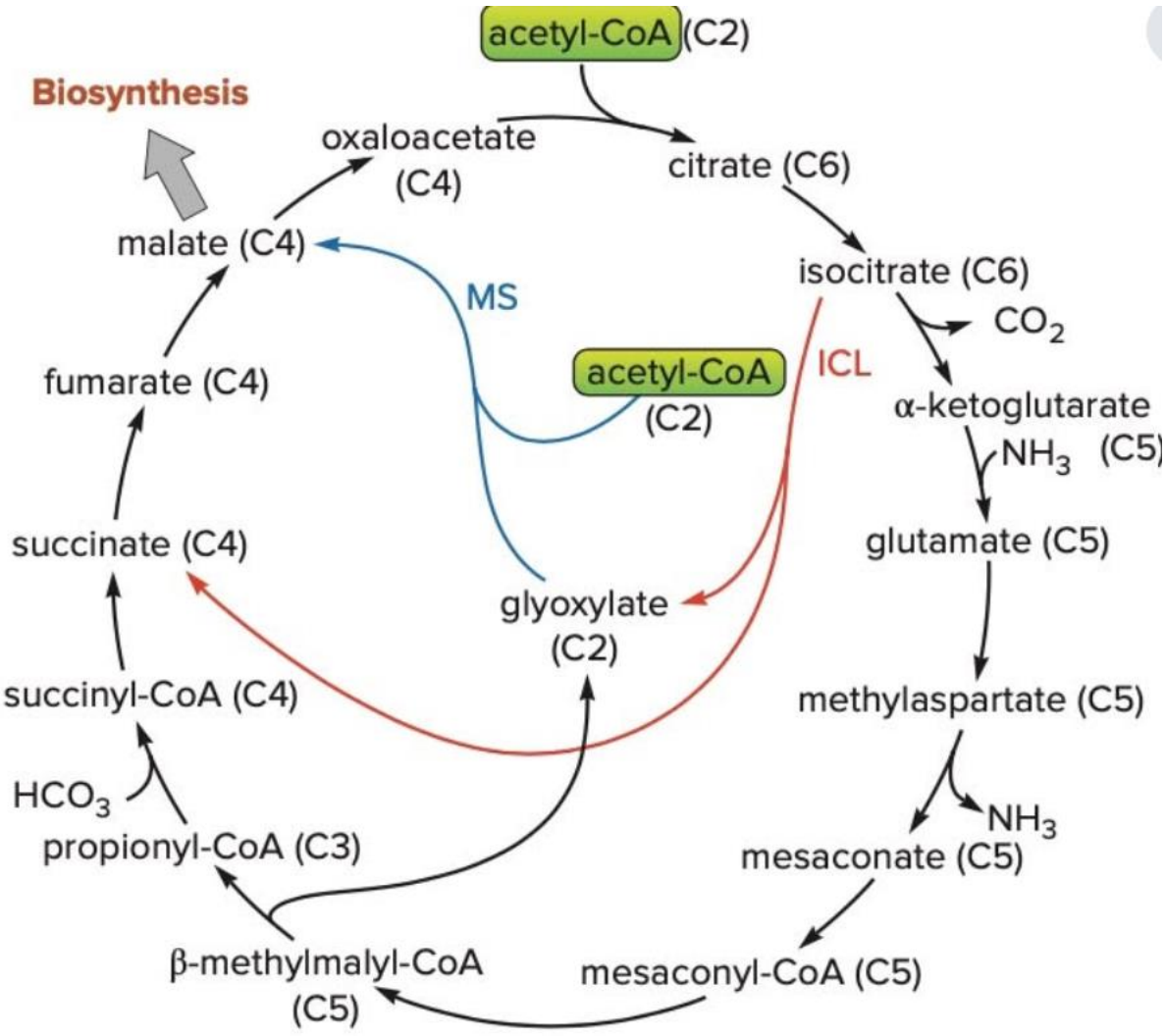
Tableau 29 : Certains inhibiteurs de la phosphorylation oxydative et leurs modes d'action.

Cible	Composé	Utilisation	Mode d'action sur la phosphorylation oxydative
Complexe I	Roténone	Pesticide	Bloque le transfert d'électrons du complexe I vers le coenzyme Q_{10} en bloquant le site de liaisons à l'ubiquinone.
Complexe II	Malonate Oxaloacétate	Poisons	Ce sont des inhibiteurs compétitifs de la succinate déshydrogénase (Complexe II).
Complexe III	Antimycine A	Pesticide	Elle se lie au site Qi du coenzyme Q-cytochrome c réductase, ce qui bloque l'oxydation de l'ubiquinone.
Complexe IV	CN^-, CO, N_3^-, H_2S	Poisons	Inhibent la chaine respiratoire en se liant plus fortement que l'oxygène O_2 au centre Fe-Cu du cytochrome c oxydase, ce qui empêche la réduction de l'oxygène.
Complexe V	Oligomycine	Antibiotique	Inhibe l'ATP synthase en bloquant le flux de protons à travers la région F_0.
Membrane interne	Carbonylcyanure m-chlorophénylhydrazone 2, 4- Dinitrophénol	Poisons amaigrissement	Il s'agit d'ionophores qui brisent le gradient de concentration en laissant les protons diffuser librement à travers la membrane mitochondriale interne.

Tous les inhibiteurs de la phosphorylation oxydative (Tableau 29) ne sont cependant pas des toxines. Dans le tissu adipeux brun, des protéines découplantes permettent de réguler la diffusion des protons à travers la membrane mitochondriale interne, ce qui a pour effet de découpler la chaîne respiratoire de la production d'ATP. Cette respiration découplée a pour effet de produire de la chaleur au lieu de l'ATP, ce qui joue un rôle vital dans la thermorégulation notamment des animaux en hibernation, bien que ces protéines puissent également avoir une fonction plus générale de réponse cellulaire au stress.

CHAPITRE VIII :

Métabolisme des glucides



CHAPITRE VIII METABOLISME DES VOIES GLUCIDIQUES

VIII.1. Métabolisme intermédiaire

Dans chaque cellule se déroulent des centaines de transformations chimiques, décomposables en réactions simples, qui constituent ensemble le ***métabolisme***. Les composés chimiques impliqués sont appelés **métabolites**. La succession ordonnée et rapide de réactions chimiques (**voie métabolique**) n'est possible que grâce à l'existence d'enzymes spécifiques. La plupart des cellules et des organismes ont en commun un ensemble de voies métaboliques (Fig. 204).

Les polymères contenus dans la nourriture (protéines, polysaccharide, acides nucléiques ainsi que les graisses) ne peuvent pas être directement utilisés par les organismes. Les **voies de catabolisme** assurent la dégradation de ces précurseurs organiques en monomères plus petits (acides aminés, sucres simples, nucléobases et acides gras). Le « *pool de métabolites* » ainsi formé est orienté après transformation catabolique ultérieure vers une production d'énergie via la **phosphorylation oxydative**, ou utilisé à nouveau pour la synthèse de molécules plus complexes via des **voies métaboliques anaboliques**. Les voies cataboliques fournissent des coenzymes réduites qui alimentent en électrons aussi bien la phosphorylation oxydative (sous forme de NADH) que les voies anaboliques (sous forme de NADPH).

Dans toutes les cellules, l'**adénosine triphosphate** (ATP) est la plus importante forme de réserve de l'énergie chimique. Les voies, qui assurent la synthèse, la dégradation et la transformation des métabolites importants ainsi que la conservation d'énergie, constituent le **métabolisme intermédiaire**.

VIII.1.1. Mécanismes essentiels de la régulation du métabolisme

Pour adapter la synthèse et la dégradation des métabolites aux besoins physiologiques, les activités de toutes les voies métaboliques sont étroitement contrôlées. Le flux de métabolites dans une voie métabolique est avant tout déterminé par les activités des enzymes impliqués. Pour moduler ce flux, il suffit de changer l'activité de l'**enzyme clé** qui catalyse l'étape la plus lente de cette chaine de réactions.

Le contrôle du métabolisme intermédiaire a lieu à plisseurs niveaux. Tous les mécanismes de régulation mis en jeu agissent sur des processus qui influencent la synthèse et/ou l'activité des enzymes clés.

VIII.1.1.1. Contrôle transcriptionnel

Au niveau génétique se produit une régulation de la transcription des gènes codant pour des enzymes clés. Celle-ci est assurée par des protéines régulatrices appelées facteurs de transcription, qui se lient essentiellement dans le domaine promoteur du gène sur l'ADN. L'activité des facteurs de transcription est à son tour régulée par des métabolites et/ou des hormones. Ces phénomènes mettent quelque temps à se manifester (quelques minutes jusqu'à des heures).

VIII.1.1.2. Interconversion

L'interconversion des enzymes est nettement plus rapide que le contrôle de la transcription. Dans ce cas, l'enzyme se trouve déjà sur son site d'action, mais sous une forme encore inactive. Ce n'est qu'en cas de besoin et sous l'action d'un signal hormonal prolongé par un second messager qu'elle sera modifiée par une **enzyme activatrice** pour donner la forme catalytiquement active. Si la voie métabolique n'est plus nécessaire, une **enzyme inactivatrice** fait passer l'enzyme clé sous sa forme de repos, inactive.

Dans la plupart des cas, l'interconversion correspond à une **phosphorylation** de l'enzyme, dépendante de l'ATP, sous l'action d'une **protéine kinase** ou bien à sa déphosphorylation sous l'action d'une **protéine phosphatase.** C'est en général la forme déphosphorylée de l'enzyme clé qui est la forme active, mais c'est parfois l'inverse. L'activation et l'inactivation protéolytique d'enzymes est également un mécanisme de contrôle fréquent.

VIII.1.1.3. Compartimentation

Certaines voies sont bloquées dans la mesure où l'enzyme clé est transféré dans un autre compartiment subcellulaire est y est retenue par un inhibiteur. En cas de besoin, elle est ramenée à son site d'action sous l'action d'un signal hormonal ou d'un métabolite. C'est l'exemple le déplacement de la glucokinase entre le noyau et le cytoplasme.

VIII.1.1.4. Modulation par des ligands

La disponibilité des précurseurs et des coenzymes est importante pour le flux métabolique dans une voie. Si la coenzyme d'une enzyme clé est régénérée par une deuxième voie métabolique indépendante, la vitesse de cette deuxième voie peut limiter celle de la première (exemple le contrôle respiratoire).

Le contrôle fin de l'activité d'une enzyme est assuré par des ligands (substrat, coenzyme, produit) qui vont moduler son activité en tant qu'*effecteurs allostériques*.

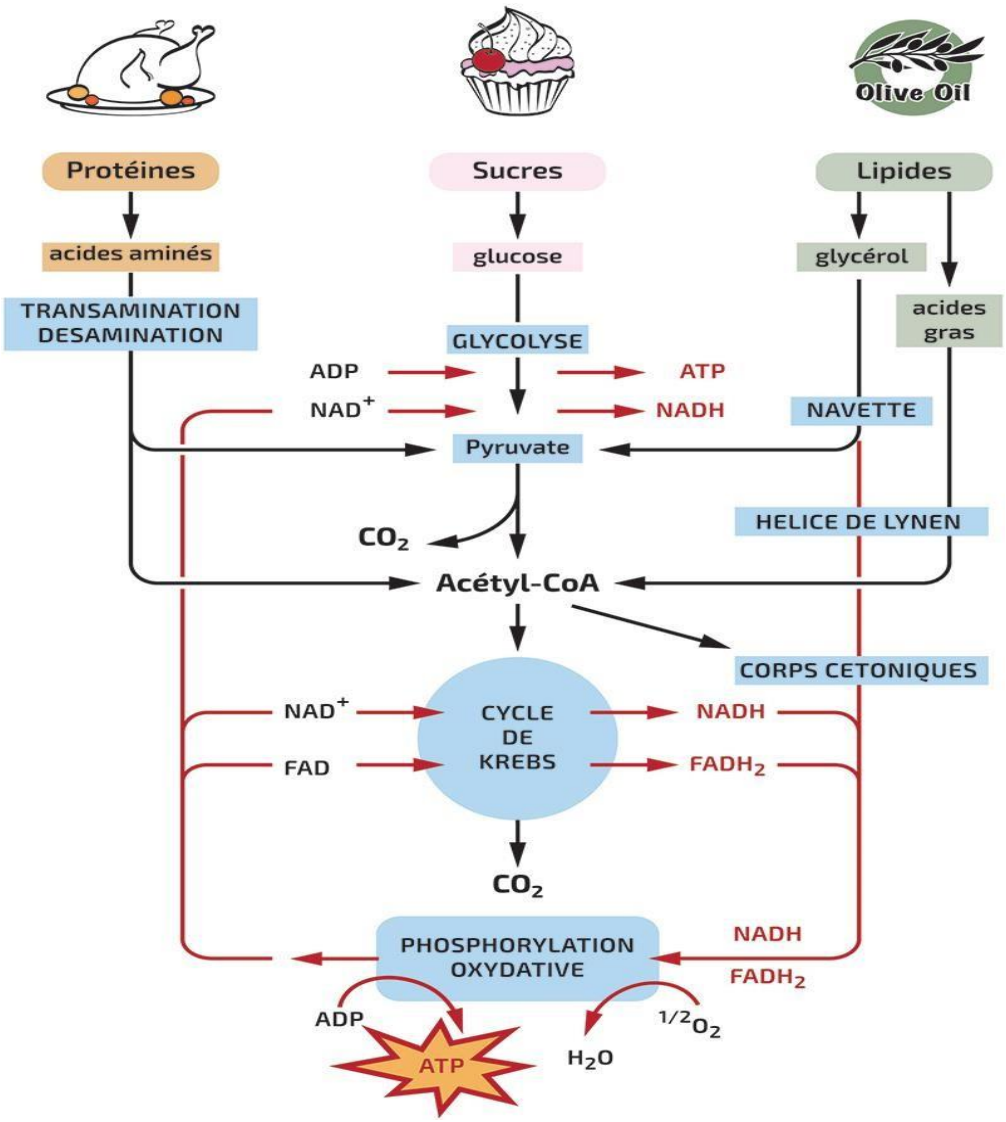


Fig. 204. Vue d'ensemble du métabolisme intermédiaire.

Les glucides ont différents rôles au sein de l'organisme : production énergétique ou mise en réserve, synthèse de glycoprotéines et de macromolécules, synthèse des nucléotides (ribose et NADPH), interrelation métabolique.

VIII.2. VOIES MÉTABOLIQUES DU GLUCOSE

La dégradation et la resynthèse du glucose sont les principales voies énergétiques permettant la réalisation et la continuation de l'exercice musculaire. Néanmoins, la resynthèse du glucose peut être faite à partir de multiples processus biochimiques impliquant divers substrats et/ou métabolites (Fig. 205).

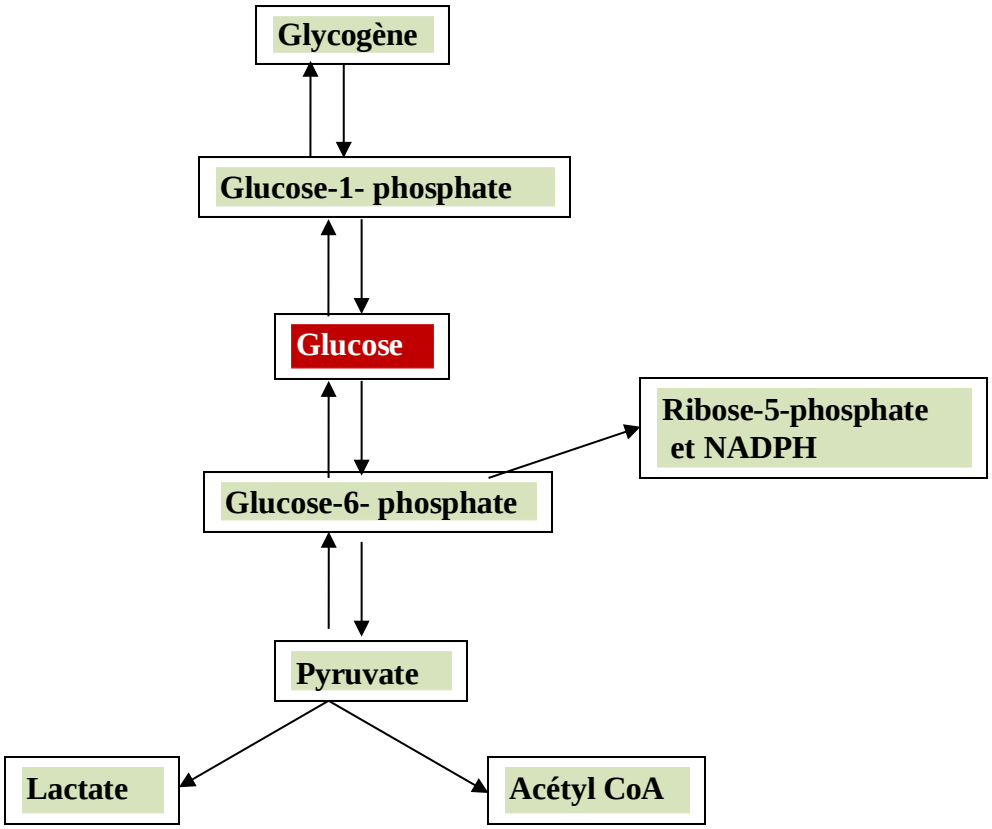


Fig. 205. Voies métaboliques du glucose.

VIII.2.1. Absorption et distribution du glucose

Le glucose, petite molécule hydrosoluble, est transporté dans le sang sous forme libre (Fig. 206). Le taux sanguin, ou glycémie, est relativement constant entre 0,70 et 1,10 g/l.

• ***En période alimentaire***, le glucose provient de l'intestin. L'augmentation de la glycémie déclenche la sécrétion d'insuline par les cellules B du pancréas. Le foie, premier tissu traversé par le sang portal, capte 30 à 40 % du glucose. Le glucose restant se répartit entre les autres tissus: cerveau, globules rouges, muscles, tissu adipeux… Il est dégradé en pyruvate par la voie de la glycolyse et stocké par la voie de la glycogénogénèse dans le foie et les muscles.

• ***En situation de jeûne***, le glucose sanguin provient du foie, à partir de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse sous l'influence des taux élevés de glucagon sécrété par les cellules α du pancréas.

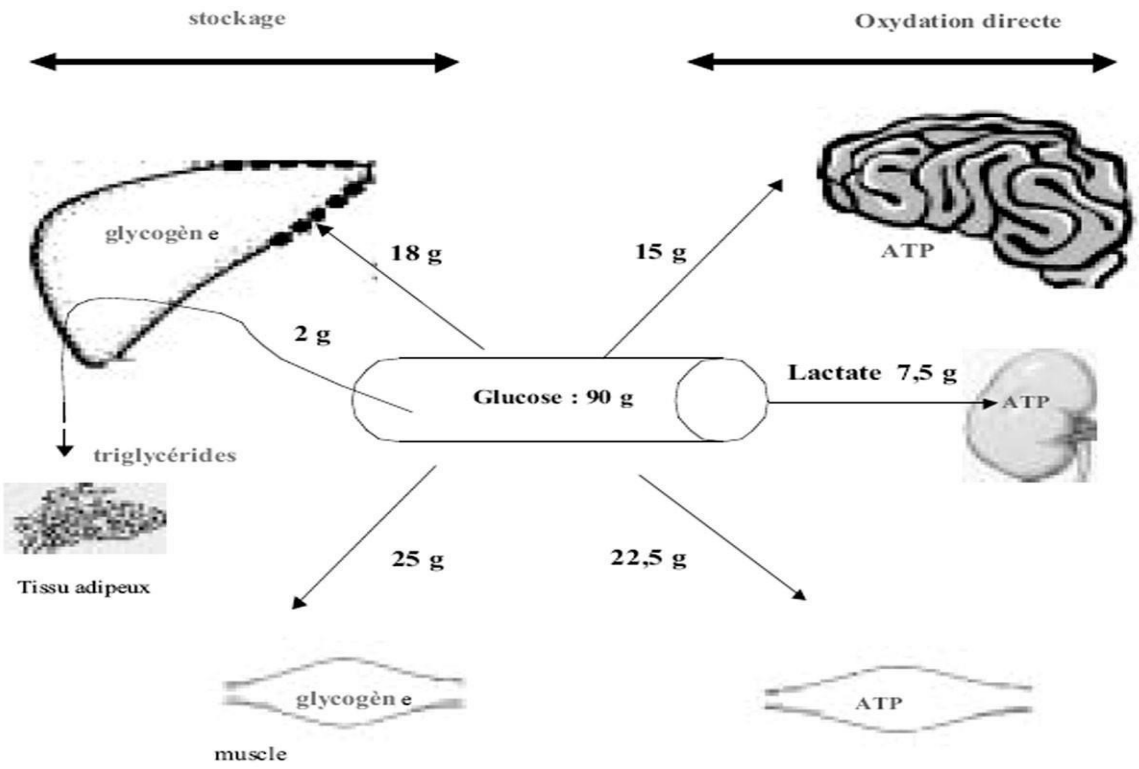


Fig. 206. Métabolisme postprandial du glucose.

Le glucose ne peut pas pénétrer dans la cellule par simple diffusion. Son entrée est assurée par les deux mécanismes suivants :

Transport facilité : le glucose franchit la membrane phospholipidique et hydrophobe des cellules par un mécanisme de diffusion facilitée, à l'aide de transporteurs passifs. Ces transporteurs, appelés GLUT (glucose transporter) sont codés par des gènes différents, et classés suivant l'ordre chronologique de leur découverte. Ce sont des glycoprotéines transmembranaires. La fixation du glucose sur la face extracellulaire de la membrane provoque un changement de conformation de la protéine ce qui fait passer l'ose sur la face interne où il est libéré. On connait actuellement 5 transporteurs membranaires de glucose appelés GLUT numérotés de 1 à 5 soit GLUT 1 à GLUT 5.

Ce sont des protéines qui ont une certaine ressemblance dans les premières séquences mais présentent ensuite des séquences spécifiques à leurs membranes d'accueil.

Les transporteurs GLUT s'expriment plus ou moins selon les types cellulaires et se distinguent par leur Km pour le glucose.

C'est ainsi que les **GLUT 1** abondants dans le globule rouge, ont une Km voisine de 1mM, concentration nettement inférieure à la glycémie (voisine de 5mM); ils favorisent ainsi la pénétration du glucose dans le globule rouge (GR) quand la glycémie est basse, en période de jeûne.

Les **GLUT 2** prépondérants dans le foie et le pancréas, ont une Km comprise entre 15 et 20mM, nettement plus élevée que la glycémie post-prandiale ; le glucose diffuse donc très rapidement dans l'hépatocyte quand le taux sanguin est élevé comme c'est le cas dans la veine porte en période alimentaire ; inversement, le glucose ne pénètre que faiblement dans l'hépatocyte quand la glycémie est basse, en période de jeûne.

Les **GLUT 3** abondants dans le cerveau, possèdent les mêmes caractéristiques que les GLUT 1.

Les **GLUT 4** prépondérants dans les graisses corporelles (tissu adipeux) et les muscles ont une Km voisine de 5mM; la synthèse et l'affinité des GLUT 4 pour le glucose, sont régulées par l'insuline.

Transport actif : processus qui consomme de l'énergie. Le glucose est transporté contre un gradient de concentration, c'est-à-dire d'un milieu à concentration faible en glucose vers l'intérieur de la cellule à concentration plus élevée en glucose. Le glucose et le Na^+ sont transportés dans le même sens et en même temps à travers la membrane. Ce type de transport intervient dans les cellules épithéliales, dans l'intestin, dans le rein etc….

VIII.2.2. LA GLYCOLYSE

La plupart des tissus ont un besoin minimal de glucose par contre pour le cerveau et les érythrocytes ce besoin est important et même primordial.

VIII.2.2.1. Définition

La glycolyse ou voie d'Embden et Meyerhoff, est une voie catabolique qui existe pratiquement chez tous les organismes et qui permet la dégradation, par oxydation progressive, d'une molécule de glucose à 6C en deux molécules de pyruvate à 3C avec formation d'ATP et éléments de construction pour la synthèse des composés cellulaires. Il s'agit d'une succession de réactions chimiques, catalysées par des enzymes toutes localisées dans la fraction soluble du cytoplasme ou cytosol. Son principal rôle est donc de participer au métabolisme énergétique en permettant la biosynthèse d'ATP.

Elle n'est pas seulement la voie principale du métabolisme du glucose, mais elle est aussi la voie du fructose et du galactose présents dans l'alimentation.

VIII.2.2.2. Réactions de la glycolyse

La glycolyse comporte 10 étapes individuelles avec 3 isomérisations et 4 transferts de phosphate (Fig. 207). La seule réaction rédox de la voie se situe à l'étape 6.

Tous les intermédiaires de la glycolyse entre le glucose et le pyruvate sont phosphorylés. Leur groupement phosphorylé a 3 fonctions essentielles :

- Il affecte chaque intermédiaire d'un groupe polaire chargé négativement, qui le rend incapable de traverser la membrane cellulaire, à pH 7, par simple diffusion.
- Le groupement phosphate intervient comme un groupe de liaison et de reconnaissance pour la formation des complexes enzyme-substrat.
- Enfin ce groupement phosphate intervient dans la conservation de l'énergie qui contribuera à la formation des 2 ATP de la glycolyse.

La glycolyse est divisée en deux grandes phases :

- **La première phase** ou phase de consommation de l'ATP est celle où convergent un grand nombre d'hexoses métabolisables après leur phosphorylation ou la phosphorolyse des polyosides aux dépens de l'ATP. Ils sont ensuite tous transformés en un produit commun qui est le glycéraldéhyde 3-P.

- **La deuxième** phase : commune à tous les hexoses, est caractérisée par une séquence de réactions qui conduisent à la formation d'un pyruvate, 2 ATP et d'un $NADH,H^+$, suite à l'oxydation d'un glycéraldéhyde 3-P.

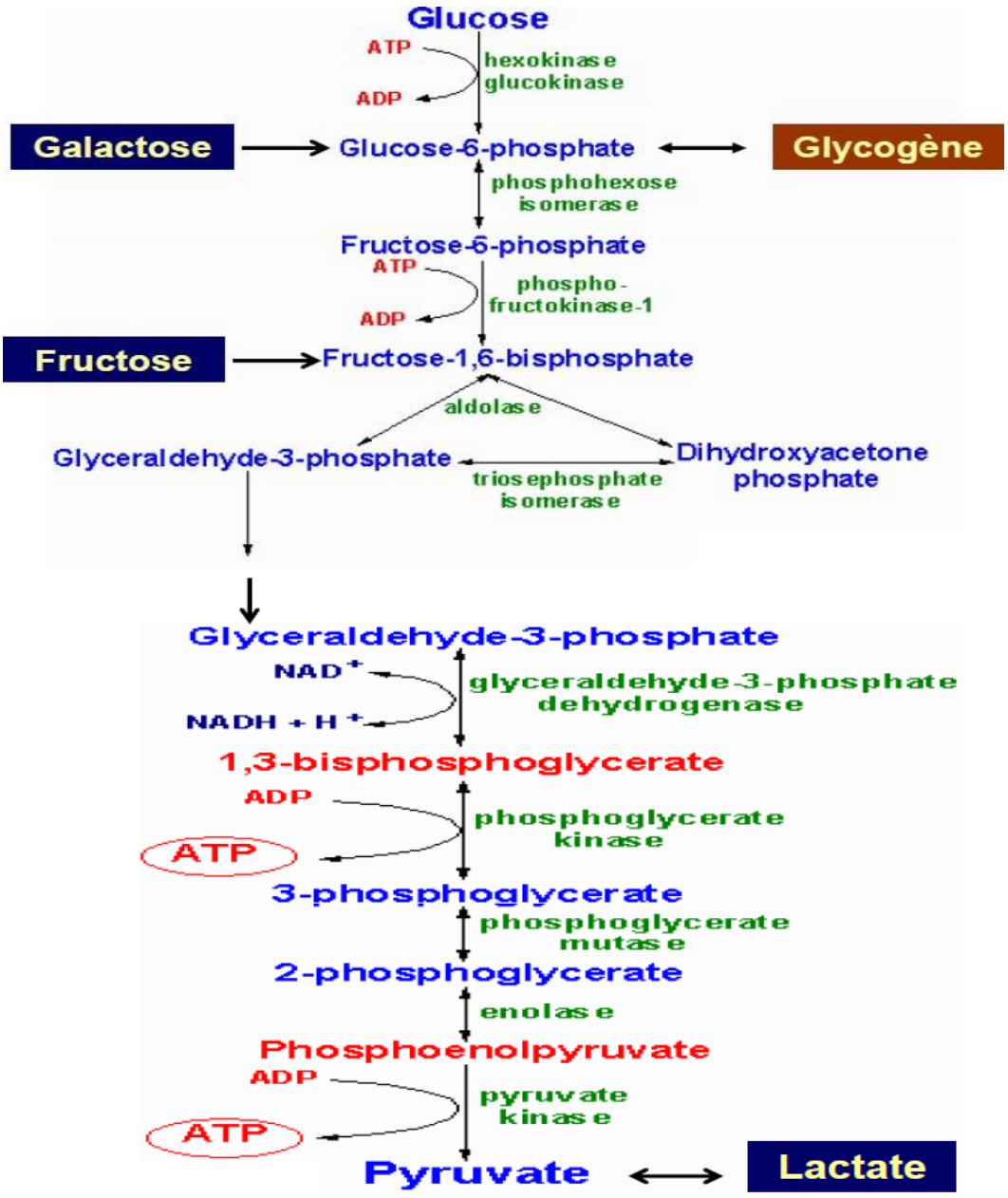


Fig. 207. Vue d'ensemble de la glycolyse.

