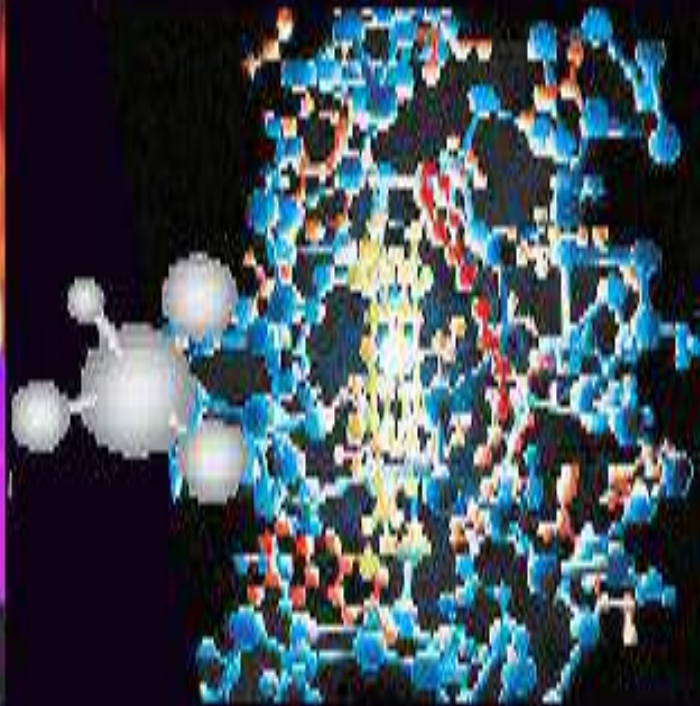


# Biochimie



Présenté par : Dr SELAL A

# Sommaire

## Introduction

### 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 cétoènes

9.5. Biosynthèse des acides aminés indispensables

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

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

9.8. Exemple de biosynthèse de protéines

9.9. Régulation

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

10.1. Vitamines

10.2. Hormones

## **Introduction**

La **biochimie** est la discipline scientifique qui étudie les réactions chimiques 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).

Les principales catégories de molécules étudiées en biochimie sont les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Ces molécules sont constituées principalement de carbone, d'oxygène et d'azote. Ces classes de molécules représentent les éléments fondamentaux de l'édification et du fonctionnement de la cellule. L'étude de la structure de ces molécules, de leurs propriétés, du mode d'enchaînement et des propriétés des molécules constitutives est le domaine de la **biochimie structurale**. La **biochimie métabolique** s'intéresse à l'étude des voies de formation ou de synthèse (anabolisme) et de dégradation (catabolisme) des macromolécules dans la cellule vivante.

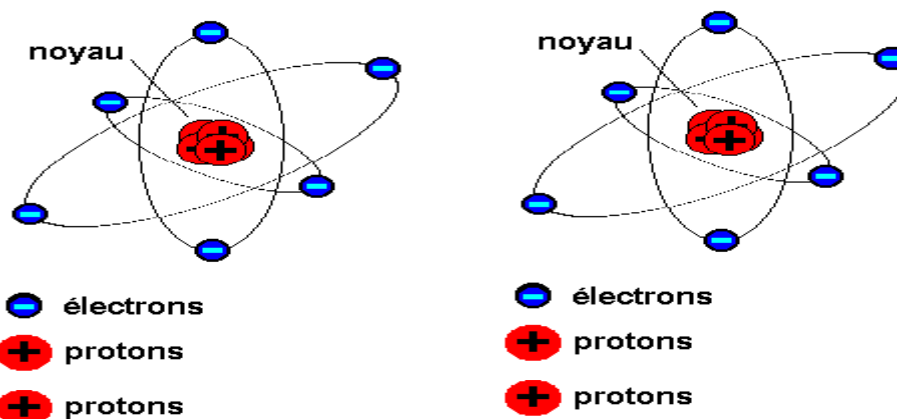
### **1. Liaisons chimiques**

Une liaison chimique est une interaction attractive durable entre plusieurs atomes, ions ou molécules, à une distance permettant la stabilisation du système et la formation d'un agrégat ou d'une nouvelle substance chimique. (Cette liaison est très forte).

Pour être brisées, les liaisons chimiques fortes nécessitent la consommation des fortes énergies à des quelques centaines de kilojoules par mole (un traitement thermique ou chimique, grâce à des enzymes). Les liaisons sont classées en deux catégories : Liaison de forte énergie et liaison de faible énergie. Les liaisons (covalente, coordination, métallique et ionique) sont de fortes énergies. Les liaisons (Van der Waals, hydrogène, hydrophobe etc..) sont de faibles énergies.

#### **1. 1. Liaison covalente**

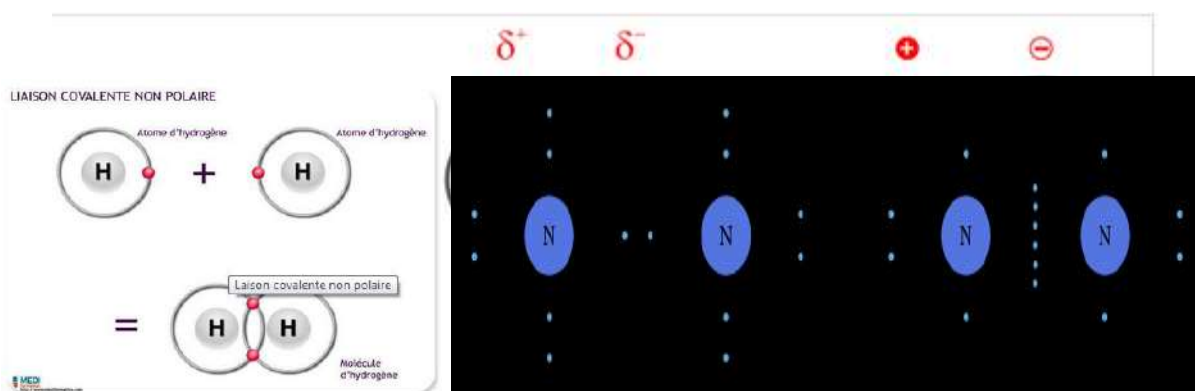
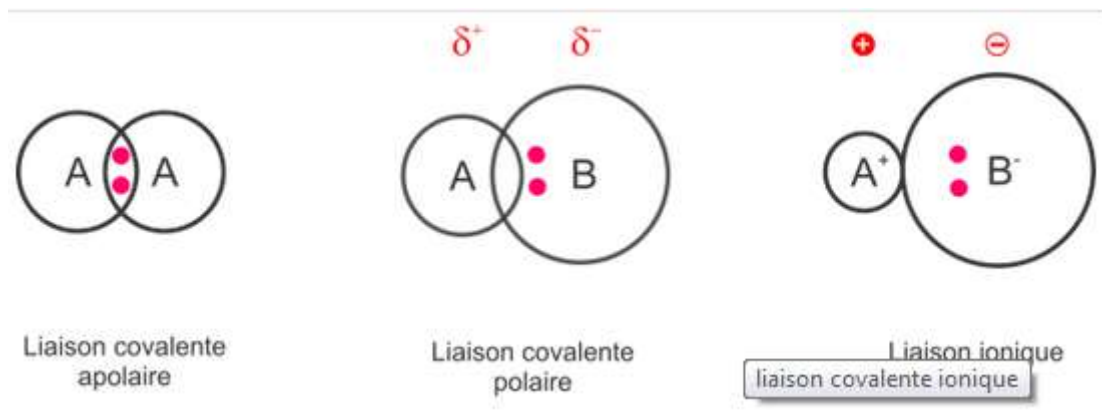
Les électrons, chargés négativement, gravitent autour d'un noyau constitué de protons chargés positivement. Les deux corps s'attirent du fait de la force électrostatique s'exerçant entre les électrons et les protons. Ainsi, un électron positionné entre deux noyaux sera attiré par les deux corps chargés positivement et les noyaux seront attirés par l'électron. C'est cette attraction qui constitue la liaison chimique



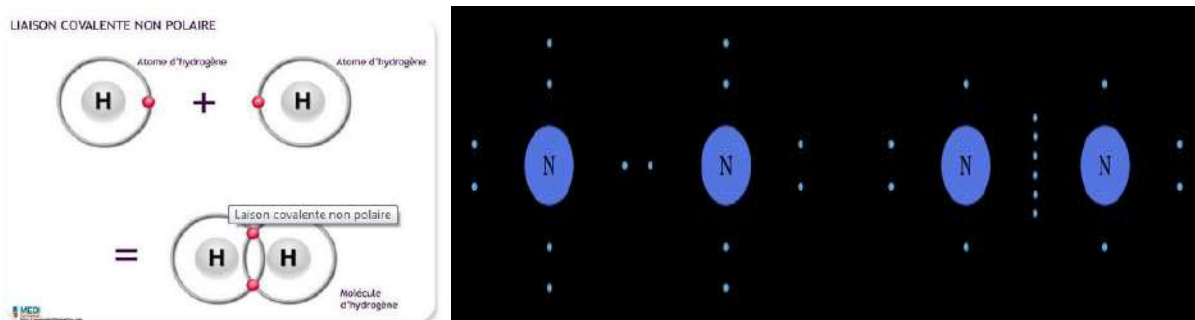
Une liaison covalente est une liaison chimique dans laquelle deux atomes se partagent deux électrons (un électron chacun ou deux électrons venant du même atome) d'une de leurs couches externes afin de former un doublet d'électrons liant les deux atomes. C'est une des forces qui produisent l'attraction mutuelle entre atomes.

La liaison covalente implique généralement le partage équitable d'une seule paire d'électrons, appelé doublet liant. Chaque atome fournissant un électron, la paire d'électrons est délocalisée entre les deux atomes. Le partage de deux ou trois paires d'électrons s'appelle respectivement « liaison double » et « liaison triple ».

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. En chimie, l'électronégativité d'un atome est une grandeur physique qui caractérise sa capacité à attirer les électrons lors de la formation d'une liaison chimique avec un autre atome. La différence d'électronégativité entre ces deux atomes détermine la nature de la liaison : liaison covalente apolaire lorsque la différence est nulle ou faible, liaison covalente polaire quand la différence est moyenne, et liaison ionique quand la différence est tellement forte qu'un des atomes a attiré complètement, ou presque, les électrons de la liaison. Dans le dernier cas les atomes sont devenus des ions et portent des charges électriques entières



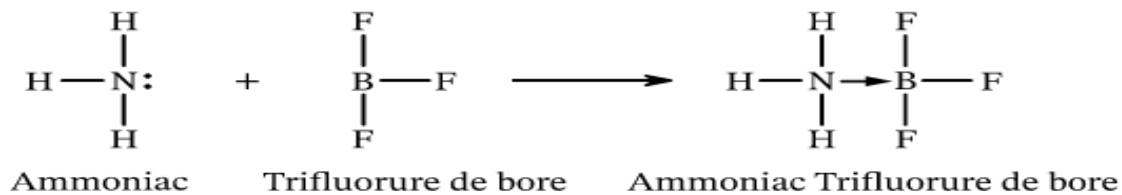
Une liaison covalente (polarisée ou non) peut être simple (Fig. 1), double ou triple. Pour simplifier la représentation des molécules, on représente la liaison covalente par un simple trait



(qui est double pour une double liaison).

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

Une liaison covalente de coordination (anciennement connue sous le nom de liaison dative) est une description de la liaison covalente entre deux atomes pour lesquels les deux électrons partagés dans la liaison proviennent du même atome (C'est la mise en commun



de deux électrons entre deux atomes A et B. Un des atomes fournit les deux électrons).

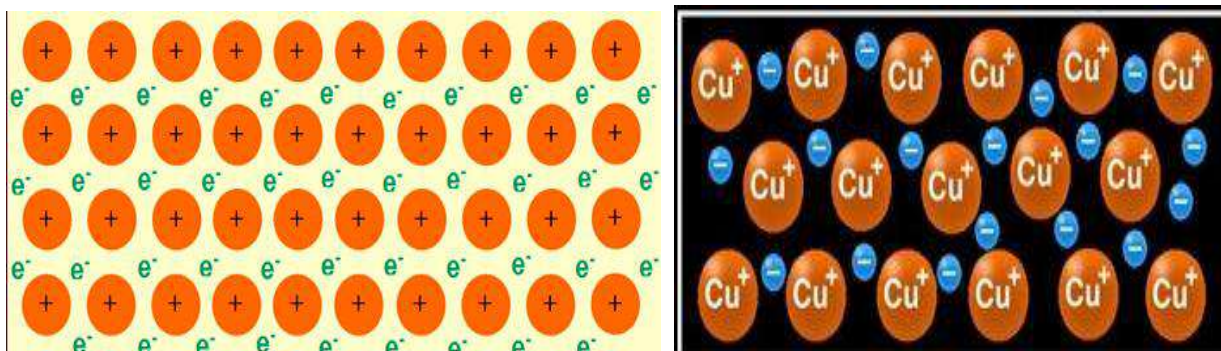
Les liaisons covalentes de coordination sont évoquées lorsqu'une base de Lewis (Une base de Lewis ou nucléophile est une entité chimique dont un des constituants possède un doublet ou plus d'électrons libres ou non liants sur sa couche de valence. Elles peuvent former des liaisons covalentes coordonnées avec un acide de Lewis

(donneur d'électrons) fournit une paire d'électrons à un acide de Lewis (Un acide de Lewis est une entité chimique dont un des atomes qui la constituent possède une lacune (manque) électronique, ou case quantique vide, ce qui la rend susceptible d'accepter un doublet d'électrons et donc de créer une liaison covalente avec une base de Lewis.

(accepteur d'électrons) afin de donner un adduit. Le processus de formation d'une liaison dative est appelé coordination. Le donneur d'électrons acquiert une charge positive, l'accepteur d'électrons acquérant au même temps une charge formelle négative.

## 1. 3. Liaison métallique

C'est la mise en commun dans le métal de tous les électrons de la couche de valence. Ce qui permet d'obtenir d'une bande de conduction. C'est la raison pour laquelle, les métaux sont des



conducteurs (capable de transporter) du courant (l'énergie) électrique.

#### **1. 4. Liaison ionique (ou liaison électro-valente)**

1- 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.

2- Ou une liaison ionique (ou liaison électro-valente) est un type de liaison chimique qui peut être formé par une paire d'atomes possédant une grande différence d'électronégativité (par convention, supérieure à 1,7) typiquement entre un non-métal et un métal ou non métal-non métal

De cet effet, la somme des protons n'est plus égale à la somme des électrons. L'atome présente alors une charge électrique nette (Un ion est un atome ou une molécule portant une charge électrique, parce que son nombre d'électrons est différent de son nombre de protons).

En perdant un ou plusieurs é, il devient un cation (contient moins d'électrons que de protons donc est un atome ou groupement d'atome chargé positivement).

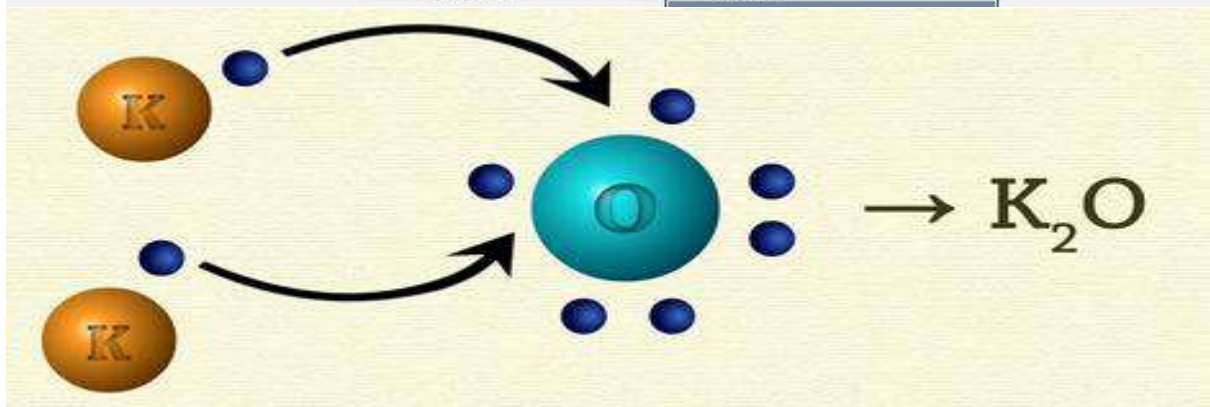
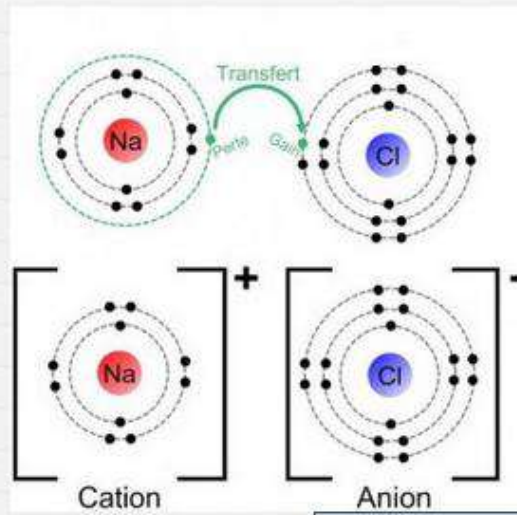
En gagnant un ou plusieurs é, il devient un anion (contient plus d'électrons que de protons donc est un atome ou groupement d'atome chargé négativement).

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) et d'oxyde de potassium ( $K_2O$ )



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

L'atome qui gagne l'électron devient un ion, voulant dire que l'atome a une charge négative, car elle a plus d'électrons que de protons. L'atome qui perd l'électron devient un anion, un atome chargé positivement, parce qu'elle a plus de protons que d'électrons.



### 1. 5. Liaison hydrogène ou pont hydrogène

Une liaison hydrogène se forme lorsqu'un atome d'hydrogène déjà lié par covalence à un autre atome électro-négatif subit l'attraction d'un autre atome électro-négatif.

Dans les cellules, les atomes électro-négatifs qui participent à des liaisons hydrogène sont le plus souvent l'oxygène et l'azote.

Les liaisons hydrogène sont environ vingt fois plus faibles que les liaisons covalentes.

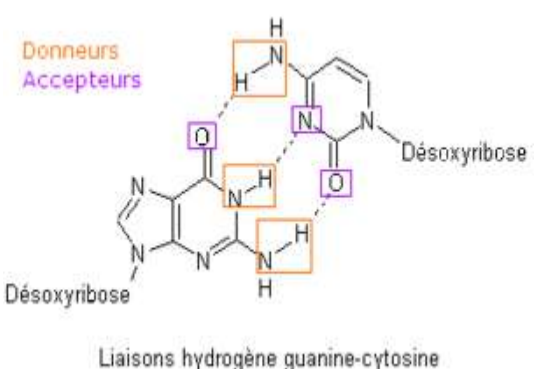
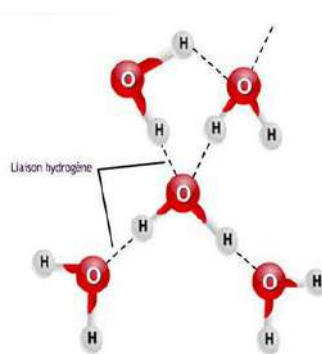
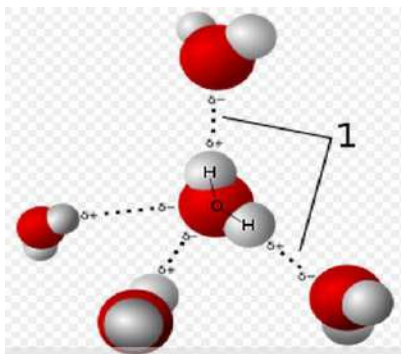
Les liaisons faibles permettent de brefs contacts entre les molécules; les molécules s'associent, réagissent l'une à l'autre, puis se séparent.

Des liaisons hydrogène se forment non seulement entre des molécules, mais, aussi entre différentes régions d'une même grosse molécule, par exemple une protéine ou un acide nucléique (ADN, ARN).

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.

La liaison est due à la polarité de certaines molécules (qui contiennent un atome d'hydrogène et au moins un autre atome plus électronégatif). Si on prend l'exemple d'une molécule d'eau, l'atome d'oxygène étant plus électronégatif que les deux atomes d'hydrogène, celui-ci attire plus les électrons engagés dans les liaisons covalentes vers lui que les atomes d'hydrogène à ses côtés. Ceci fait que l'atome d'oxygène possèdera alors deux charges négatives partielles, alors que chaque atome d'hydrogène possèdera une charge partielle positive. La molécule est alors polarisée à cause de cette différence de charge.