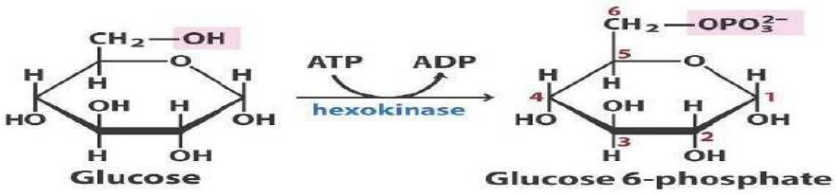
VIII.2.2.3. Etapes enzymatiques de la première phase

a. Phosphorylation du glucose par l'ATP

C'est la première grande étape. Elle est consommatrice d'une molécule d'ATP (ou d'une liaison phosphate riche en énergie). La réaction, **irréversible**, est catalysée par **l'hexokinase ou la glucokinase**. La glucokinase est spécifique du glucose alors que l'hexokinase, qui est rencontrée dans la plupart des cellules, phosphoryle le glucose mais aussi les autres hexoses

comme le fructose, le galactose, la glucosamine, etc. Comme dans toutes les phosphorylations le Mg^{++} est indispensable. La réaction catalysée est la suivante :

$$ATP + glucose \rightarrow ADP + Glucose\text{-}6\text{-}phosphate$$



b. *Isomérisation de glucose 6-P en fructose 6-P*

Cette réaction est catalysée par la **phosphoglucoisomérase** (PGI). C'est une réaction d'isomérisation, **réversible**. Elle est spécifique de ces deux composés au point qu'en partant de l'un on arrive toujours au même équilibre.

$$Glucose - 6 - P \leftrightarrow Fructose\text{-}6\text{-}P$$



c. *Phosphorylation du fructose 6-P en fructose 1,6-BIS P*

La réaction est assurée par la **phosphofructokinase 1 (PFK1**) ou fructose-6-phosphate kinase comme suit : $ATP + fructose\ 6 - P \rightarrow Fructose\text{-}1,6\text{-}bisP + ADP$

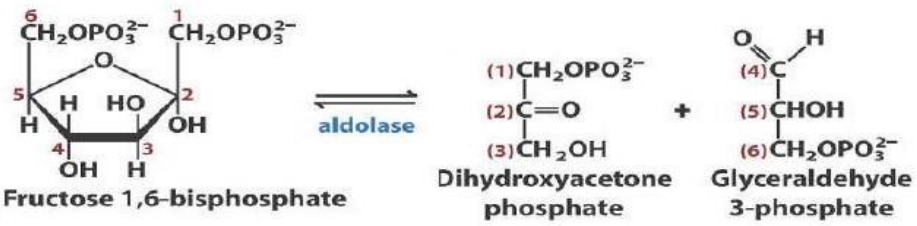


L'UTP peut remplacer l'ATP. C'est une enzyme allostérique ou régulatrice qui est inhibée par les fortes concentrations d'ATP. Le Mg^{2+} est indispensable. La réaction est totalement **irréversible**.

d. *Clivage du fructose -1,6-bisphosphate*

La réaction, **réversible**, est catalysée par la **fructose-1,6-bisphosphate aldolase (aldolase 1 ou** α). C'est une aldéhyde lyase.

$$Fructose\ 1,6 - bisP \leftrightarrow 3 - Pglycéraldéhyde + 3 - P\ dihydroxyacétone$$



e. *Interconversion des trioses-phosphates*

Seul le glycéraldéhyde 3-P est dégradé dans la suite des réactions de la glycolyse. La 3-P-dihydroxyacétone est utilisée après conversion en 3-P-glycéraldéhyde. La réaction est catalysée par une **phosphotriose isomérase** (Oxydoréduction isomérase). Cette réaction termine la première phase de la glycolyse.

$$3-\text{P glycéraldéhyde} \leftrightarrow \text{3-P dihydroxyacétone}$$



A la fin de cette phase tous les hexoses présentent la réaction globale suivante :

$$\text{Hexose} + 2\,\text{ATP} \rightarrow 2\,\text{glycéraldéhyde 3-P} + 2\,\text{ADP}$$

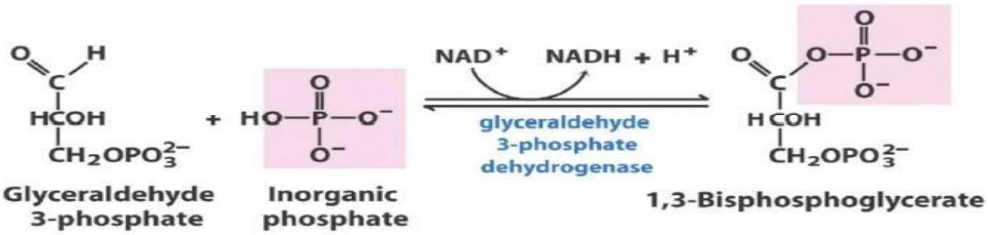
VIII.2.2.4. Etapes enzymatiques de la seconde phase

Cette 2ème phase est celle de production de l'ATP et du pyruvate. Elle contient la seule réaction d'oxydoréduction de la glycolyse qui conduira à la formation de $NADH,H^+$. Les deux glycéraldéhydes obtenus dans la première phase vont subir une séquence de réactions jusqu'au pyruvate. La séquence sera décrite avec une molécule de glycéraldéhyde 3-P.

a. *Oxydation du 3-Pglyceraldehyde en 3-P glyceroyl-1-P*

L'enzyme qui catalyse la réaction est la **3-Phosphoglycéraldéhyde déshydrogénase**. Elle exige la présence du phosphate minéral. Le groupe carboxyle issu de l'oxydation de la fonction aldéhyde est lié, par une liaison riche en énergie au phosphate. Le produit obtenu est le 3-phosphoglycéroyl-1-phosphate. Les électrons libérés sont pris en charge par le NAD^+. La séquence des réactions est **réversible** et illustrée sur la figure.

$$3-\text{P glycéraldéhyde} + NAD^+ + \text{Pi} \leftrightarrow \text{3-Pglycéroyl -P} + NADH,H^+$$

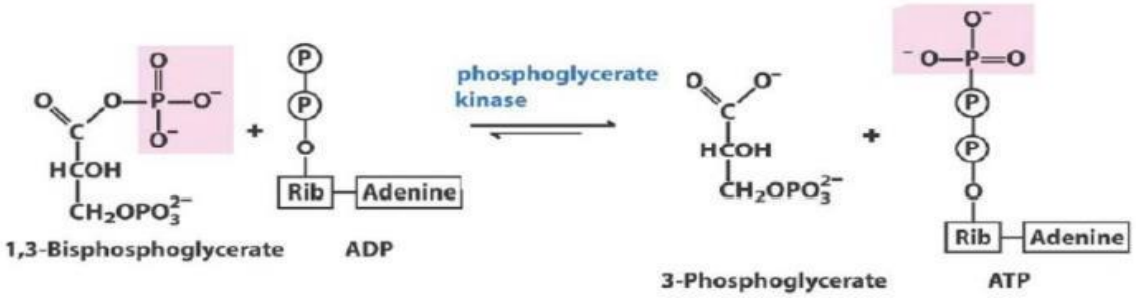


b. *Transfert du phosphate sur l'ADP- synthèse de l'ATP*

Il est catalysé par la **3-phosphoglycérate kinase** (Phosphotransférase). La réaction est **réversible**. On obtient : $3-\text{Pglycéroyl}-1-\text{P}+\text{ADP}\leftrightarrow$3-Pglycérate + ATP

En résumé, par l'intermédiaire des deux enzymes (*Complexe multi-enzymatique de la 3-phosphoglycérade déshydrogénase*) nous avons la réaction résultante qui conduit à la formation de l'ATP.

$$\text{Glycéraldéhyde } 3-\text{P}+\text{NAD}+\text{ADP}+\text{Pi}\rightarrow\text{glycérate } 3-\text{P}+\text{NADH, H}+\text{ATP}$$



c. *Isomérisation de 3-phosphoglycérate en 2-phosphoglycérate*

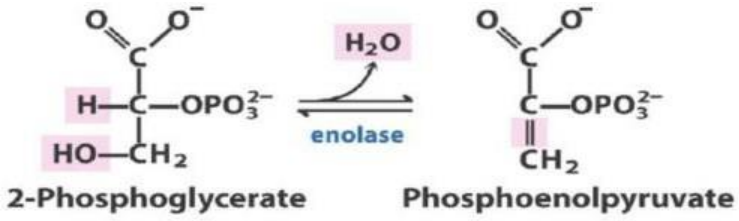
Le phosphate est déplacé de la position 3 à la position 2. La réaction est catalysée par la **phosphoglycérate mutase** (Isomérisation avec transfert intramoléculaire de radical); le Mg^{2+} est indispensable. La réaction est **réversible :** Glycérate $3-\text{P}\leftrightarrow$ glycérate 2-P



d. *Deshydratation du glycerate 2-P en phosphoenolpyruvate*

C'est la seconde réaction qui va donner naissance à la formation d'une liaison phosphate riche en énergie. Elle est catalysée par une **énolase** (hydratase). Cette élimination d'eau entraîne un réarrangement électronique dans la molécule. Elle conduit à la formation du phosphoénolpyruvate, la molécule la plus riche en énergie fabriquée par la cellule.

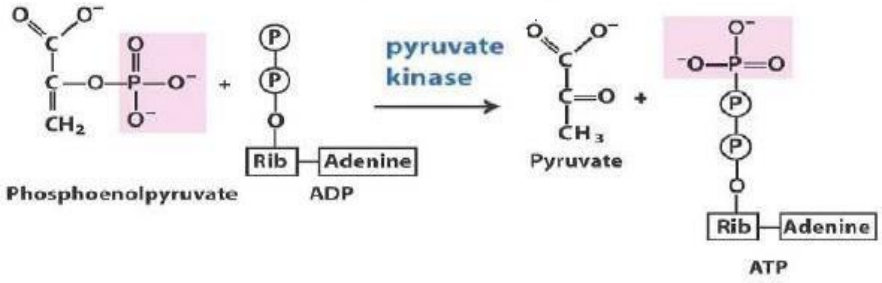
Glycérate 2 – P ↔ Phosphénolpyruvate + H_2O



e. ***Transfert du phosphate du phosphoenolpyruvate sur l'ADP***

Cette réaction **réversible** est catalysée par la **pyruvate kinase** (phosphotransférase). Le Mg ou Mn est indispensable. La formation du pyruvate termine la séquence des réactions

de la glycolyse : Phosphoénolpyruvate + ADP → Pyruvate + ATP



VIII.2.2.5. Bilan de la glycolyse (rendement énergétique)

Glucose + ATP	→	Glucose 6-P + ADP
Glucose 6-P	⇄	Fructose 6-P
Fructose 6-P + ATP	→	Fructose 1,6 di-P + ADP
Fructose 1,6 di-P	⇄	2 Glyceraldéhyde 3-P
2 GA 3-P + 2 NAD^+ + 2 Pi	⇄	2 1,3-DPG + NADH + 2 H^+
2 1,3-DPG + 2 ADP	⇄	2 3-phosphoglycérate + 2 ATP
2 3-phosphoglycérate	⇄	2 2-phosphoglycérate
2 2-phosphoglycérate	⇄	2 phosphoénolpyruvate + 2 H_2O
2 phosphoénolpyruvate + 2 ADP	→	2 pyruvate + 2 ATP

Glucose + 2 NAD+ + 2 Pi + 2 ADP →

2 Pyruvate + 2 NADH + 2 ATP + 2 H_2O + 2 H^+

➢**2 ATP formés**

(Consommation de 2 ATP, production de 4 ATP ; l'oxydation des NAD réduits produira également de l'ATP par phosphorylation oxydative).

VIII.2.2.6. Devenir du pyruvate

A la fin des 10 réactions enzymatiques de la glycolyse on obtient, à partir du glucose, la formation de 2 molécules d'ATP, de 2 NADH, H^+, et de 2 pyruvates dans toutes les cellules. Le devenir du pyruvate va dépendre des conditions suivantes :

- La présence ou l'absence de l'oxygène dans l'environnement de la cellule
- La situation énergétique de la cellule
- L'équipement enzymatique dont la cellule va disposer pour oxyder le NADH, H^+.

Le pyruvate peut alors

- dans le cytosol être transformé en lactate ou en éthanol
- dans les mitochondries être converti en en oxaloacétate ou être totalement oxydé en CO_2.

- La glycolyse aérobie conduit à la formation de 2 molécules de pyruvate, 2ATP, 2NADH, H^+. C'est une phase indispensable à la formation du pyruvate et sa conversion mitochondriale en Acétyl CoA, élément essentiel du cycle de Krebs. Le glucose, dans ces conditions, subit une oxydation totale en CO_2 et H_2O.
- La glycolyse anaérobie produit également 2 molécules de pyruvate, 2 ATP, et 2 NADH, H^+.
- Les réactions suivantes dépendent à la fois de l'équipement enzymatique de la cellule et de la disponibilité en oxygène. Elles conduisent à la réoxydation du NADH, H^+ avec une production finale :

• Soit du lactate (fermentation lactique) : c'est ce système qui fournit de l'ATP aux cellules qui ne possèdent pas de mitochondries comme les globules rouges et aux cellules en hypoxie comme les muscles striés en contraction rapide.

• Soit de l'éthanol (fermentation alcoolique).

a. *REDUCTION DU PYRUVATE EN LACTATE*

Lorsque la cellule ne dispose pas de mitochondries (cas des hématies), est privée d'oxygène (anaérobiose) ou en conditions hypoxiques (tissu musculaire en contraction rapide), le pyruvate est réduit en lactate par le NADH, H^+ formé au cours de la glycolyse. La réaction réversible est catalysée par le **lactate déshydrogénase** régénère le NAD^+.

$$\mathbf{CH_3\text{-}CO\text{-}COO^- + NADH, H^+ \longleftrightarrow CH_3\text{-}CHOH\text{-}COO^- + NAD^+}$$

Pyruvate *Lactate*

Dans les conditions citées, la réaction globale de la dégradation du glucose est :

Glucose + 2 ADP + 2 Pi ⟶ 2 lactates + 2 ATP

Le lactate est le produit final de la dégradation du glucose. Il diffuse dans le milieu extracellulaire et constitue un déchet. Ce dernier, déversé dans le sang chez le mammifère, peut être retransformé dans le foie en glucose.

b. *TRANSFORMATION DU PYRUVATE EN ETHANOL*

Cette transformation du pyruvate en éthanol se rencontre dans les levures qui ne possèdent pas de lactate déshydrogénase mais possèdent à la place une pyruvate décarboxylase (lyase).

Le pyruvate est décarboxylé en acétaldéhyde par le **pyruvate décarboxylase** dont le coenzyme est la thiamine pyrophosphate (TPP). Cette réaction est irréversible.

$$CH_3\text{-}CO\text{-}COO^- \longrightarrow CH_3\text{-}CHO + CO_2$$

Pyruvate *Acétaldéhyde*

L'acétaldéhyde est réduit en alcool ou éthanol. La réaction est catalysée par **l'alcool déshydrogénase** avec consommation de NADH, H^+ formé dans la glycolyse et régénération de NAD^+.

$$CH_3\text{-}CHO + NADH, H^+ \longleftrightarrow CH_3\text{-}CH_2OH + NAD^+$$

Acétaldéhyde *Ethanol*

Lorsque les réactions de la glycolyse sont poursuivies par la transformation du pyruvate en éthanol, on parle de **fermentation alcoolique**. La réaction globale de la dégradation d'une molécule de glucoses s'écrit : **Glucose + 2 ADP + 2 Pi ⟶ 2 Ethanol + 2 CO_2 + 2 ATP**

c. *CARBOXYLATION DU PYRUVATE EN OXALOACETATE*

En condition aérobie, le pyruvate, une fois transporté dans la mitochondrie, peut être transformé en oxaloacétate par le **pyruvate carboxylase**, une ligase allostérique, activée par l'acétyl-CoA. Cette enzyme utilise la biotine comme coenzyme.

$$CH_3\text{-}CO\text{-}COO^- + CO_2 + ATP \longrightarrow CH_3\text{-}CO\text{-}CH_2\text{-}COO^- + ADP + Pi$$

Pyruvate *Oxaloacétate*

L'oxaloacétate formé est, à la fois, un accepteur catalytique du cycle de Krebs et le métabolite intermédiaire à travers lequel les carbones du pyruvate sont injectés dans néoglucogenèse.

d. OXYDATION DU PYRUVATE EN CO_2

Elle se fait dans la mitochondrie. Le pyruvate est transporté dans la mitochondrie. Il est d'abord transformé par le complexe multi-enzymatique de la **pyruvate déshydrogénase** en acétyl-CoA.

$$\mathbf{CH_3\text{-}CO\text{-}COO^- + HSCoA + NAD^+ \longrightarrow CH_3\text{-}CO\sim SCoA + CO_2 + NADH, H^+}$$

Pyruvate *Acétyl CoA*

L'oxydation complète de l'acétyl-CoA est réalisée dans le cycle de Krebs et s'accompagne de la formation de 3 NADH, H^+, 1 $FADH_2$ et de 1 GTP. Nous allons le voir dans le cycle de Krebs. La réaction globale de l'oxydation de l'acétyl-CoA est :

$$\mathbf{CH\text{-}CO\sim SCoA + 3NAD^+ + FAD + GDP + Pi \longrightarrow 2CO + HSCoA + 3NADH, H^+ + FADH2 + GTP}$$

L'ensemble des coenzymes réduits formés (NADH, H^+ cytosoliques et mitochondriaux, $FADH_2$) au cours de la dégradation complète du glucose sont régénérés au cours de leur oxydation par la chaîne respiratoire.

VIII.2.2.7. La glycolyse est source de précurseurs biosynthétiques

Une voie est considérée comme catabolique si elle génère de l'énergie (ATP) ou/et des cofacteurs réduits riches en énergie (NADH, H^+ et $FADH_2$) et des précurseurs de biosynthèse (Tableau 30).

La glycolyse peut être considérée comme une voie catabolique par excellence puisqu'elle forme les 3 types de composés. Parmi les métabolites de la glycolyse, certains sont des carrefours métaboliques importants :

- **le G6P** conduit à la synthèse du glycogène, des pentoses P, de la glucosamine, constituant des glycoprotéines.
- **les trioses P** sont en relation avec le fructose, les pentoses P et le glycérol 3 P.
- **le pyruvate** produit final de la glycolyse, est en relation directe dans le cytosol, avec le lactate et l'alanine, et dans mitochondries avec l'acétyl CoA et l'oxaloacétate.

Le **tableau** ci-dessous donne un aperçu de quelques précurseurs biosynthétiques issus de la glycolyse et de leur devenir.

Tableau 30 : Les précurseurs de biosynthèse générés par la glycolyse.

Précurseurs	Produits formés
Phosphodihydroxy-acétone (PDHA)	- synthèse du glycérol-3-P (triglycérides et phospholipides).
3-Phospho-glycérate	- synthèse de la sérine (acide aminé important)
Pyruvate	- glucose (néoglucogenèse) - Acétyl-CoA : synthèse des acides gras et des lipides chez les animaux et les végétaux, synthèse des glucides (moisissures et graines des oléagineuses en germination) - Ethanol (fermentation alcoolique). - Formation de l'oxaloacétate - Synthèse de l'alanine (transamination)
Phosphoénolpyruvate	-Synthèse de phénylalanine, tyrosine, tryptophane
Glucose-6-P	- Synthèse du glycogène - Synthèse du ribose - Synthèse du glucuronate (détoxification) et polysaccharides acides ou mucopolysaccharides) - Synthèse de la vitamine C

VIII.2.2.8. Régulation de la glycolyse

A/ Régulation métabolique :

La glycolyse fournit à la fois de l'ATP, essentiel pour couvrir les besoins énergétiques des organismes aérobies et des précurseurs biosynthétiques. La vitesse de la glycolyse s'établit de manière à satisfaire ces deux besoins. Dans les voies métaboliques les réactions irréversibles sont souvent les lieux de contrôle. Les 3 sites de régulation se situent au niveau des 3 enzymes allostériques catalysant les réactions irréversibles de la glycolyse à savoir : l'hexokinase, la phosphofructokinase 1 (PFK 1) et la pyruvate kinase.

1er point de contrôle :

La première étape glucose G6P se déroule sous l'action de l'hexokinase qui est une enzyme allostérique. Son action est régulée par la concentration de son produit immédiat, le G6P.

2ème point de contrôle :

La troisième étape F6P ⟶ F1,6 BiP se déroule sous l'action de la PFK1 enzyme allostérique qui est régulée de la manière suivante :

- Augmentée par l'ADP ou l'AMP :

Lorsqu'une cellule se trouve à faible niveau d'énergie, les quantités d'ADP et d'AMP sont plus élevées que la normale alors que l'ATP est peu abondante. Dans ces conditions l'enzyme est entièrement activée et présente une forte affinité pour son substrat le F6P.

- Inhibée par l'ATP, le NADH, H+, le citrate :

• Lorsque la cellule se trouve à haut niveau d'énergie, la concentration d'ATP est élevée et celles d'AMP et d'ADP sont faibles. Dans ce cas l'ATP s'attache à un site régulateur de l'enzyme pour ralentir son activité. L'enzyme a maintenant une affinité plus faible pour son substrat et la vitesse de la réaction décroît.

• L'enzyme est également inhibée par le citrate qui est un intermédiaire du cycle de l'acide citrique. Un taux élevé de citrate signifie que les précurseurs biosynthétiques sont abondants et ainsi une quantité supplémentaire de glucose ne doit pas être dégradée dans ce but. Le citrate inhibe la PFK en augmentant l'effet inhibiteur de l'ATP.

• Le NADH, H^+ inhibe également l'activité de la PFK en potentialisant l'effet inhibiteur de l'ATP. Cette inhibition sera levée dès que le NADH, H^+ est réoxydé en NAD^+

3ème point de contrôle :

Se situe au niveau de la dernière étape de la glycolyse PEP ⟶ PYRUVATE sous l'action de la pyruvate kinase.

La pyruvate kinase, enzyme allostérique, est activée par le F 1,6 BIP et le PEP. Elle est inhibée par l'ATP, le citrate et les acides gras à longues chaines.

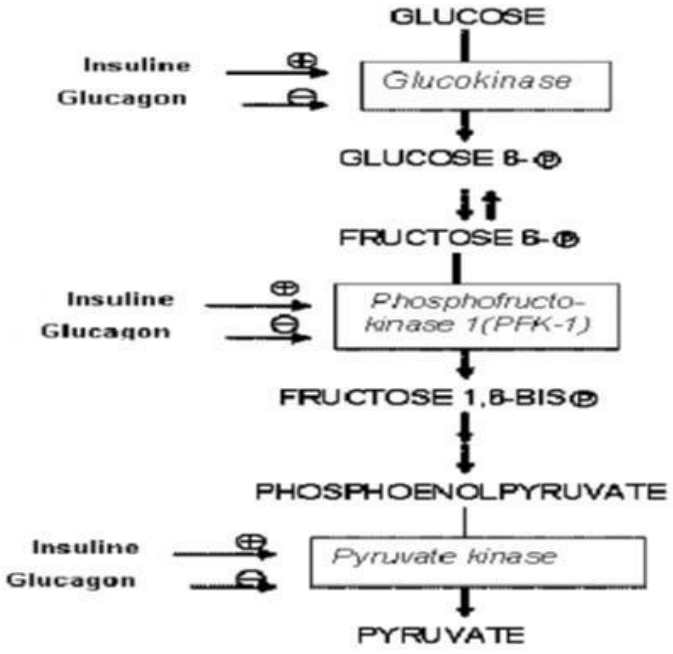


Fig. 208. Régulation hormonale de la glycolyse.

La glycolyse est régulée également au niveau hormonal (Fig. 208).

VIII.2.2.9. Entrée des autres glucides dans la séquence glycolytique (les différents substrats de la glycolyse)

Tous les glucides métabolisables sont dégradés à travers la séquence glycolytique. La seconde phase est commune à tous les glucides polymérisés ou non. Chaque glucide utilise une séquence de réactions qui lui est propre à l'issue de laquelle il est converti en 3-P-glycéraldéhyde. Les glucides qui sont dégradés par la voie glycolytique sont : les polysaccharides de réserve comme l'amidon et le glycogène, les disaccharides, les monosaccharides autres que le glucose (Fig. 209).

VIII.2.2.9.1. Glycogène et amidon

Le glycogène et l'amidon alimentaire, soumis à l'action des enzymes hydrolytiques de la salive, du pancréas et de l'intestin grêle, sont absorbés sous forme de glucose libre, qui est phosphorylé ensuite en glucose 6-P. la réaction globale peut s'écrire :

Glycogène ou amidon (n glucose) + nH_2O + nATP ⟶ nGlucose 6-P + nADP

II.2.2.9.2. Les disaccharides

Les disaccharides ingérés sous forme de saccharose, maltose et lactose sont d'abord hydrolysés en leurs constituants. Les enzymes spécifiques sont secrétées par la muqueuse intestinale et leur demeurent fixées :

Saccharose + H_2O ⟶ Glucose + fructose (β-fructosidase)

Maltose + H_2O ⟶ 2 glucose (α-glucosidase)

Lactose + H_2O ⟶ Glucose + galactose (β-galactosidase)

Ces oses vont entrer dans la glycolyse après phosphorylation selon le réactions décrites ci-dessous :

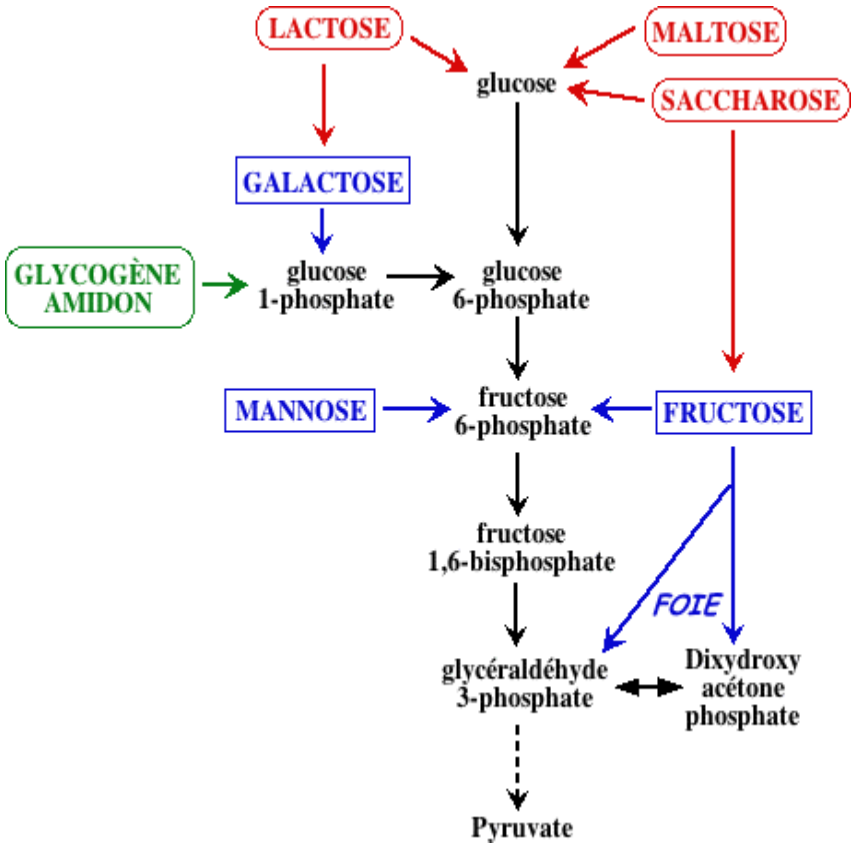


Fig. 209. Les différents substrats de la glycolyse.

Polysaccharides alimentaires et endogène :

- **glycogène et amidon alimentaires** : α-amylases salivaire et pancréatique, disaccharidases portées par l'épithélium intestinal → D-glucose → sang
- glycogène endogène des hépatocytes et des cellules musculaires : glycogène phosphorylase (α1→4), enzyme débranchant (α1→6) et phosphoglucomutase :

Glycogène (n) + Pi → glucose 1-phosphate + glycogène (n-1)

Glucose 1-phosphate ↔ glucose 6-phosphate

Disaccharides alimentaires :

Disaccharidases intestinales : dextrinase, maltase, lactase, sucrase et trehalase

Monosaccharides alimentaires : Glucose, fructose, galactose et mannose.

Fructose:

Dans le muscle et le rein: fructose + ATP → **fructose 6-P** + ADP (hexokinase)

Dans le foie: Fructose + ATP → fructose 1-P +ADP (fructokinase)

VIII.2.2.9.2. Les monosaccharides

- Le fructose peut être phosphorylé sur le carbone 6 par l'hexokinase mais cette dernière est saturée par le glucose. Il est surtout traité par la **fructokinase** hépatique qui le phosphoryle sur le carbone 1. La séquence des réactions conduisant au glycéraldéhyde 3-P mettra en ouvre, dans l'ordre, la **fructokinase**, la **fructose-1- phosphate aldolase** (aldolase 2 ou β), **glycéraldéhyde kinase** et la **phosphotriose isomérase** (Fig. 210).

- Fructose + ATP ⟶ fructose 1-phosphate + ADP **(fructokinase)**
- Fructose 1-P ⟶ glycéraldéhyde + 3-P dihydroxyacétone **(aldolase)**
- Glycéraldéhyde + ATP ⟶ 3-P Glycéraldéhyde + ADP **(Glycéraldéhyde kinase)**
- 3-P dihydroxyacétone ⟷ Glycéraldéhyde 3-P + 2ADP **(Phosphotriose isomérase)**

La réaction globale est :

- Fructose + 2 ATP ⟶ glyceraldehyde 3-P + 2ADP

L'activité de la fructose 1-phosphate aldolase est faible et constitue le facteur limitant du métabolisme du fructose.

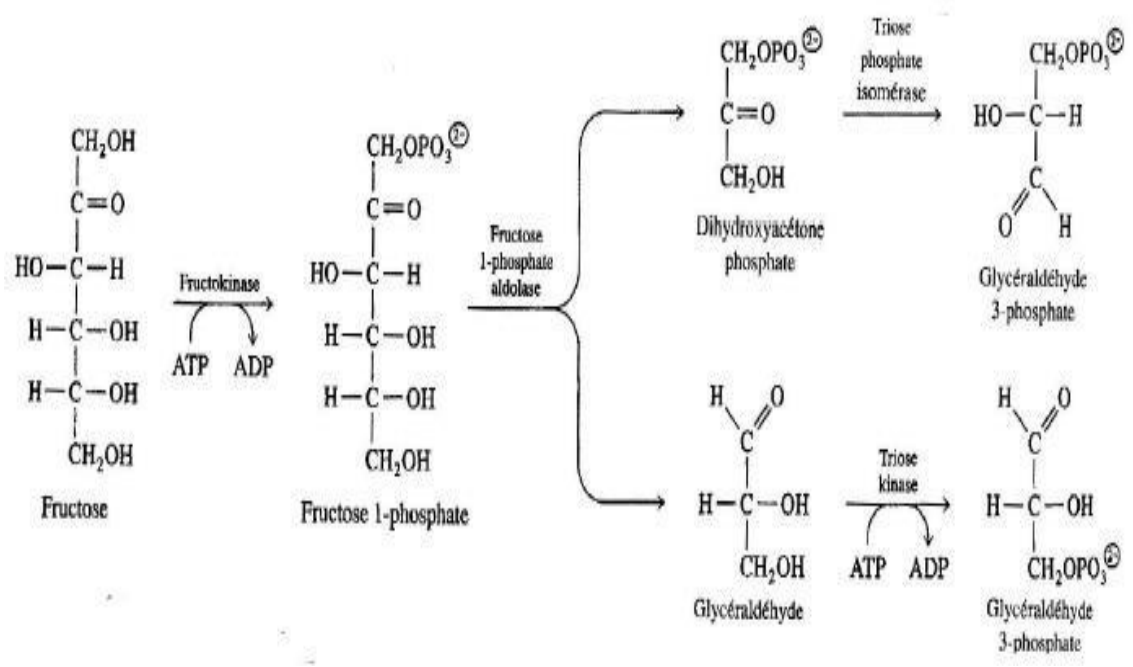


Fig. 210. Entrée du fructose dans la glycolyse.

- Le **galactose** peut aussi être phosphorylé sur le carbone 6 par l'hexokinase mais pour les mêmes raisons que pour le fructose, il est traité par la **galactokinase hépatique** qui le phosphoryle sur le carbone 1. Il est ensuite engagé dans une voie secondaire d'interconversion

du galactose en glucose pour son injection dans la glycolyse (Fig. 211). La séquence fait intervenir, dans l'ordre, **galactokinase, uridylyltransférase, UDP hexose 4'-épimérase** et enfin **la phosphoglucomutase** (Fig. 13).

Galactose + ATP ⟶ Galactose 1-P + ADP **(galactokinase)**

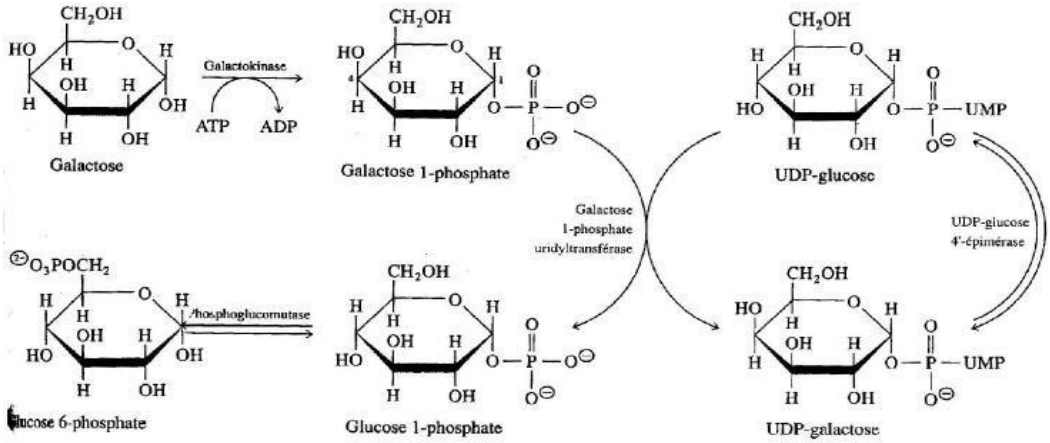
Galactose 1-P + UDP glucose ⟷ Glucose 1-P + UDP Galactose **(uridylyltransférase)**

UDP Galactose ⟷ UDP glucose **(UDP hexose 4'-épimérase)**

En additionnant les 2 dernières réactions on obtient :

Galactose 1-P ⟷ Glucose 1-P

Le glucose 1-P est isomérisé par **la phosphoglucomutase** en glucose 6-P, substrat de la glycolyse.



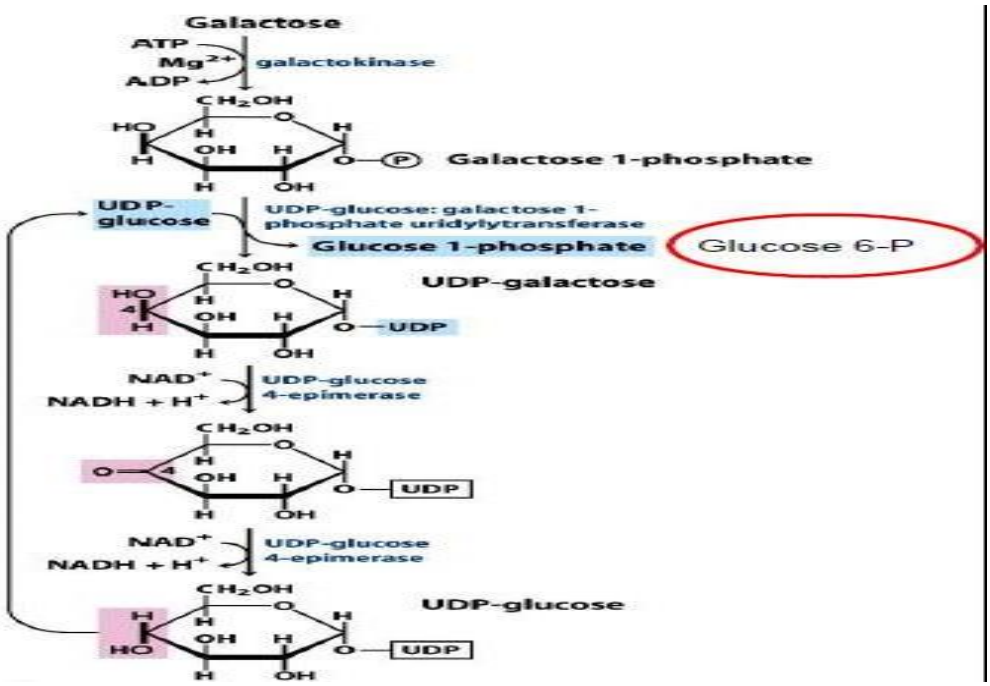


Fig. 211. Entrée du galactose dans la glycolyse.

- L'entrée du mannose dans la glycolyse se fait en deux étapes (Fig. 212) :

Phosphorylation : Le mannose est phosphorylé par l'hexokinase en mannose-6-phosphate en consommant une molécule d'ATP.

Isomérisation : Le mannose-6-phosphate est converti en fructose-6-phosphate par l'enzyme phosphomannose isomérase. Le fructose-6-phosphate intègre alors directement la glycolyse à sa deuxième étape réversible (Fig. 14).

Mannose + ATP → mannose 6-P + ADP **(hexokinase)**

Mannose 6-P ↔ fructose 6-P **(phosphomannose isomérase)**

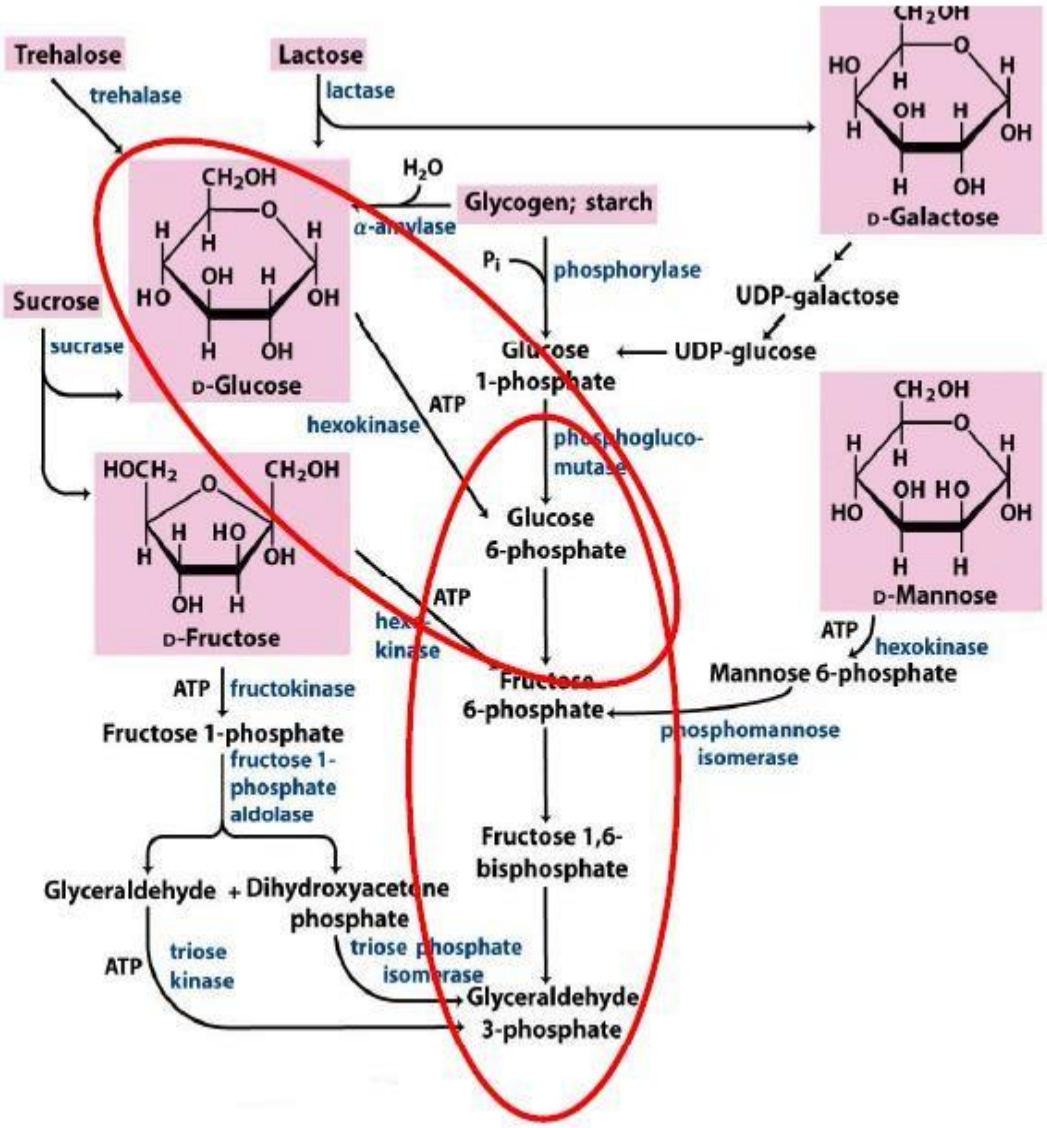


Fig. 212. Entrée du mannose dans la glycolyse.

VIII.2.3. Cycle de l'acide citrique (*cycle tricarboxylique ou cycle de Krebs)*

La glycolyse et la ß-oxydation des acides gras sont les deux processus préparatoires à la récupération de l'énergie des liaisons contenues dans les glucides et les lipides (Fig. 213). La glycolyse conduit à la formation du pyruvate qui peut être converti, dans les mitochondries, en acétyl-CoA. La ß-Oxydation des acides gras à nombre pair de carbones fournit directement des acétyl-CoA et celle des acides gras à nombre impair de carbones des acétyl-CoA et un propionyl-CoA. Les unités acétyl-CoA, issues du pyruvate ou de la dégradation des acides gras, sont complètement oxydées dans le cycle du citrate. Ce dernier est la voie finale commune (Fig. 213) de l'oxydation des molécules énergétiques. Il se déroule entièrement à l'intérieur des mitochondries. En tant que voie catabolique le cycle tricarboxylique fournit de l'énergie (en faible quantité sous forme de *GTP*) des cofacteurs réduits riches en énergie (NADH, H^+ et $FADH_2$) et aussi des précurseurs pour les biosynthèses.

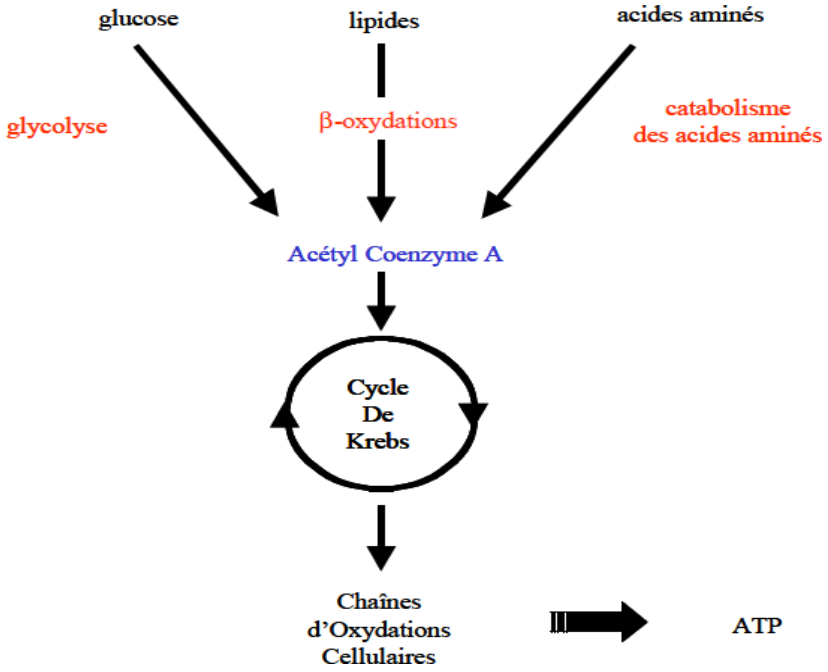


Fig. 213. Le cycle de Krebs : la dernière étape de la dégradation des aliments.

VIII.2.3.1. L'acétyl coenzyme A : point d'entrée du cycle de Krebs.

L'Acétyl coenzyme A (Acétyl CoA) est formé à partir du pyruvate qui est le produit final de la glycolyse et de coenzyme A (CoASH). La réaction peut s'écrire de manière simplifiée :

Pyruvate + CoASH + NAD ⟶ Acétyl CoA + CO_2 + NADH + H^+.

Dans la réalité, cette réaction se déroule en plusieurs étapes et fait intervenir un complexe multi-enzymatique : Le complexe de la pyruvate déshydrogénase.

VIII.2.3.2. Les différentes étapes du cycle de Krebs.

Une fois l'acétyl CoA produit, il va pouvoir alimenter le cycle de Krebs et ses huit étapes détaillées ci-dessous (Fig. 214).

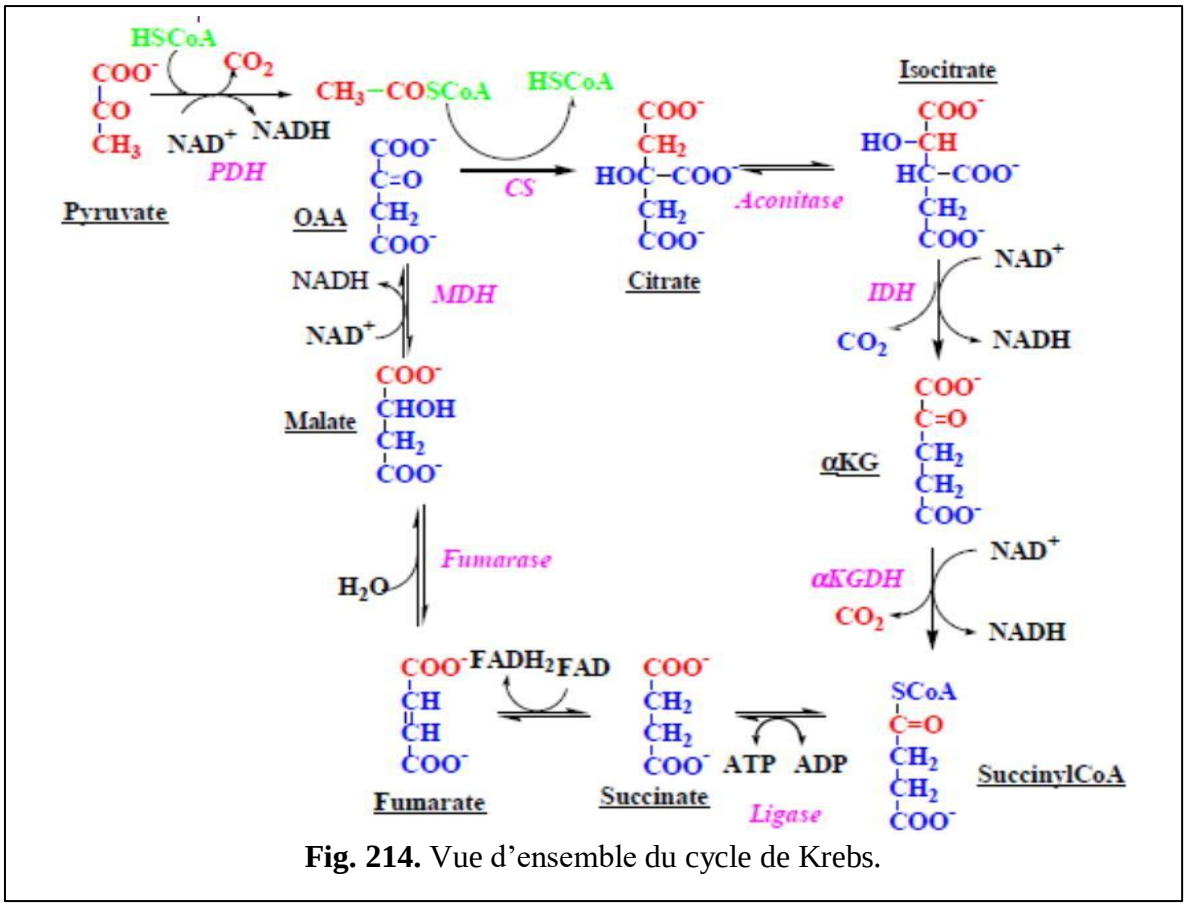
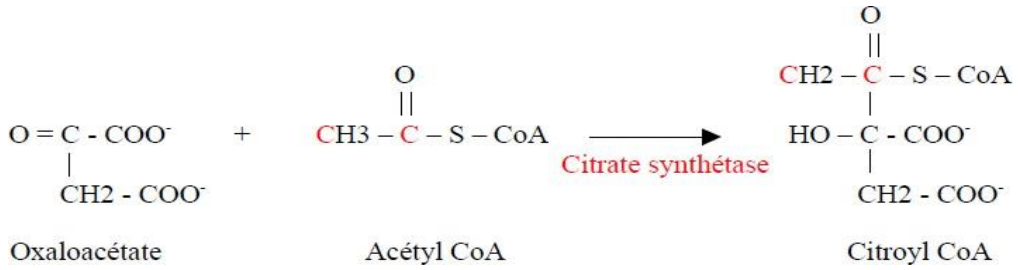
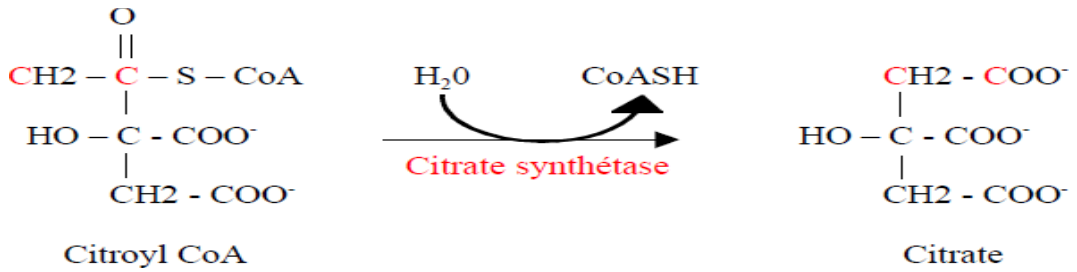


Fig. 214. Vue d'ensemble du cycle de Krebs.

A. *Condensation de l'acétyl CoA et de l'oxaloacétate.*

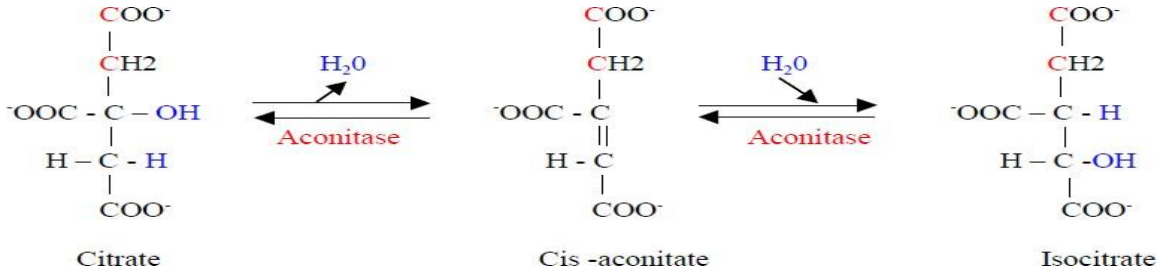
La condensation de l'acétyl CoA et de l'oxaloacétate est catalysée par le citrate synthétase. Cette réaction est irréversible. L'oxaloacétate se fixe d'abord à l'enzyme qui en changeant de conformation permet la fixation de l'acétyl CoA et la formation d'un intermédiaire : le citroylCoA qui sera ensuite hydrolysé en citrate et en coenzyme A.





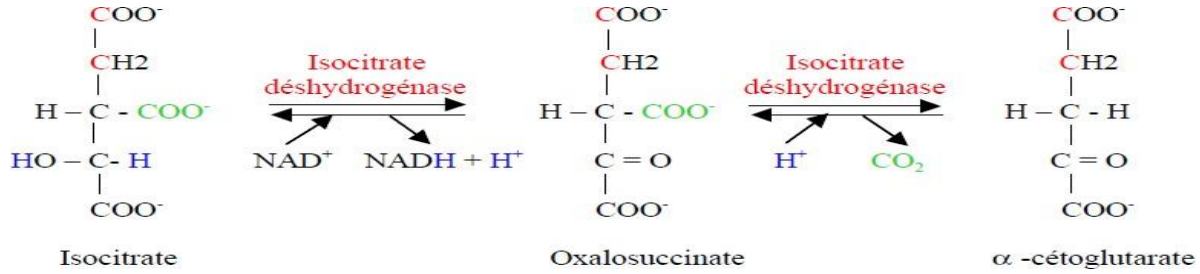
B. *Conversion du citrate en isocitrate.*

La réaction se fait en deux étapes avec le cis-aconitate pour intermédiaire. Les deux étapes sont catalysées par l'aconitase.



C. *Oxydation et décarboxylation de l'isocitrate en α -cétoglutarate.*

L'isocitrate est oxydé par l'isocitrate déshydrogénase pour former l'oxalosuccinate et générer une molécule de NADH. L'oxalosuccinate reste lié à l'enzyme et perd une molécule de CO_2 pour aboutir à l'α -cétoglutarate (α -KG).



D. *Décarboxylation de l'α -cétoglutarate en succinyl Coenzyme A.*

Cette réaction est catalysée par le complexe de l'α -cétoglutarate déshydrogénase dont la structure et le mécanisme d'action sont très proches de celui de la pyruvate déshydrogénase qui permet le passage du pyruvate à l'acétyl CoA. La réaction peut s'écrire de façon simplifiée :

α -cétoglutarate + CoASH + NAD^+ ⟶ succinyl CoA + CO_2 + NADH + H^+

On retrouve au sein du complexe trois enzymes et leurs cofacteurs :

E'1 : L'α-cétoglutarate déshydrogénase + thiamine pyrophosphate (TPP).

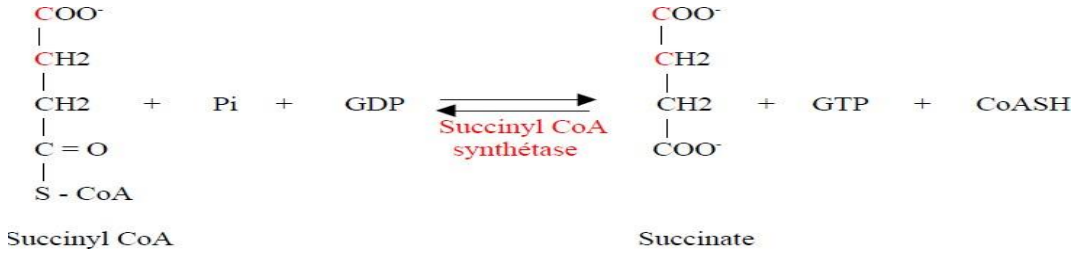
E'2 : La dihydrolipoyl transsuccinylase + lipoamide.

E'3 : La dihydrolipoyl déshydrogénase. + FAD. (identique à E3)

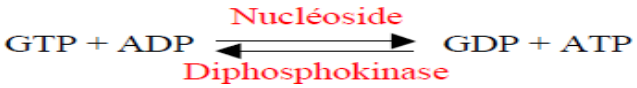
Comme pour le complexe de la pyruvate déshydrogénase, le complexe de l'α -cétoglutarate déshydrogénase est régulé par les rapports ATP/ADP, NADH/NAD+ mais aussi par le rapport succinyl CoA/CoASH.

E. *Formation du succinate.*

Le succinate est produit par hydrolyse de la liaison thioester entre le résidu succinyl et le coenzyme A du succinyl CoA. L'hydrolyse de cette liaison libère une grande quantité d'énergie qui est récupérée en synthétisant une molécule de GTP par phosphorylation d'une molécule de GDP. Cette réaction qui est réversible est catalysée par la succinyl CoA synthétase.

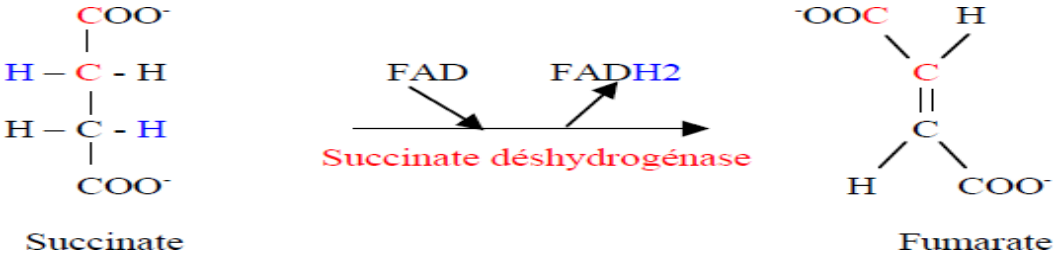


Le GTP constitue indirectement une réserve d'énergie puisque le phosphate qu'il vient d'acquérir peut facilement être transféré par une nucléoside diphosphokinase à une molécule d'ADP pour former une molécule d'ATP.



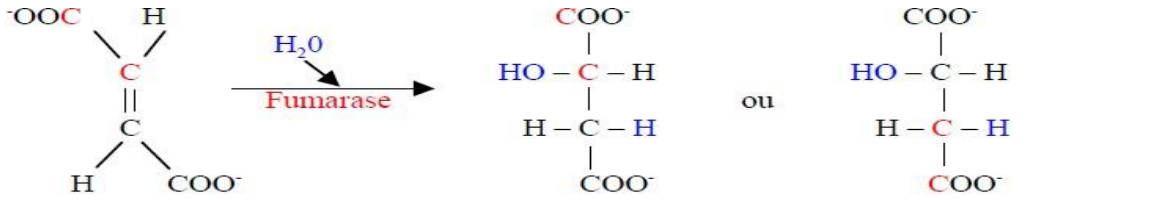
F. *Oxydation du succinate en fumarate.*

La réaction est catalysée par la succinate déshydrogénase qui contrairement aux autres enzymes du cycle est membranaire. En effet, elle fait partie intégrante de la membrane interne de la mitochondrie. De plus, à la différence des déshydrogénases citées précédemment, la succinate déshydrogénase utilise le FAD et non le NAD+ pour transporter l'hydrogène jusqu'au chaînes d'oxydations cellulaires. C'est parce que, dans ce cas, l'énergie de la réaction est insuffisante pour réduire le NAD+.



G. *Hydratation du fumarate en L-malate.*

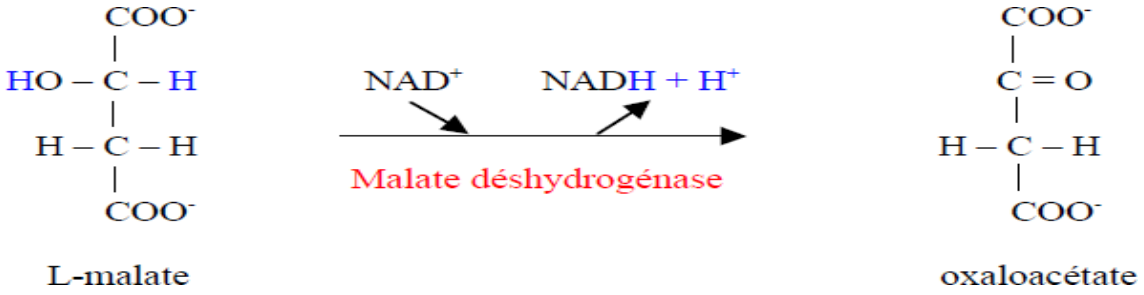
La réaction est catalysée par la fumarase. Les atomes H et OH issus d'une molécule d'eau sont additionnés en trans sur le fumarate, c'est à dire chacun d'un côté du plan formé par la double liaison.



Fumarate L-malate (Cf : remarque précédente)

H. *Oxydation du malate en oxaloacétate.*

La réaction est catalysée par la malate déshydrogénase qui utilise le NAD+ comme transporteur d'hydrogène.



L-malate oxaloacétate

Une fois régénéré, l'oxaloacétate peut se condenser à une molécule d'acétyl CoA et ainsi entamer un nouveau tour de cycle.

Bilans du cycle de Krebs.

Le cycle de Krebs peut être résumé par l'équation suivante :

$$\text{Acétyl CoA} + 3\ NAD^+ + FAD + GDP + Pi + H_2O \downarrow 2\ CO_2 + 3\ NADH + 3H^+ + FADH_2 + GTP + CoASH$$

- Sachant que la réoxydation au niveau des chaînes d'oxydations cellulaires du NADH fournie trois molécules d'ATP et que celle du $FADH_2$ en fournie deux.
- Sachant qu'une molécule de GTP peut facilement permettre la synthèse d'une molécule d'ATP.

Le bilan à partir du pyruvate :

Pyruvate + $4NAD^+$ + FAD + ADP + P $\longrightarrow$ $3\ CO_2$ + 4NADH + $FADH_2$ + ATP.

Le bilan à partir de l'acétyl CoA :

Pyruvate + 3NAD$^+$ + FAD + ADP + P ⟶ 2CO$_2$ + 3NADH + FADH$_2$ + ATP.

Bilan en ATP compte tenu de la chaîne respiratoire :

	A partir du pyruvate		A partir de l'acétyl-CoA	
	Coenzymes regénérés	**ATP formés**	**Coenzymes regénérés**	**ATP formés**
NADH	4	12	3	9
FADH$_2$	1	2	1	2
ATP	1	1	1	1
Total		15		12

Le cycle produit donc :

1 GTP donc 1 ATP
3 NADH donc 3 x 3 soit 9 ATP
1 FADH$_2$ donc 2 ATP

Bilan ⟹ 12 ATP

Si on prend en compte le NADH produit lors du passage du pyruvate en acétyl CoA, on arrive à un bilan de 12 + 3 soit 15 molécules d'ATP produites.

VIII.2.4. Voie des pentoses phosphates : production du pouvoir réducteur et du ribose

Les glucides, par l'intermédiaire de la voie glycolytique, sont à l'origine de la formation de l'ATP et de NADH, H$^+$. Les électrons stockés sous forme de NADH, H$^+$ constituent la majeure partie de l'énergie métabolique. Elle est destinée à la fabrication de l'ATP dans la phosphorylation oxydative.

Les glucides sont aussi à l'origine de réactions d'oxydoréduction dont les électrons et les protons libérés sont stockés sous forme de NADPH, H$^+$. Le pool de NADPH, H$^+$ représente le pouvoir réducteur dont la cellule a besoin dans les réactions de biosynthèse réductrices. La formation de NADPH, H$^+$ a lieu, dans les cellules, grâce à la voie des pentoses phosphates.

VIII.2.4.1. Définition et but de la voie des pentoses phosphate

La voie des pentoses phosphate est une voie de dégradation du glucose branchée en dérivation sur la glycolyse productrice de NADPH, H$^+$ et de ribose-5-phosphate.

Elle démarre au glucose-6-P et rejoint la glycolyse au niveau du fructose-6-P et de 3-phosphoglycéraldéhyde. C'est une voie quantitativement minoritaire (moins de 10% du glucose est dégradé par cette voie).