Ce phénomène fait que les pôles positifs (les atomes d'hydrogène) sont attirés par des entités de charge négative (anion, pôle négatif, etc.), et le pôle négatif (l'oxygène) sera attiré par des entités de charge positive (cation, pôle positif d'une autre molécule polarisée, etc.). La molécule d'eau



peut donc former quatre liaisons hydrogène

### 1.6. Les liaisons de Van der Waals

Les liaisons de Van der Waals doivent leur nom au physicien théoricien néerlandais Johannes Diderik Van der Waals (1837-1923).

Il s'agit d'une liaison de type intermoléculaire qui s'exerce entre les molécules d'une substance (contrairement aux liaisons de covalence qui sont des liaisons intramoléculaires car elles s'établissent entre les atomes d'une même molécule).

Cette liaison est plus précisément une interaction électrique de faible intensité qui s'exerce entre les molécules présentant un moment dipolaires.

Par définition ces molécules sont globalement neutres mais présentent un pôle positif (centre des charges partielles positives localisées sur les atomes les moins électronégatifs) et un pôle négatif (centre des charges partielles négatives). Il s'exerce une force électrique globalement attractive entre les pôles de signes opposés des différentes molécules.

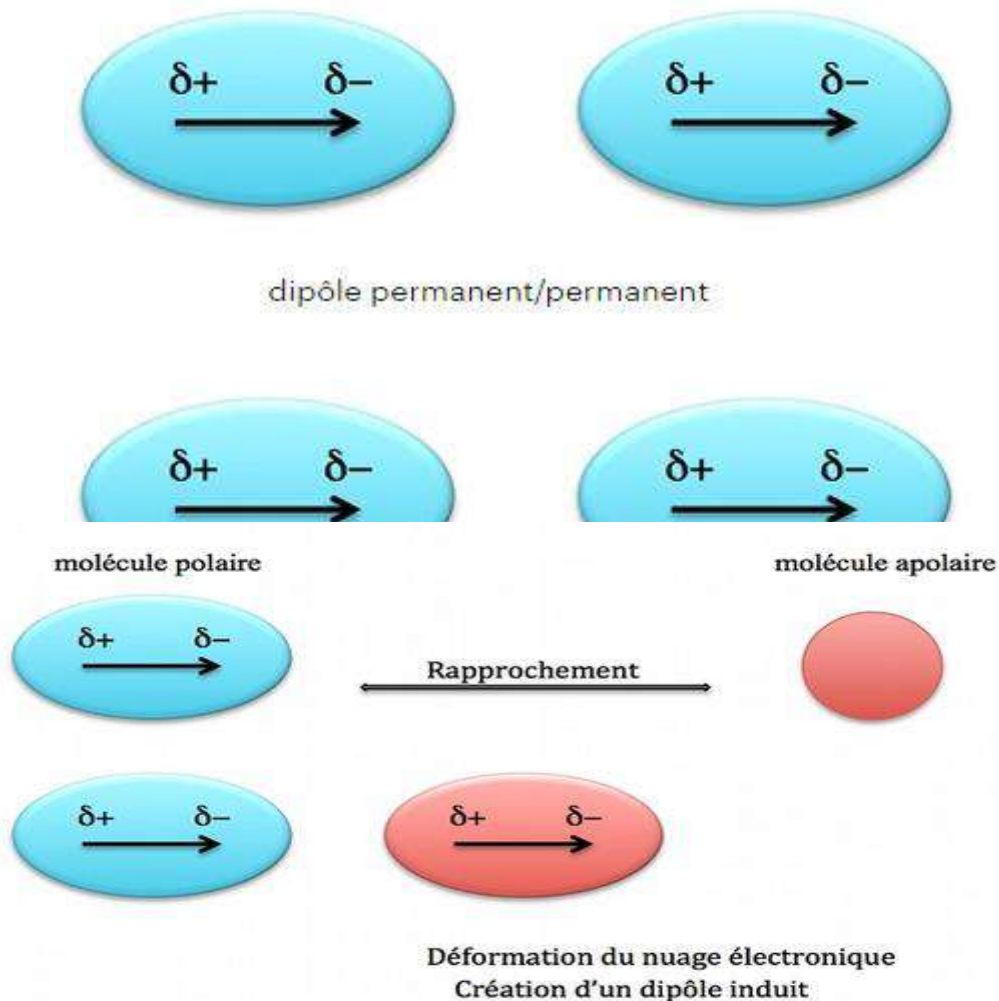
Les liaisons de Van der Waals peuvent s'établir entre les molécules d'un corps lorsque ces dernières sont polaires.

Ces molécules sont caractérisées par un moment dipolaire (deux molécules de différentes charges liées) non nul (polaires électrons attirés vers un côté) qui résulte de l'addition des moments dipolaires associés aux différentes liaisons polarisées.

Cependant les molécules dites apolaires possèdent aussi un moment dipolaire mais celui-ci est variable au cours du temps (sa valeur change) et il en résulte qu'en moyenne il est globalement nul. On distingue donc :

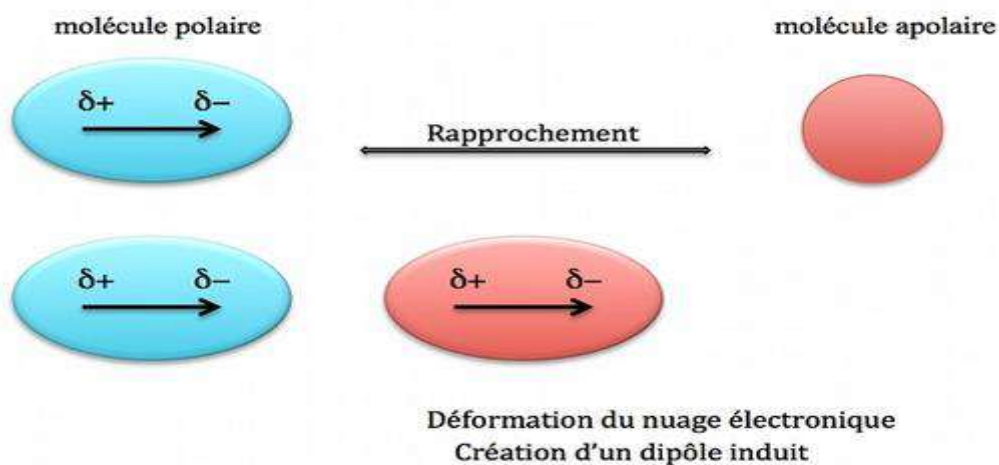
### Des interactions dipôle permanent - dipôle permanent :

Les liaisons de Van der Waals entre dipôles permanents qui existent pour des molécules polaires.



### Des interactions dipôle permanent – dipôle induit :

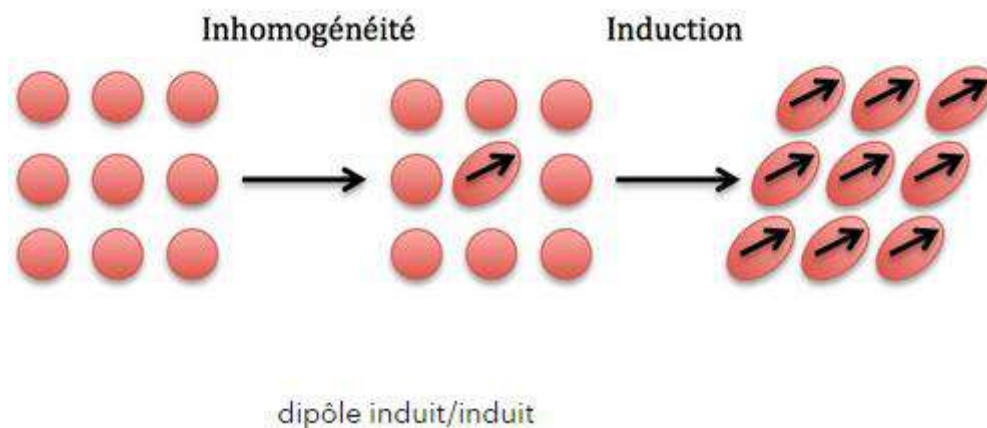
Ce type d'interaction peut également exister entre une molécule polaire et une molécule non polaire (dite induit ou polarisable c'est-à-dire que son nuage électronique se déforme suite à la présence d'un champ électrique. Ce champ électrique est créé par le dipôle permanent de la molécule polaire qui induit un dipôle au niveau de l'autre molécule). La molécule polaire crée

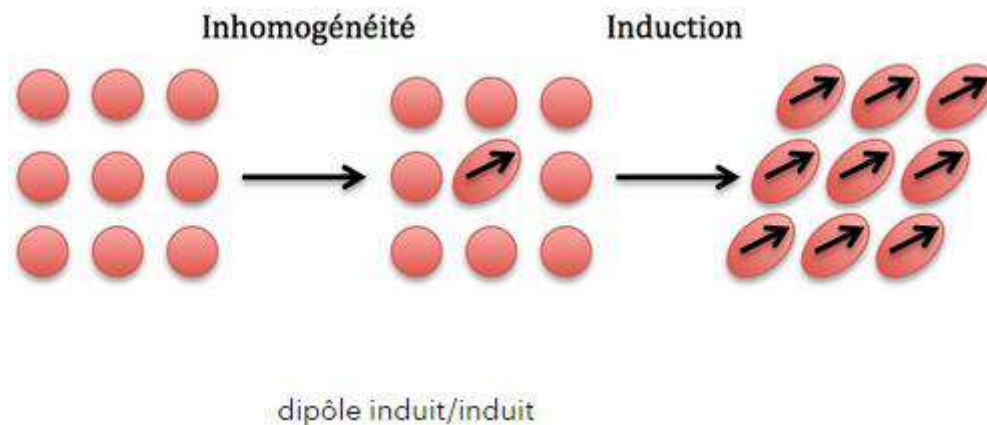


un champ électromagnétique autour d'elle. Le pôle + de la molécule polaire attire les charges négatives de la molécule non polaire (voisine) de son côté.

### Des interactions dipôle instantané - dipôle instantané :

Est la dernière contribution à prendre en compte dans les forces de Van der Waals qui traduit l'interaction entre deux dipôles induits. Une légère répartition inhomogène du nuage électronique dans une molécule va créer un dipôle induit qui va lui même entrainer la création d'un dipôle induit sur la molécule voisine (les électrons « se déplacent », créant ainsi des dipôles instantanés).





En l'absence de liaisons ioniques ou de liaisons hydrogène ce sont les principales interactions intermoléculaires :

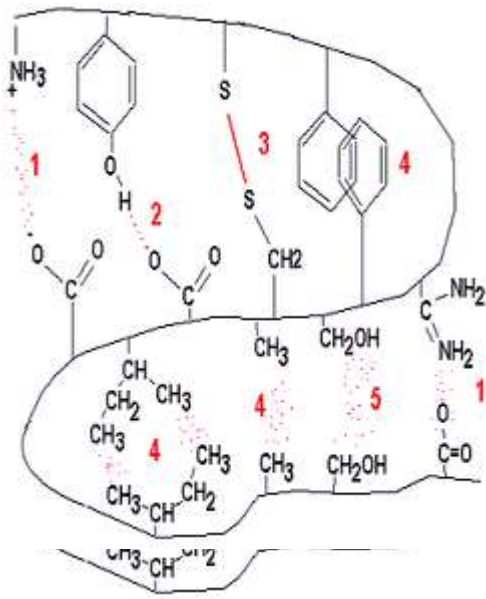
- elles sont responsables de la cohérence de l'état solide et y influencent l'orientation des molécules.
- Elles influent sur la capacité des liquides à jouer le rôle solvant ainsi que sur la solubilité des solutés.
- Elles influencent les températures de changement d'état (fusion et ébullition)

### 1. 7. Interaction hydrophobe

Les molécules apolaires et peu polarisables ont tendance de se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe repoussante de l'eau (hydrofuge). 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 en 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 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.





- 1 رابطة أيونية Liaison ionique  
 2 رابطة هيدروجينية Liaison hydrogène  
 3 رابطة ثنائي الكبريت Liaison dissulfure  
 4 رابطة هيدروفوبية Liaison hydrophobe  
 5 رابطة قطب قطب (Van der waals) Liaison dipôle (Van der waals)  
 5 رابطة قطب قطب (Van der waals) Liaison dipôle (Van der waals)

## 2. Glucides Structure et propriétés physicochimiques

### 2.1. Définition des glucides

Les glucides sont des composés essentiels pour tous les organismes vivants et sont les molécules biologiques les plus abondantes. Le terme hydrate de carbone s'explique par leur formule brute générale  $C_n(H_2O)_n$ , où  $n \geq 3$ . Les unités de base des glucides sont appelés oses ou monosaccharides.

### 2.2. Importance en Biologie

1. Rôle énergétique : 40 à 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine sont des glucides. Ils ont un rôle de réserve énergétique dans le foie et les muscles (glycogène). 2. Rôle structural : Les glucides interviennent comme éléments de soutien (cellulose), de protection et de reconnaissance dans la cellule. Ce sont les constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines

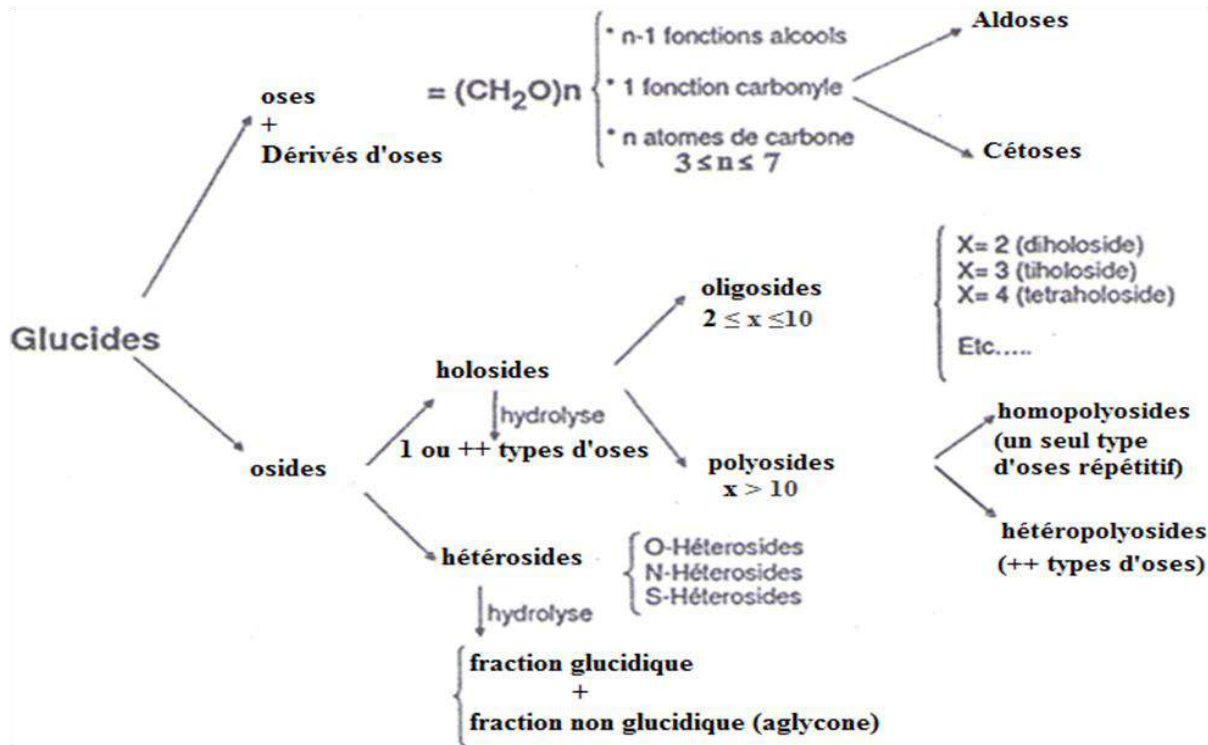
**2.3. Classification :** Sur le plan structural, les glucides peuvent être divisés en oses et osides (Fig).

**Les Oses :** Monoses, sucre simple ou encore monosaccharides non hydrolysables.

**Les Osides :** Hydrolysables, formés par la condensation de deux ou plusieurs molécules d'oses ou dérivé d'ose et pouvant à leurs tour être divisé en deux grandes classes : Holosides : Liaison de n molécules d'oses par des liaisons glycosidiques. Elle se divise en :

- Oligosides : sont des polymères de 2 à 10 résidus d'oses, les plus communs étant les disaccharides.

- Polyosides (Polysaccharides) : Ce sont des polymères, formés d'oses liés en longues chaînes linéaires ou ramifiées (plus de 10 molécules d'oses). On distingue : Hétérosides :
  - Ils donnent par hydrolyse: oses + aglycone (partie non sucrée).
  - Liaison à des Protéines (glycoprotéines), à des Lipides (glycolipides), à des bases



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.

## 2. 4. 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).

### 2. 4. 1. Structure linéaire

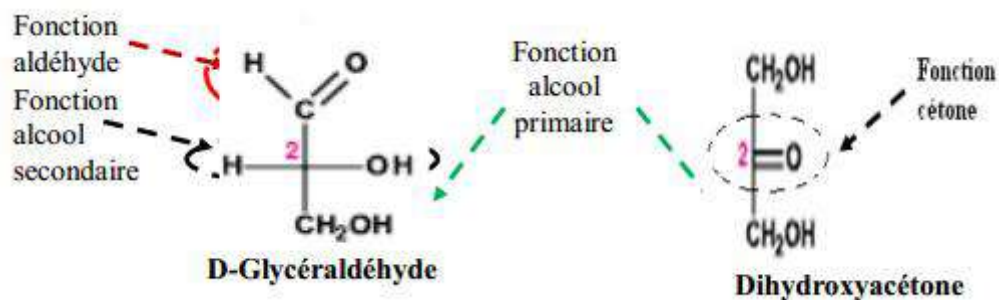
Les oses simples sont des molécules constituées d'une chaîne carbonée, de 3 à 9 éléments carbonés (les monoses). Les oses principalement impliqués dans les voies métaboliques sont des oses constitués de 3 à 6 éléments carbonés.

Les oses simples (monosaccharides) constituent l'unité structurale des glucides. Ils présentent une chaîne carbonée non ramifiée, avec des liaisons simples entre les atomes de carbone, une

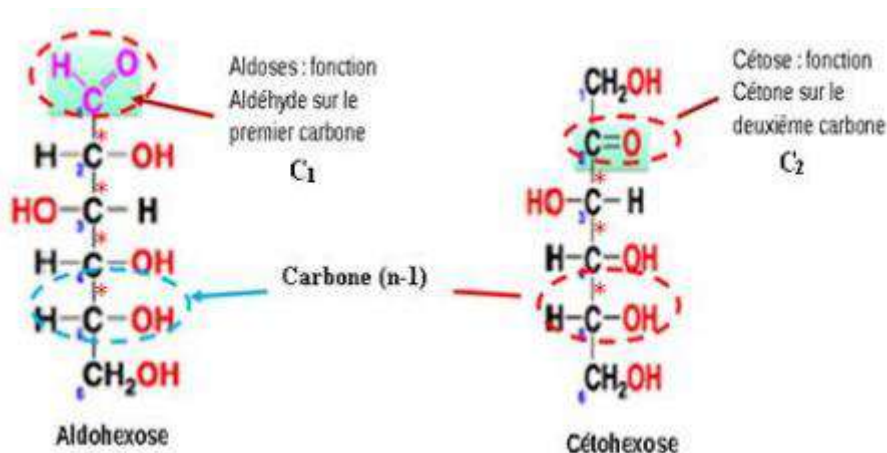
fonction aldéhyde en C1 (**aldoses**) ou cétone en C2 (**cétooses**) et une fonction alcool sur chacun des autres carbones. On les nomme également trioses, tétroses, pentoses, hexoses, etc., en fonction du nombre de carbones (respectivement 3, 4, 5 et 6). La qualification d'un ose combine les deux préfixes : aldopentose, cétohexose, etc.