Cette voie des pentoses phosphates n'engendre pas seulement du NADPH, H$^+$ mais aussi des pentoses, en particulier du ribose 5-P.

Le NADPH, H$^+$ est un agent réducteur utilisé ensuite pour la biosynthèse des lipides, la réduction du glutathion.

Le ribose-5-phosphate constituant essentiel des coenzymes pyridiniques et flaviniques, du coenzyme A, de l'ATP et des acides nucléiques (**Ribose 5-P** = constituant de : ATP, CoA, NAD^+, FAD, ARN, ADN).

La voie des pentoses phosphates est nourrie par le glucose 6-P. elle permet l'interconversion d'oses à 3, 4, 5, 6, 7 carbones et elle s'effectue dans le cytosol (Fig. 215).

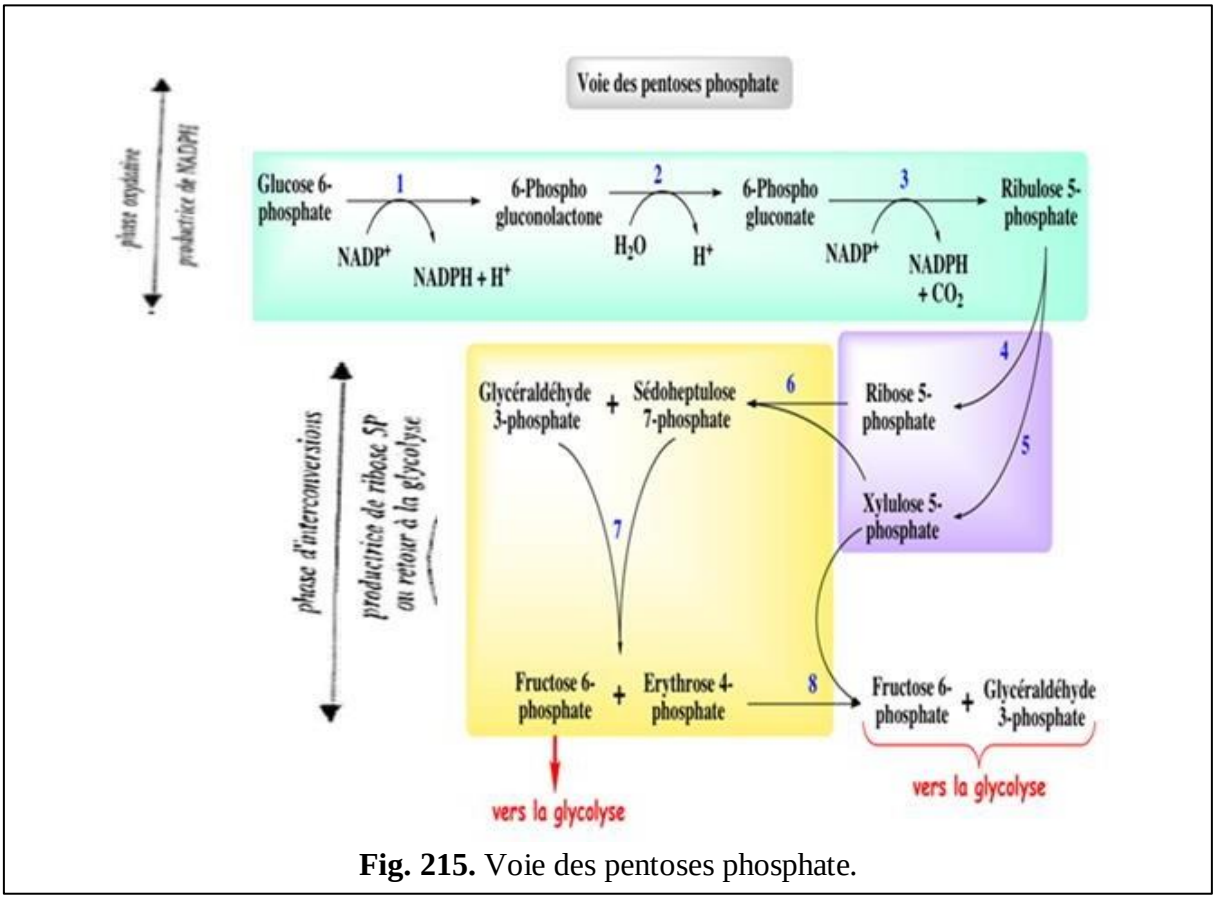


Fig. 215. Voie des pentoses phosphate.

VIII.2.4.2. Production du NADPH, H^+: Pouvoir réducteur

Dans ce cas, la cellule produit essentiellement du NADPH, H^+ à partir du glucose. La séquence des réactions enzymatiques est décrite en 3 phases.

Phase 1 : Les réactions d'oxydoreduction

Les réactions d'oxydation qui se produisent au cours de cette phase sont les lieux de formation du pouvoir réducteur sous forme de NADPH, H^+. Les électrons arrachés au glucose **6**-P et au gluconate 6-P sont transférés sur $NADP^+$ au lieu de NAD^+. Ils n'ont aucune valeur énergétique mais seront utilisés dans les réactions d'oxydoréduction réductrices catalysées par des réductases.

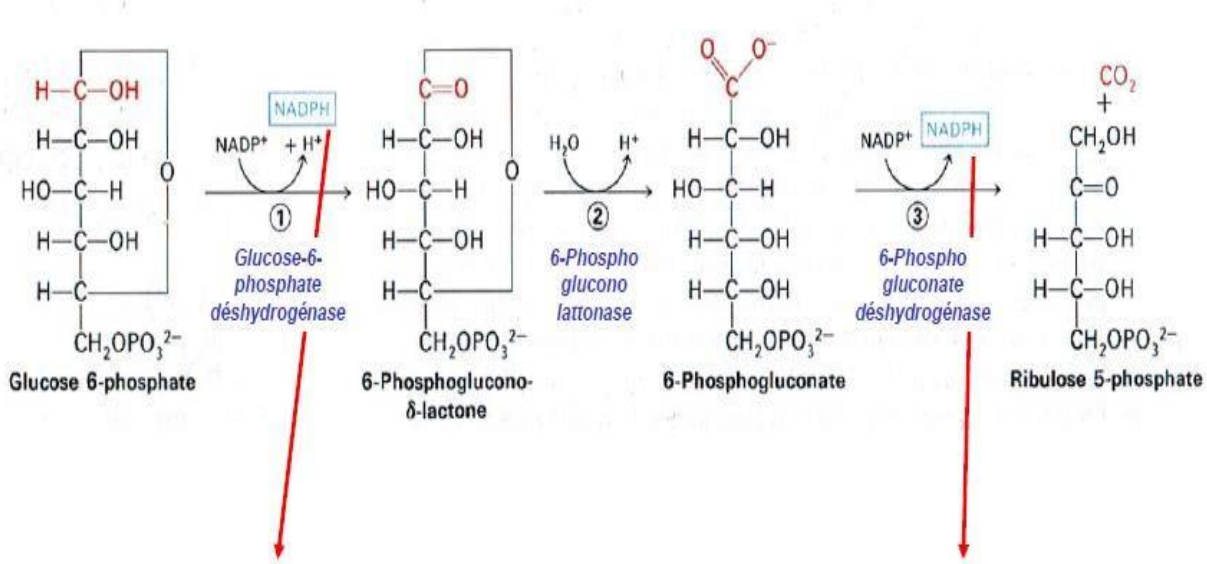
a - Déshydrogénation des glucose 6-P

En présence de $NADP^+$ comme cofacteur et sous l'action de ***la glucose-6-P déshydrogénase (G6PDH)***, le glucose 6-P est oxydé en gluconate 6-P:

Glucose 6-P + NADP+ ⟶ gluconate-6-P + NADPH, H^+

b– Déshydrogénation decarboxylante du gluconate 6-P

Elle se fait sous l'action de la ***gluconate-6-P déshydrogénase*** et avec $NADP^+$ comme cofacteur. C'est la 2e réaction d'oxydoréduction qui entraîne l'oxydation de la fonction alcool du carbone 3 en fonction cétone. Cette dernière déstabilise la fonction carboxylique terminale. Il s'ensuit une décarboxylation donnant le ribulose 5-P.



La phase 1 comprend la fonction principale de la voie: la synthèse de NADPH

PHASE 2 : Isomerisations des pentoses phosphates

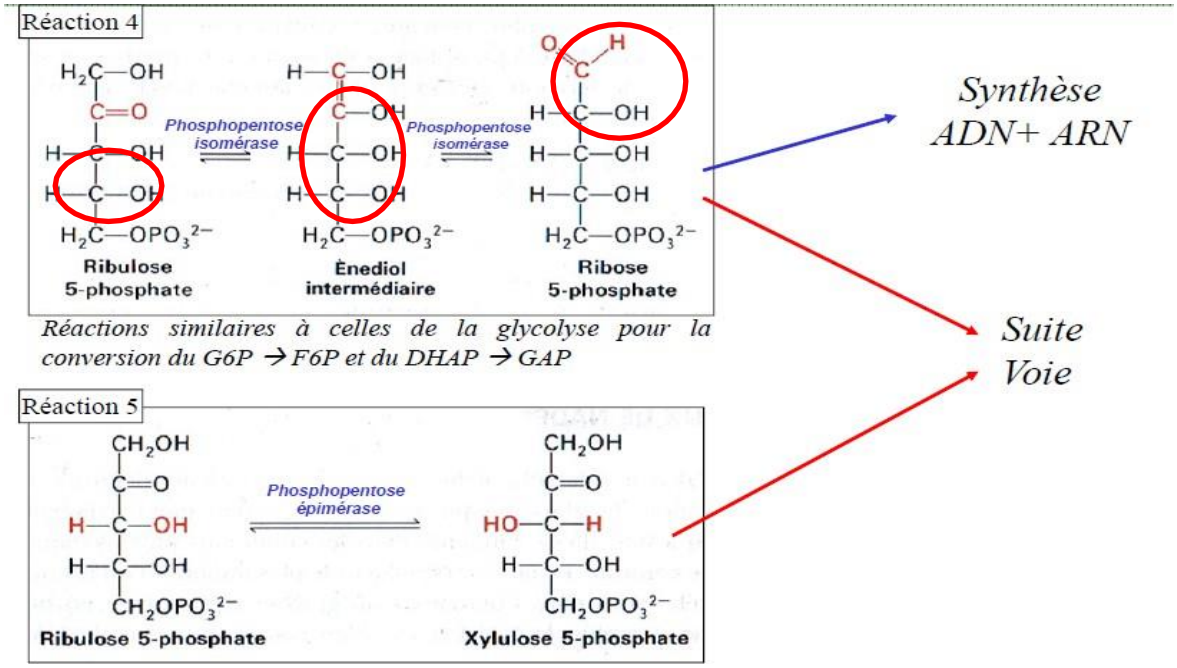
Les deux réactions de cette phase préparent à la suivante.

a - Epimérisation du ribulose 5-P en xylulose 5-P

La réaction est catalysée par une ***phosphopentose 3-épimérase***. Deux des ribulose 5-P sont transformés en xylulose 5-P.

b - Isomérisation du ribulose 5-P en Ribose 5-P

Elle se fait sous l'action de la ***ribose 5-phosphate isomérase***.



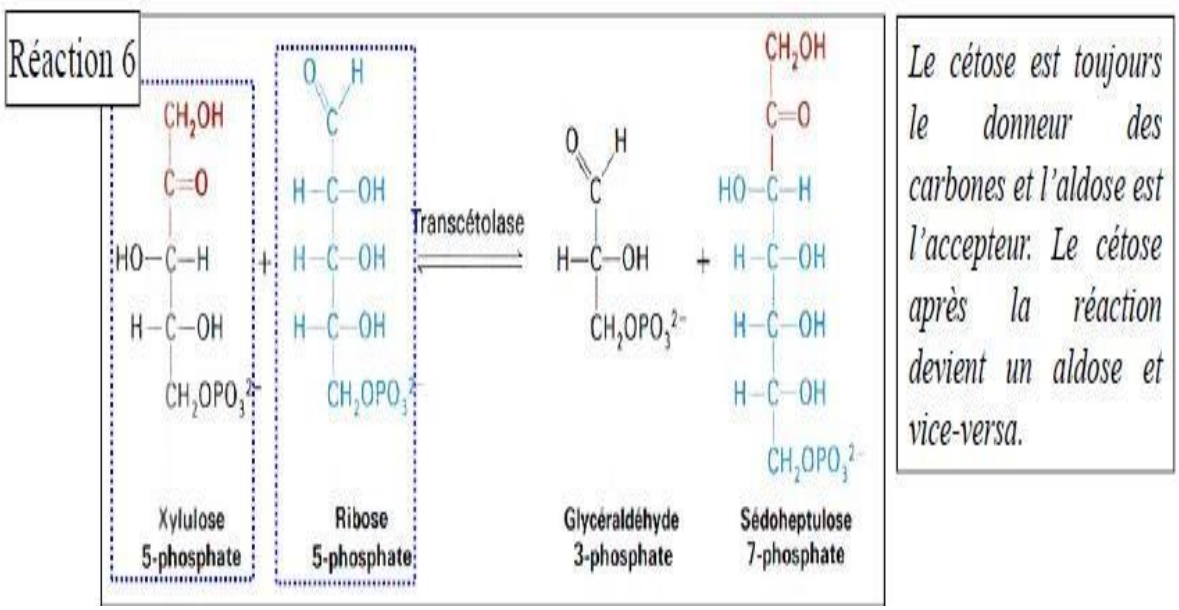
Réactions similaires à celles de la glycolyse pour la conversion du G6P → F6P et du DHAP → GAP

PHASE 3 : Interconversion des oses phosphates

Dans la phase 3 se produisent 3 réactions, 2 de transcétolation et 1 de transaldolisation qui, par le jeu de transfert de carbones terminaux, permettent la reformation du glucose 6-P via le fructose 6-P. Toutes ces réactions sont réversibles.

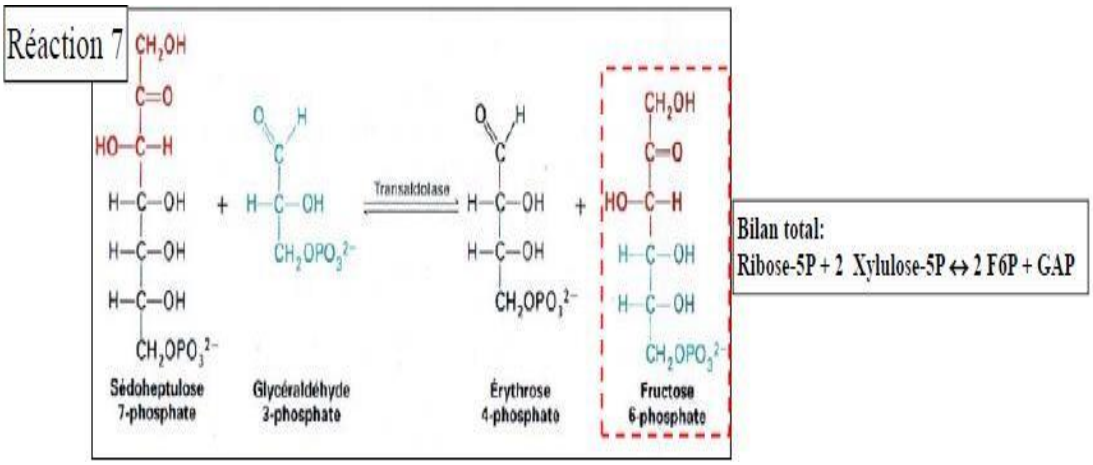
a - Formation du sedoheptulose 7-P par transcetolation

La réaction est catalysée par la ***transcétolase*** et fait intervenir le ribose-5-P et l'un des xylulose 5-P. Deux carbones terminaux du xylulose 5-P sont transférés à l'extrémité du ribose 5-P.



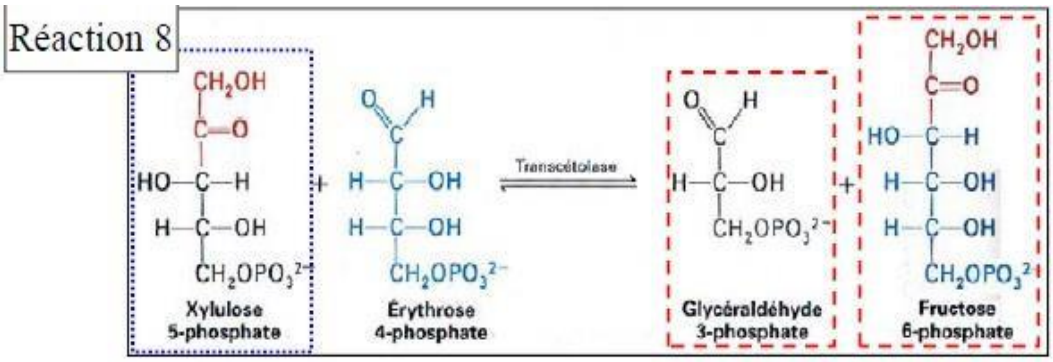
b - Formation du fructose 6-P par transaldolisation

Les produits de la réaction précédente deviennent les substrats de la ***transaldolase*** pour former un fructose 6-P et une érythrose 4-P. Trois carbones terminaux du sédoheptulose 7-P sont transférés sur le glycéraldéhyde 3-P suivant la réaction :



c - Formation d'un second fructose 6-P par transcetolation

Les deux premiers carbones du xylulose 5-P restant sont transférés sur l'érythrose-4-P pour former un deuxième fructose 6-P avec libération d'un glycéraldéhyde-3-P. La réaction est catalysée par la ***transcétolase***.



d - Isomérisation des 2 fructose 6-P en glucose 6-P

2 fructose 6-Ⓟ ⟷ 2 glucose-6-Ⓟ

II.2.3.1. Bilan de la voie

Le bilan global de la séquence des réactions, orientée vers la production de NADPH, H^+ s'écrit:

3 Glucose 6-Ⓟ + 6 $NADP^+$ → 2 Glucose 6-Ⓟ + Glycéraldéhyde 3-Ⓟ + 6 $NADPH,H^+$ + 3 CO_2. ou

glucose-6-Ⓟ + 6 $NADP^+$ ⟶ glycéraldéhyde 3-Ⓟ + 3 CO_2 + 6 $NADPH,H^+$

Cela signifie qu'à chaque tour un glucose est oxydé et il se forme : 3 CO2, 1 glycéraldéhyde-3-

P et 6 NADPH, H^+. Sachant que le glycéraldéhyde est la moitié d'un glucose on en déduit que l'oxydation complète d'un glucose fournit 12 NADPH, H^+, ce qui donne.

$$\text{Glucose 6-Ⓟ} + 12\ NADP^+ \longrightarrow 6\ CO_2 + 12\ NADPH,H^+ + Pi$$

Le $NADP^+$ diffère de NAD^+ par la présence d'un groupe phosphate supplémentaire sur le carbone C2' du ribose (Fig. 216). Cette petite différence dans sa structure lui permet d'interagir spécifiquement avec certaines enzymes et de jouer des rôles importants. Dans le cytosol des hépatocytes le rapport NADP+/NADPH, H^+ est de 0.1, alors que celui de NAD^+/NADH, H^+ est de 1000, ce qui confère un rôle d'oxydant privilégié au NAD^+.

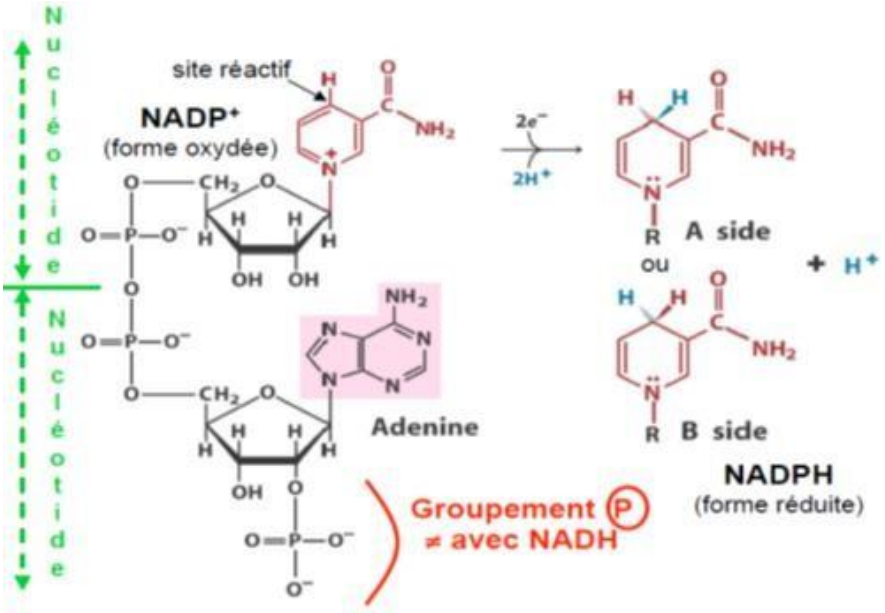


Fig. 216. Structure du Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADP).

VIII.2.5. Métabolisme du glycogène

L'organisme des animaux a développé dans le foie et dans les muscles striés un processus de mobilisation rapide en réponse à une demande immédiate en l'absence du glucose alimentaire. Ce processus est la **glycogénolyse** ou dégradation du glycogène. Alors que le glycogène hépatique est mobilisé pour maintenir le taux du glucose sanguin et pour alimenter les tissus périphériques, le glycogène stocké dans les muscles est mobilisé et consommé sur place pour leur fonctionnement.

Les réserves en glycogène du foie augmentent quand les animaux sont bien nourris et peuvent diminuer pendant le jeûne prolongé jusqu'à épuisement. Les réserves en glycogène des muscles sont peu affectées par un jeûne prolongé, et elles peuvent être reconstituées après une activité qui en a consommé une partie. Que ce soit dans le foie ou dans les muscles, le glycogène

est synthétisé à partir de glucose 6-P comme précurseur. La synthèse du glycogène est la **glycogénogenèse**.

VIII.2.5.1. Glycogénolyse

A- Dégradation du glycogène ou glycogénolyse

L'enzyme principale de la dégradation du glycogène endogène (hépatique et musculaire) est ***la glycogène phosphorylase*** qui libère des glucose1-P et une dextrine limite. Deux autres enzymes, une glycosyltransférase et une α (1-6) glucosidase interviennent dans la conversion complète du glycogène en glucose 6-P. Seul le foie peut transformer le glucose-6-P en glucose, excrété dans le sang (Fig. 217).

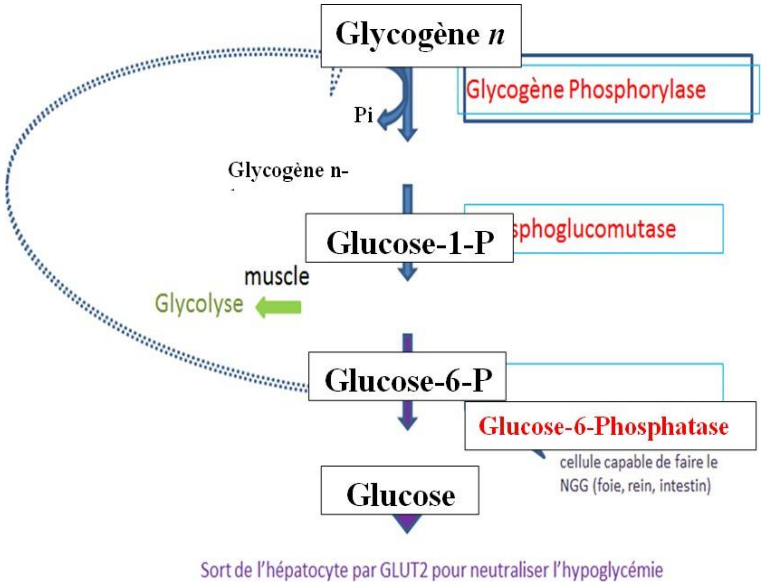


Fig. 217. Séquences des réactions enzymatiques permettant de dégradation du glycogène.

VIII.2.5.1.1. Séquences des réactions enzymatiques

a - Phosphorolyse du glycogène

La phosphorolyse proprement dite est catalysée par la ***glycogène phosphorylase***. Cette enzyme coupe la liaison α(1-4) à partir de l'extrémité non réductrice et fixe, sur le carbone 1 du glucose libéré, un groupement phosphate, apporté par l'ATP, en donnant du glucose 1-P. La phosphorolyse est répétée de façon séquentielle sur le glycogène jusqu'à 4 résidus glycolsyles sur chaque chaîne avant la liaison α(1-6). La structure résiduelle dont l'action des phosphorylases est ainsi limitée par des branchements est appelée **dextrine limite,** résistant à l'action plus poussée de la phosphorylase (Fig. 218).

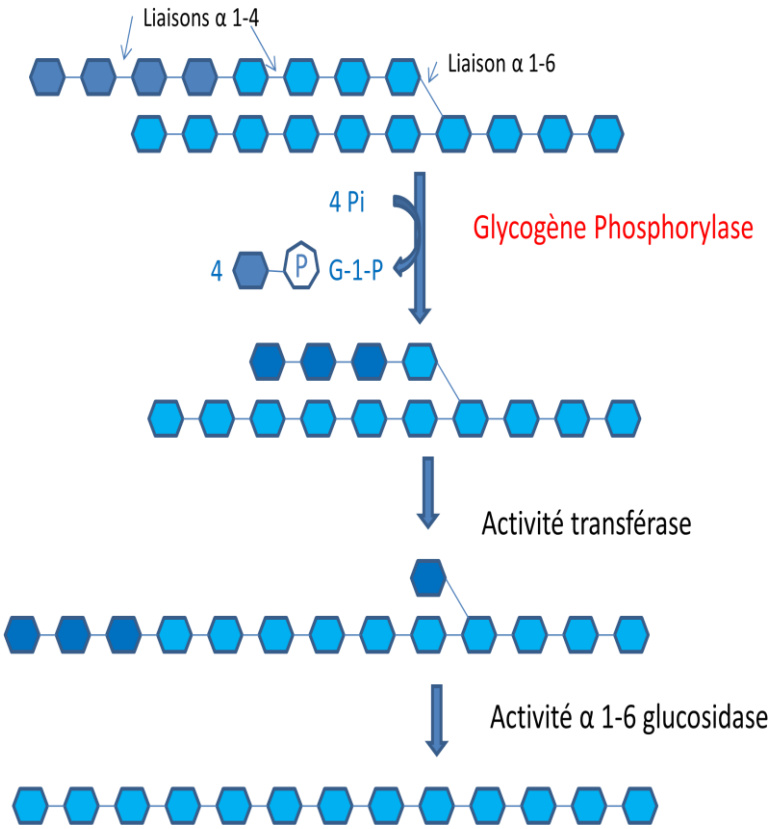


Fig. 218. La phosphorolyse du glycogène.

b - Glycosyl-4,4-transférase

La glucosyl-4,4-transférase intervient sur la dextrine limite en enlevant sur chaque chaîne de la dextrine limite un oligosyl formé de 3 résidus glucose pour aller allonger une autre chaîne de la dextrine limite permettant ainsi la reprise de la phosphorolyse sur cette chaîne. Après l'action de cette enzyme, il demeure à la place de la chaîne latérale un glucose lié par la liaison α(1-6).

c- L'α(1- 6) Glucosidase

Enfin une α-glucosidase hydrolyse les résidus glucose reliés par la liaison α(1-6) et libère les glucose.

Après l'action de ces trois enzymes le glycogène libère essentiellement du glucose 1-P (par phosphorolyse) et une faible quantité de glucose (hydrolyse). Le glucose1-P est isomérisé en glucose-6-P par la ***phosphoglucomutase***. Le glucose 6-P peut entrer dans la glycolyse dans le foie et dans le muscle.

Mais l'objectif de la dégradation du glycogène hépatique est avant tout le maintien de la glycémie. Pour ce faire seul le foie, après dégradation du glycogène, dispose de la ***glucose 6-***

phosphatase, permettant l'hydrolyse du glucose 6-P en glucose et l'excrétion de ce dernier dans le sang. Les deux réactions catalysées sont les suivantes :

Glucose 1-Ⓟ ⟷ Glucose 6-Ⓟ *(Phosphoglucomutase)*

Glucose 6-Ⓟ + H_2O ⟶ Glucose + Pi *(Glucose 6-phosphatase)*

VIII.2.5.2. Glycogénogénèse

B– Synthèse du glycogène

La synthèse du glycogène a pour but la mise en réserve, dans le foie, d'une partie du glucose excédentaire à l'issue d'une alimentation riche en glucides et en protéines, et dans les muscles la régénération du stock glycogénique dont une fraction a été consommée par 'une activité physique. La synthèse du glycogène se déroule essentiellement dans le foie et dans le muscle. L'enzyme principale est la ***glycogène synthase***. Le précurseur est le glucose 6-P (Fig. 219).

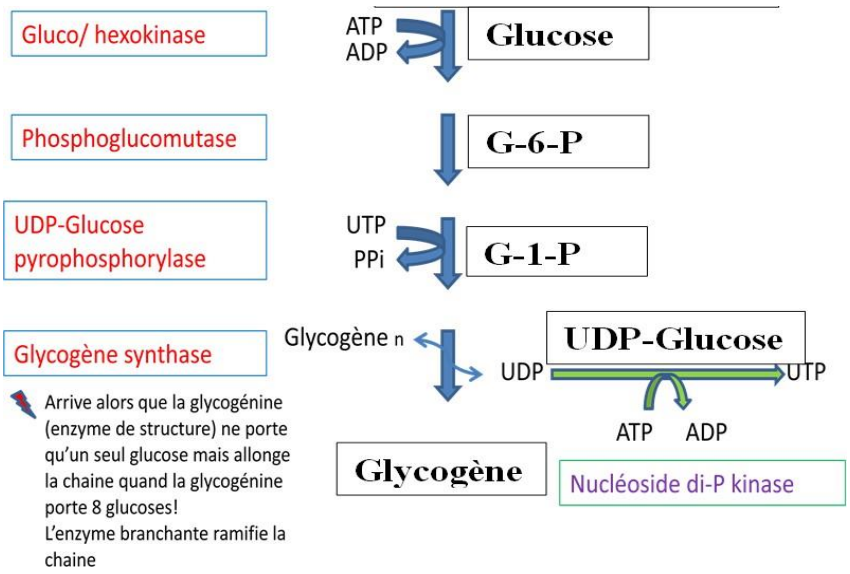


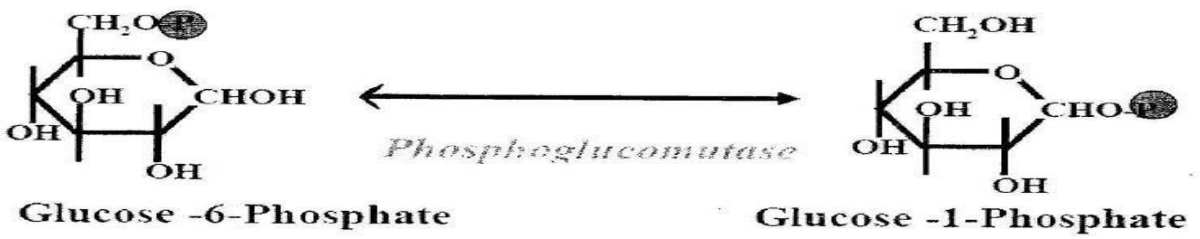
Fig. 219. La glycogénogénèse.