### 2. 4.1. 1. Représentation en projection de Fisher

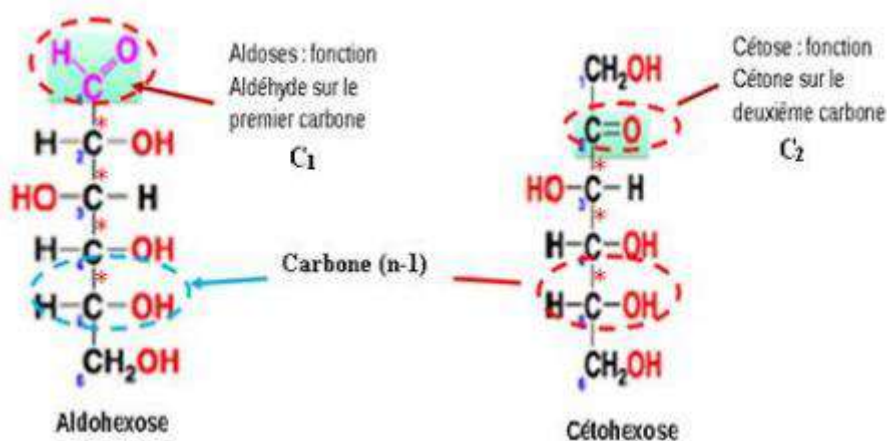
Les oses les plus simples sont constitués de trois atomes de carbone (trioses). Il en existe deux qui sont des isomères de fonction : le glycéraldéhyde et le di-hydroxy-acétone (Fig.). Les atomes de carbone d'un ose sont numérotés à partir du carbone le plus oxydé.



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 en plaçant 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<sub>n-1</sub>**) 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).

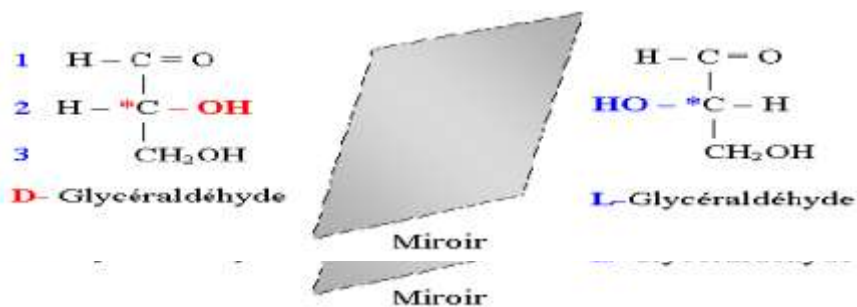






## 2. 4.1.2. Stéréoisométrie et chiralité

**2. 4.1.2. 1. Stéréoisométrie** (isométrie 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<sub>2</sub> portant quatre substituants différents est dit **asymétrique** (souvent noté C\*). Seule la dihydroxyacétone ne possède pas de carbone asymétrique.



### 2. 4.1.2.2. Formes d'isométrie

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

**b. 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. Diastéréoisométrie :** deux isomères sont dits diastoisomères si la différence porte sur un

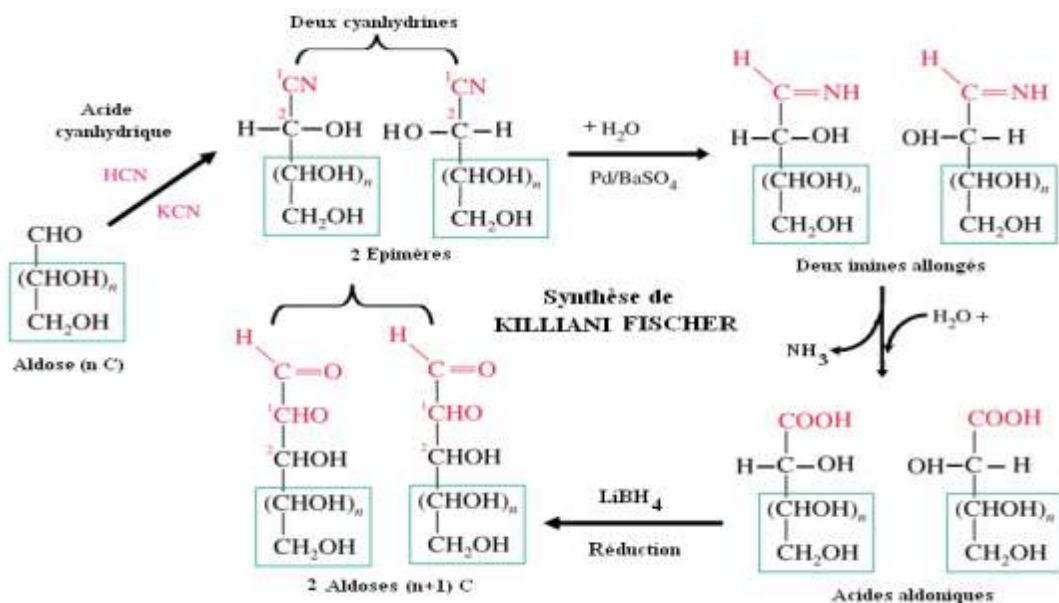
nombre de C\* compris entre 1 et leur nombre total n de C\*. Exemple : le mannose et le galactose (Tableau 2) sont diastéréoisomères car ils diffèrent par les configurations de 2 sur 4 de leurs C\*. De façon générale pour **n** carbones asymétriques, nous aurons **2<sup>n</sup>** stéréoisomères. Pour les aldoses à **n** atomes de carbone on a **(n-2)** C\* et donc **2(n-2)** stéréoisomères. Pour les cétones à **n** atomes de carbone on a **(n-3)** C\* et donc **2(n-3)** stéréoisomères.

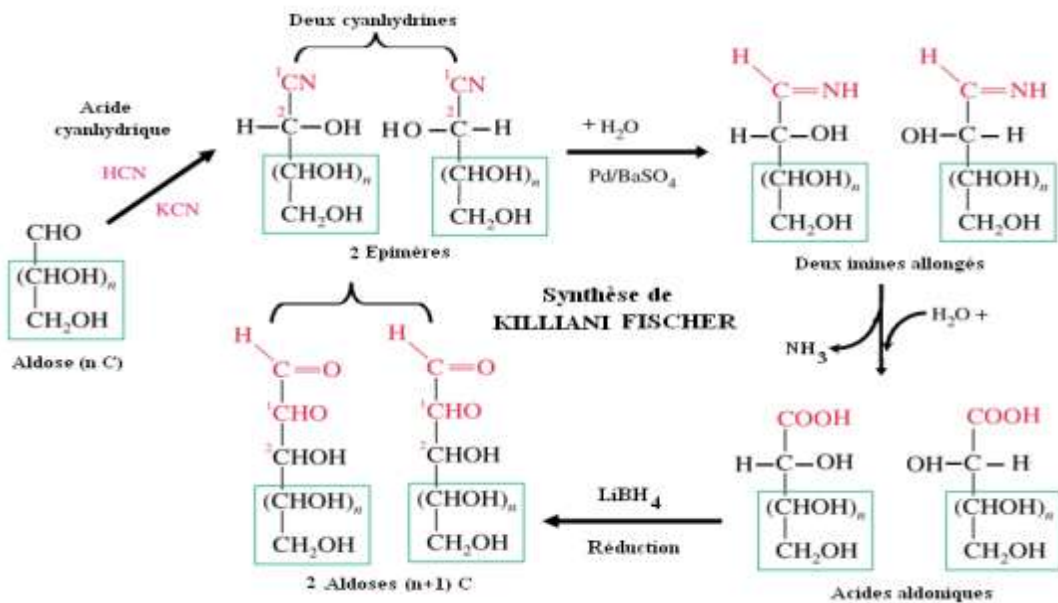
### 2. 4.1. 3. Filiation des oses

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 di-hydroxy-acétone). On obtient différents oses avec des fonctions alcools secondaires de positions différentes.

#### 2. 4.1. 3. 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. ). Cette synthèse passe par les étapes suivantes (Fig. ) : 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<sub>4</sub>) ou l'amalgame de Na, qui transforme la fonction carboxyle en une fonction aldéhyde et ainsi, on obtient un aldose à (n+1) carbone.





### 2. 4.1. 3. 2. Filiation des aldoses et des cétooses

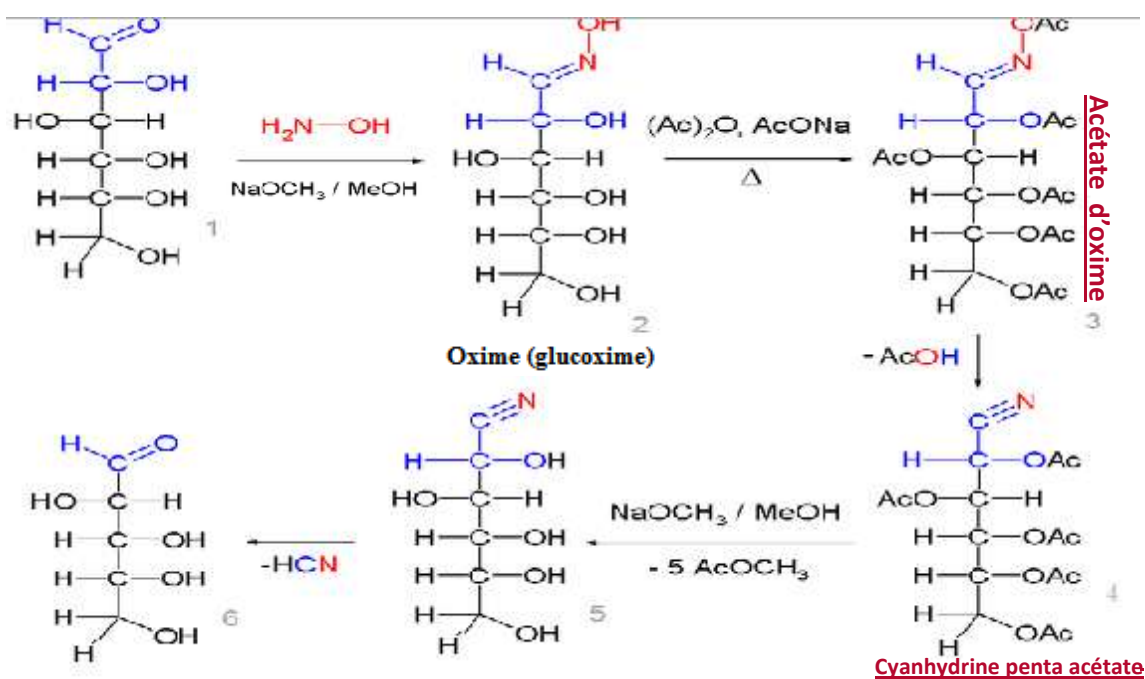
Les figures en dessous représentent respectivement les réactions d'addition d'un atome de carbone aux D-aldoses et aux D-cétooses. Le D-glycéraldéhyde ou de la dihydroxyacétone passe de la forme triose aux tétroses puis aux pentoses et enfin aux hexoses en additionnant, à chaque étape, juste en dessous 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.



### 2. 4.1. 3. 3. Dégradation de WOHL-ZEMPLEN

Inversement à la méthode de synthèse cyanhydrique, la méthode de dégradation est appelée la dégradation de WOHL. Cette dernière permet de 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 ( $\text{NH}_2\text{OH}$ )

Donc La **dégradation de Wohl** est une réaction de réduction de la longueur de la chaîne carbonée des aldoses, dont l'exemple le plus classique est la conversion du glucose en arabinose présentée ci-dessous



Dans la première étape, le D-glucose (1) est converti en oxime (l'oxime est un composé organique appartenant aux imines) de glucose (glucosime 2) par réaction avec l'hydroxylamine et le méthanolate de sodium.

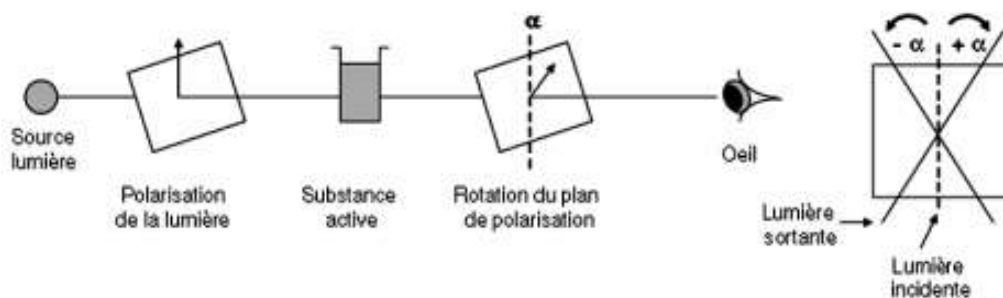
Dans une deuxième étape, l'oxime est mise à réagir avec l'anhydride acétique dans l'acétate de sodium avec chauffage. Cela produit une acétylation de tous les groupes alcools (estérification) ainsi que du groupe oxime (3), produisant un composé instable appelé (acétate d'oxime) ; finalement, l'acétate d'oxime se convertit en un nitrile ( $\text{N}\equiv\text{C}$ ), le glucono-nitrile de pentaacétyle (4). Dans la dernière étape, le composé est mis à réagir avec le méthanolate de sodium dans le méthanol, provoquant la saponification de tous les groupes acétate (5) ainsi que le départ du groupe nitrile avec formation d'un groupe formyle.

#### 2.4.1.4. Pouvoir rotatoire ou activité optique

Toute molécule chirale possède la particularité d'être optiquement active ou douée de pouvoir rotatoire : Traversée par un faisceau de lumière polarisée plan, elle provoque la rotation du plan de polarisation de la lumière. La mesure de l'angle de rotation  $\alpha$  permet de définir le pouvoir rotatoire spécifique, caractéristique d'une substance optiquement active, à une température donnée et pour une longueur d'onde donnée.

$$\alpha = [\alpha] D^{20} C l$$

$[\alpha]$  : est le pouvoir rotatoire spécifique de la substance étudiée,  $l$  : est la longueur de la cuve



polarimétrique en dm,  $C$  : la concentration de la solution étudiée en g/ ml,  $\alpha$  ou  $R$  : l'angle de rotation

- Lorsque la rotation est vers la droite le composé est dit **dextrogyre** et son pouvoir rotatoire est **positif**.
- Lorsque la rotation est vers la gauche le composé est dit **lévogyre** et son pouvoir rotatoire est **négatif**.

- Le pouvoir rotatoire d'un mélange de substances est la somme des pouvoirs rotatoires de chaque substance.

$$\alpha = \sum [\alpha_i \cdot l \cdot C_i]$$

**NB**

- La série D ou L de Fischer ne préjuge en rien (n'a aucun effet sur) du caractère dextrogyre (+) ou lévogyre (-) de la molécule.
- Ainsi, le D(+) glucose est bien dextrogyre (= +52°), mais le D(-) fructose, lui, est fortement lévogyre (= -92,4°).



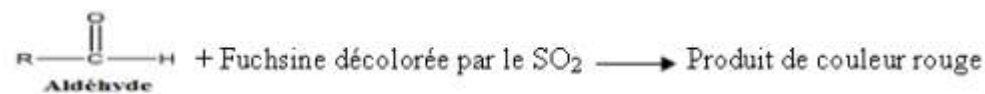
## 2. 4. 2. Structure cyclique des oses

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.

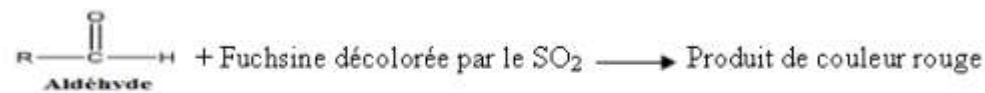
Donc la forme linéaire est une représentation simple mais incomplète, car elle ne permet pas d'expliquer les propriétés des oses par exemple

### 2. 4. 2. 1. Divers objections de la forme linéaire des oses

1- Les aldéhydes et des cétones se colorent avec la fuchsine décolorée par le réactif de Schiff (Fuchsine décolorée par le SO<sub>2</sub>) en donnant un produit de couleur rouge.

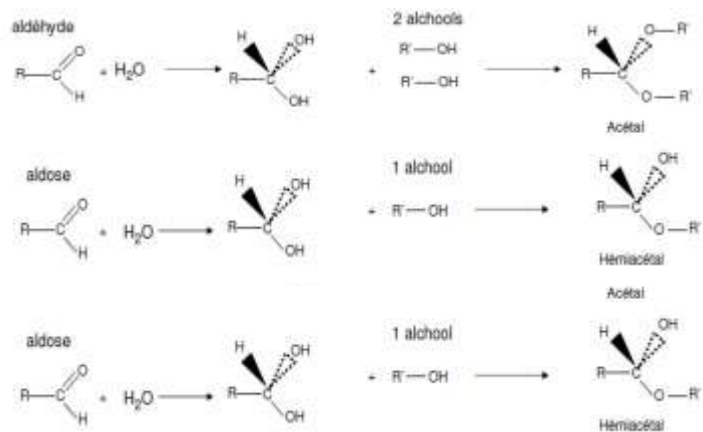


Ose (N ≥ 4) + Fuchsine décolorée par le SO<sub>2</sub>  $\longrightarrow$  Les oses ne se colorent pas.



Ose (N ≥ 4) + Fuchsine décolorée par le SO<sub>2</sub>  $\longrightarrow$  Les oses ne se colorent pas.

2- Les aldéhydes et les cétones sous forme hydratée, réagissent avec deux molécules d'alcool pour donner des **acétals** alors que les oses se combinent seulement avec une seule molécule d'alcool pour donner un **Hémiacétal**.

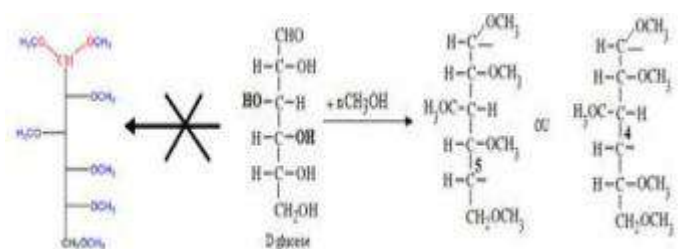


L'objection à l'obtention d'un acétal

indique que la fonction aldéhyde serait donc indisponible pour ces réactions et donc l'existence d'un nouveau C\* au niveau du carbonyle.

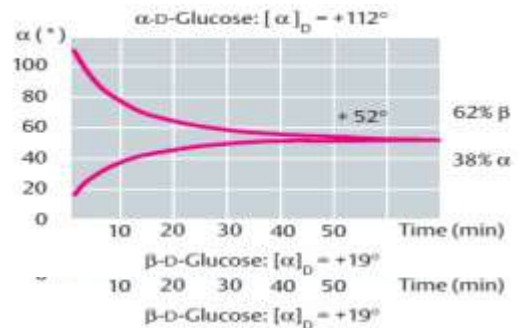
3- En tenant compte de la structure linéaire des oses, un aldohexose (ex : Glucose n=6) hydraté peut fixer théoriquement 7 groupements méthyles -CH<sub>3</sub> (n+1 méthyles) et former une molécule heptaméthylée.

Expérimentalement, les molécules d'aldohexoses hydratées ne peuvent se fixer qu'avec 5 groupements méthyles (n-1 méthyles) et former une molécule pentaméthylée.



4- Lorsqu'on dissout du glucose dans de l'eau, le pouvoir rotatoire n'est pas fixé immédiatement, il reste à diminuer et il se stabilise au bout d'un certain temps. Ce phénomène est appelé Mutarotation. Il est dû à l'existence de 2 formes isomères: anomère  $\alpha$  et anomère  $\beta$  à l'origine de cette mutarotation.  $\alpha$  D Glucose =  $+112^\circ$   $\beta$  D Glucose =  $+18.7^\circ$  D Glucose =  $+52.7^\circ$ .

Le pouvoir rotatoire d'une solution fraîchement préparée de glucose change lorsqu'on l'observe au polarimètre (phénomène de mutarotation). Ce changement traduit une modification de structure.



#### 2. 4. 2. 2. Représentation cyclique du glucose

Tollens en 1883 a proposé une structure cyclique du glucose pour interpréter les propriétés anormales. Cette cyclisation est basée sur la formation

- D'un pont d'oxygène (oxydique) par une liaison héli-acétalique (héli du grec = demi) interne entre la fonction aldéhyde et une des fonctions alcool du même ose, formant ainsi un cycle.
- Le C1 devient alors un nouveau centre d'asymétrie (devenu un carbone asymétrique).

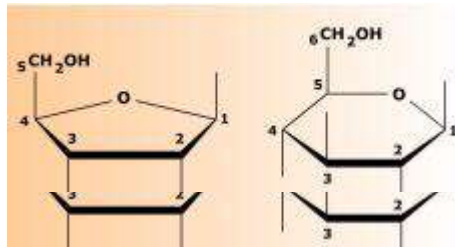
#### 2. 4. 2. 3. Projection de HAWORTH

**La représentation de Haworth simplifie l'écriture des structures cycliques et permet de retrouver la formule de Fischer de l'ose avant cyclisation.**

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.



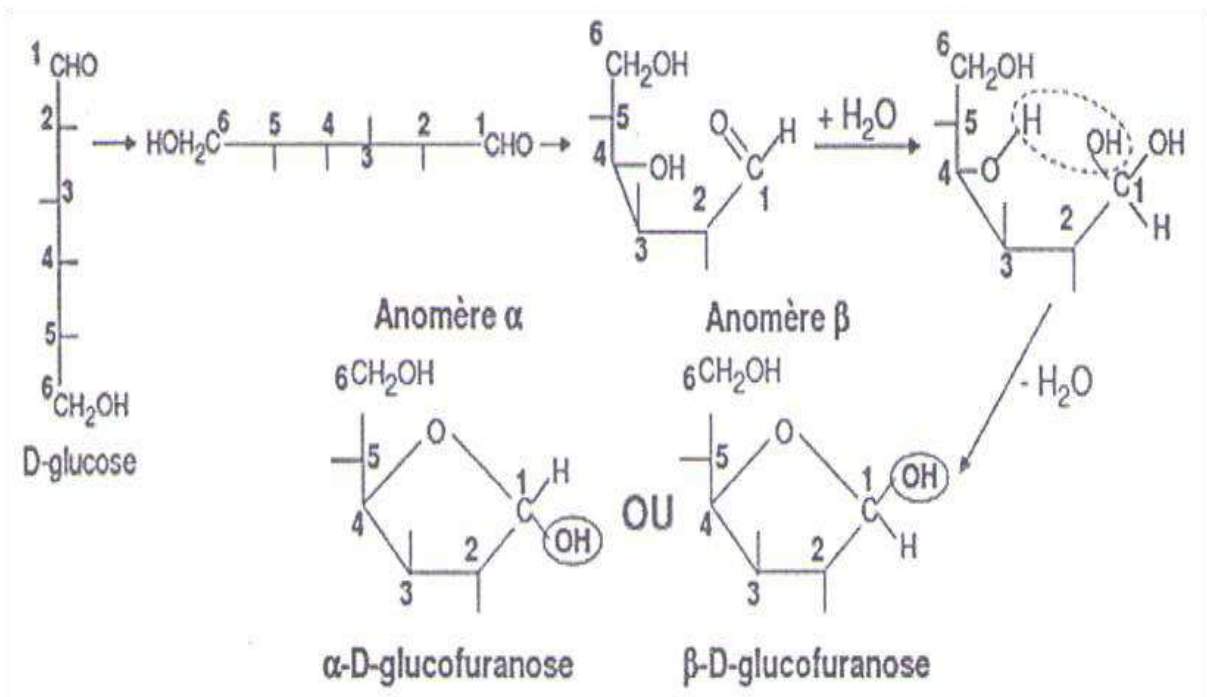
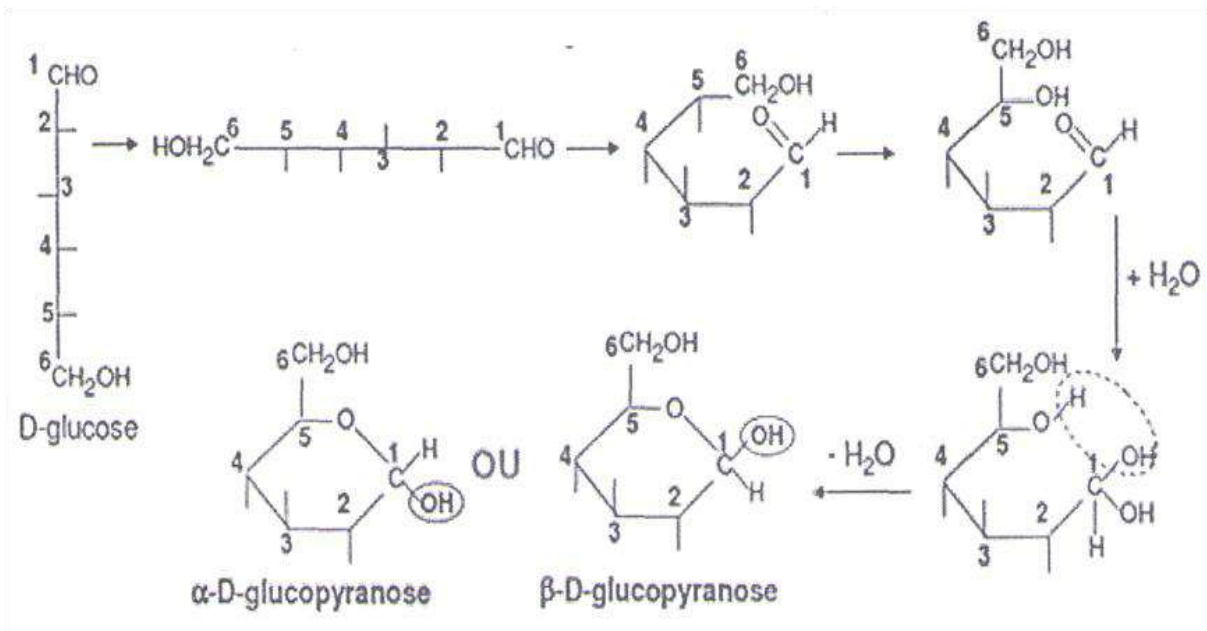


Les positions relatives dans l'espace des 4 substituants définissent 2 configurations de stéréoisomères, les **anomères**  $\alpha$  et  $\beta$ . Le carbone **C1** est désigné sous le nom de **carbone anomérique**. Pour l'anomère  $\alpha$  : le nouveau groupe ( $-\text{OH}$ ) du carbone anomérique 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  $\beta$  : le nouveau groupe ( $-\text{OH}$ ) du carbone anomérique et le carbone 6 sont en configuration **Cis** (se projettent du même côté du plan).

#### 2.4.2.4. Mécanisme de cyclisation

##### a- Cas des aldoses

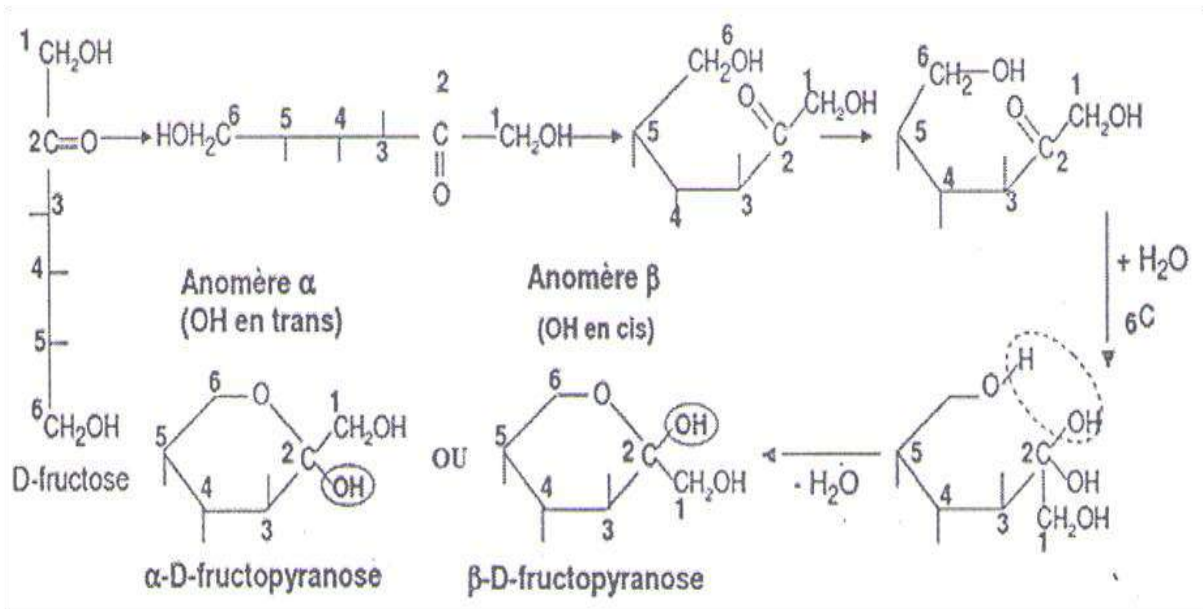
La réactivité du carbonyle est suffisante pour que, mis à proximité d'un hydroxyle, la réaction aldéhyde/alcool se produise. Le début de la cyclisation commence par une rotation de  $90^\circ$  de l'hydroxyle porté par le carbone 5 (au-dessous du cycle) autour de la liaison entre le carbone 4 et le carbone 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. 1 4, 15). Pour un aldose, cette héli-acétalisation intra-moléculaire peut avoir lieu avec les paires de carbone **C5-C1** ou **C4-C1** pour former un hétérocycle mono-oxygéné qualifié de **pyrane** à 6 atomes (5 carbones et 1 oxygène) ou **furane** à 5 atomes (4 carbones et 1 oxygène) (Fig. 1 4). Seuls les oses à 5 ou 6 carbones donnent des formes cycliques stables. Les tétroses existent en solution sous la forme ouverte.



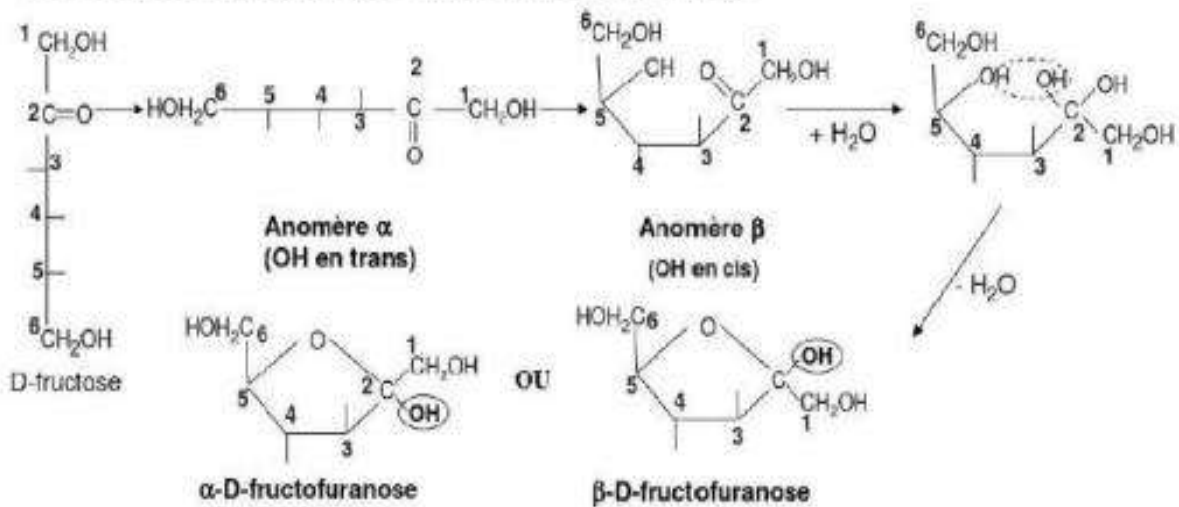
## b- Cas des cétones

Comme les aldoses les cétones peuvent se cycliser

Dans ce cas l'hémi-acétalisation intramoléculaire a lieu entre la fonction cétone et un groupement hydroxyle porté par l'un des carbones de la chaîne. Le carbone C2 est le carbone anomérique. L'hémi-acétalisation intramoléculaire peut avoir lieu avec la paire de carbone C2-C6 pour former un hétérocycle à oxygène à 6 sommets ou avec la paire de carbone C2-C5 pour former un hétérocycle à oxygène à 5 sommets (Fig.).

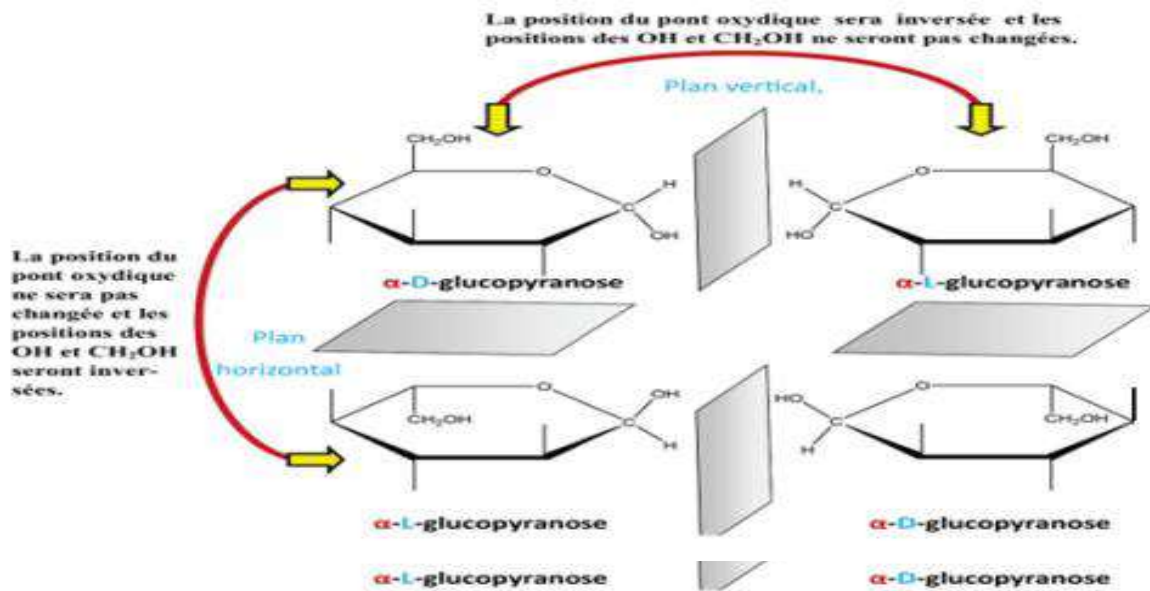


## 2. Formation de furanose (C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>) (c'est une forme stable)



Pour un aldohexose, c'est la configuration du **C5** qui détermine la série **D** ou **L** dans la représentation de Fisher. Donc, dans la représentation de Haworth, l'obtention de l'énantiomère d'un ose cyclique (Fig. 1 6) 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<sub>2</sub>OH). La forme L obtenue avec un miroir horizontal change la position des groupements hydroxyles (OH) et (CH<sub>2</sub>OH) et garde la même position des atomes formant le cycle de la forme D.



#### 2.4.4.2.4.3. propriétés physiques des oses

##### a. La solubilité

Les oses sont solubles dans l'eau donc capables d'établir des liaisons hydrogènes. Ils sont par contre insolubles dans les solvants apolaires exp: l'éther mais solubles dans le méthanol.

##### b. Pouvoir rotatoire

Les molécules qui ont des carbones asymétriques dévient le plan de polarisation d'une lumière polarisée. Tous les oses (sauf dihydroxy-acétone) ont une activité optique.

##### c. Propriétés spectrales (Spectre d'absorption)

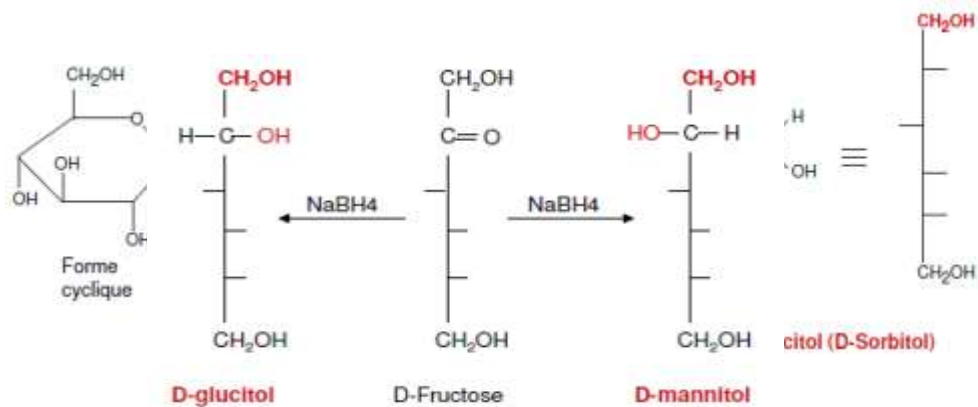
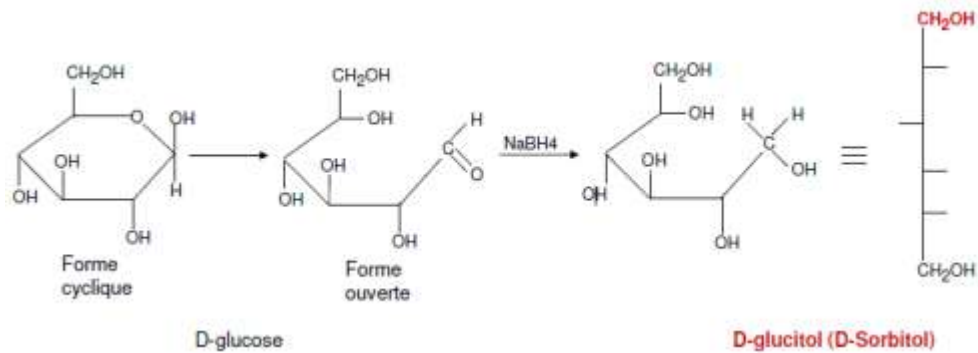
Les oses absorbent les rayonnements du spectre infrarouge, mais n'absorbent pas ceux du spectre UV ni ceux du spectre visible. C'est pour cette raison qu'ils se présentent généralement sous la forme de cristaux blancs.

#### 2.4.4. Propriétés chimiques des oses

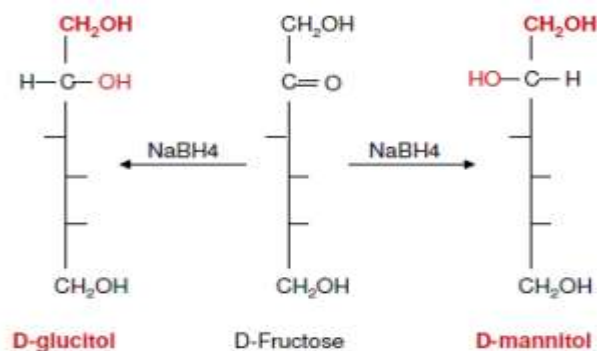
Leurs propriétés chimiques sont caractéristiques des groupements hydroxyles alcooliques et des groupements carbonyles.

##### A. Propriétés dues à la fonction carbonyle

**A.1. Réduction des oses : obtention d'alditols (ositol) :** Les aldoses et les cétooses sont **irréversiblement** réduits en alditols par addition des agents alcalins : borohydrures alcalins ( $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{LiBH}_4$ ) 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 pour les diabétiques est un édulcorant ou produit ayant un gout sucré deux fois plus faible que le saccharose)** et le D-mannose donne le **D-mannitol**, etc.



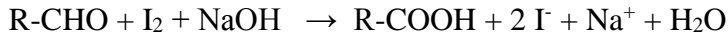
La réduction du D-fructose par  $\text{NaBH}_4$  donne un mélange équimoléculaire de D-glucitol et de D-mannitol, alditols épimères en C2.



## A.2. Oxydation des oses

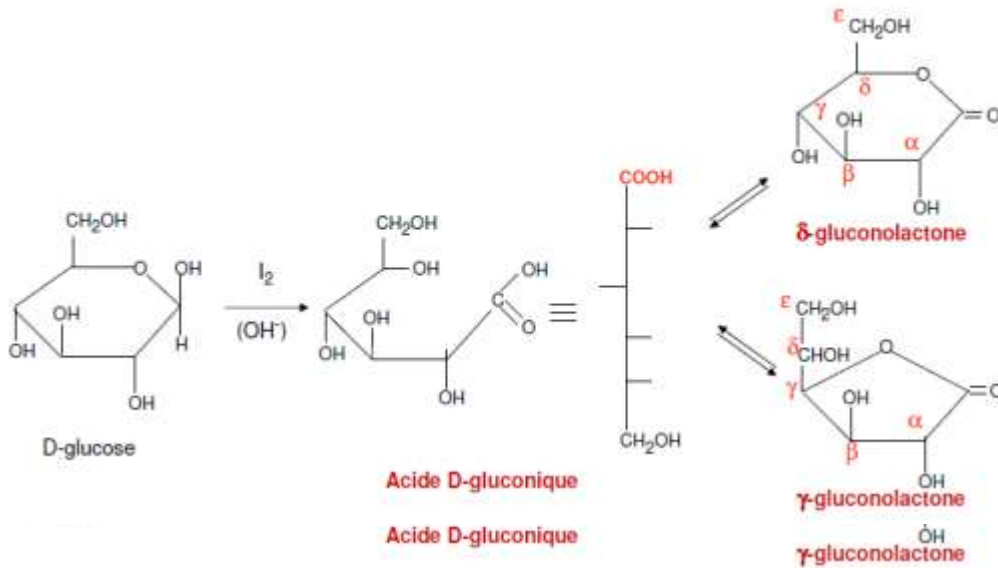
• **Oxydation douce en milieu alcalin à froid**

Les oxydants doux, comme le brome ou l'iode (Br<sub>2</sub>, I<sub>2</sub>) en milieu alcalin, l'acide nitrique très dilué, oxydent la fonction aldéhydique des aldoses en groupement carboxylique, conduisant à la formation d'un acide aldonique (R-COOH). Le D-glucose donne ainsi l'acide D-gluconique.