VIII.2.5.2.1. Séquences des réactions enzymatiques

a - Isomérisation du glucose 6Ⓟ en glucose 1-Ⓟ

L'enzyme qui catalyse cette réaction est la ***phosphoglucomutase***

Glucose 6-Ⓟ ⟷ glucose 1-Ⓟ



b - Transfert du résidu glucosyl sur UTP (formation de l'UDP glucose).

Le donneur du résidu glucose dans la réaction de polymérisation des glucoses en glycogène est UDP-glucose (Fig. 220). Sa formation est assurée par ***l'UDP-glucose pyrophosphorylase*** qui transfère le radical glucosyle sur l'UDP avec libération du pyrophosphate (PPi). L'hydrolyse de ce dernier par une ***pyrophosphatase*** favorise la réaction.

UTP + glucose 1-Ⓟ ⟶ UDP-glucose + PPi

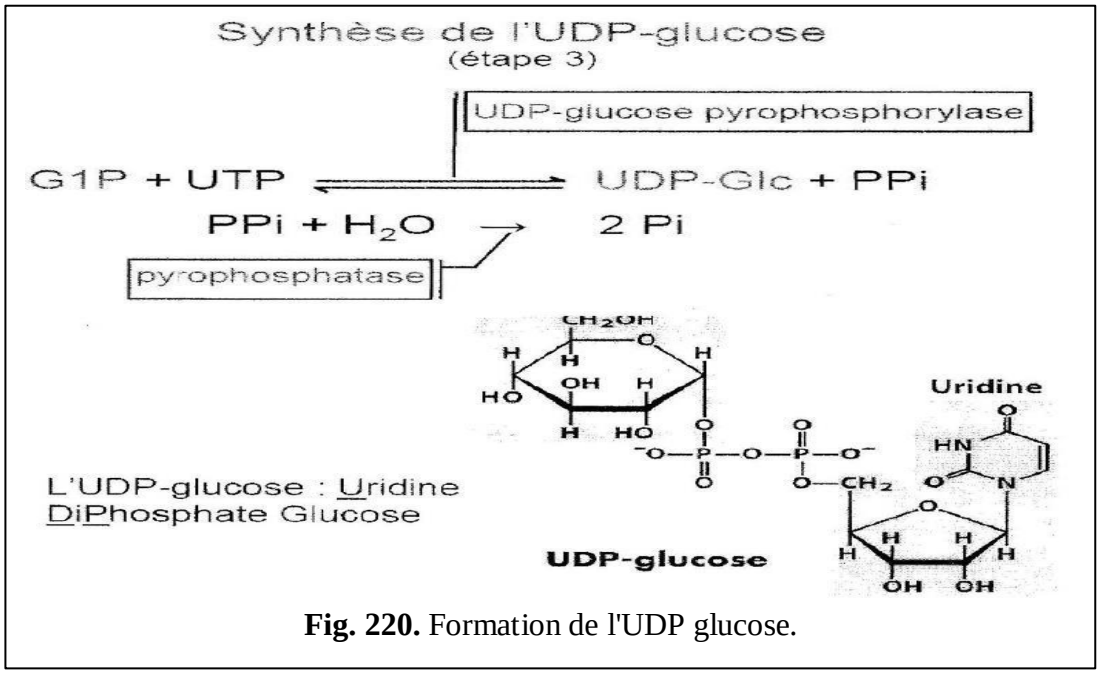


Fig. 220. Formation de l'UDP glucose.

c –Synthèse d'une amorce pour initier la synthèse du glycogène

La ***glycogène synthase*** qui assure la formation de la liaison α(1-4) est une enzyme d'élongation et ne peut initier ***de novo*** la synthèse du glycogène à partir du glucose. Il faut un primer (ou une amorce) qui peut être obtenu de différentes façons :

- utilisation d'un fragment de glycogène sous forme de dextrine
- En l'absence de ce fragment, intervention d'une protéine cytoplasmique spécifique : la **glycogénine.** Elle possède une chaîne latérale de tyrosine qui sert d'accepteur, grâce à sa fonction -OH, au premier résidu glucosyl provenant de l'UDP glucose. Grâce à son activité endogène glucosyl transférase, la glycogénine transfère une première molécule de glucose de l'UDP glucose vers le résidu tyrosyl de sa chaîne polypeptidique. La formation de la première liaison osidique est catalysée par une ***glycogène synthase initiatrice***. La glycogénine y rajoute des résidus de glucose supplémentaires, reliés par des liaisons α(1-4) pour terminer le primer d'une longueur de 8 résidus de glucose environ (Fig. 221).

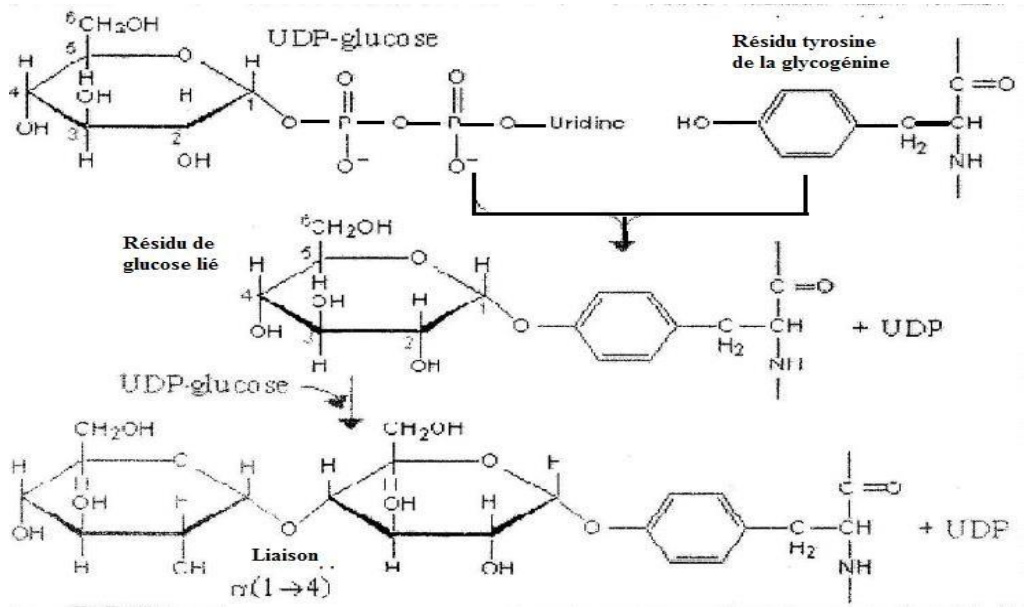


Fig. 221. Formation de l'UDPglucose.

d – Elongation de la chaîne par la glycogène synthase

L'élongation de la chaîne est assurée par la ***glycogène synthase*** qui transfère le résidu glucosyl de l'UDP-glucose à l'extrémité non réductrice de la chaîne du primer ou du glycogène en élongation et réalise de façon séquentielle la liaison α(1-4) suivant la réaction (Fig. 222):

$$\text{Glycogène (n glucose)} + \text{UDP-glucose} \longrightarrow \text{glycogène[(n+1)]glucose} + \text{UDP}$$

L'UDP est reconverti ensuite en UTP par une nucléoside diphosphate kinase en présence de l'ATP selon la réaction : $\text{ATP} + \text{UDP} \longrightarrow \text{UTP} + \text{ADP}$

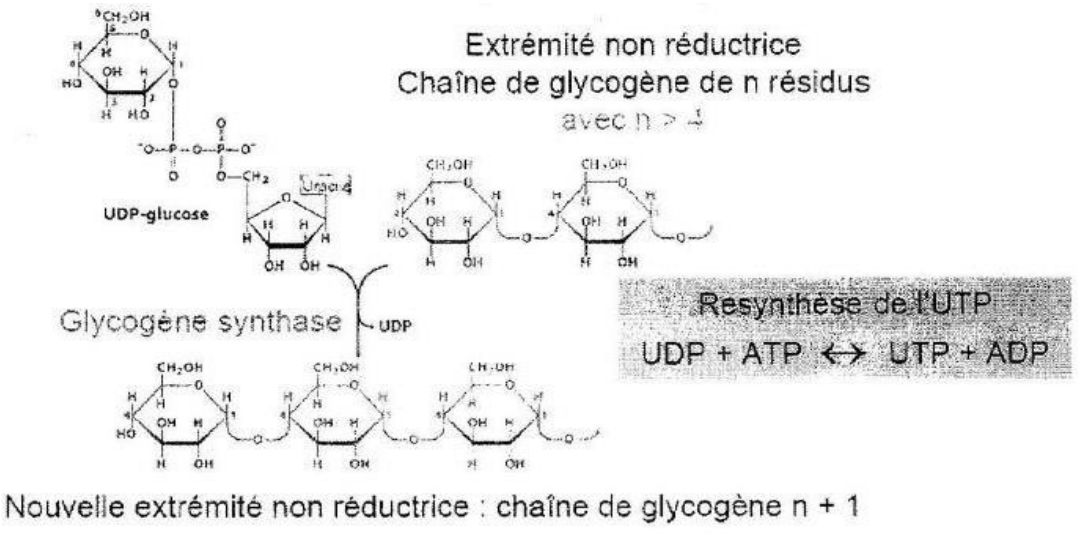


Fig. 222. Elongation de la chaîne de du glycogène par la glycogène synthase.

e– Formation des chaînes latérales

A tous les 8 résidus glucose sur la chaîne linéaire synthétisée par la ***glycogène synthase***, se forme une branche donnant au glycogène une structure fortement ramifiée, ce qui accroît le nombre d'extrémités non réductrices, favorables à l'activité de la glycogène phosphorylase au moment de la mobilisation des réserves glycogéniques (Fig. 223). Les ramifications sont assurées par une enzyme branchante: ***amylo(a-1,4 a-1,6) transglycosylase* ou *glycosyl(4,6)transférase*** (Fig. 223)**.** Elle prélève un oligoside de 5 à 8 résidus glucose de l'extrémité non réductrice de la chaîne en élongation et l'attache sur un résidu glucosyle de la chaîne principale par une liaison α(1-6).

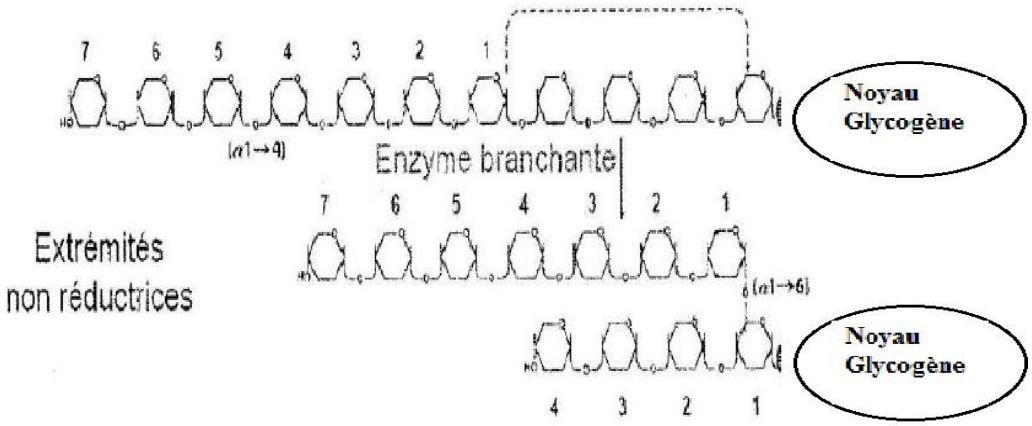
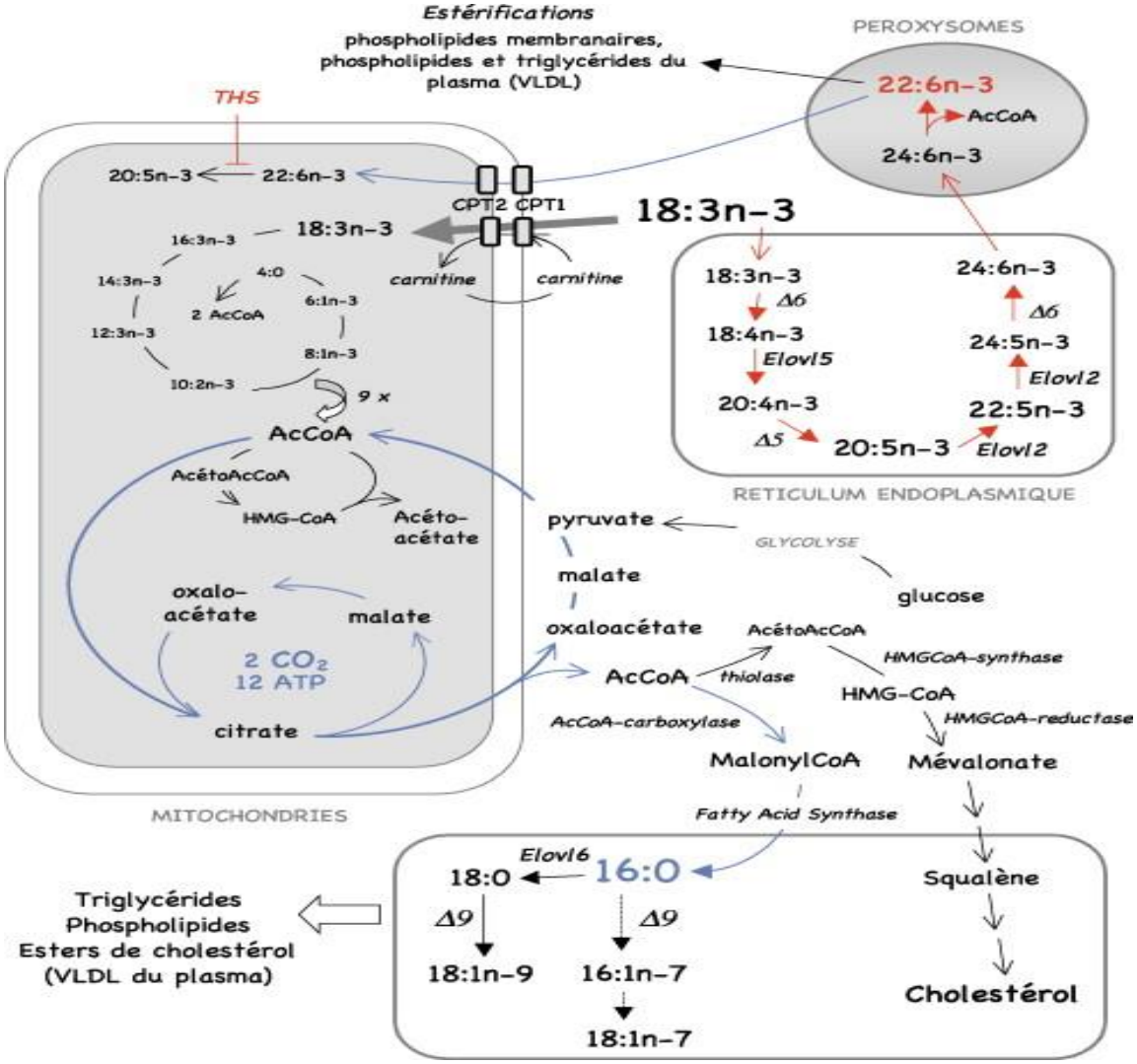


Fig. 223. Formation des ramifications des chaines de glycogène.

CHAPITRE XI :

METABOLISME DES ACIDES GRAS



CHAPITRE IX METABOLISME DES ACIDES GRAS

Le métabolisme des acides gras (AG) comprend leur catabolisme et leur synthèse. Les acides gras constituent des agents énergétiques très importants sur le plan quantitatif aussi bien chez les animaux que chez les végétaux. Ils sont oxydés dans de très nombreux tissus (tissu adipeux, foie, poumon, rein, cœur..). Les cellules peuvent en accumuler de très grandes quantités sous forme de triglycérides. Chez les vertébrés les lipides fournissent environ 40% de l'énergie lorsqu'ils sont soumis à un régime normal. Chez les animaux au jeûne ou en hibernation et les oiseaux migrateurs, ils constituent la seule source d'énergie. Les triglycérides représentent des formes de mise en réserve de l'énergie hautement concentrée. Ces lipides sont essentiellement stockés dans le cytoplasme des cellules adipeuses qui sont spécialisées dans leur synthèse. Ils sont véhiculés par le sang vers les sites d'utilisation. La séquence de réactions dans laquelle ils sont impliqués débute par une hydrolyse enzymatique par les lipases, puis par une dégradation préparatoire appelée ***ß-oxydation,*** avec transformation des acides gras en acétyl-CoA qui alimente ensuite le cycle tricarboxylique.

IX.1- DEGRADATION DES ACIDES GRAS (β-OXYDATION)

La **β-oxydation** est la réaction centrale du catabolisme des acides gras. Certains organes, comme par exemple, le foie et le coeur, couvrent plus de 50% de leurs besoins énergétiques grâce à l'oxydation des acides gras. Le nom de β-oxydation s'explique par le fait que la réaction débute au niveau du deuxième atome de carbone en commençant à compter à partir du groupement carboxyle. Cet atome est appelé C-β (il s'agit en fait du troisième carbone de la chaîne).

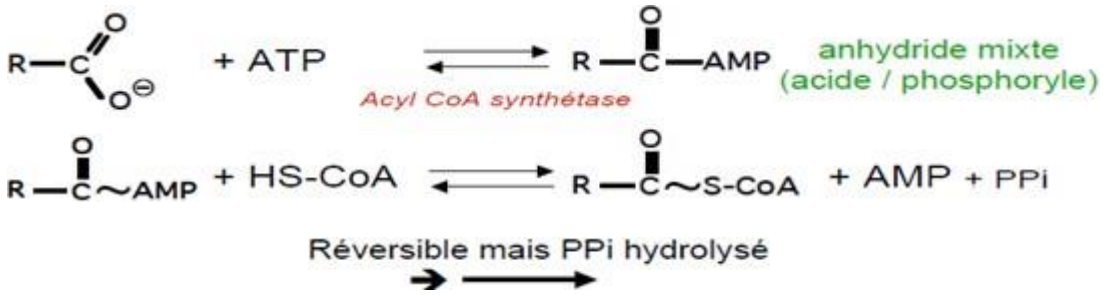
IX.1.1- La β-oxydation des acides gras saturés, à longue chaine et à nombre paire d'atomes de carbone

Pour être oxydés les acides gras à longue chaîne (nombre de carbones supérieur à 10) doivent d'abord être activés. Dans la mitochondrie l'acyle est transféré sur le coenzyme A dans l'espace intermembranaire par une ***acyl-CoA synthétase***, puis transporté dans la matrice par la navette acyl-carnitine à travers la membrane mitochondriale interne. Les acides gras à courte chaîne (nombre de carbones au plus égal à 10), peuvent être transportés directement dans la matrice et y subir leur activation par une **acyl-CoA synthétase matricielle**.

IX.1.1.1-Activation et entrée des acides gras dans la mitochondrie

a- Activation des acides gras par le coenzyme A

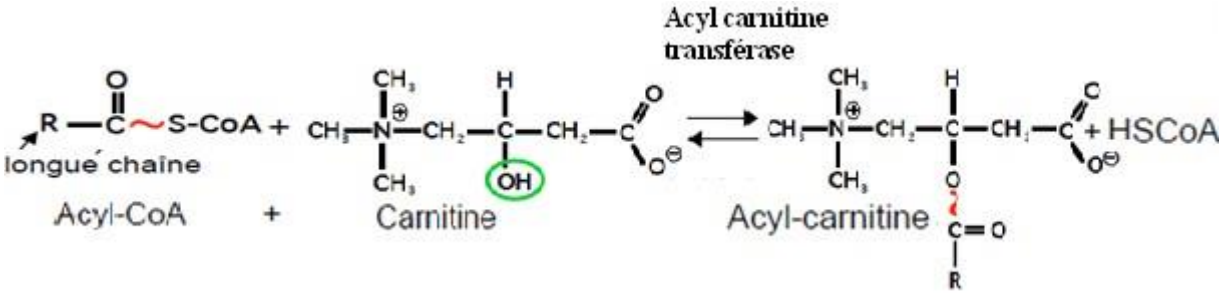
Les acides gras sont activés par leur fixation sur HSCoA. L'activation est catalysée par l'***acyl-CoA synthétase*** **(thiokinase).** Au cours de la réaction, l'ATP subit une coupure libérant du pyrophosphate et de l'AMP.



Le pyrophosphate est hydrolysé par une ***pyrophosphatase*** pour apporter l'énergie complémentaire à la formation de la liaison thioester. L'AMP est rephosphorylé ensuite en ADP puis en ATP par une **Adénylate kinase**.

b-Transfert sur la carnitine

Sous la forme d'acyl-CoA, les acides gras à longue chaîne ne peuvent traverser la membrane mitochondriale interne. Leur passage est facilité par la carnitine qui est un acide alcool azoté largement distribué synthétisé à partir de la lysine et de la méthionine. Le radical acyle est pris en charge par la carnitine. La réaction est catalysée par l'***acyl-carnitine transférase1*** (située sur la face externe de la membrane interne). L'acyl-carnitine et le HSCoA sont libérés dans l'espace inter-membranaire.



b- Transfert par la translocase

L'acyl-carnitine traverse la membrane mitochondriale grâce à l'action d'une ***acylcarnitine translocase*** (Fig. 224).

Dans la matrice mitochondriale le radical acyle est retransféré sur le HSCoA. La réaction est catalysée par l'***acyl-carnitine transférase 2***, située sur la face matricielle de la membrane

interne. L'acyl-CoA ainsi reconstitué devient le substrat des réactions qui vont se dérouler dans la matrice mitochondriale.

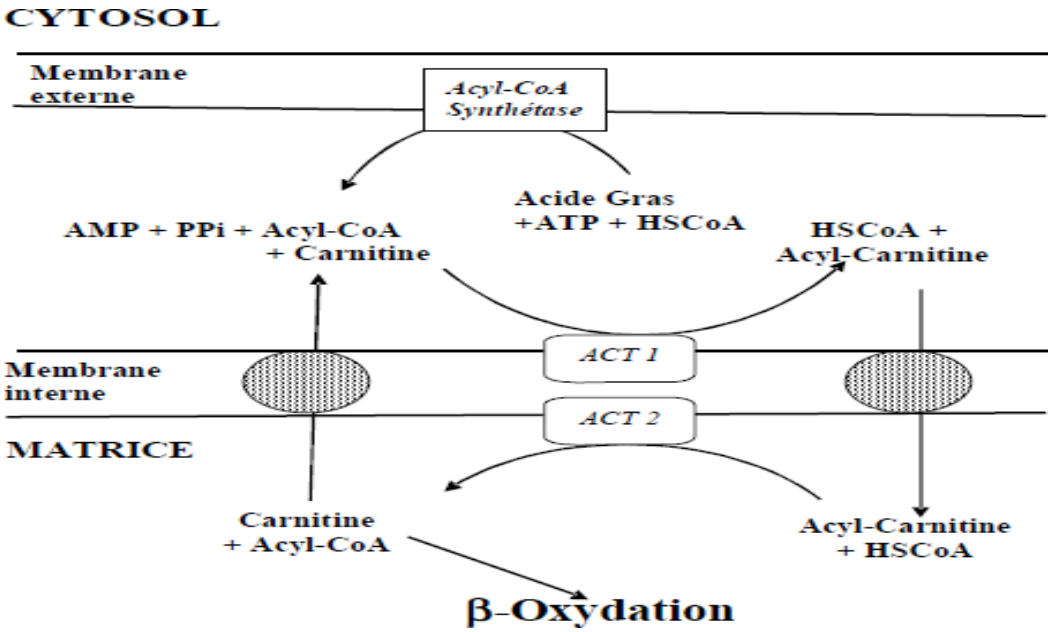


Fig. 224. Activation des acides gras à longue chaîne et transport du radical acyle dans la matrice mitochondriale par la carnitine. ACT = Acyl-carnitine transférase.

IX.1.1.2- Etapes de la β-oxydation des acides gras

La séquence des réactions se déroule en 4 étapes, appelée tour. Pour un acide gras à 2n carbones (n-1) tours sont nécessaires pour son oxydation complète en n acétyl-CoA (Fig. 225).

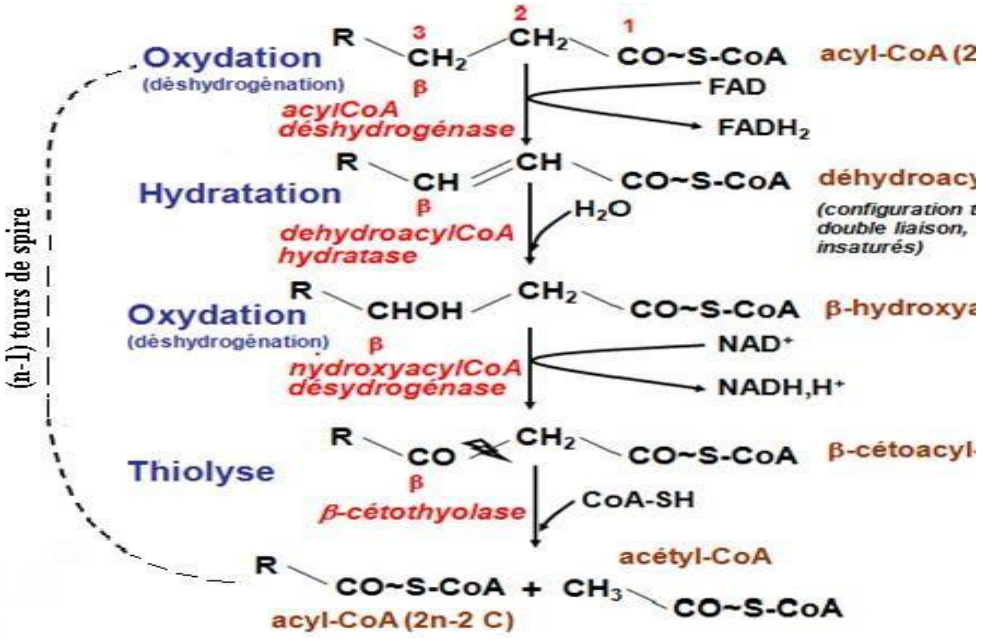
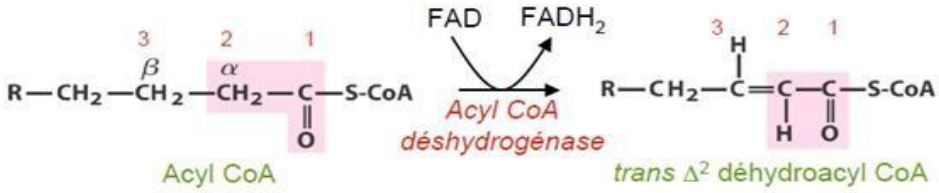


Fig. 225. Etapes de la β-oxydation des acides gras.

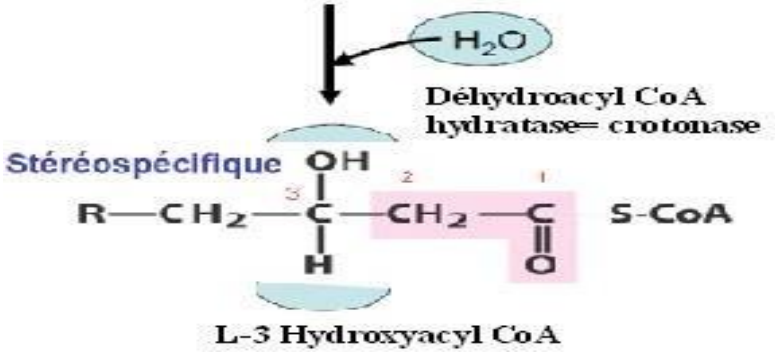
a- *Première déshydrogénation de l'Acyl-CoA*

Entre les carbones 2 et 3 de l'acyl-CoA, il se produit une déshydrogénation effectuée par l'***acyl-CoA déshydrogénase***, flavoprotéine à FAD, qui crée une double liaison.



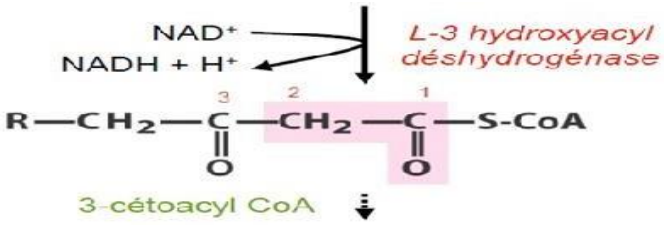
b- *Hydratation de la double liaison*

Elle est assurée par une ***énoyl-CoA hydratase***. Le produit obtenu est le L 3-hydroxyacyl-CoA. La fixation du radical OH est orientée sur le carbone 3.



b- *Deuxième déshydrogénation*

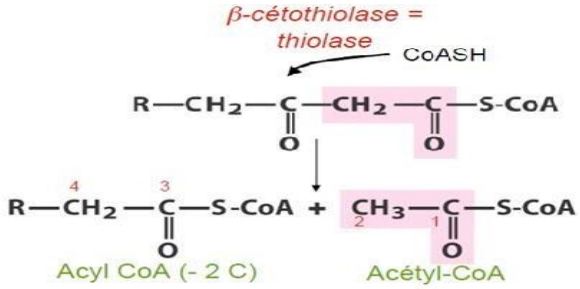
Elle porte sur le 3-hydroxyacyl-CoA. L'accepteur des hydrogènes est le NAD^+. L'oxydation de la fonction alcool conduit à une fonction cétone. L'enzyme est le **3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase** et le composé obtenu est le 3-cétoacyl-CoA :



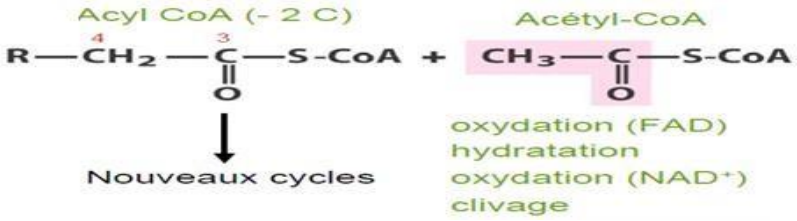
c- *Clivage de l'acide gras*

C'est la dernière réaction de la séquence. L'enzyme qui intervient est la ***ß-cétothiolase (lyase)***. L'atome de soufre du groupement thiol d'une molécule de CoA attaque le carbone de la fonction cétone en β et provoque la libération du **groupement acétyl** (thiolyse).

Au cours de la thiolyse en présence d'un HSCoA, il y a libération d'un acétyl-CoA et reformation d'un acyl-CoA dont la chaîne est privée de 2 carbones. Ce dernier acyl-CoA va servir de substrat pour le tour suivant.