Aldose

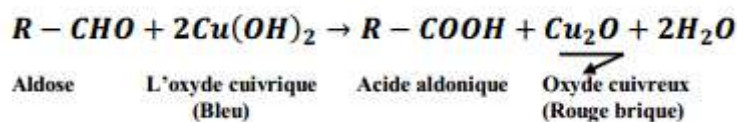
Acide aldonique



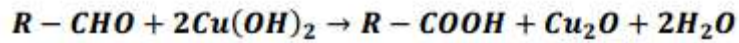
Après évaporation du solvant, les acides aldoniques se condensent en ester cyclique ou lactones. Selon la forme du cycle, on obtient un γ-lactones (furane) ou δ-lactones (pyrane). Pour connaître le nom de la lactone formé, il suffit de remplacer le suffixe -ose d'un aldose par le suffixe -onolactone. Le groupement cétone n'est pas oxydé par l'iode en milieu basique.

**Oxydation par les sels de métaux lourds Pouvoir réducteur des aldoses (Réaction d'oxydation des aldoses par la liqueur de Fehling)**

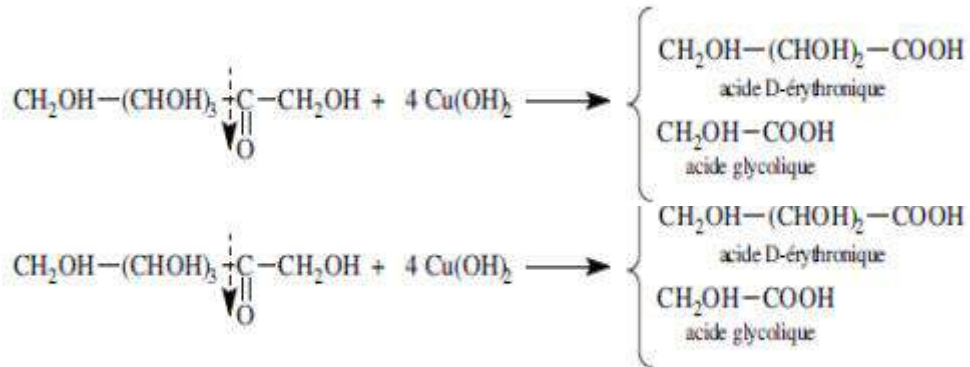
Réaction d'oxydation des aldoses par la liqueur de Fehling : à chaud en milieu alcalin, l'oxyde cuivrique (bleu) est réduit en oxyde cuivreux (rouge brique) insoluble, tandis que l'aldose s'oxyde en acide aldonique. Exp : Action de la liqueur de fehling avec les sels cuivriques (à chaud en présence d'un ose réducteur).







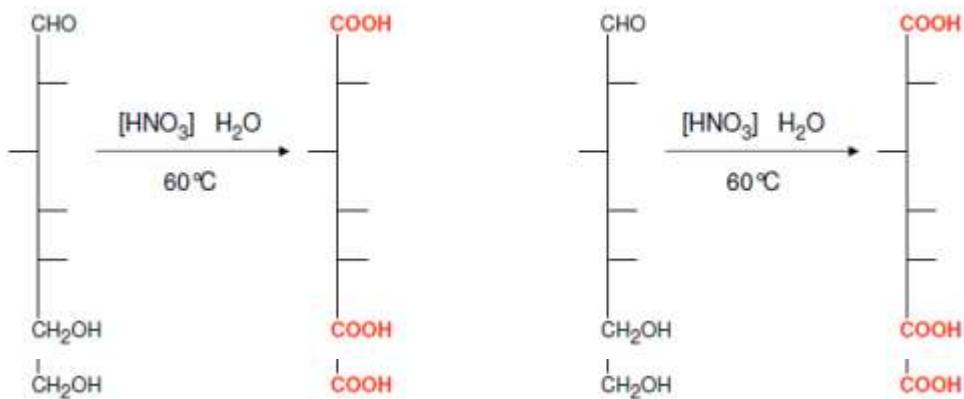
Les



cétones, qui ne peuvent pas subir d'oxydation ménagée, ne réagissent pas avec la liqueur de Fehling.

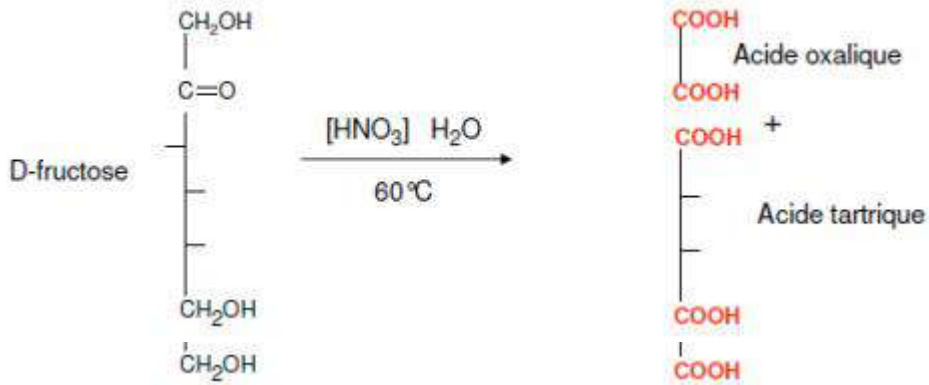
- **Oxydation forte = oxydation nitrique**

L'oxydation forte d'un aldose conduit à l'attaque simultanée de l'alcool primaire terminal et de l'aldéhyde. On obtient un di-acide carboxylique appelé **acide aldarique**.



Alors que

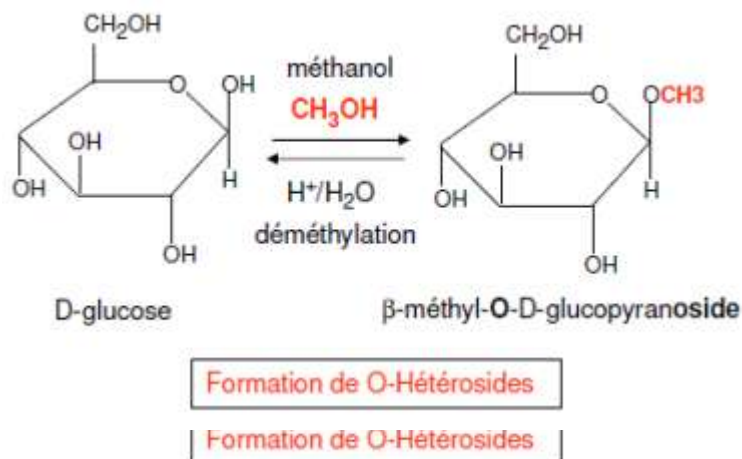
la même réaction d'oxydation provoque la **coupure oxydante** du squelette carboné des cétones.



## B. 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 méthyl-oses appelés les **O-Hétéroside**

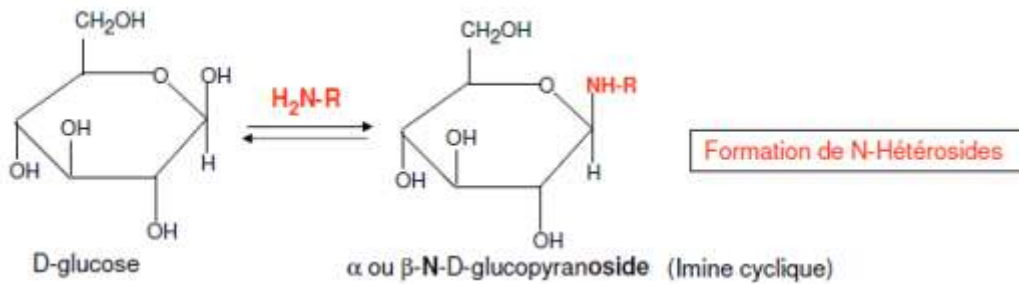


Un *O*-glycoside n'a **pas de pouvoir réducteur** (il ne réduit pas les oxydes métalliques). Il n'est **pas capable de mutarotation**.

- Action des amines (substitution)



Les aldoses et les cétooses se condensent avec les amines primaires pour donner des imines

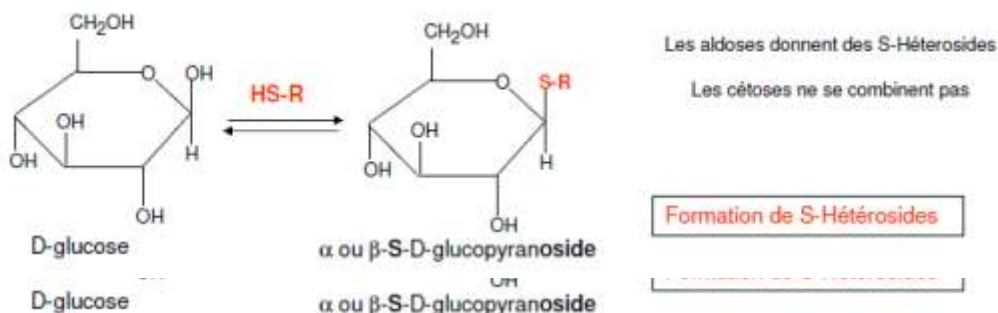


cycliques.

**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)**

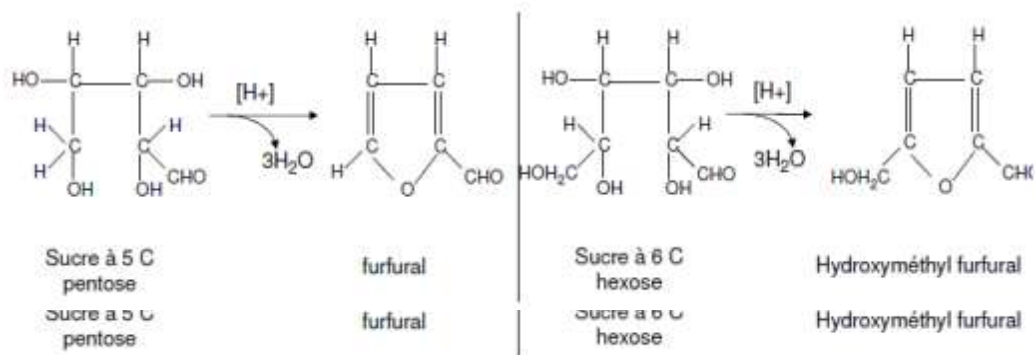
Le groupement aldéhydique des aldoses se combine avec des thiols (R-SH) pour donner naissance à des **S-Hétérosides**. Le groupement cétonique des cétooses par contre ne se combinent pas.



**C. Propriétés dues à la fonction alcool**

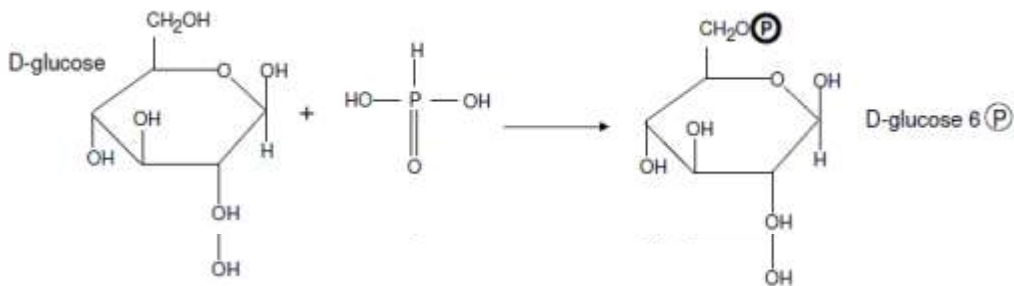
**C.1. Déshydratation en milieu acide**

Sous l'action d'un acide concentré et à chaud, les aldoses et les cétooses donnent le furfural (dans le cas des pentoses), ou un dérivé hydroxyméthylé du furfural (dans le cas des hexoses). Le test chimique ou (**Réaction de Seliwanoff**) distingue les aldoses des cétooses. il est basé sur le fait que, lorsqu'ils sont chauffés en milieu acide, les cétooses se déshydratent plus rapidement et donnent la couleur rouge cerise avant les aldoses.



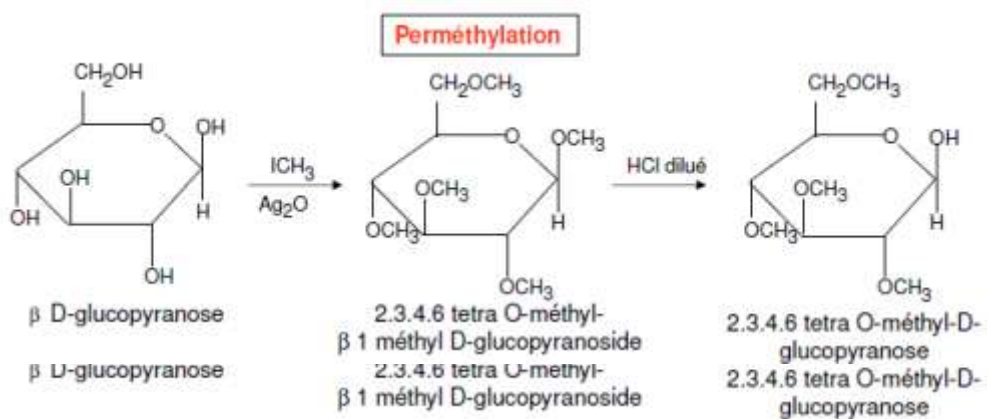
### C.2. Formation d'esters

Les fonctions alcool primaire et alcool secondaire des oses peuvent être estérifiées par l'acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ) pour donner des esters phosphoriques. Des oses mono- et diphosphate sont essentiels dans le métabolisme énergétique.



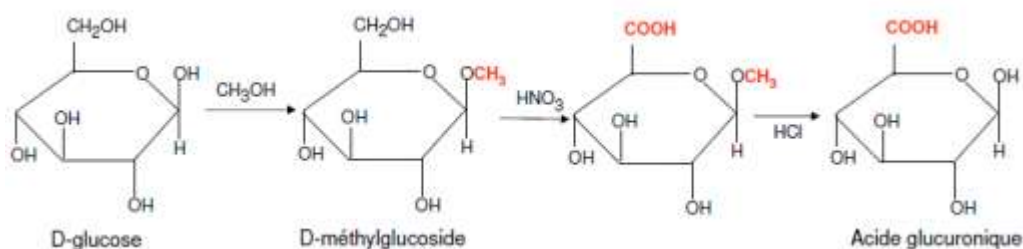
### C.3. Formation d'éthers

La méthylation permet de fixer un  $-CH_3$  sur un  $OH$  pour donner des éthers ( $R-O-CH_3$ ). 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 ( $NaOH$ ).



#### C. 4. Oxydation de la fonction alcool primaire

L'oxydation de la fonction alcool primaire portée sur le C6 permet de obtenir des acides uroniques, après protection de la fonction carbonyle par méthylation.



#### C.5. Oxydation par l'acide périodique (HIO<sub>4</sub>)

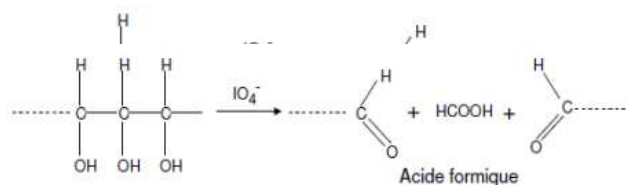
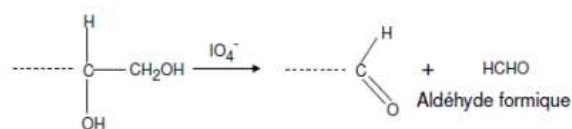
L'oxydation par l'acide périodique HIO<sub>4</sub> (méthode de *MALAPRADE* et *FLEURY*) est utilisée pour localiser l'emplacement du pont oxydique ainsi que la structure du cycle. Elle consiste à couper la liaison covalente entre deux carbones juxtaposés (adjacentes ou voisines) porteurs de fonction glycol libre (CHOH-CHOH ou CHOH-CH<sub>2</sub>OH).

il apparaît alors deux groupements carbonyliques avec perte d'une molécule d'eau.

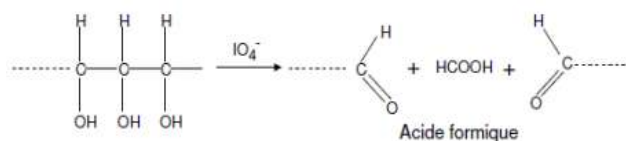
Lorsqu'il existe plusieurs fonctions alcooliques voisines :

- La fonction « alcool primaire » donne naissance à l'aldéhyde formique HCHO.
- Les fonctions « alcools secondaires » donnent naissance à l'acide formique HCOOH.

#### Fonction alcool primaire



#### Fonction alcool secondaire



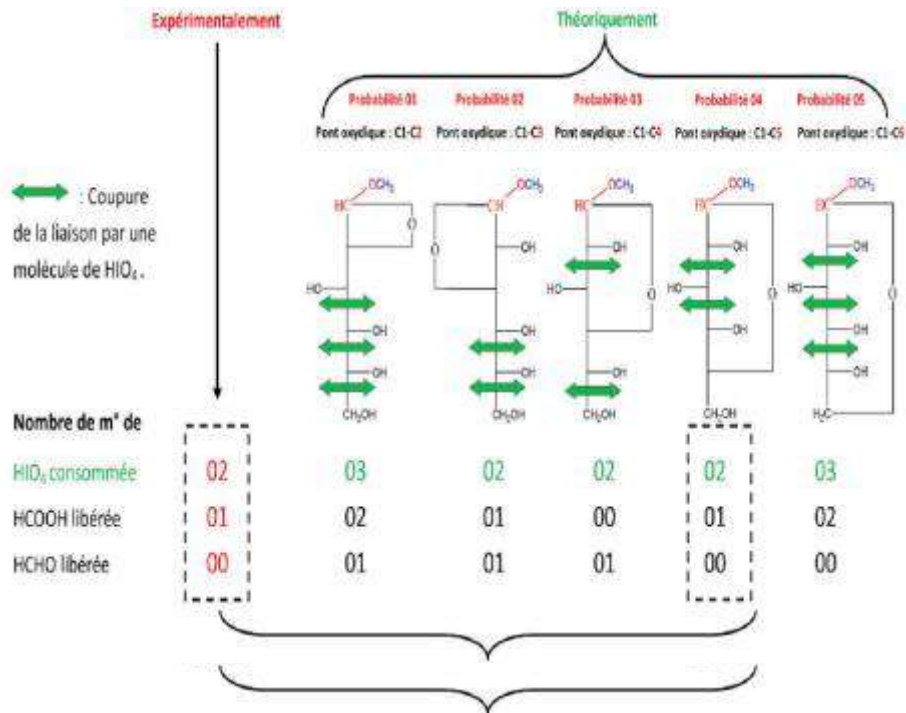
**Tableau 4:** Mode de coupure des oses par l'acide périodique HIO<sub>4</sub> et produits de la réaction libérés.

$  \begin{array}{c}  \text{H} \quad \updownarrow \quad \text{H} \\    \quad \quad   \\  \text{R}-\text{C}-\text{C}-\text{R}' \\    \quad \quad   \\  \text{OH} \quad \text{OH}  \end{array}  \xrightarrow{\text{IO}_4^-}  \begin{array}{c}  \text{H} \\    \\  \text{R}-\text{C}=\text{O}  \end{array}  +  \begin{array}{c}  \text{H} \\    \\  \text{O}=\text{C}-\text{R}'  \end{array}  + \text{IO}_3^- + \text{H}_2\text{O}  $ <p style="text-align: right; margin-right: 100px;">ion iodate</p>	
<p>Les carbones porteurs de fonction alcool primaire se transforment en aldéhyde formique (formol = HCHO).</p>	<p style="text-align: center;">Alcool primaire <span style="margin-left: 100px;">Aldéhyde formique</span></p>
<p>Tandis que les carbones porteurs de fonction alcool secondaire se transforment en acide formique (HCOOH)</p>	<p style="text-align: center;">Alcool secondaire <span style="margin-left: 100px;">Acide formique</span></p>

**Tableau 4:** Mode de coupure des oses par l'acide périodique HIO<sub>4</sub> et produits de la réaction libérés.

$  \begin{array}{c}  \text{H} \quad \updownarrow \quad \text{H} \\    \quad \quad   \\  \text{R}-\text{C}-\text{C}-\text{R}' \\    \quad \quad   \\  \text{OH} \quad \text{OH}  \end{array}  \xrightarrow{\text{IO}_4^-}  \begin{array}{c}  \text{H} \\    \\  \text{R}-\text{C}=\text{O}  \end{array}  +  \begin{array}{c}  \text{H} \\    \\  \text{O}=\text{C}-\text{R}'  \end{array}  + \text{IO}_3^- + \text{H}_2\text{O}  $ <p style="text-align: right; margin-right: 100px;">ion iodate</p>	
<p>Les carbones porteurs de fonction alcool primaire se transforment en aldéhyde formique (formol = HCHO).</p>	<p style="text-align: center;">Alcool primaire <span style="margin-left: 100px;">Aldéhyde formique</span></p>
<p>Tandis que les carbones porteurs de fonction alcool secondaire se transforment en acide formique (HCOOH)</p>	<p style="text-align: center;">Alcool secondaire <span style="margin-left: 100px;">Acide formique</span></p>

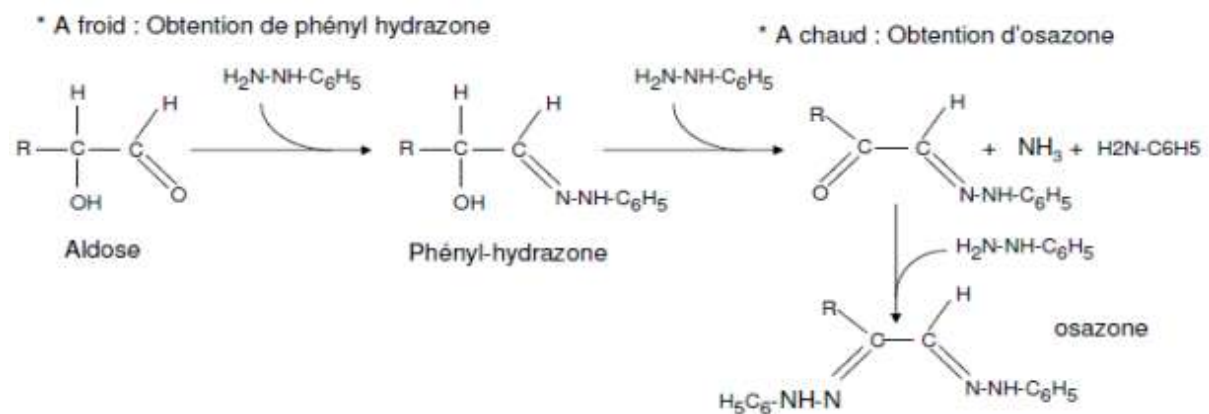
L'ose est d'abord méthylié pour protéger l'hydroxyle anomérique en C1 puis soumis à l'action de l'HIO<sub>4</sub>. En étudiant les produits de la réaction et le nombre d' HIO<sub>4</sub> consommés, on peut déduire le nombre, la nature et la position des groupements hydroxyles libres.



## D. Propriétés dues à un groupement alcool et un groupement carbonyle voisins

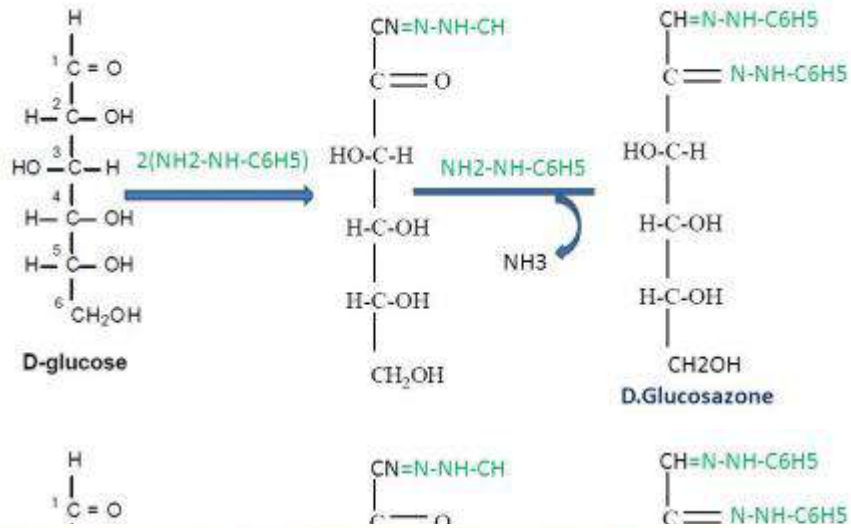
### D. 1. Action de la phényl hydrazine (Formation d'osazones)

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

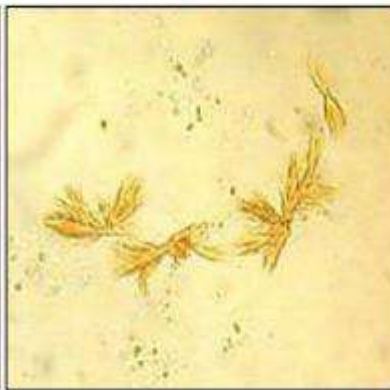


Exemple : le D-glucose réagit avec une molécule de phénylhydrazine à froid conduisant à la formation de phénylhydrazine de glucose. A chaud, le D-glucose réagit avec deux molécules de phénylhydrazine en formant un glucosazone.





Glucosazone (x 250)



Maltosazone (x 250)



Lactosazone (x 250)

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



**Glucosazone (x 250)**

**Maltosazone (x 250)**

**Lactosazone (x 250)**

solution.

## 2.5. Osides

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

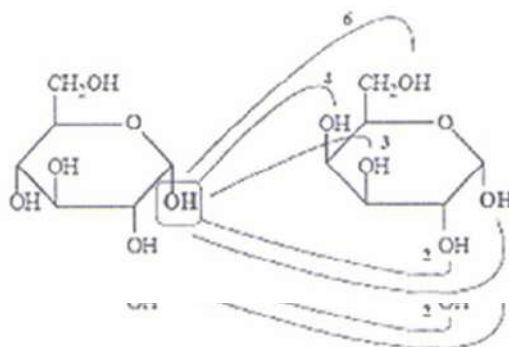
### 2.5.1. Holosides

#### a. Oligosides

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

#### a.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 semiacétalique) d'un ose porté par le carbone anomérique (**C1** pour les aldoses, **C2** pour les cétooses), en position  $\alpha$  ou  $\beta$ , avec un hydroxyle d'un autre ose.



La liaison osidique d'un holoside est caractérisée par l'anomérisation, la série, les types d'oses et la forme de leurs cycles (pyrane ou furane) tout en commençant par l'ose qui est le plus à gauche ou en haut par rapport à la molécule. Le nom du 1<sup>er</sup> 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.

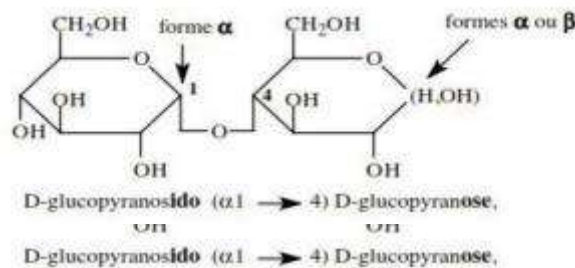
## a.2. Diholosides

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** et ne présente pas de phénomène de mutarotation (**saccharose, tréhalose**).

- **Les diholosides réducteurs**

### a) Le Maltose

- ❖ C'est un produit d'hydrolyse obtenu lors de la digestion des polysides (amidon et glycogène) par les amylases.
- ❖ Il est formé par l'union de 2 molécules de glucose unies en  $\alpha$  1-4. C'est un oside réducteur.
- ❖ Il est hydrolysé en 2 molécules de glucose par une enzyme spécifique, la maltase.

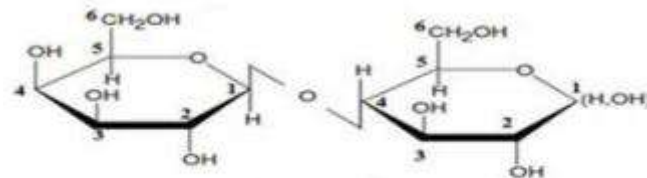


### b) Le Lactose

- ❖ Il est présent dans le lait de tous les mammifères.
- ❖ C'est un diholoside réducteur constitué d'une molécule de Galactose et d'une molécule de Glucose unies par une liaison  $\beta$  (1-4) osidique.



- ❖ L'intestin de certaines personnes ne sécrète pas la lactase (Enzyme), la substance responsable de la séparation dans l'intestin du lactose en glucose et galactose. Le lactose non digéré se retrouve alors dans leur gros intestin où il est fermenté par des bactéries qui y vivent.

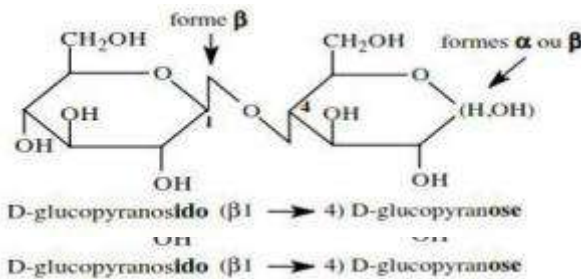


$\beta$ -D- Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose

$\beta$ -D- Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose

### c) Le cellobiose

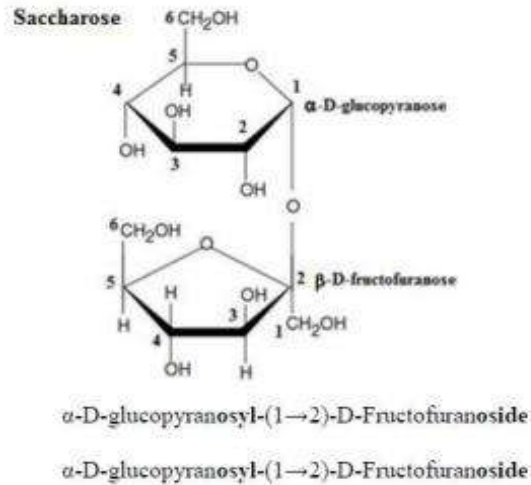
- ❖ unité de base de la cellulose, présente une liaison osidique  $\beta$  (1 -4) ; son nom systématique est le  $\beta$ -D-glucopyranosido (ou syl) 1-4 D-glucopyranose.
- ❖ Non hydrolysé dans l'organisme par la maltase en raison de sa liaison.



### • Les diholosides non réducteurs

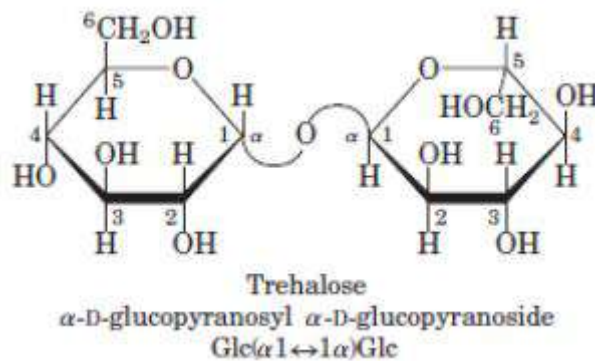
#### a) Le Saccharose (sucrose)

- ❖ C'est un diholoside non réducteur, très répandu dans les végétaux et tout particulièrement dans la canne à sucre et la betterave. C'est le sucre de table et le moins cher.
- ❖ Il est formé par l'union de 2 molécules (glucose + fructose) liés en  $\beta$  1 - 2. C'est un oside non réducteur.
- ❖ Le saccharose est hydrolysable par voie enzymatique avec une  $\alpha$  - glucosidase ou une  $\beta$ - fructosidase.



### b) Tréhalose (sucre non réducteur)

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.



#### a.2.1. Hydrolyse par voie chimique

L'hydrolyse chimique des osides se fait en milieu (à pH acide HCl N/10) et à chaud (60°C) pendant 1 heure. Cette hydrolyse n'est pas spécifique à un type de liaison et donc toutes les liaisons glycosidiques seront clivées et les produits obtenus seront des unités d'oses monomériques.

#### a.2.2. Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse des liaisons glycosidiques peut être réalisée aussi par voie enzymatique en présence 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  $\alpha$  ou  $\beta$ -glycosidases, des  $\alpha$  ou  $\beta$ -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  $\alpha$ -glycosidase spécifique des liaisons ( $\alpha 1 \rightarrow \alpha 1$ ).

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

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

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

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

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

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

### **a.3. Autres oligosides**

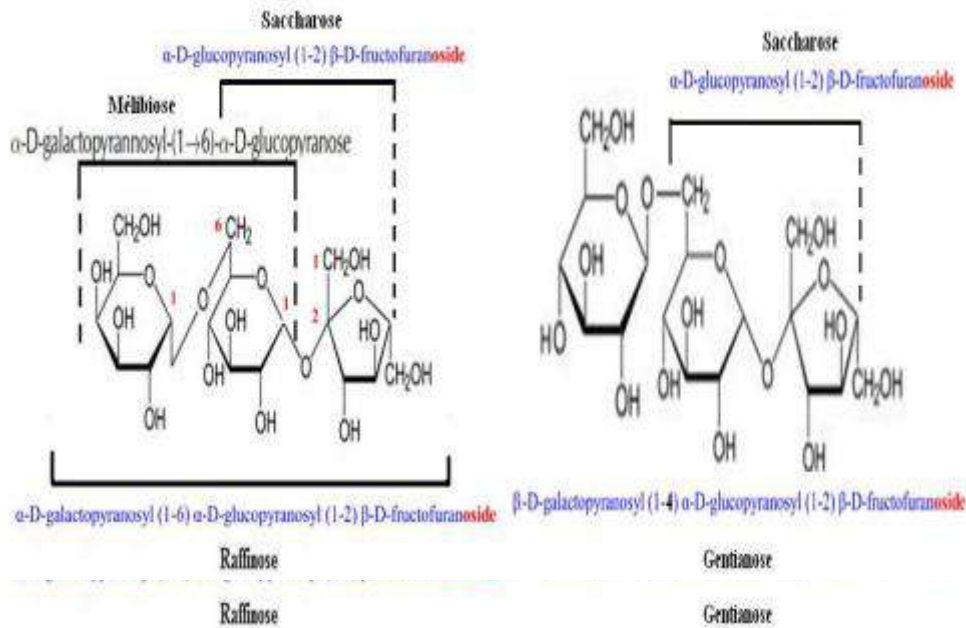
Deux triholosides sont trouvés à l'état naturel : le raffinose et le gentianose.

#### **a.3.1. Le raffinose**

Est présent dans la betterave est éliminé lors du raffinage du sucre. Il est noté Gal ( $\alpha 1 \rightarrow \square \square \square$  **Saccharose** ou encore : D-galactopyranosido ( $\alpha 1 \rightarrow \square \square \square$  D-glucopyranosido ( $\alpha 1 \rightarrow \square \beta 2$ ) D-fructofuranoside.

#### **a.3.2. Le gentianose**

Est présent dans la gentiane (une fleur). Il est noté Glc ( $\alpha 1 \rightarrow \square \square \square$  Saccharose.



## b. Polyosides

La plupart des glucides se présentent à l'état naturel sous forme de polysides de haut poids moléculaire. Le D-glucose en est le constituant majeur.

Les plus représentatifs sont l'amidon dans le règne végétal et le glycogène dans le règne animal.

### b.1. Homopolysaccharides (polyosides homogènes)

Appelés aussi homoglycanes, ils sont formés d'un seul type d'oses ou dérivés d'oses (Tableau). 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.

Nom	Structure	Monomère	Liaison	Type
<b>Amylose</b>	linéaire	D-Glcp	$\alpha$ 1→4	Glucane
<b>Cellulose</b>	linéaire	D-Glcp	$\beta$ 1→4	Glucane
<b>Chitine</b>	linéaire	D-GlcpN(Ac)p	$\beta$ 1→4	Chitosane
<b>Amylopectine</b>	ramifiée	D-Glcp	$\alpha$ 1→4	Glucane
<b>Glycogène</b>	ramifiée	D-Glcp	$\alpha$ 1→4	Glucane

#### b.1.1. Polyosides de réserve

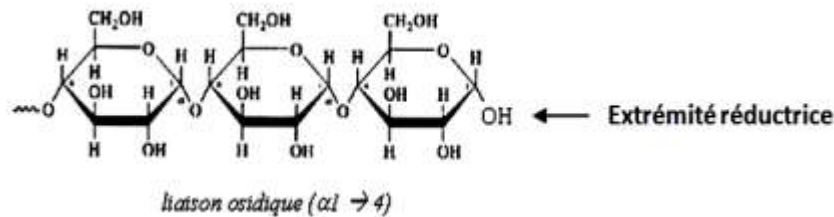
Il s'agit essentiellement des glucosanes (amidon et glycogène) et d'un fructosane (inuline).

**a. L'amidon** C'est la réserve glucidique principale du monde végétal, ce qui explique son importance dans l'alimentation humaine. Les sources essentielles sont les graines des céréales (blé, maïs et riz) et certains tubercules (pommes de terre). L'amidon est composé de deux

substances différentes: - 15 à 30 % d'amylose. - 70 à 85 % d'amylopectine (ou iso-amylose).

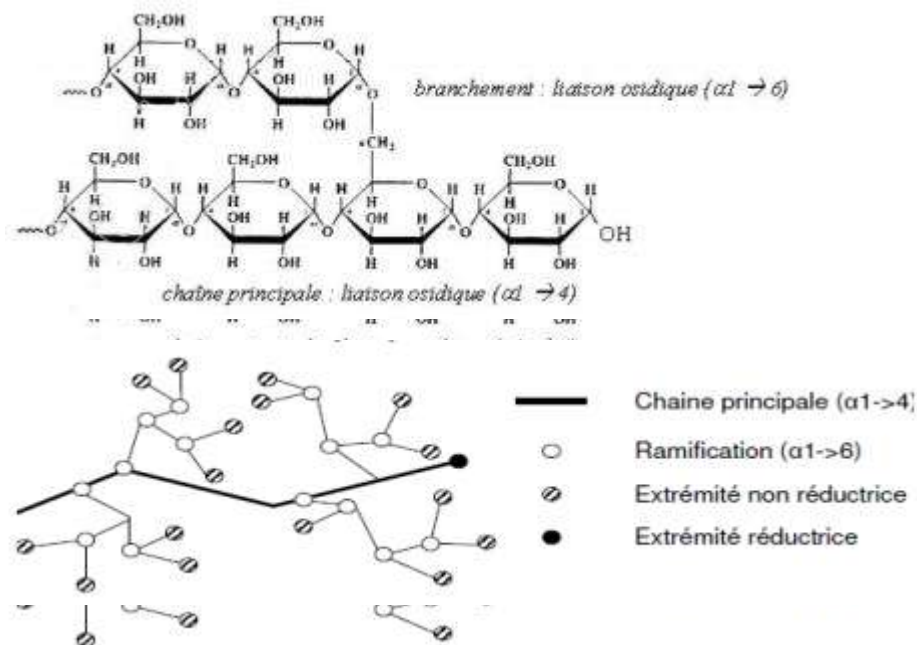
### a.1. L'amylose

C'est un polymère à chaîne linéaire résultant de la condensation d'unités de D-glucose par des liaisons osidiques  $\alpha$  (1-4). Le nombre de résidus de D-glucose est compris entre 200 et 3000 par molécules. L'hydrolyse de l'amylose par une enzyme, l'*amylase*, donne naissance à des polymères à courte chaîne, les *dextrines*, puis à un diholoside, le *maltose*. Son action est complétée par une maltase (ou une hydrolyse acide) qui libère des résidus de D-glucose.