A la fin de chaque tour, il y a libération d'un acétyl-CoA, d'un $FADH_2$ et d'un $NADH,H^+$ à l'intérieur de la matrice.



Si nous partons d'un acide gras à 2n carbones il faut (n-1) tours pour obtenir la ß-oxydation complète de l'acide gras avec la libération de n acétyl-CoA. Dans le cas d'un acide gras à (2n+1) carbones la ß-oxydation de l'acide conduit à la libération de (n-1) acétyl-CoA et d'une molécule de propionyl-CoA.

c- Bilan

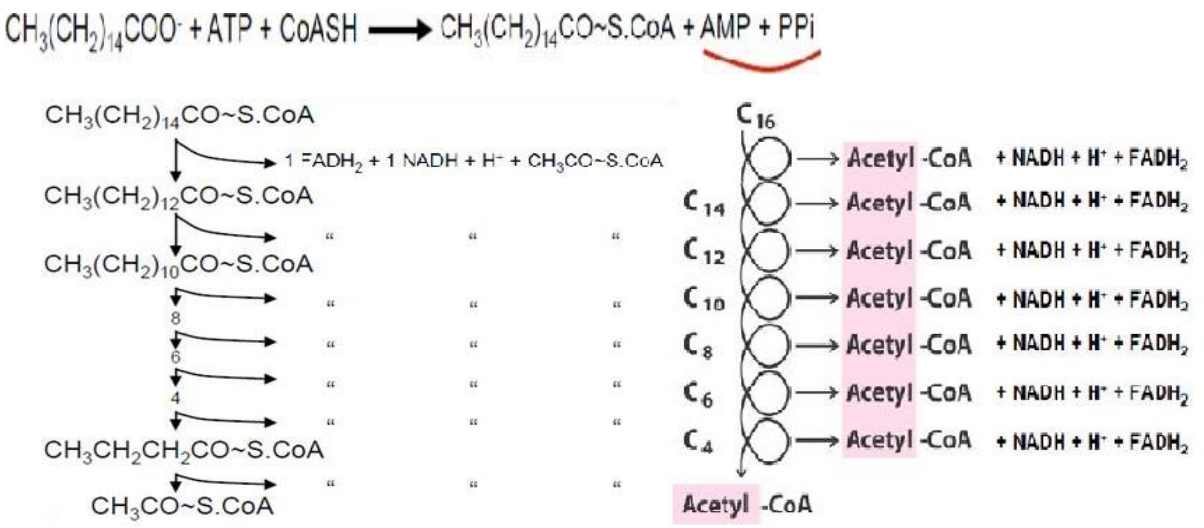
Le bilan de la dégradation d'un acide gras par β-oxydation est résumé dans le tableau 5.

Tableau 31: Bilan de la dégradation d'un acide gras par β-oxydation.

Nombre de carbones	**2n Carbones**	**(2n+1) Carbones**
Bilan de l'activation	2 liaisons phosphates	2 liaisons phosphates
Produits de la β-oxydation	(n-1) $FADH_2$	(n-1) $FADH_2$
	(n-1) $NADH,H^+$	(n-1) $NADH,H^+$
	n Acétyl-CoA	(n-1) Acétyl-CoA
		1 propionyl-CoA

Exemple

L'oxydation complète du palmitate : $CH_3(CH_2)_{14}COO^-$



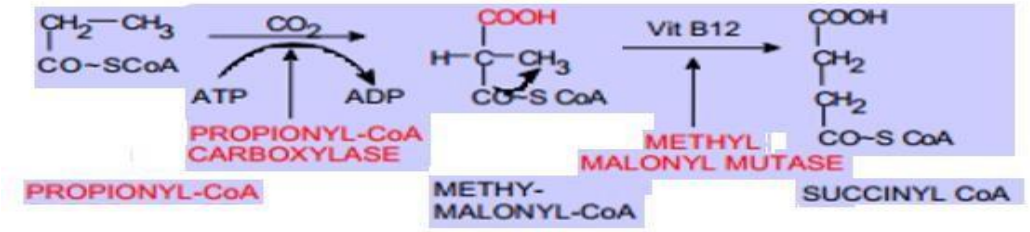
Palmitate + CoASH + ATP+ 7 FAD + 7 NAD^+ + 7 CoASH + 7H_2O → 8 CH_3CO~S.CoA + AMP + PPi + 7 $FADH_2$ + 7NADH,H^+

IX.1.2- La ß-oxydation des acides gras insaturés

Alors que l'oxydation des acides gras saturés à nombre paire d'atomes de carbone se déroule sans problème, **les acides gras saturés à nombre impaire d'atomes de carbone** et les acides gras insaturés nécessitent des enzymes supplémentaires.

Les acides gras à nombre impair de carbones sont rares et ne se trouvent que dans quelques organismes marins et dans les végétaux. Ils ne sont certes pas synthétisés par le corps humain, mais sont toutefois présents dans l'alimentation et doivent donc être transformés.

Dans le cas de ces acides gras, il subsiste après le dernier cycle de la β-oxydation non pas de **l'acétyl-CoA** (composé en C2), mais du **propionyl-CoA** (composé en C3). Le propionyl-CoA subit trois réactions supplémentaires pour donner finalement du **succinyl-CoA** qui peut entrer dans le cycle de Krebs (Fig. 226).



Les acides gras insaturés sont dégradés de la même façon que les acides gras saturés après leur activation et leur liaison au coenzyme A. Les acides gras insaturés contiennent des doubles liaisons de configuration *cis (cis-Δn)*.

Les acyl-CoA sont dégradés par les enzymes ≪habituelles≫ de la β-oxydation jusqu'à l'approche de la double liaison. Là, il y a 2 possibilités.

a. *Cas d'une double liaison numérotée paire*

Pour la dégradation des acides gras insaturés (avec des doubles liaisons), deux enzymes supplémentaires sont nécessaires : une réductase et une isomérase.

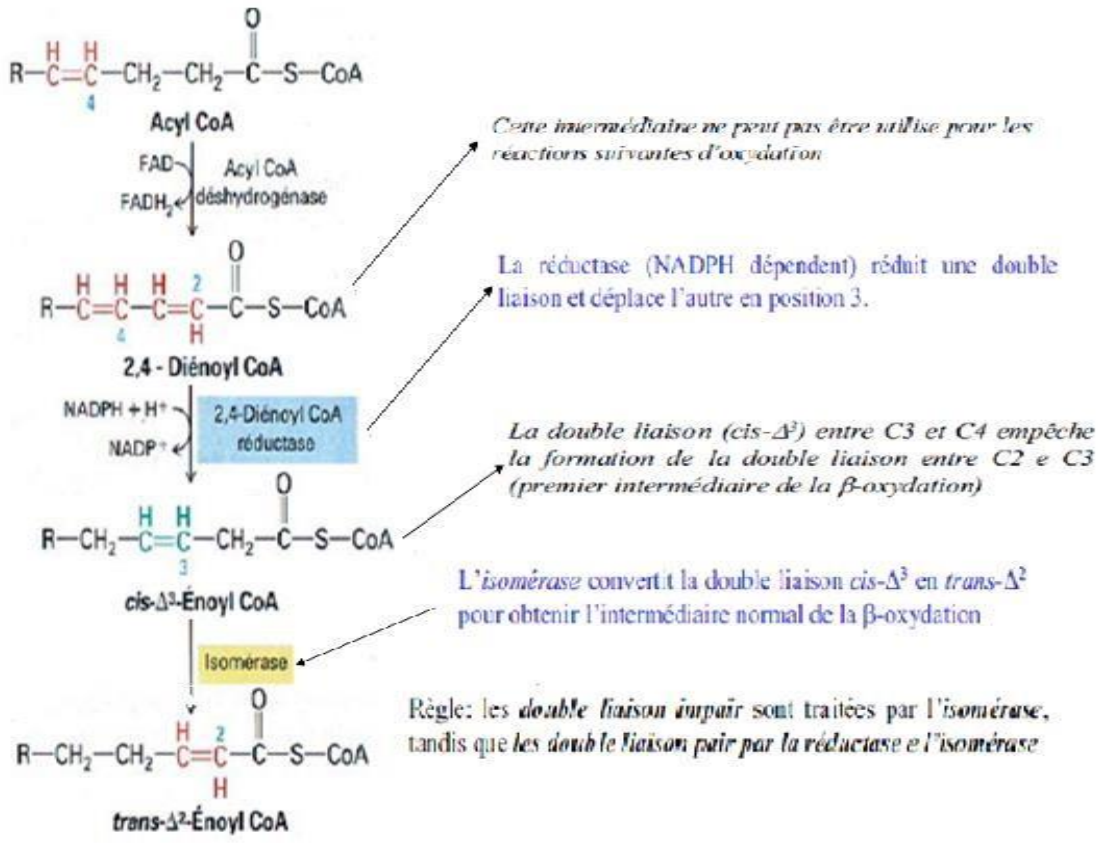
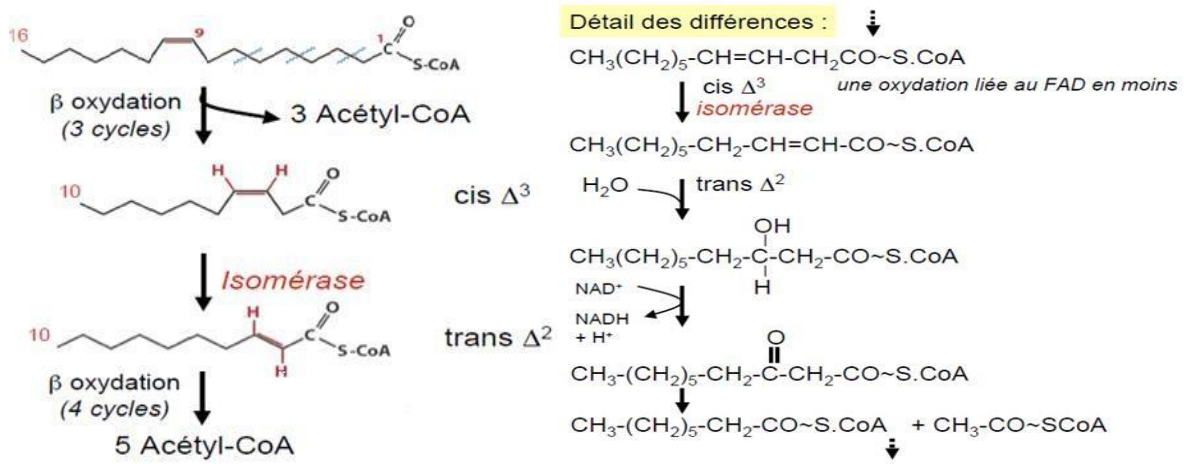


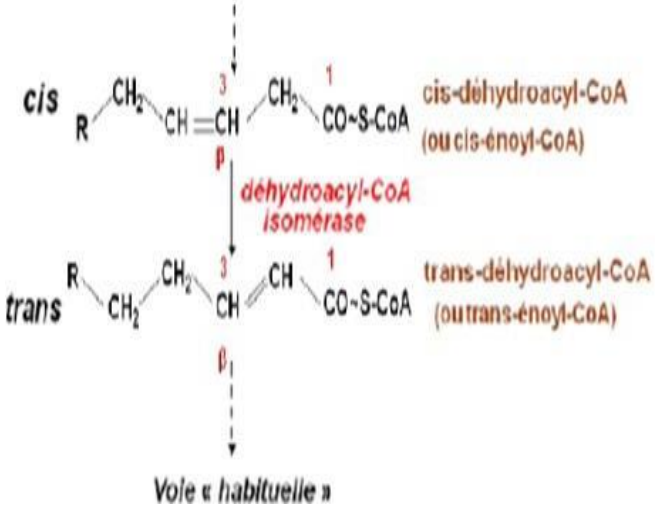
Fig. 226. La ß-oxydation des acides gras insaturés.

Exemple : Palmitoléate (Cis Δ^9 hexadécanoate)



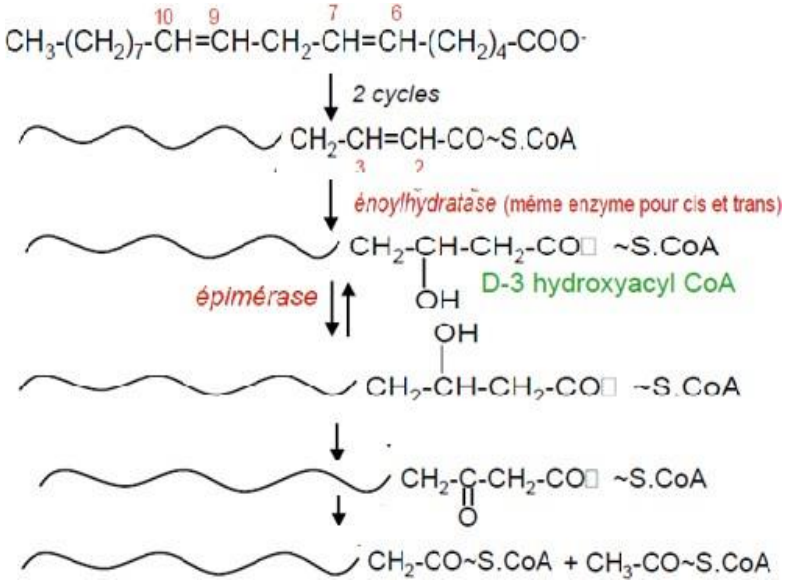
b. *Cas d'une double liaison numérotée impaire*

Une isomérase déplace la double liaison et en même temps transforme l'isomérie cis en trans, ce qui permet à la β-oxydation de se poursuivre de façon habituelle.



c- Oxydation des acides gras polyinsaturés

Exemple : C18 Cis-Δ^6 , Cis-Δ^9



Bilan chimique de dégradation d'un acide gras insaturé possédant x doubles liaisons (CnΔ^x)

$$AG\ (Cn\Delta^x) + 2\ ATP + [n/2]\ HSCoA + ([n/2]-1-x)\ FAD + ([n/2]-1)\ NAD^+ + ([n/2]-1)\ H_2O \rightarrow [n/2]\text{Acétyl CoA} + ([n/2]-1-x)\ FADH_2 + ([n/2]-1)NADH,H^+ + 2\ AMP + 2\ Pi$$

Exemple :

$$\text{Oléate} + 2\ ATP + 9\ HSCoA + 7\ FAD + 8\ NAD^+ + 8\ H_2O \rightarrow$$
$$9\ \text{Acétyl CoA} + 7\ FADH_2 + 8\ NADH,H^+ + 2\ AMP + 2\ Pi$$

d- *Devenir du glycérol, du propionyl-CoA et des acétyl-CoA*

Devenir du glycérol

Le glycérol issu de l'hydrolyse des triglycérides ou des phospholipides peut être réutilisé comme précurseur de la synthèse des lipides ou du glucose (néoglucogenèse) ou suivre la voie de la glycolyse. Il subit la séquence des réactions qui suivent :

Phosphorylation du glycérol

La réaction est catalysée par le ***glycérol kinase***. Le glycérol 3-P formé peut être prélevé pour la synthèse des lipides : Glycérol + ATP ⟶ glucérol 3-Ⓟ + ADP

Déshydrogénation du glycérol 3-P

Elle est catalysée par la ***glycérol-P déshydrogénase***. Il se forme de la 3- P-dihydroxyacétone.

Glycérol 3-Ⓟ + NAD^+ ⟷ 3-Ⓟdihydroxyacétone + $NADH,H^+$

Isomérisation en glycéraldéhyde 3-P

L'enzyme qui intervient est la ***phosphotriose isomérase*** rencontrée dans la glycolyse. Le glycéraldéhyde 3-P peut suivre la voie de la glycolyse ou celle de la néoglucogenèse.

3-Ⓟdihydroxyacétone ⟷ glycéraldéhyde 3-Ⓟ

Devenir du propionyl-CoA

A l'issue de la ß-oxydation On obtient, un résidu final qui est le propionyl-CoA. Ce dernier subit une séquence de réactions qui le transforment en succinyl-CoA.

Carboxylation et formation du 2-méthyl malonyl-CoA

La réaction est catalysée par la ***propionyl-CoA Carboxylase.***

$$CH_3\text{-}CH_2\text{-}CO\sim SCoA + CO_2 + ATP \longrightarrow \overset{\overset{CH_3}{|}}{COOH\text{-}CH\text{-}CO}\sim SCoA + ADP$$

Isomérisation du 2-méthyl malonyl-CoA

Le 2-méthylmalonyl-CoA est transformé en succinyl-CoA par la ***2-méthyl malonyl-CoA carboxymutase,*** intermédiaire du cycle de Krebs et susceptible d'être converti en malate, précurseur de la néoglucogenèse.

$$\overset{\overset{CH_3}{|}}{COOH\text{-}CH\text{-}CO}\sim SCoA \longrightarrow HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CO\sim SCoA$$

Devenir des acétyl-CoA

Oxydation dans le cycle de Krebs

Les acétyl-CoA sont complètement oxydés en CO_2 suivant la réaction globale déjà vue :

$$\text{Acétyl-CoA} + 3\ NAD^+ + FAD + GDP + Pi \rightarrow 2\ CO_2 + HSCoA + 3\ NADH,H^+ + FADH_2 + GTP$$

IX.2- SYNTHESE DES ACIDES GRAS

La biosynthèse des AG (ou lipogenèse) est la voie principale de mise en réserve énergétique et est suivie de la formation de triglycérides TG. Selon l'approvisionnement énergétique de l'organisme il y a soit production d'ATP à partir d'acétyl-CoA, soit **synthèse des acides gras.**

La voie a lieu dans le cytosol de la plupart des cellules ; le foie et le tissu adipeux possèdent une capacité de synthèse de novo des AG particulièrement importante (90% du processus). Par ailleurs, la lipogenèse peut être réalisée à minima dans tous les tissus pour la construction des membranes cellulaires.

Le principal produit de cette biosynthèse cytosolique est **l'acide palmitique**, acide gras saturé à 16 atomes de carbone (C16 :0), sous forme de palmitate. L'**acide stéarique** (C18 :0), l'acide gras suivant en taille, est produit également, mais en plus petite quantité.

L'homme ne peut synthétiser que deux acides gras mono-insaturés: l'**acide palmitoléique** (acide *cis-9*-hexadécénoïqe) et l'**acide oléique** (acide *cis-9*-octadécénoïque), car son génome ne code pas pour les enzymes désaturases Δ 12 et Δ15. Ces enzymes sont indispensables pour insérer des doubles liaisons au-delà du carbone 9 de la chaîne carbonée. Ceci explique pourquoi les acides gras polyinsaturés, comme l'**acide linoléique** et l'**acide linolénique,** sont **essentiels** et servent de point de départ à d'autres synthèses.

Les acides gras sont fixés sur le glycérol avant d'être libérés dans la circulation sanguine au sein de **lipoprotéines.** Ils sont stockés avec les acides gras de l'alimentation dans le tissu adipeux sous forme de triglycérides.

La synthèse des AG n'est pas possible par simple réversibilité de la β-oxydation. Toute biosynthèse comme la synthèse des lipides nécessite : de l'énergie apportée par l'ATP, du pouvoir réducteur, fourni sous forme de NADPH, H^+ provenant essentiellement du fonctionnement de la voie des pentoses phosphates et des précurseurs, le seul précurseur de la synthèse des acides gras est l'acétyl-CoA.

L'acétyl-CoA provient de : la ß-oxydation des acides gras (intra-mitochondriale), de l'oxydation du pyruvate (mitochondriale) et de la dégradation oxydative des acides aminés dits cétogènes.

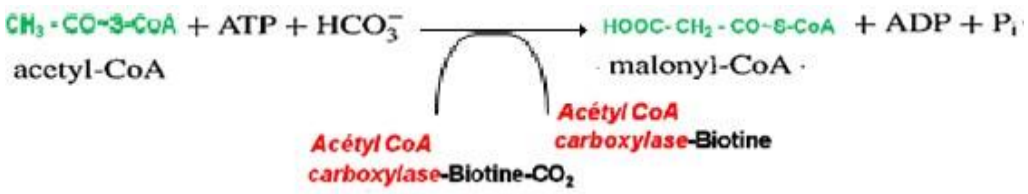
L'acétyl-CoA, quelle que soit son origine, est formé dans la mitochondrie. Pour servir de précurseur dans le cytosol à la synthèse des acides gras, il doit être transporté de la matrice mitochondriale dans le cytosol. Seul le radical acétyle est transporté à travers la membrane interne par le système citrate.

IX.2.1. *Etapes de la biosynthèse des AG (lipogenèse)*

La synthèse des acides gras est faite de 3 phases à partir de l'acétyl-CoA: Activation, élongation et terminaison.

IX.2.2. *Activation et formation du malonyl CoA*

L'acétyl-CoA est activé avant la synthèse proprement dite d'acides gras. Cette réaction est dans le même temps la réaction-clé de toute la chaîne de réactions. Le malonyl CoA, donneur d'unités acétyle, est synthétisé à partir de l'acétyl CoA dans une réaction de carboxylation catalysée par une *acétyl CoA carboxylase* ACC à coenzyme biotine et en présence d'ATP selon le schéma réactionnel ci-après.



Il s'agit de la réaction d'engagement dans la voie de biosynthèse des AG et le plus important point de régulation (étape limitante). Toutes les réactions qui suivent ont lieu au sein du complexe multienzymatique de *l'Acide Gras Synthase I.*

IX.2.3. *Élongation de la chaîne carbonée de l'AG*

Elle a lieu au sein du **complexe de l'acide gras synthase I (AGS I ou FAS I).** Il s'agit d'un homodimère dont chaque monomère est constitué d'une chaîne polypeptidique dotée de sept activités enzymatiques (acétyl CoA-ACP transférase, malonyl CoA-ACP transférase, β-cétoacyl-ACP synthase, β-cétoacyl-ACP réductase, Dβ-hydroxyacyl-ACP déshydratase, enoyl-ACP réductase et palmityl thioestérase) liées à une protéine transporteuse de groupements acyle dite ACP (Acyl Carrier Protein). Les intermédiaires de la voie demeurent liés par covalence à l'un des deux groupements thiols -SH du complexe (Fig. 227).

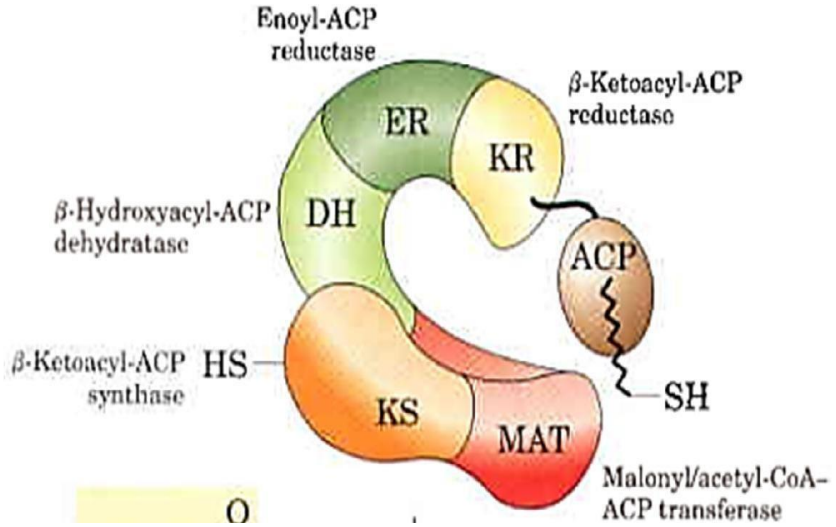


Fig. 227. Complexe multienzymatique de l'AGS I

L'élongation est réalisée en plusieurs étapes :

- Chargement initial des groupements acétyle et malonyle sur l'AGS I ;
- Élongation proprement dite de la chaîne carbonée ;
- Libération de l'acide palmitique.

a. *Chargement des groupements sur l'AGS I :*

Il se fait en trois réactions (Fig. 228) :

1. Transfert du groupement acétyle de l'acétyl CoA à l'ACP catalysé par l'*acétyl CoAACP transférase :*

$$\text{Acétyl-CoA + ACP-SH} \longrightarrow \text{acétyl-S-ACP + CoASH}$$

2. Transfert de ce groupement acétyle de l'ACP au groupement -SH de la β-cétoacyl-ACP synthase (CS) :

$$\text{Acétyl-S-ACP + CS-SH} \longrightarrow \text{acétyl-S-CS + ACP-SH}$$

L'ACP est régénéré pour capter le groupement malonyle.

3. Transfert du groupement malonyle du malonyl CoA à l'ACP catalysé par la malonylCoA-ACP transférase :

$$\text{Malonyl-CoA + ACP-SH} \longrightarrow \text{malonyl-S-ACP + CoASH}$$

Le complexe de l'AGS I ainsi chargé, les groupements acétyle et malonyle ainsi activés (par leurs liaisons aux groupements -SH de l'AGS I), le processus d'élongation proprement dite peut commencer.

b- Elongation de la chaîne carbonée étape proprement dite

Il s'agit d'une séquence répétée de quatre réactions récurrentes: Condensation/ Réduction/ Déshydratation/ Réduction (Fig. 228).

1. Réaction 1 : Condensation des groupements acétyle et malonyle en acétoacétyl-ACP catalysée par la β-cétoacyl-ACP synthase dite enzyme de condensation (CSou CE) ;

2. Réaction 2 : Réduction du groupement carbonyle en C3 de l'acétoacétyl-ACP en Dβ-hydroxybutyryl-ACP catalysée par la β-cétoacyl-ACP réductase à coenzyme NADP ;

3. Réaction 3 : Déshydratation en C2-C3 du Dβ-hydroxybutyryl-ACP pour produire le Transδ2 butenoyl-ACP catalysée par la Dβ-hydroxyacyl-ACP déshydratase ;

4. Réaction 4 : Réduction de la double liaison du Transδ2 butenoyl-ACP pour produire le butyryl-ACP catalysée par l'Enoyl-ACP réductase à coenzyme NADP.

La synthèse du butyryl-ACP (4C) complète un tour de la voie de biosynthèse des AG. Ensuite, il y a transfert du groupement butyryle de l'ACP au groupement -SH de la β-cétoacyl ACP synthase (CS) qui a fixé initialement le groupement acétyle et un transfert du groupement malonyle du malonyl CoA sur l'ACP. Ceci va initier le cycle suivant de 04 réactions (condensation entre les groupements butyryle et malonyle, réduction, déshydratation, réduction) allongeant la chaîne grasse de 2C supplémentaires.

Pour des raisons qui restent encore très peu élucidées, l'élongation de la chaîne grasse s'arrête à 16 C, ainsi au bout de 7 cycles le palmityl-S-ACP est produit.

IX.2.1.3. Terminaison (Libération de l'acide palmitique)

Les réactions d'allongement sont terminées quand la chaîne est composée de 16 carbones. L'acide palmitique, acide gras saturé à nombre pair d'atomes de carbone, est libéré de l'ACP par une réaction d'hydrolyse catalysée par la palmityl thioestérase :



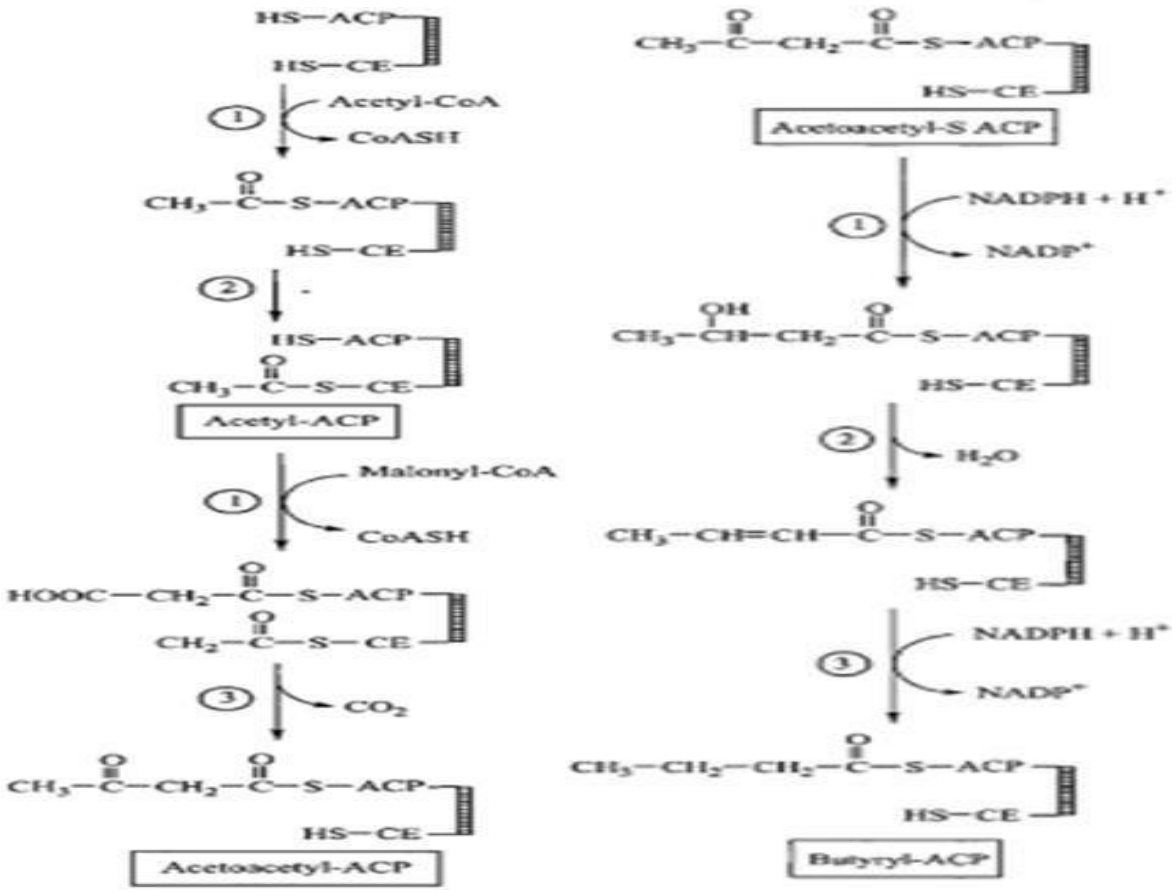


Fig. 228. (A) Chargement de l'AGSI et condensation des 2 substrats initiaux (acétyle et malonyle), (B) Réaction de réduction, déshydratation et réduction.

IX.2.2. Destinées de l'acide palmitique

L'acide palmitique produit par la lipogenèse, une fois activé en palmitoyl CoA, aura, en fonction de la situation métabolique, 02 destinées :

1. Élongation et/ou désaturation ;
2. Estérification dans les triglycérides.