### a.2. L'amylopectine

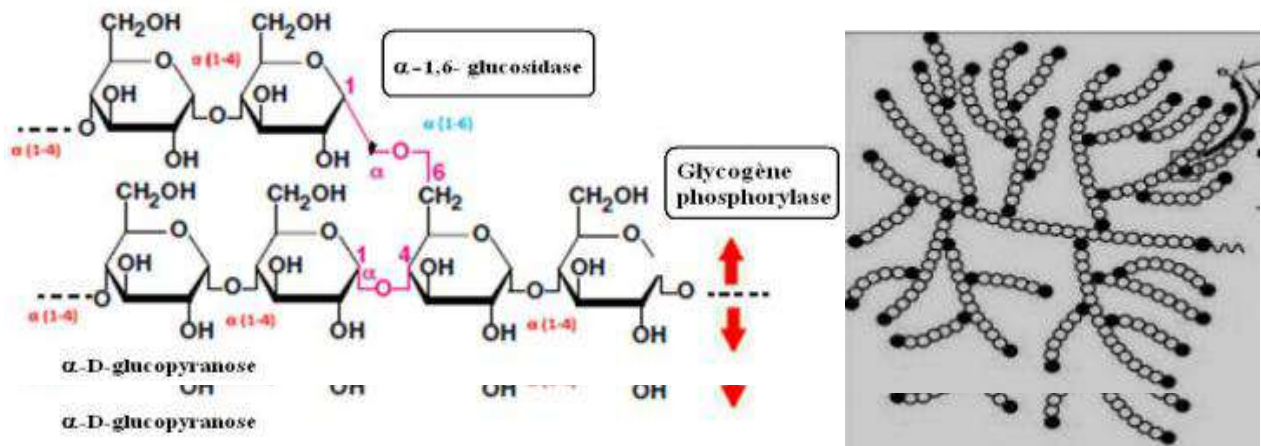
Elle est constituée de chaînes de D-glucose unis par des liaisons  $\alpha$ (1-4), ces chaînes étant elles mêmes ramifiées par des liaisons  $\alpha$ (1-6). L'hydrolyse de l'amylopectine par les amylases donne donc naissance à du **maltose** et à de **l'isomaltose**. L'hydrolyse acide, ou par une maltase, conduit en définitive à du D-glucose.



### b. Glycogène

C'est l'équivalent animal de l'amidon végétal (La structure du glycogène est analogue à celle de l'amylopectine, mais avec des ramifications plus fréquentes ou les branchements ont lieu tous les 8 à 12 résidus). Le glycogène est la réserve essentielle de glucose chez les animaux

supérieurs et l'élément de base de la contraction musculaire. Le glycogène résulte de la condensation d'unités D-glucose par des liaisons  $\alpha$  (1-4) formant des chaînes réunies par des liaisons  $\alpha$  (1-6). Le glycogène est très fortement ramifié la molécule de glycogène a une structure arborescente, comme l'amylopectine, mais l'abondance plus grande des ramifications lui donne un caractère compact plus marqué.

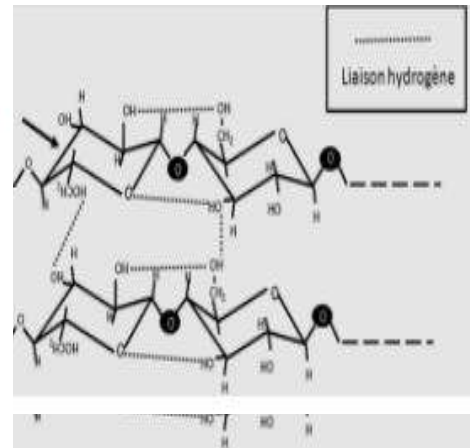
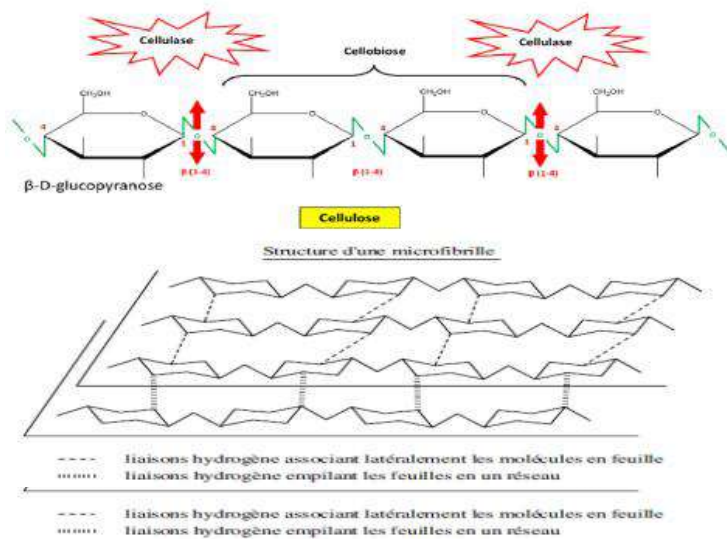


## b.1.2. Polyosides de structure

### 1. La cellulose

La molécule de cellulose résulte de la condensation exclusivement **linéaire** de plus de 10 000 unités de D-glucose, unies entre elles par des liaisons osidiques  $\beta$  (1-4). Cette liaison est bloquée dans une configuration "tête-bêche" stabilisée par les liaisons hydrogène entre l'oxygène hétérocyclique d'un monomère et la fonction OH porté par le **C3** du monomère suivant. La cellulose est un composant végétal fondamental, mais elle ne peut pas être attaquée (n'est pas hydrolysable) par les sucs digestifs de l'homme qui ne contiennent pas les systèmes enzymatiques nécessaires à l'hydrolyse des liaisons  $\beta$ -osidiques. Elle se trouve chez certaines bactéries, comme elle représente le constituant majeur des fibres de parois végétales. La cellulose (Fig.) représente la moitié du carbone disponible sur terre, mais il ne constitue pas une source de glucose sauf pour les ruminants.





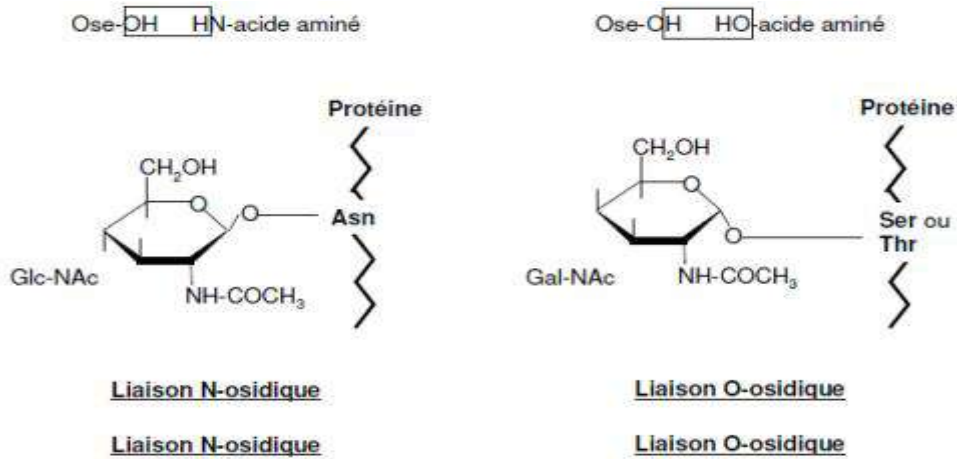
La dégradation de cellulose est réalisée par des  $\beta$ -glucosidases, les cellulases. Cette hydrolyse conduit au cellobiose qui sera hydrolysé en glucose par les cellobiases. L'escargot possède des cellulases en abondance, les mammifères en sont dépourvus et ne peuvent assimiler l'herbe sauf les herbivores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

### 2.5.2. Hétérosides

Les hétérosides résultent de la combinaison du groupement carbonyle libre d'un ose ou d'un oligoside, avec une fraction non glucidique appelée **aglycone**. Selon la nature de l'aglycone, on distingue:

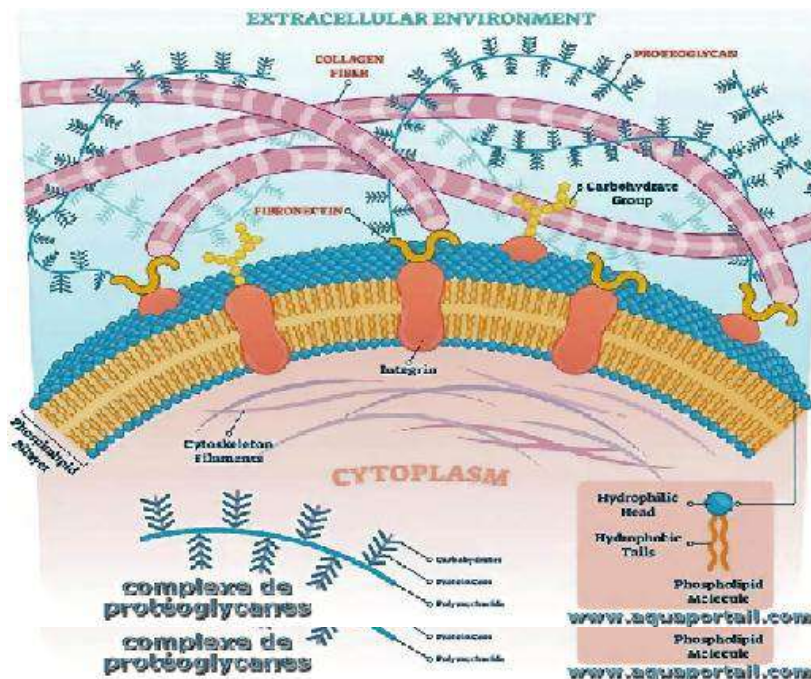
#### 1. Les glycoprotéines

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-acétylglucosamine et la fonction amide de l'**asparagine (acide aminé)** - la liaison **O-osidique** est plus diverse. Elle s'établit par le dérivé N-acétylgalactosamine et la fonction alcool de la **sérine** ou de la **thréonine**.



## 2. Les protéoglycannes

Un protéoglycane est une glycoprotéine, combinaison d'une protéine et d'un glycosaminoglycane (GAG). L'association entre les deux types de chaîne s'effectue essentiellement dans l'appareil de Golgi, mais également au niveau du réticulum endoplasmique d'une cellule. Ce sont des molécules en général très volumineuses, composées par l'association covalente de protéines et de polymères glucidiques appartenant à la famille des glycosaminoglycannes (GAG). Les GAG 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.



### **3. Les peptidoglycannes**

polysides reliés par de nombreux petits peptides. Les peptidoglycannes forment la paroi des bactéries qui leur donne leur forme et les protège.

### **4. Les Glycolipides**

polyosides liés à des lipides.

### **5. les protéines glyquées**

produits de la fixation chimique d'une unité de glucose. L'hyperglycémie du diabète insulinaire favorise la fixation de cet ose sur les protéines plasmatiques (marqueur du diabète).

## **3. Les lipides**

Les lipides constituent la matière grasse des êtres vivants. Ils ne correspondent pas à une catégorie de molécules parfaitement définie chimiquement et forment donc un groupe très hétérogène de composés. Ces molécules sont caractérisées par leur hydrophobicité, elles ne sont pas solubles dans les solvants polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants organiques apolaires comme l'éther ou le chloroforme. Ils peuvent se présenter à l'état solide, comme dans les cires et les graisses, ou liquide, comme dans les huiles. Les lipides sont formés par l'union d'une molécule d'alcool avec une ou plusieurs molécules d'acides gras.

### **3.1. Classification**

Il est possible de classer les lipides en trois grandes catégories :

#### **3.1.1. Lipides simples ou homo-lipides**

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 glycéro-lipide), un stérol (cas d'un stéride) ou un alcool gras (cas d'un céride).

#### **3.1.2. 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.

#### **3.1.2. Composés à caractère lipidique**

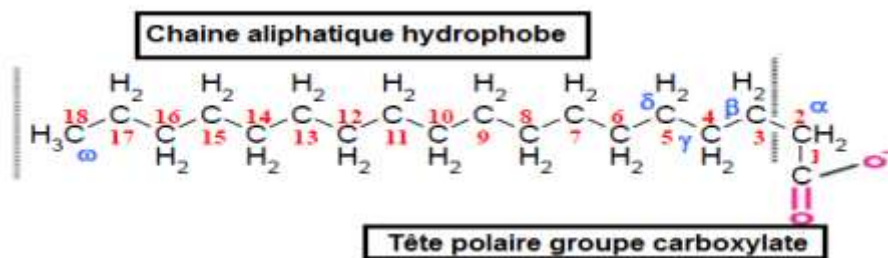
Ce sont des composés non hydrolysables. L'absence d'acides gras dans leur structure fait qu'ils ne sont pas de vrais lipides. Toutefois, leur comportement hydrophobe (et liposoluble) fait qu'on les rattache aux lipides. Ils regroupent les dérivés des stérols et les vitamines liposolubles.

### 3.2. Les acides gras

Sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure caractérisés par une répétition de groupements méthylènes -CH<sub>2</sub>- formant une longue chaîne aliphatique de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras).

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 : C1 est le carbone du carboxyle de tête, on a ensuite C2, C3, etc., jusqu'au C terminal du groupement méthyle.
- Une autre identification <attribue la lettre  $\alpha$  au C2 et  $\beta$  au C3, le C terminal est noté oméga  $\omega$ .



La grande majorité des acides gras naturels présentent les caractères communs suivants :

- Mono-carboxylique.
- Chaîne linéaire avec un nombre pair de carbones.
- Saturés ou en partie insaturés avec un nombre de double liaisons maximal de 6.

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

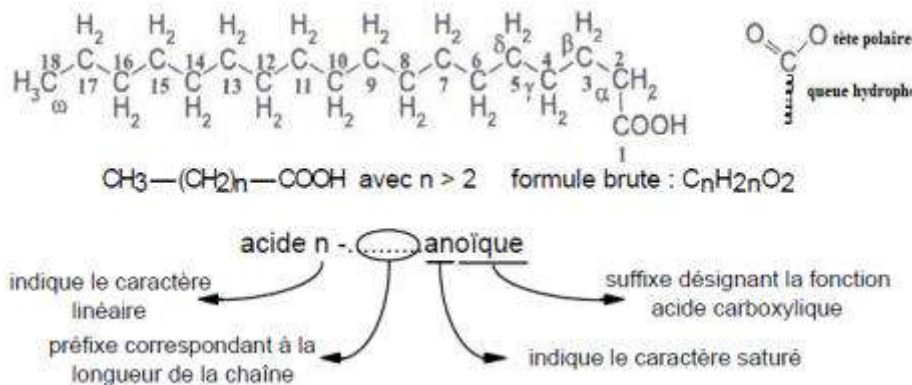
#### 3.2.1. Classification des acides gras

##### a. 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 hydro-solubilité. On en distingue trois : L'acide acétique (C2 : 0), nom usuel de l'acide éthanoïque ; l'acide propionique (C3 : 0), également appelé acide propanoïque et l'acide butyrique (C4 : 0) ou acide butanoïque. Ces molécules peuvent être produites par la flore intestinale (microbiote) et être absorbées par la muqueuse intestinale à des fins énergétiques. L'acide butyrique entre dans la composition du beurre. L'acide propionique se retrouve dans les fromages affinés. L'acide acétique est présent dans le vinaigre.

### b. Acides gras saturés

Ces molécules présentent une formule générale  $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$ . Leurs chaînes aliphatiques ne présentent pas de double liaison, d'où leur nom générique (Fig.). De ce fait, seule la fonction carboxylique est dotée de propriétés réactionnelles. On représente leur symbole par C suivi du nombre de carbones et de 0 pour l'absence de double liaison puisqu'ils sont saturés. Par exemple l'acide palmitique, à 16 atomes de carbone, s'écrit **C16 : 0**



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).

Les acides gras qui portent un nombre de carbones inférieur à 12, sont trouvés dans le lait des mammifères et bien sûr dans le beurre. Alors que ceux du nombre de carbones supérieur à 24, sont essentiellement des composants des cires protectrices fabriquées par les plantes, les bactéries et les insectes.

**Tableau :** Récapitulatif des acides gras saturés

longueur relative	nC	nom systématique	nom courant de l'acide	
chaîne courte	4	n-butanoïque	butyrique	<i>beurre</i>
	6	n-hexanoïque	caproïque	<i>lait de chèvre</i>
	8	n-octanoïque	caprylique	...
	10	n-décanoïque	caprique	...
chaîne moyenne	12	n-dodécanoïque	laurique (laurier)	<i>huile, graisses</i>
	14	n-tétradécanoïque	myristique (muscade)	<i>animales et</i>
	16	n-hexadécanoïque	palmitique (palmier)	<i>végétales</i>
	18	n-octadécanoïque	stéarique (suif)	
chaîne longue	20	n-icosanoïque	arachidique	<i>graines</i>
	22	n-docosanoïque	béhénique	
	24	n-tétracosanoïque	lignocérique	<i>cires des plantes bactéries insectes</i>
	26	n-hexacosanoïque	cérotique	
	28	n-octacosanoïque	montanique	
	30	n-triacontanoïque	mélistique	
32	n-dotriacontanoïque	lacéroïque		

### c. Les acides gras insaturés

Ils représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, ils possèdent :

- une double liaison : acides **monoéniques** ou **monoinsaturés**
- Ou plusieurs doubles liaisons : ils sont **polyéniques** ou **polyinsaturés**

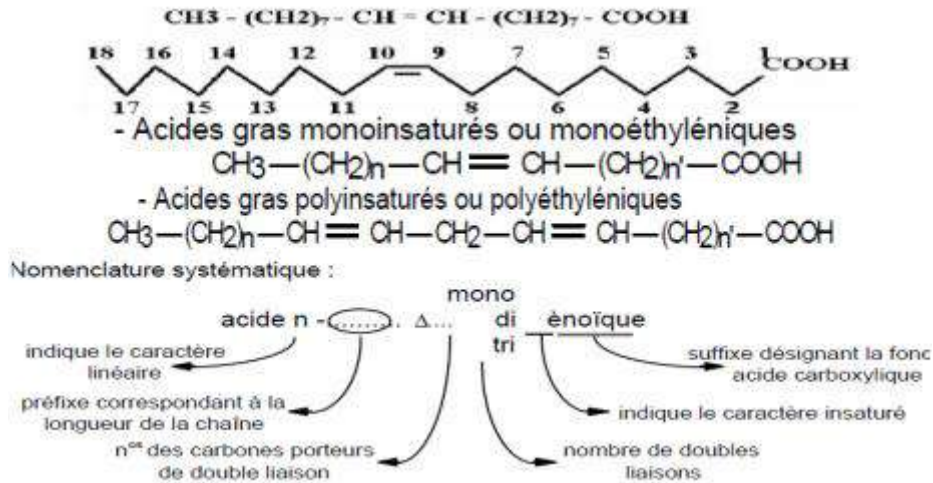
La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones.

En règle générale :

- la première, ou la seule, double liaison est établie entre les **C9** et les **C10**.
- les doubles liaisons multiples ne sont pas conjuguées mais séparées par un groupe méthylène, ce qui les place, par exemple, en  $\Delta 9$ ,  $\Delta 12$ ,  $\Delta 15$ ...