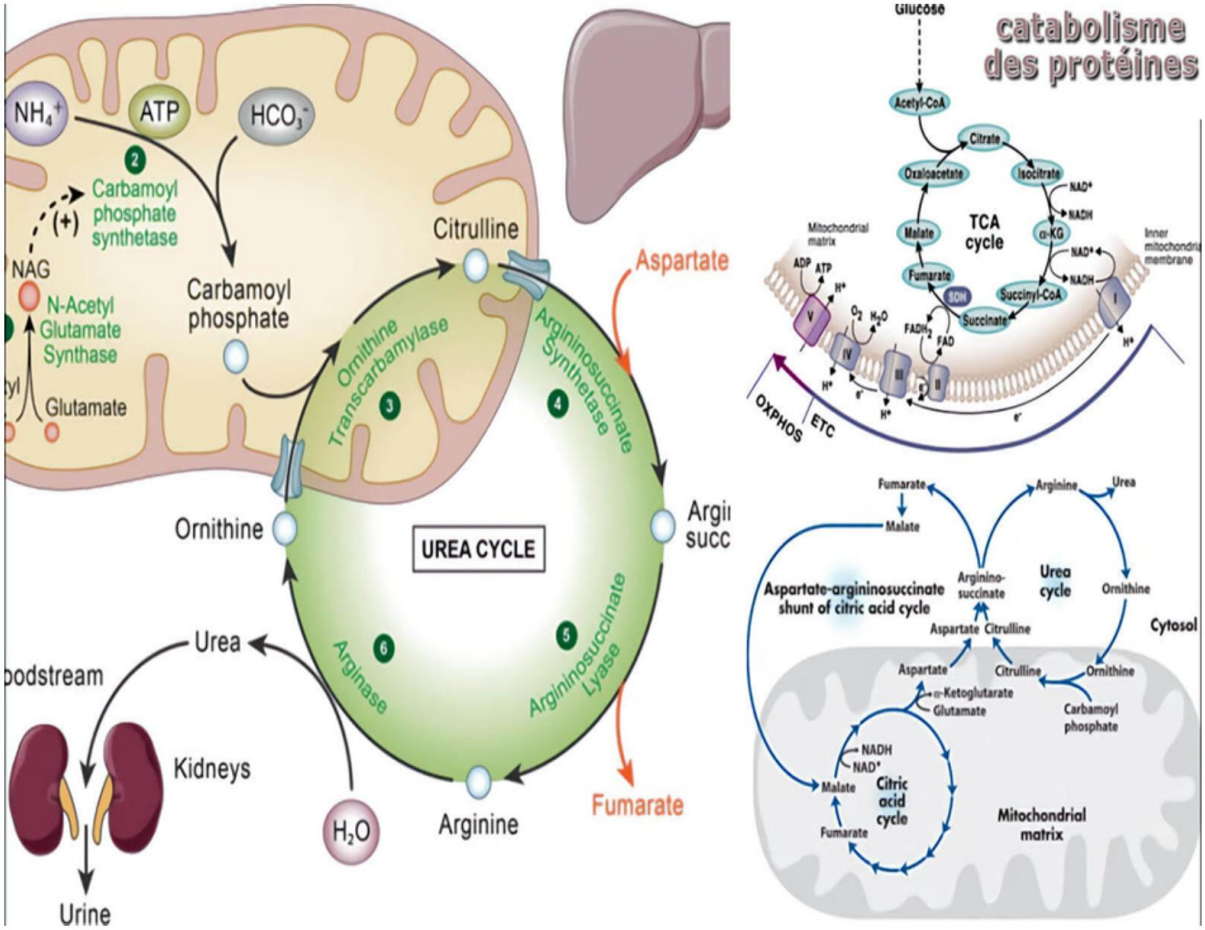
Bilan de la biosynthèse de l'acide palmitique :

Le bilan métabolique de la biosynthèse de l'acide palmitique est le suivant :

$$8CH_3\text{-}CO\text{-}S.CoA + 7\ ATP + 14\ NADPH, H^+ \xrightarrow[7\ tours]{} CH_3\text{-}(CH_2)_{14}\text{-}CO\text{-}S\text{-}ACP + 8\ CoA.SH + 7\ ADP + 7\ Pi + 7H_2O + 14\ NADP$$

CHAPITRE X :

METABOLISME DES PROTEINES ET DES ACIDES AMINES



CHAPITRE X Métabolisme des protéines et des acides

L'organisme humain renferme des milliers de protéines différentes, qui jouent le rôle de «machines » dans une multitude de fonctions physiologiques, allant du transport de l'oxygène (hémoglobine) à la catalyse des réactions chimiques (enzymes), en passant par la motricité (actomyosine), l'immunité (immunoglobulines), et la fonction endocrinienne, puisque plusieurs hormones, leurs transporteurs et récepteurs sont des protéines.

L'ensemble de ces protéines (10 kg chez un homme adulte) subit un remodelage incessant (300 g/j chez un adulte jeune), et régulé de façon fine par les hormones.

Les acides aminés, briques de construction dans la synthèse des protéines, sont issus de la protéolyse des protéines alimentaires ou corporelles, et, pour les acides aminés non essentiels, d'une synthèse endogène de novo. Ils sont désormais considérés non seulement comme des pièces du gigantesque puzzle du turnover protéique, mais aussi comme des régulateurs métaboliques ou «pharmaco-nutriments ».

Le "turn-over" des protéines tissulaires est de 1 à 2%. C'est à dire que 1 à 2% des protéines tissulaires sont dégradés en acides aminés. 75% des acides aminés obtenus servent à synthétiser d'autres protéines. Le reste est soit dégradé sous forme de déchets (urée), soit on en fait des glucides ou des corps cétoniques. Ce qui signifie que la perte nette journalière en protéines est de 30/40g. Pertes en azote de 5 à 7g/jour.

Seuls 20 acides aminés participent à la constitution des protéines. C'est un rôle "plastique" par opposition au rôle "énergétique" des glucides et des lipides (Fig. 229).

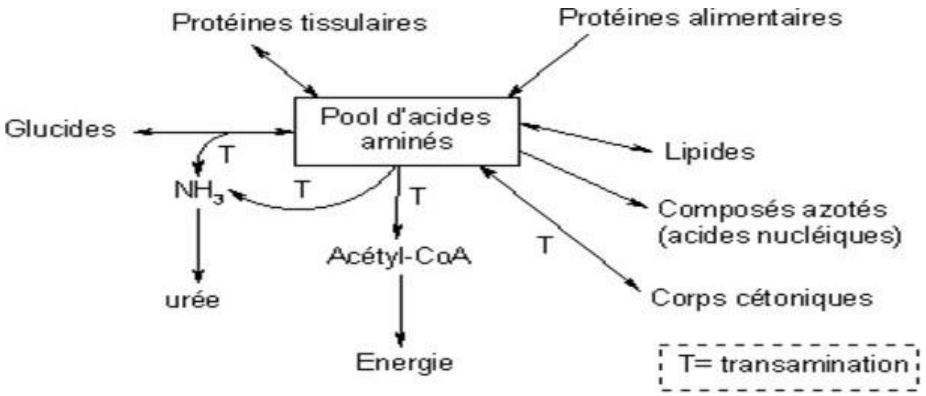


Fig. 229. Aperçu général du métabolisme des protéines.

X.1. Digestion des protéines alimentaires

L'apport alimentaire de protéines est de 60 à 90 g par jour soit un apport de 10 à 12g d'azote. Les protéines sont dégradées et transformées en acides aminés constitutifs sous l'action des enzymes gastriques, pancréatiques et intestinales qui sont de deux types :

- des endopeptidases : pepsine, trypsine, chymotrypsine

- des exopeptidases : amino et carboxypeptidases.

Les acides aminés libérés sont absorbés par la bordure en brosse des entérocytes de la muqueuse intestinale; ils arrivent au foie par la veine porte. Le foie reçoit également les acides aminés provenant du métabolisme périphérique.

X.1.1. Digestion dans l'estomac

L'estomac secrète un suc gastrique qui contient de l'acide chlorhydrique et une pepsinogène (proenzyme). L'acide chlorhydrique, trop dilué pour assurer une action hydrolytique, fonctionne comme un bactéricide et dénature les protéines pour permettre une attaque efficace des protéases. Le pepsinogène est activé par clivage d'une séquence des acides aminés d'inactivation sous l'action de l'acide chlorhydrique ou par autocatalyse sous l'action de la pepsine. La pepsine est une endopeptidase, stable en milieu acide, qui libère des peptides et quelques acides aminés (Fig. 230).

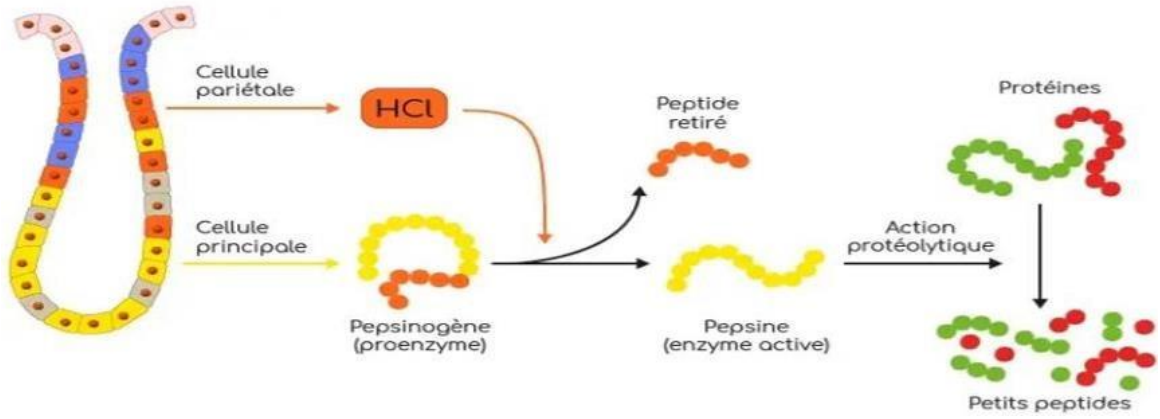


Fig. 230. Digestion protéolytique des protéines alimentaires par la pepsine

X.1.2. Digestion par les enzymes pancréatiques

Les polypeptides formés à l'issue de l'action de la pepsine vont subir en entrant dans l'intestin grêle l'action des enzymes pancréatiques qui vont les réduire en oligopeptides et quelques acides aminés. La libération et l'activation des proenzymes sont sous le contrôle de deux hormones, la cholécystokinine et la sécrétine, rencontrées dans le tractus digestif. Une entéropeptidase ou entérokinase, synthétisée par les cellules muqueuses intestinales et présente à leur surface, active la trypsine en clivant le trypsinogène pour lui retirer un hexapeptide à

partir de l'extrémité N-terminale. La trypsine devient un activateur de toutes les autres enzymes pancréatiques libérées aussi sous forme de proenzymes (Fig. 331). Chacune des enzymes pancréatiques est spécifique de la liaison peptidique hydrolysée.

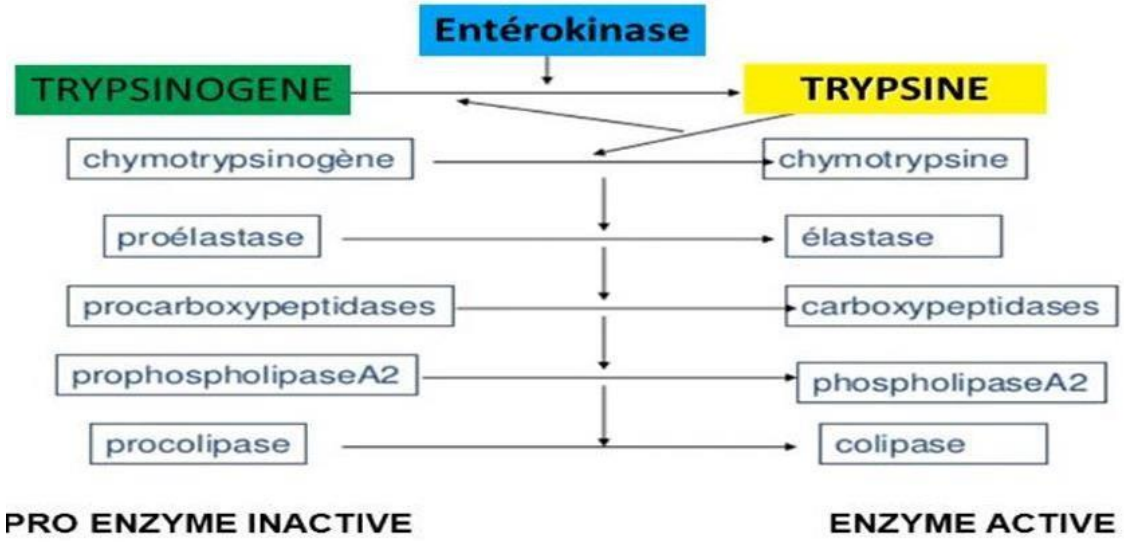


Fig. 331. Activation en cascade des enzymes protéolytiques par la trypsine.

X.1.3. Digestion par les enzymes de l'intestin grêle

La muqueuse intestinale produit des aminopeptidases qui hydrolysent les oligopeptides et libèrent séquentiellement, à partir de l'extrémité N-terminale, des acides aminés libres.

X.1.3.1. Absorption des acides aminées libres et des dipeptides

A la fin de la digestion, les acides aminés et les dipeptides digérés par les différentes enzymes de la digestion sont absorbés au niveau de l'intestin grêle. Les dipeptides sont hydrolysés en acides aminés dans le cytosol des cellules intestinales. Les acides aminés sont excrétés dans la veine porte et acheminés vers le foie. Ils y sont métabolisés ou libérés dans la circulation générale.

X.2. Devenir des acides aminés dans l'organisme

Il est double. Ils participent à des synthèses ou sont catabolisés.

X.2.1. Dégradation des acides aminés

Dénommé aussi catabolisme oxydatif des acides aminés, la dégradation irréversible des acides aminés ne doit pas être confondue avec la protéolyse.

Contrairement aux glucides et lipides, les acides aminés en excès ne peuvent être stockés, ils sont alors rapidement dégradés par transamination ou oxydation pour donner un ion ammonium et un squelette carboné.

L'ion ammonium est éliminé par excrétion ou par l'uréogenèse ou recyclé pour la synthèse d'un autre acide aminé. Le squelette carboné peut aussi être réutilisé pour reformer

l'acide aminé correspondant ou servir de précurseurs soit à la synthèse des glucides (cas des squelettes des acides aminés dits glycoformateurs), soit à la synthèse des acides gras (cas des squelettes des acides aminés dits cétogènes).

X.2.2. Elimination du groupement amine NH_2

La première étape de catabolisme des acides aminés est l'enlèvement de l'azote aminé. Elle conduit à la production d'un composé toxique pour le système nerveux central : l'ammoniac (NH_3), celui-ci éliminé de l'organisme sous forme :

- D'urée : uréogenèse hépatique, voie majeure (4/5 de l'azote éliminé).
- De NH_4^+ : ammoniogenèse rénale, voie mineur (1/5 de l'azote éliminé).

Le départ du groupement aminé fait intervenir 3 types de réactions :

A. La transamination

La transamination ou l'aminotransfert est la réaction générale du métabolisme des acides aminés car elle intervient aussi bien dans leur catabolisme que dans leur synthèse.

C'est un processus qui conduit à un échange du groupement α-aminé entre un acide aminé et un acide α-cétonique (Fig. 232). Les enzymes qui catalysent de telles réactions sont appelées aminotransférases ou transaminases. La réaction catalysée est réversible. Le cofacteur impliqué est le pyridoxal phosphate (groupement prosthétique de toutes les aminotransférases). Il dérive de la vitamine B_6. Dans les réactions de transamination orientées vers la dégradation des acides aminés, l'accepteur du groupement α-aminé est toujours l'α-cétoglutarate. Il en résulte la formation d'un glutamate. Tous les acides aminés participent à la réaction de transamination excepté la lysine.

Le but est de collecter les groupements amines à partir des différents acides aminés sous forme d`un seul d`entre eux ``L- glutamate´´ qui les canalisent soit vers les voies de biosynthèses soit l'excrétion sous forme d`urée.

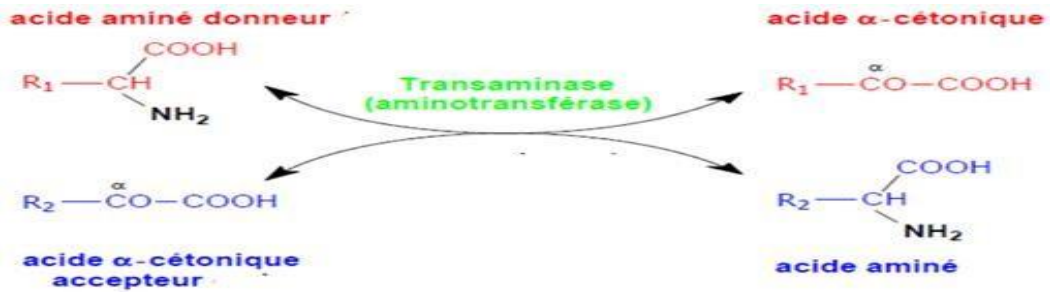
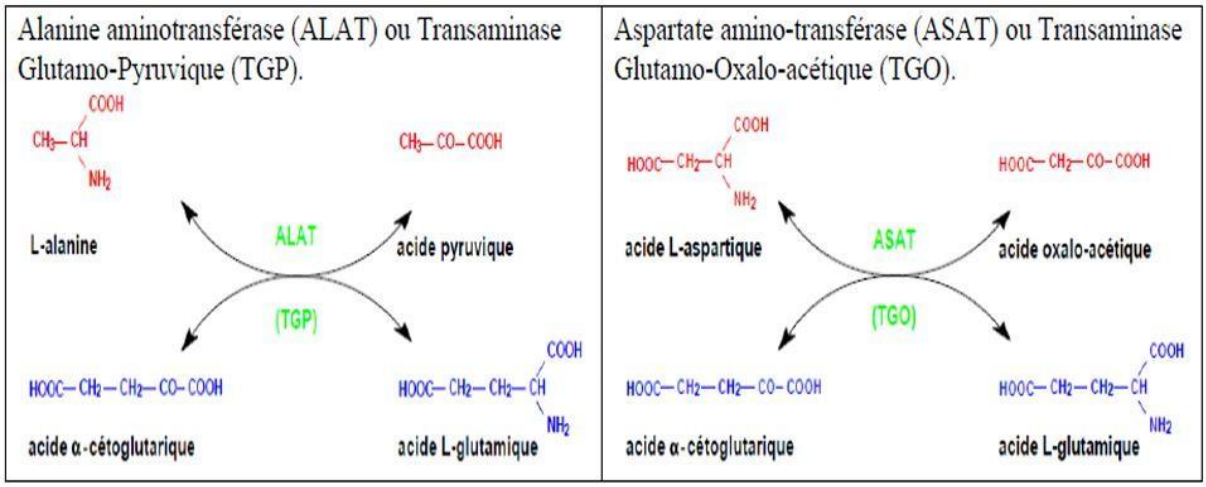


Fig. 232. Schéma général de la réaction catalysée par les transaminases.

Parmi les transaminases, deux sont très importantes :



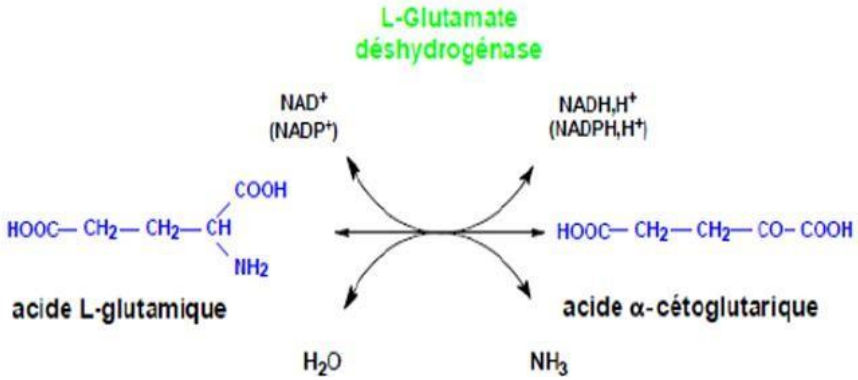
B. Désamination oxydative du L- glutamate

Le L-glutamate, produit par les réactions de transamination, est transporté du cytosol aux mitochondrie pour subir une désamination oxydative. Contrairement à la transamination qui est une réaction de transfert du groupement α-aminé, la désamination oxydative le libère sous forme d'ammoniac libre avec formation du squelette α-cétoacide correspondant. Elle est très active dans le foie et dans les reins. Deux types d'enzymes interviennent : la glutamate déshydrogénase et l'acide aminé oxydase.

Chez les mammifères, l'ion ammonium, toxique pour la cellule, sera incorporé dans le cycle de l'urée puis excrété.

➢ **Glutamate déshydrogénase**

Dans le catabolisme des acides aminés, la désamination oxydative est précédée par la transamination. La glutamate déshydrogénase catalyse une réaction réversible, elle utilise préférentiellement le NAD^+ dans la désamination oxydative (voie de dégradation), et le $NADP^+$ dans l'assimilation de l'ammoniac (voie de synthèse).



Le sens dépend des concentrations relatives du glutamate, de l'α-cétoglutarate, de NH_3 et du rapport des formes réduites et oxydées des coenzymes ($NADPH,H^+/NADP^+$ et $NADH,H^+/NAD^+$). Par exemple, après un repas riche en protéines se traduisant par une

augmentation du glutamate, la réaction s'oriente vers la désamination et la formation de l'ammoniac.

- **Acides aminés oxydases**

Cette voie est secondaire par rapport à celle de la transamination. Ces enzymes utilisent deux types de flavoprotéines comme coenzymes : FAD ou FMN.

- **L-acide aminé oxydase**

C'est une enzyme hépatique à FMN comme groupement prosthétique. Elle oxyde les acides aminés en transférant directement les électrons récupérés par le coenzyme à l'oxygène moléculaire. Il en résulte la formation de l'α-cétoacide correspondant, de NH_3 et la formation de H_2O_2 (péroxyde d'hydrogène) décomposé par les catalases.

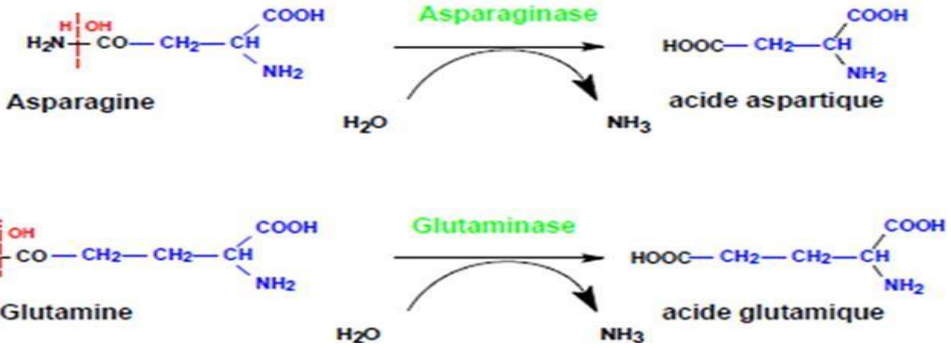


- **D-acide aminé oxydase**

On rencontre dans le foie et dans les reins une activité importante de cette enzyme qui oxyde les D-acides aminés (isomères des L-acides aminés, non rencontrés chez les animaux) qui proviennent de l'hydrolyse des protéines des végétaux et des membranes cellulaires des microorganismes. Ces D-acides aminés, qui ne sont pas utilisés par l'organisme animal, sont donc oxydés suivant le même principe que précédemment mais par la D-acide aminé oxydase à FAD avec la libération de l'α-cétoacide correspondant, de NH_3 et la formation de H_2O2 (péroxyde d'hydrogène) décomposé par les catalases.



C. Désamidation : concerne 2 acides aminés (glutamine et aspargine) contiennent une fonction amide portée par leur chaine latérale.



D. Transport des groupements NH_3^+ des autres tissus

- Sous forme de Glutamine

Le NH_3^+ sera transporté sous forme de glutamine (Fig. 233), cette dernière peut traverser la membrane alors que le glutamate ne peut pas le faire. Une fois dans le foie sous l`action d`une glutaminase au niveau des mitochondries, le groupement NH_3^+ est libéré.

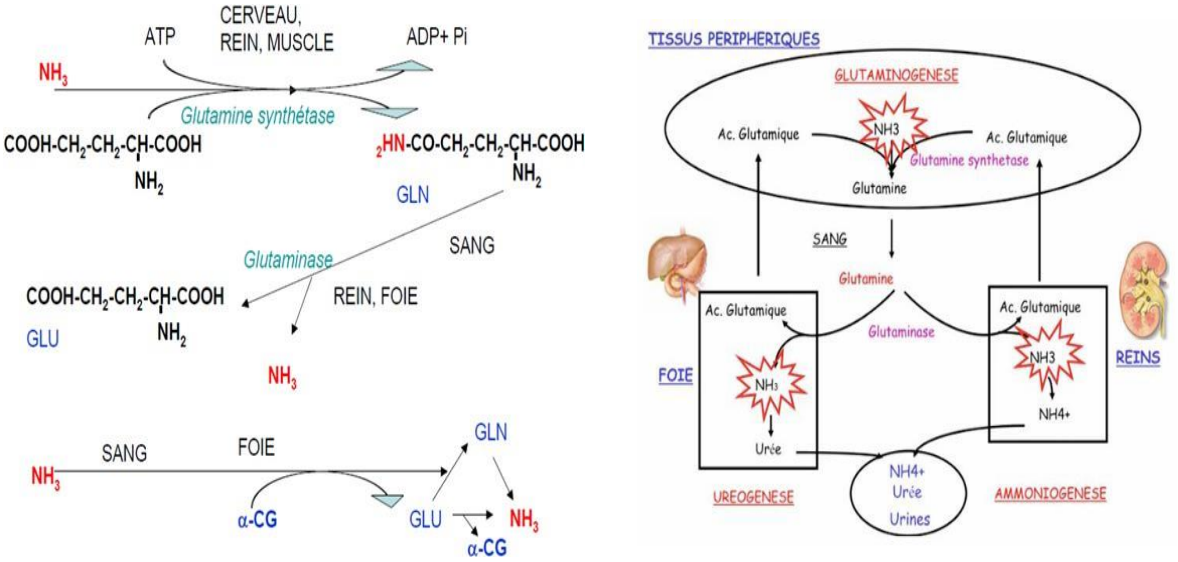


Fig. 233. Schéma général illustrant le devenir de l'ammoniac issu de la désamination et la réaction catalysée par la glutamine synthétase et la glutaminase.

- Sous forme d'Alanine

Au niveau du muscle existe une deuxième forme de transport du groupement NH_2 c'est **le cycle Glucose Alanine** (Fig. 234). L'Alanine aminotransférase transfert le groupement α amine au pyruvate (produit de la glycolyse), l'Alanine formé ainsi passe dans le sang et regagne le foie où il subit une transamination et fourni son groupement NH_2 au foie et d'autre part le pyruvate qui va servir à la néoglucogenèse et de ce fait le fardeau de la néoglucogenèse du muscle est assuré par le foie épargnant ainsi de l'énergie pour le muscle.

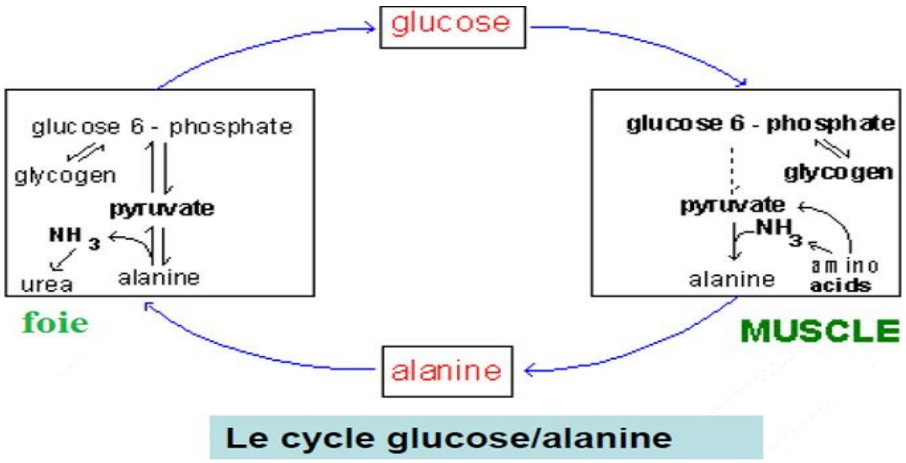
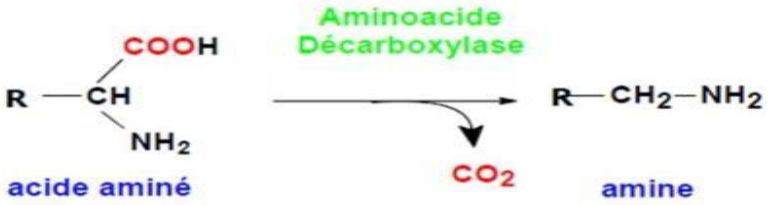


Fig. 234. Le cycle glucose/ alanine.

X.2.2.3. Elimination de la fonction carboxylique COOH ou décarboxylation

La décarboxylation est une réaction chimique au cours de laquelle une molécule de dioxyde de carbone (CO_2) est éliminée.



La décarboxylation des acides aminés est une réaction irréversible, catalysée par des décarboxylases à coenzyme phosphate de pyridoxal (PLP) donnant naissance à des amines ou des polyamines (Tableau 32).

Tableau 32 : Les amines générés par décarboxylation des acides aminés.

AA	AMINE	FONCTION
Trp	Sérotonine	Neuromédiateur
Glu	γ-amino butyrate	Neuromédiateur
His	Histamine	Neuromédiateur, médiateur immunitaire
Tyr	Dopamine, Noradrénaline, Adrénaline	Neuromédiateurs, hormone
Asp	ß-alanine	Composant du coenzyme A
Cys	Cystéamine	Composant du coenzyme A
Ser	Ethanolamine	Composant des phospholipides
Thr	Amino-propanol	Composant de la vitamine B12

X.2.2.4. Ammoniogenèse

Dans le rein (Fig. 235), le NH_3 libéré à partir de la glutamine va s'associer avec des protons H^+ pour former l'ion ammonium NH_4^+ qui sera éliminé dans les urines.

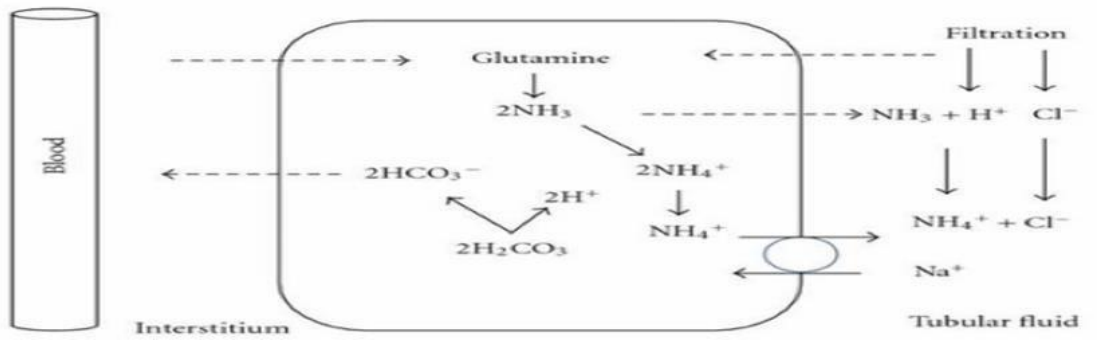


Fig. 235. Ammonigenèse.

X.2.2.5. Cycle de l'urée ou uréogenèse (cycle de l'ornithine ou cycle de Krebs-Henseleit)

Fût élucidé par Hans Krebs et Kurt Henseleit en 1932. Le cycle de l'urée est une voie métabolique cyclique hépatique qui permet d'éliminer de l'organisme, les excès d'azote (excès d'ammoniac) d'origine endogène ou exogène par détoxication de l'ammoniaque (toxique) en urée. Chez les mammifères, ce cycle se déroule uniquement dans le foie et comporte cinq réactions enzymatiques deux d'entre-elles se déroulent dans la mitochondrie et trois dans le cytoplasme (Fig. 236). Il requiert la présence de deux transporteurs entre la matrice mitochondriale et le cytosol :

- Le transporteur citrulline – ornithine.
- La translocase glutamate – aspartate.

La séquence des réactions qui vont intervenir comporte une phase mitochondriale et une phase cytosolique.

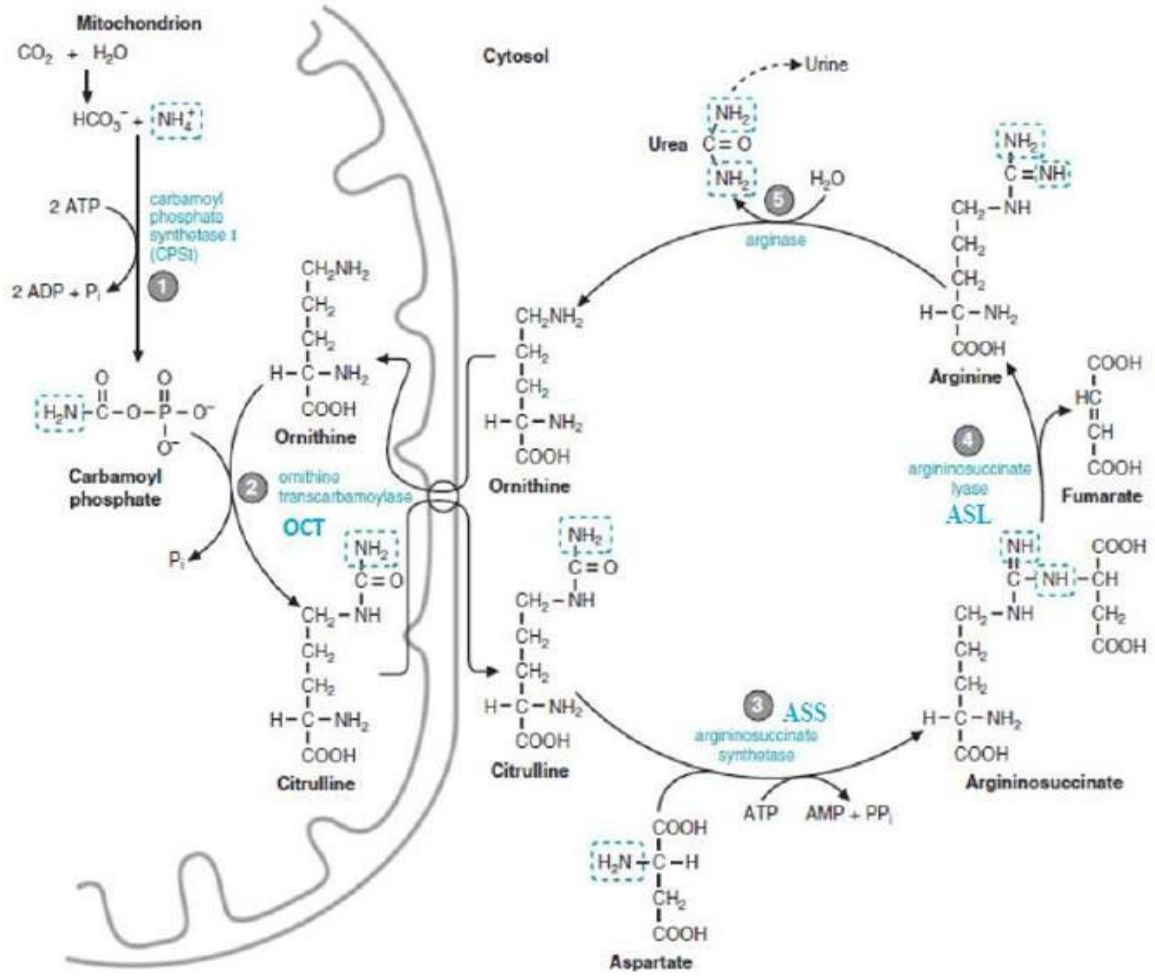


Fig. 236. Cycle de l'urée (cycle de l'ornithine ou cycle de KREBS-HENSELEIT).

- ***PHASE MITOCHONDRIALE***

1/ Formation du carbamoylphosphate

Dans les mitochondries la carbamoylphosphate synthétase (CPS-I) utilise le CO_2, le NH_3 et 2 ATP comme substrats pour former le carbamoylphosphate. Deux liaisons phosphates riches en énergie sont consommées.

$$CO_2 + NH_3 + 2\ ATP \longrightarrow H_2N\text{-}C(=O)\text{-}O\text{-}\textcircled{P} + 2\ ADP + Pi$$

2/Formation de la citrulline

Une fois le carbamoylphosphate formé, il est rejoint par l'ornithine transportée du cytosol. Sous l'action de l'ornithine carbamoyltransférase (transcarbamylase (OTC)), le radical carbamoyle est transféré sur l'ornithine pour former la citrulline.

Ornithine + carbamoylphosphate ⟶ L-Citrulline + Pi

La citrulline passe de la mitochondrie vers le cytosol contre une rentrée de l'ornithine par le transporteur citrulline – ornithine.

B- PHASE CYTOSOLIQUE

3/Formation de l'argininosuccinate

La citrulline obtenue est transportée dans le cytosol. Sous l'action de l'argininosuccinate synthétase (ASS), la citrulline se condense avec l'aspartate pour donner l'argininosuccinate avec consommation de deux liaisons phosphates riches en énergie d'une seule molécule d'ATP.

L-Citrulline + L-Aspartate + ATP ⟶ Argininosuccinate + AMP + PPi

4/Formation de l'arginine

Elle est catalysée par une arginino-succinate lyase (ASL) qui assure le clivage en L-arginine et en fumarate. Le fumarate est transporté dans les mitochondries et repris par le cycle de Krebs qui l'oxyde en oxaloacétate. Ce dernier sera transaminé en aspartate par l'aspartate aminotransférase. Ainsi est créé un lien entre les deux cycles de Krebs et de l'Urée. Le fumarate est converti en glucose et CO_2.

Arginino-succimate ⟶ L-arginine + fumarate

5/L'hydrolyse de l'arginine

C'est la dernière réaction du cycle. Elle implique un clivage hydrolytique (en présence d'H_2O) de l'arginine en urée et ornithine par l'arginase cytosolique. Alors que l'urée est excrétée pour être éliminée par l'urine, l'ornithine est transportée dans les mitochondries par le transporteur citrulline – ornithine et entre dans un nouveau cycle pour réagir avec le carbamylphosphate.

Arginine + H_2O ⟶ urée + ornithine

- **Régulation de la biosynthèse de l'urée**

La carbamoyl phosphate synthétase (CPS) est l'enzyme-clé qui régule le cycle de l'urée. Deux isoformes de cette enzyme sont distinguées. L'isoforme CPS I (7) est mitochondriale et intervient dans le cycle de l'urée. Au contraire, l'isoforme CPS II est cytoplasmique et intervient dans la synthèse des pyrimidines. En outre, elles se différencient dans le choix du substrat, CPS I condense l'ion ammonium et l'ion hydrogénocarbonate et CPS II a la glutamine comme substrat. De façon physiologiquement utile, la biosynthèse de l'urée est reliée à la concentration en acides aminés dans le sang portal qui circule vers le foie. Il existe une relation approximativement linéaire entre la concentration en azote dans le plasma et la synthèse de l'urée. La CPS I réagit très vite aux variations de concentration

en N-acétyl-glutamate. Si cette substance-signal vient à manquer, la CPS I est alors totalement inactivée. Pour synthétiser du N-acétyl-glutamate, il faut une augmentation de la concentration sanguine en glutamate obtenue en cas d'apport protéique.

Tableau 33 : Régulation de la biosynthèse de l'urée.

	Inhibée par	Activée par
Carbamoyl phosphate synthase I	Concentration plasmatique en azote aminé< 4,5 mg / 100 ml	Augmentation de la concentration plasmatique en azote aminé
	N-acétyl-glutamate ↓	N-acétyl-glutamate ↑

- **Bilan du cycle**

Le bilan du cycle s'écrit :

NH_3 + CO_2 + Aspartate + 3 ATP ⟶ Urée + Fumarate + 2 ADP + AMP + 2 Pi + PPi

✓ Au cours de la formation d'une molécule d'urée 4 liaisons riches en énergie ont été utilisées (2 ATP en 2 ADP^+ 2 Pi, 1 ATP en AMP + PPi).

✓ Lorsque le fumarate est transformé en oxaloacétate (cycle de Krebs) (pour régénérer l'aspartate après transamination), il en résulte la formation d'une molécule de NADH, H^+ qui correspond à 3 ATP.

✓ En conclusion, l'élimination d'un ion ammonium libre et de l'amine de l'aspartate sous forme d'une molécule d'urée ne consomme qu'une liaison phosphate riche en énergie.

X.2.2.6. Devenir et catabolisme du squelette carboné

Après le départ du groupe α-aminé sous forme d'ammoniac, les 20 acides aminés, retrouvés dans les protéines, libèrent chacun l'α-cétoacide (acide α cétonique ou squelette carboné) correspondant. La dégradation des 20 squelettes carbonés conduisent à la formation de sept composés à savoir : α- cétoglutarate, oxaloacétate, fumarate, acétoacétyl-CoA, succinyl-CoA, pyruvate et acétyl-CoA.

- α-cétoglutarate,
- oxaloacétate,
- fumarate,
- pyruvate
- succinyl-CoA,
- acétoacétyl-CoA,
- acétyl-CoA.

⟶ **Aa glucoformateurs**

⟶ **AA cétoformateurs**

Ils rentrent dans le métabolisme intermédiaire pour la production de l'énergie ou pour la synthèse des glucides ou des lipides. Suivant le devenir des squelettes carboné on classe les acides aminés en trois groupes (Fig. 237) :

a- Les acides aminés glucoformateurs (glucogéniques)

Dont la dégradation du squelette carboné libère l'un les intermédiaires suivants : α-cétoglutarate, oxaloacétate, fumarate, succinyl-CoA et pyruvate. Cette classe couvre parmi les acides aminés non essentiels : asparagine, aspartate, glutamate, glutamine, proline, alanine, glycine, sérine, cystéine ; et parmi les acides aminés essentiels : arginine, histidine, méthionine, thréonine et valine.

- L'oxaloacéte

Est le squelette carboné de l'asparagine et l'aspartate. L'asparagine est hydrolysée par l'asparginase en aspartate et en ammoniac. L'aspartate subit la transamination comme décrit plus haut et libère de l'oxaloacétate et de l'ammoniac. L'oxaloacétate peut être récupéré pour former l'acide aminé correspondant ou entrer dans la néoglucogenèse pour former du glucose.

- L'α- cétoglutarate

La dégradation de la glutamine, du glutamate, de la proline, de l'arginine, et de l'histidine conduit à l'α-cétoglutarate.

- La Glutamine est hydrolysée en glutamate et en ammoniac par la glutaminase. Le glutamate est oxydé en α-cétoglutarate par transamination ou oxydation en présence de la glutamate déshydrogénase.
- La Proline est oxydée en D pyrroline 5-carboxylate puis une seconde fois en glutamate qui est transaminé en α-cétoglutarate.
- L'Arginine est hydrolysée par l'arginase en ornithine et en urée. L'ornithine subit une transamination qui la transforme en glutamate γ-semialdéhyde. Ce dernier est converti en α-cétoglutarate.
- L'Histidine subit une séquence de réactions qui conduit à la formation du N formininoglutamate. Le transfert du groupe forminine sur le tétrahydrofolate libère le glutamate, oxydé ensuite en α-cétoglutarate.

L'α-cétoglutarate, issu de tous ces acides aminés, est oxydé dans le cycle de Krebs jusqu'au malate qui est transporté dans le cytosol pour servir de précurseur à la néoglucogenèse.

- Le pyruvate

La dégradation de l'alanine, la cystéine, la sérine, la glycine et de la thréonine conduit au pyruvate.

- L'Alanine est transaminé pour former du pyruvate
- La cystéine subit une désulfuration en alanine qui donne du pyruvate.

• La sérine par déshydratation et transamination peut être convertie en pyruvate. Mais elle est aussi le précurseur de la glycine.

• La glycine peut être transformé en sérine ou tout simplement être oxydé en CO_2 et en NH_3

b- Les acides aminés cétogènes (ou cétoniques)

Dont la dégradation du squelette carboné fournit l'acétyl-CoA ou l'acétoacétyl COA. Ici on trouve 2 acides aminés essentiels : leucine et lysine.

c- Les acides aminés à la fois glucoformateurs et cétogènes : tyrosine (non essentiel), phénylalanine, tryptophane et isoleucine (tous 3 essentiels).

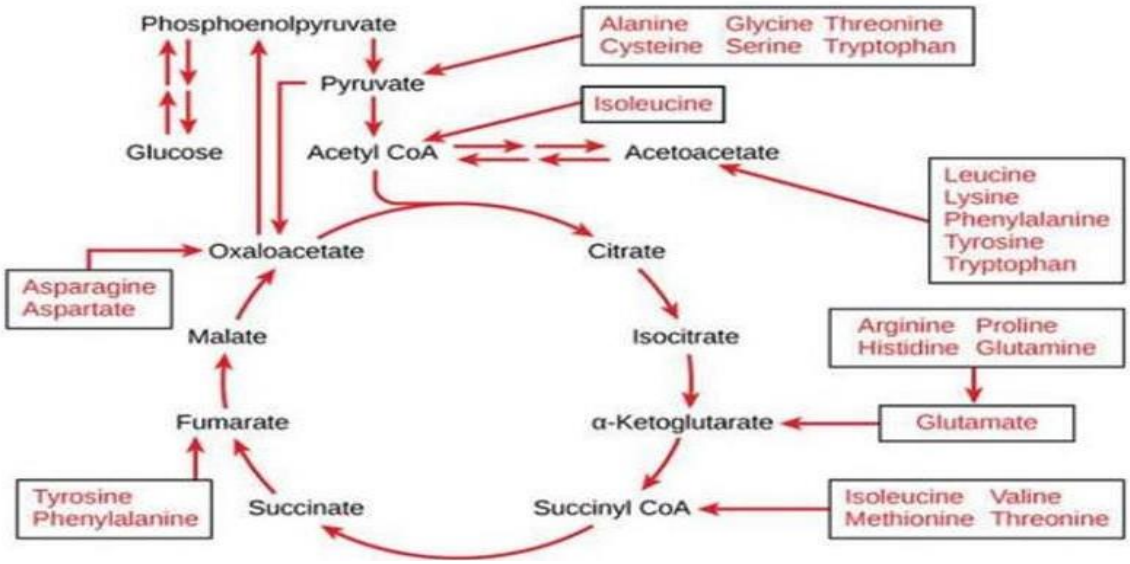


Fig. 237. Catabolisme de chaines carbonées des acides aminés.

X.3. Synthèse des acides aminés

X.3.1. Les deux types d'acides aminés

La croissance et le développement des êtres vivants dépendent de leur approvisionnement en acides aminés au nombre de 20. Tous les 20 sont synthétisés par les plantes supérieures et quelques autres organismes. L'homme n'en synthétise que 10 (acides aminés non indispensables) et les dix autres (acides aminés indispensables) doivent lui être apportés dans l'alimentation sous forme de protéines végétales ou animales (tableau 34).

Tableau 34: Acides aminés indispensables et synthétisés par l'organisme humain.

Acides synthétisés	Acides indispensables
Alanine Glutamate glutamine Proline Aspartate Asparagine Glycocolle Sérine Tyrosine Cystéine	Isoleucine tryptophane Leucine Lysine Méthionine Thréonine Phénylalanine Valine arginine Histidine

Les précurseurs des acides aminés constituent les α-cétoacides directement utilisables pour la transamination ou permettent de les synthétiser. Ils sont générés dans les processus de dégradations dont les principaux sont la glycolyse et le cycle de Krebs (Fig. 238).

Les glucides sont les principaux fournisseurs du carbone, rencontrés dans les acides aminés. Un squelette carboné peut être à l'origine de la synthèse de plusieurs acides aminés. On parle alors de famille.

- α-cétoglutarate conduit à la famille de glutamate : glutamate, glutamine, proline, arginine et la lysine.
- Oxaloacétate donne la famille de l'aspartate : aspartate, asparagine, méthionine, thréonine et l'isoleucine.
- Glycérate-3-phosphate mène à la famille de la sérine : sérine, glycine, et cystéine.
- Pyruvate fournit la famille de l'alanine : alanine, valine et leucine.
- Phosphoénolpyruvate et erythrose-4-phosphate sont le point de départ de la phénylalanine, tyrosine et tryptophane.
- Ribose-5-phosphate est le précurseur de l'histidine.

➢ Famille du glutamate

***1/ Glutamate et glutamine* :** La synthèse du glutamate peut se faire grâce à l'action :

- De la glutamate déshydrogénase selon la réaction:

$$\alpha\text{-Cétoglutarate} + NH_4^+ + NADPH,H^+ \longrightarrow \text{glutamate} + NADP^+$$

- D'une aminotransférase (transaminase)

Acide aminé + α-cétoglutarate ⟶ α-cétoacide + glutamate

La glutamine est synthétisée sous l'action de la glutamine synthétase.

$$\text{Glutamate} + NH_3 + ATP \longrightarrow \text{Glutamine} + ADP + Pi$$

***2/La proline* :** Elle est formée à partir du glutamate suivant deux étapes :

- La fonction carboxylique portée par le carbone 5 est d'abord réduite en aldéhyde. Elle nécessite de l'énergie apportée par l'ATP. Elle est catalysée par la glutamyl phosphate désydrogénase.

$$^-OOC\text{-}(CH)_2\text{-}\underset{\displaystyle NH_3^+}{\underset{|}{CH}}\text{-}COO^- + ATP + NADPH,H^+ \rightarrow OHC\text{-}(CH)_2\text{-}\underset{\displaystyle NH_3^+}{\underset{|}{CH}}\text{-}COO^- + ADP + Pi + NADP^+$$

- Le glutamate semi-aldéhyde précédent subit une cyclisation suivie d'une réduction pour donner la proline.

$$\text{glutamate semi-aldéhyde} + NADPH,H^+ \longrightarrow \text{Proline} + NADP^+$$

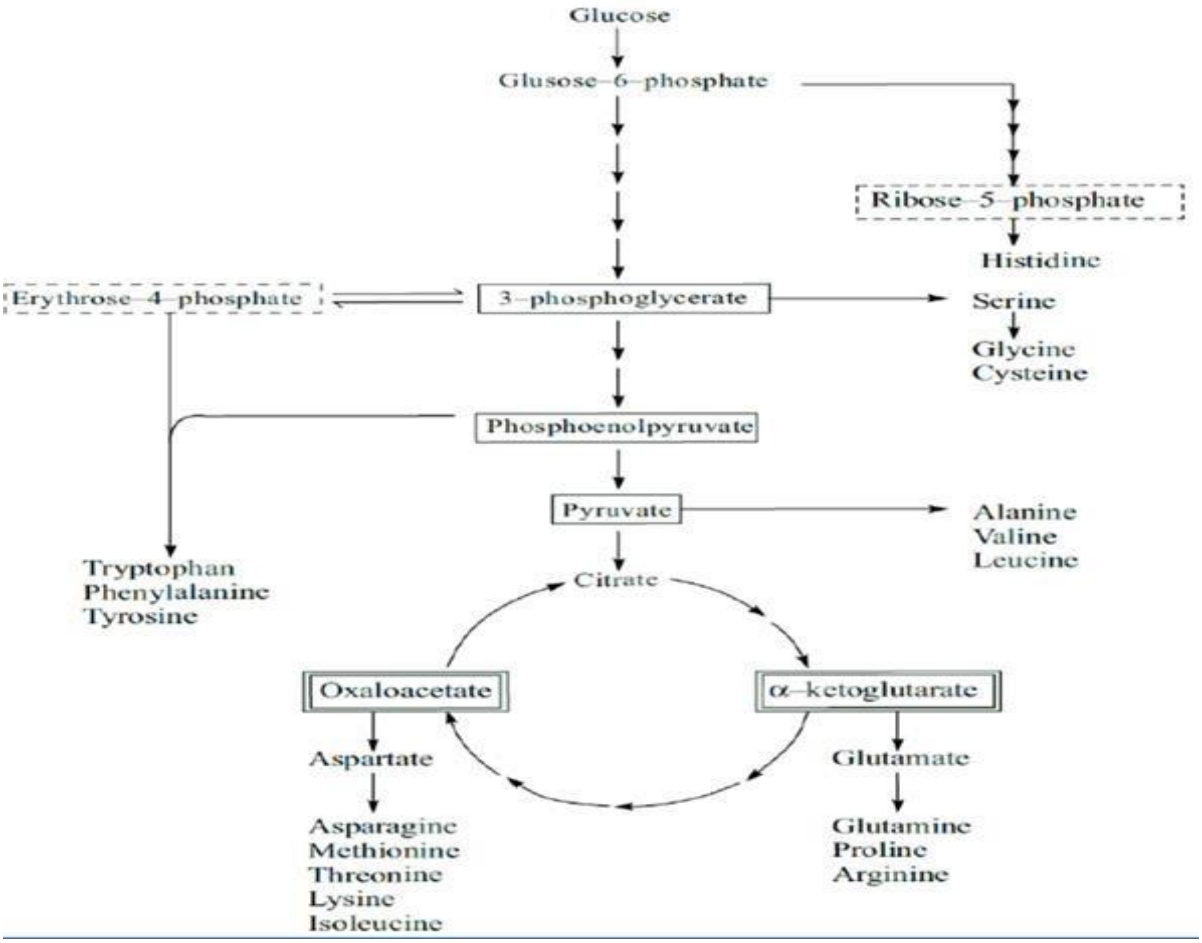


Fig. 238. Voies de biosynthèse des acides aminés

- **Famille de l'aspartate**

1/ Aspartate : L'aspartate est formée par transamination de l'oxaloacétate. Le groupement α-aminé est donné par le glutamate. La réaction est catalysée par l'aspartate aminotransférase.

Oxaloacétate + glutamate ⟶ Aspartate + α-cétoglutarate

2/Asparagine : La synthèse est catalysée par l'asparagine synthétase

Aspartate + glutamine + ATP ⟶ Asparagine + glutamate + AMP + Ppi

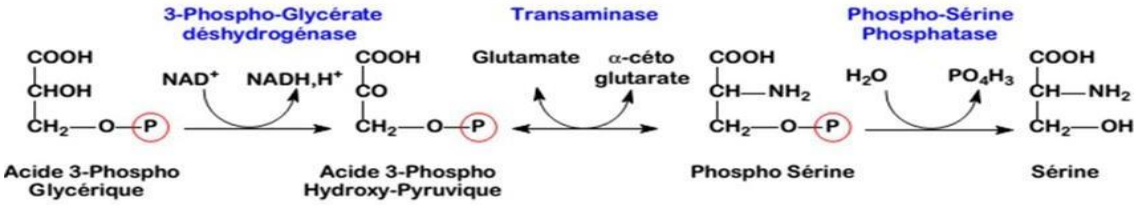
- **Famille de la sérine**

1/La sérine : La sérine est synthétisée à partir du 3-phosphoglycérate suivant la séquence ci dessous :

- Une déshydrogénation conduit au 3-phospho-hydroxypyruvate, catalysée par la 3-phosphoglycérate déshydrogénase.

P-O-CH2-CHOH-COO$^-$ + NAD$^+$ ⟶ P-O-CH2-CO-COO- + NADH,H$^+$

- Elle est suivie d'une transamination en présence du glutamate par une phosphosérine transaminase. -Sous l'action d'une phosphatase on obtient la sérine par hydrolyse du groupement phosphate :



2/La glycine : La glycine est synthétisée à partir de la sérine par un départ du radical CH_2OH. La réaction est catalysée par sérine hydroxyméthyltransférase utilisant le tétrahydrofolate comme coenzyme.

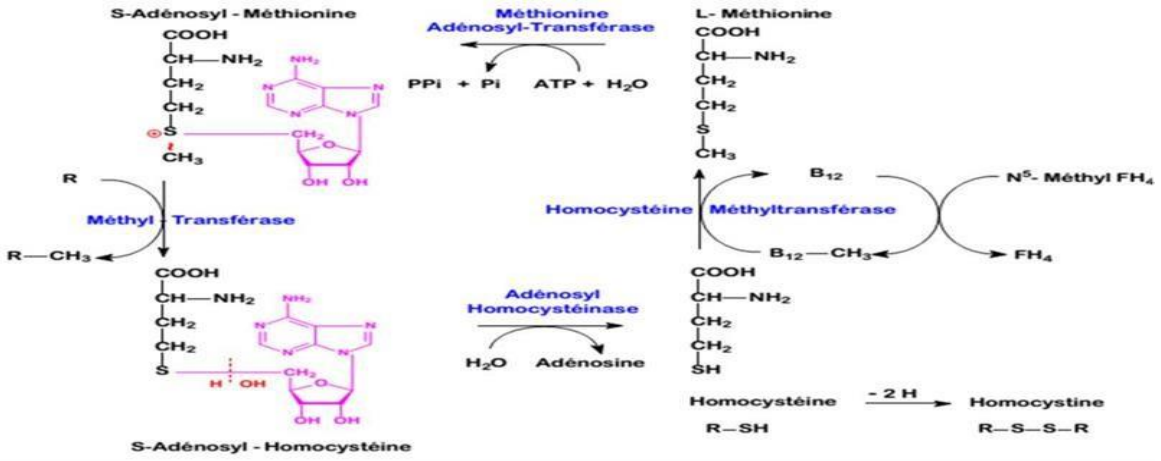


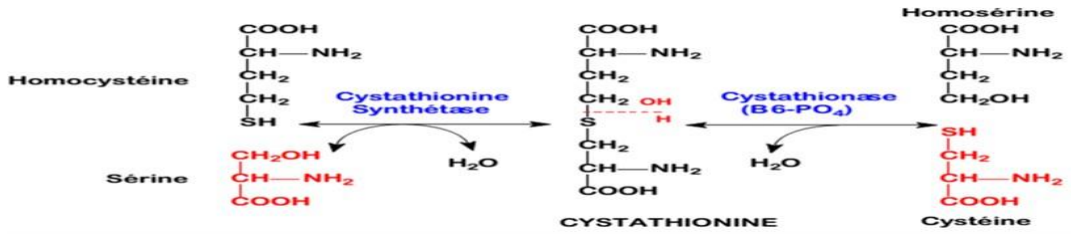
3/ La cystéine : La cystéine est formée à partir de la méthionine par une séquence de réactions complexes impliquant la formation de la S-adénosylméthionine, seul cas où l'ATP est privée de ces 3 groupements phosphates dans une même réaction :

ATP + Méthionine + H_2O ⟶ S-adénosylméthionine + PPi + Pi

La séquence ci-dessous conduit à la cystéine :

S-adénosylméthionine ⟶ S-adénosylhomocystéine ⟶ Cystéine





- **Famille de l'alanine**

-***Alanine*** : Dans cette famille l'alanine représente le seul acide aminé non indispensable. Il s'obtient par transamination du pyruvate en présence du glutamate. La réaction est catalysée par la glutamate pyruvate aminotransférase (GPAT).

- **Famille des acides aminés aromatiques** :

-***Tyrosine*** : Cet acide aminé non indispensable a la particularité de dériver de la phénylalanine (acide amine indispensable). Il est considéré comme un produit de dégradation de ce dernier. La tyrosine ou parahydroxy-phénylalanine est formée au cours d'une réaction catalysée par la phénylalanine hydroxylase.

BIBLIOGRAPHIE

Ahmad, M., Wolberg, A., & Kahwaji, C. I. (2023). Biochemistry, Electron Transport Chain. StatPearls / NCBI Bookshelf.

Arnold, P. K., Finley, L. W. S. (2023). Regulation and function of the mammalian tricarboxylic acid cycle. Journal of Biological Chemistry.

Barmore, W., Stone, W. L., & Hadian, M. (2023). Physiology, Urea Cycle. Stat Pearls / NCBI Bookshelf.

Boros, L. G., et al. (2016). Submolecular regulation of cell transformation by deuterium depleting water exchange reactions in the tricarboxylic acid substrate cycle. Medical Hypotheses.

Baratti-Elbaz C., Le Maréchal P. (2015). Biochimie. Ed. Dunod, Paris, 160p.

Benchoucha R. (2011). Biochimie. Première année de médecine. 21 octobre 2011.

Callen J. C., Perasso R. (2005). Biologie cellulaire : Des molécules aux organismes. 2e édition. Cours, questions de révision et QROC. Dunod, Paris, ISBN 2 10 049236 5 , Pp : 1-514.

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/polycopién°2_cours ACIDES AMINES ET PROTEINES.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 Montepelier. 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.

Haddad, A., & Mohiuddin, S. S. (2023). Biochemistry, Citric Acid Cycle. StatPearls / NCBI Bookshelf.

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. 4ème Edition, Médecine sciences publications-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

Lafont F., Plas C. (2013). Exercices de biochimie. Ed. Doin, Paris, 410p.

Latruffe N., Bleicher-Bardelett F., DucloS B., Vamecq J. (2014). Biochimie. Ed. Dunod, Paris.

Lehninger. Principles of Biochemistry. Fourth Edition. David L. Nelson (University of Wisconsin-Madison).

Licence STE BIOCHIMIE : Les protéines. Pages 47–48. Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/proteines.pdf.

Maaroufi R. M. Biochimie structurale - LIPIDES-. Université de Monastir. Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir. Année universitaire 2018-2019.

Marks D. B. PCEM Biochimie. (2005). Traduction et adaptation française Nathalie Cartier. Edition Pradel. Paris, , France. Pp: 1-359.

Masson, O. (2014). Biochimie : Bases biochimiques de la diététique. 3ème Edition. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, France pp : 1- 286.

Michael M. Cox (University of Wisconsin–Madison) **Licence STE BIOCHIMIE**: Les protéines. Pages 47–48. Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/proteines.pdf.

Murray R.K., Granner D. K. (1999). Harper Biochimie. 24ème Edition, Paris, France. 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. 2e 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

Rodrigez 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. 8ème 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. Dunod1re édition, Paris, France. Pp : 1-451.