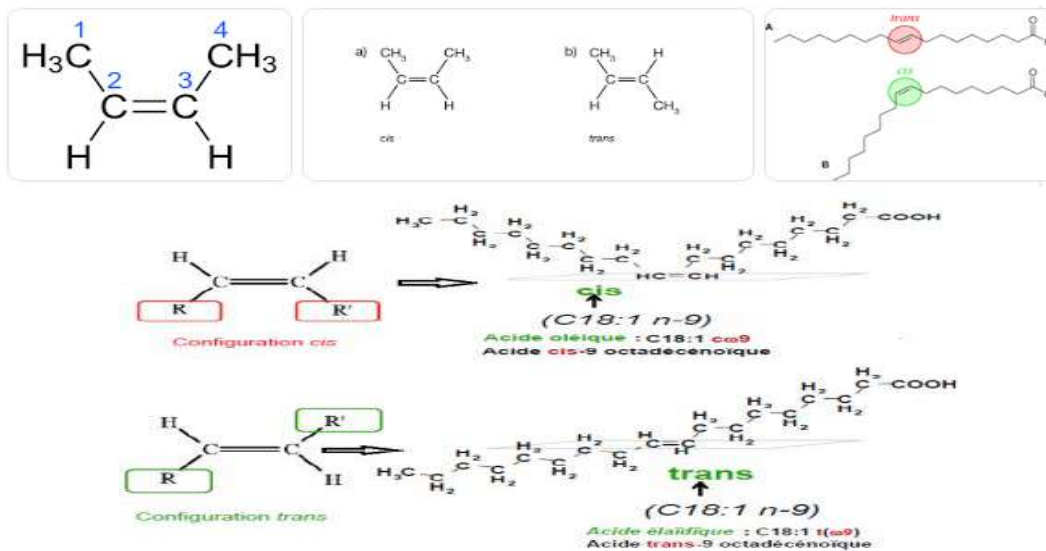
Ils présentent dans leur molécule une ou plusieurs doubles liaisons entre deux atomes de carbone successifs  $-HC=CH-$ . On dit qu'ils sont mono ou poly-insaturés. Leur symbole comporte (Fig.) le nombre de carbones suivi du nombre de doubles liaisons, leurs configurations (**cis** ou **trans**) et la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





Dans ces acides gras, les doubles liaisons sont en configuration isomérique *cis* si les substituants H sont localisés du même côté, alors que dans la configuration *trans*, les substituants H sont de différent coté côté (Fig.). La configuration *cis* provoque ainsi une courbure de la chaîne d'un angle de flexion de 30°.

Isomérisie *cis-trans*



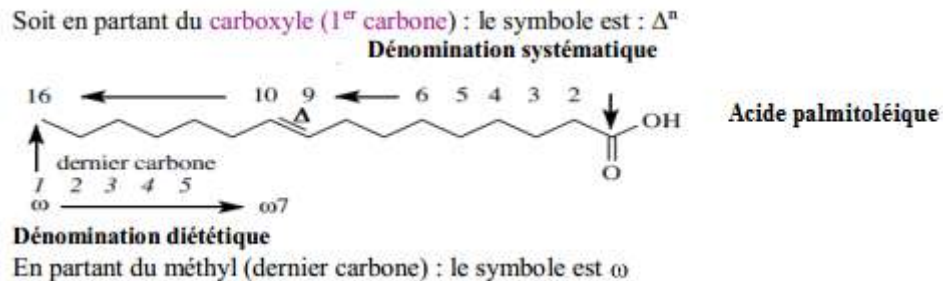
Dans la plupart des acides gras mono-insaturés (Tableau), la double liaison se situe entre les carbones C9 et C10 (Δ9). Les acides gras polyinsaturés comportent dans leurs chaînes plusieurs doubles liaisons toujours séparées par un ou plusieurs groupes méthylènes :

-CH=CH-CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub>-CH=CH-CH<sub>2</sub>-. Les doubles liaisons sont en configuration *cis* et souvent en position C9, C12, C15 (Δ9, Δ12 et Δ15) ; l'acide arachidonique 20 : 4(Δ5,8,11,14), précurseur des hormones eicosanoïdes, est une remarquable exception.

### La nomenclature

Des dénominations parallèles coexistent : la nomenclature systématique s'efface souvent devant les noms d'usage.

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



**Tableau : Récapitulatif des acides gras insaturés.**

nC	nom systématique	nom courant	symbole	série	
16	cis-9-hexadécénoïque	palmitoléique	C16: 1(9)	$\omega 7$	<i>très répandu</i>
18	cis-9-octadécénoïque	oléique	C18: 1(9)	$\omega 9$	<i>très répandu</i>
	cis-11-octadécénoïque	vaccénique	C18: 1(11)	$\omega 7$	<i>bactéries</i>
	cis, cis-9-12 octadécadiénoïque	linoléique	C18: 2(9, 12)	$\omega 6$	<i>graines</i>
	tout cis-9-12-15 octadécatriénoïque	linoléinique	C18: 3(9, 12, 15)	$\omega 3$	<i>graines</i>
20	tout cis-5-8-11-14 icosatétraénoïque	arachidonique	C20: 4(5, 8, 11, 14)	$\omega 6$	<i>animaux</i>
	tout cis-5-8-11-14-17 icosapentaénoïque	EPA*	C20: 5(5, 8, 11, 14, 17)	$\omega 3$	<i>huiles de poissons</i>
24	cis-15-tétracosénoïque	nervonique	C24: 1(15)	$\omega 9$	<i>cerveau</i>

\*EPA : abréviation pour Acide EicosaPentaénoïque

**Pour les acides gras insaturés** : le nom systématique s'écrit : **conf-p-[nC] x énoïque**

- **conf-p** : configuration et position des doubles liaisons
- **[nC]** : nombre de carbones
- **x** : nombre de doubles liaisons (di, tri...)

Alors que le symbole est **Cn: m $\Delta$ (p, p'..)**

- **Cn** : nombre de carbones
- **m $\Delta$**  : nombre de doubles liaisons
- **(p, p'...)** : positions des doubles liaisons en numérotation normale
- la série est de la forme  $\omega n$  où n est la position de la première double liaison notée par rapport à la position  $\omega$ , dernier carbone de la chaîne aliphatique

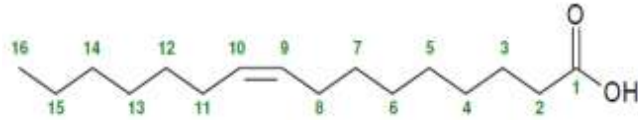
- le nom courant rappelle son origine.

## Principaux acides gras mono-insaturés

### a. Acide palmitoléique

– Nom systématique : acide cis-9-hexadécénoïque ;

– Notation ou symbole est : C16:1  $\Delta$ 9 ou C16:1  $\omega$ 7 .

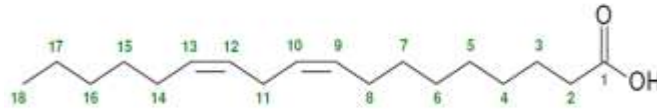


**Figure.** Structure de l'acide palmitoléique

### b. Acide oléique

Le nom l'acide oléique vient de l'huile d'olive dont il constitue 55 à 80%.

– Nom systématique : acide cis-9-octadécénoïque ; – Notation : C18:1  $\Delta$ 9 ou C18:1  $\omega$ 9.

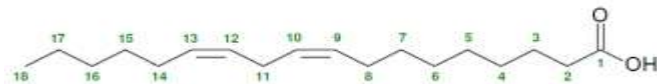


**Figure.** Structure de l'acide oléique

## Principaux acides gras poly-insaturés

### a. Acide linoléique

L'acide linoléique est acide gras essentiel, c'est également le précurseur de la famille des oméga-6. Le terme « précurseur » signifie que les autres acides gras de la famille peuvent être synthétisés à partir de l'acide linoléique. – Nom systématique : acide cis-cis-9,12-octadécadiénoïque ; – Notation : C18 : 2  $\Delta$  9,12 ou C18 : 2  $\omega$  6.



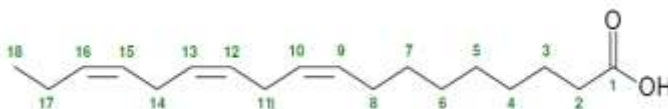
**Figure.** Structure de l'acide linoléique.

### b. Acide alpha-linolénique

L'acide alpha-linolénique est un acide gras essentiel, c'est le principal acide gras du groupe des oméga-3.

– Nom systématique : acide cis-cis-9,12-octadécadiénoïque.

– Notation : C18:3  $\Delta$  9,12,15 ou C18:3  $\omega$  3.



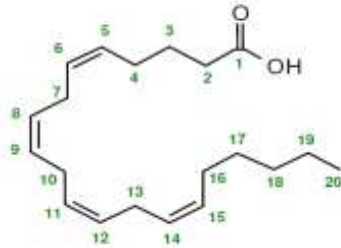
**Figure.** Structure de l'acide alpha-linolénique.

### c. Acide arachidonique

La structure de l'acide arachidonique mérite d'être retenue car ce composé est le précurseur des eicosanoïdes.

– Nom systématique : tout cis-5, 8, 11, 14-éicosatétraénoïque.

– Notation : C20:4 Δ 5,8,11,14 ou C20:4 ω 6.



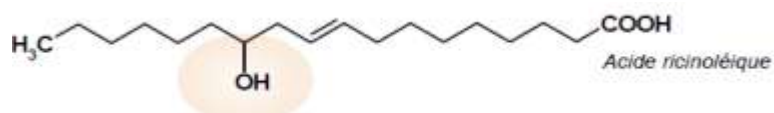
**Figure.** Structure de l'acide arachidonique.

### d. Acides gras atypiques

#### d.1. Acides gras hydroxylés

Les acides gras hydroxylés (également appelés AGH) sont un type spécifique de composé organique, dans lequel un ou plusieurs groupes hydroxylés fonctionnels se trouvent quelque part le long de la chaîne principale ramifiée ou non ramifiée d'un acide gras saturé ou insaturé. L'emplacement le plus courant pour la substitution hydroxyle correspond à la position C2.

Cette série d'acides gras est synthétisée par les végétaux comme par exemple l'acide ricinoléique (acide 12-hydroxy-9-cis-octadécénoïque) 18 : 1ω<sup>9</sup> (Fig.). Ils servent à la formation de la cutine.



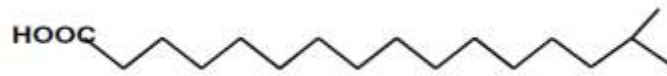
Chez les mammifères, il existe d'autres types d'acides gras hydroxylés. Certains glycolipides renferment de grandes quantités d'acides α-hydroxylés (OH sur le carbone 2) à 22, 23, 24 et 25 atomes de carbone.

#### d.2. Acides gras méthylés

portent un méthyle (-CH<sub>3</sub>) qui se substitue à un hydrogène, généralement, d'un des carbones terminaux. Ils sont en général saturés et communs chez les bactéries.

Un exemple est fourni par l'acide-15-méthylhexadécénoïque, particulièrement abondant chez les bactéries Gram<sup>+</sup>. Dérivé du phytol, l'acide phytanique (l'acide 3, 7, 11, 15 méthyl hexadécénoïque) est un constituant des certains lipides bactériens, en particulier chez les bactéries halophiles et les thermophiles (Fig.A). Cet acide est normalement catabolisé chez

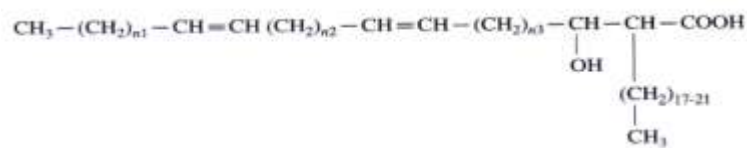
l'homme. L'absence de sa dégradation conduit à son accumulation dans les tissus (Maladie de Refsum).



### d.3. Acides gras ramifiés

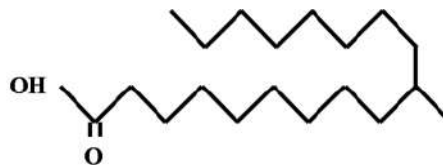
Les acides gras les plus courants comportent une ramification (méthyl, éthyl) placée sur la chaîne carbonée.

Chez d'autres bactéries (mycobactéries, corynébactéries), les acides mycoliques sont des composés majeurs de la paroi cellulaire (Fig.).



Ce sont des acides ramifiés à très longue chaîne. La chaîne principale peut avoir jusqu'à 70 carbones. Elle peut être ramifiée, hydroxylée, porteuse de groupe cétonique ou de cycle propanique.

Exp : Le bacille de Koch, *Mycobacterium tuberculosis*, responsable de la tuberculose, est riche en acides tuberculostéariques C18:0. Ce dernier est porteur d'un méthyle en position 10 caractéristique du genre de cette bactérie.

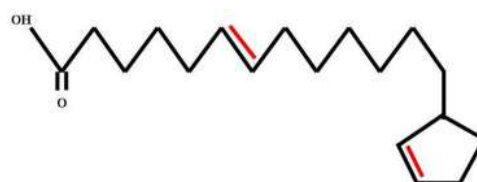


Acide tuberculostéarique C18:0

### d.4. Les acides gras cycliques

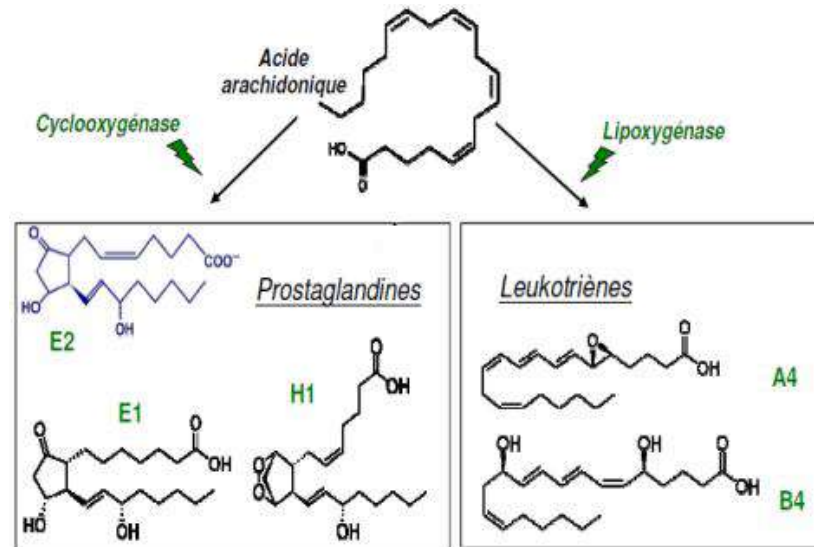
Portent une structure cyclique au niveau de la chaîne carbonée.

**Exp 1 : L'acide gorlique** est un acide gras à 18 atomes de carbone dont la chaîne aliphatique contient une double liaison et se termine par un cycle cyclopenténique. Il est extrait de l'huile de chaulmoogra (*Hydnocarpus wightiana*), un arbre d'Asie du sud-est, dont il constitue 12,8 % de ses acides gras. Cette huile est l'un des plus anciens remèdes connus contre la lèpre.



Acide gorlique

**Exp 2 : Prostaglandines et leukotriènes** (Fig.) dérivent des acides gras polyinsaturés à 20 carbones  $\omega 3$  et  $\omega 6$  (d'où le nom d'eicosanoïdes) et plus particulièrement de l'acide arachidonique, sous l'action de la cyclooxygénase (prostaglandines) et de la liopoxygénase (leukotriènes). Chez les mammifères, ce sont des composés à actions hormonales diverses.



### 3.2.2. Propriétés physiques des acides gras

#### a. Solubilité

Les acides gras à courte chaînes jusqu'à 4 carbones sont miscibles avec l'eau (Ex: acide butyrique a 4C), mais dès que le nombre d'atomes de carbone de la chaîne augmente, ils deviennent insolubles. Ils sont solubles dans les solvants organiques comme le benzène, l'éther ou le chloroforme.

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.

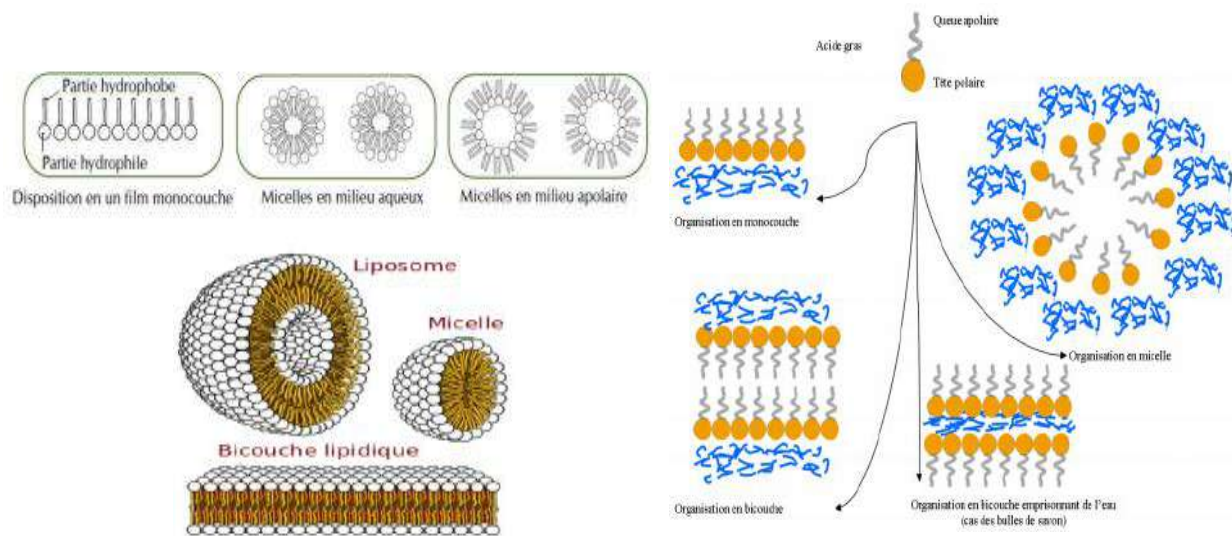
#### a.1. Monocouches, bicouche, micelles

Les acides gras à courte chaînes jusqu'à 4 carbones sont miscibles avec l'eau, mais au-dessus de la, les acides gras devenus insolubles dans l'eau et s'organisent quand ils sont mis en milieu aqueux soit en film moléculaire à l'interface eau-air ou en micelles (assemblages sphériques de molécules amphiphiles, délimitant un espace intérieur lipophile et une couronne polaire).

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.



Selon le caractère **amphiphile** et leur concentration dans le milieu aqueux, les acides gras insolubles soit en : **mono-couches**, **bi-couches (liposomes)** ou en **micelles** (émulsion).



### b. 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).

### c. Point de fusion et point d'ébullition

Le point de fusion est la température à laquelle une molécule passe de l'état solide à l'état liquide. Généralement, il existe une relation proportionnelle entre le point de fusion et la structure d'AG (Plus la chaîne carbonée est longue et saturée, plus la température de fusion est élevée). A la température ordinaire, les acides gras sont à l'état liquide si le nombre de leurs atomes de carbone est inférieur à 10 ; ils sont à l'état solide s'ils ont plus de 10 atomes de carbone. Quand le nombre de carbone dans un acide gras augmente, cela augmente la valeur du point de fusion (En effet, plus la chaîne aliphatique est longue, plus les régions d'alignement où s'expriment des forces de Vander Waals sont importantes et donc plus il faut d'énergie thermique pour dissocier les molécules et les faire passer à l'état liquide).

La présence de doubles liaisons dans un acide gras (les acides gras insaturés ayant peu de liaison interchaîne) abaisse son point de fusion par rapport à celui de l'acide gras saturé correspondant. Exemple : l'acide stéarique (18:0) est un acide gras saturé, il présente un PF proche de 70 °C alors que celui de l'acide oléique (18 :1  $\Delta^9$ ) est de 13,4 °C malgré qu'ils ont la même longueur de chaîne carboné.

Le point d'ébullition des acides gras est d'autant plus élevé que la chaîne est plus longue ; la présence de doubles liaisons est pratiquement sans influence.

### 3.2.3. Propriétés spectrales

A l'état pur les acides gras sont incolores. Les doubles liaisons conjuguées absorbent dans le spectre ultraviolet ce qui permet le dosage des acides gras insaturés. Leurs propriétés spectrales dépendent du nombre, du type (*cis* ou *trans*) et de la position de, ou des, doubles liaisons.

### 3.2.4. Propriétés chimiques

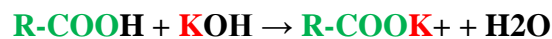
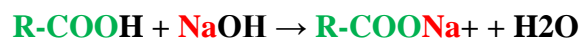
#### 3.2.4.1. Propriétés chimiques dues à la présence du carboxyle

- **Indice d'acidité**

Les acides gras présentent un pKa d'environ 4,8. Leur acidité est donc dosable et peut être définie par un indice d'acidité (Ia). Cet indice correspond à la masse de potasse (KOH) exprimé en (**mg**) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1g d'échantillon.

- **Formation de sels avec les bases (saponification)**

Les **acides gras** sont des acides faibles (Fig.). En réagissant avec un hydroxyde métallique alcalin donnent un **sel** alcalin d'acide gras ou savons (sel solide avec le NaOH ou savons durs, liquide avec le KOH ou savons mous). Les savons sont solubles dans l'eau et possèdent des propriétés moussantes, mouillantes et émulsifiantes. Dans l'eau, les savons se dissocient en  $\text{Na}^+ + \text{R-COO}^-$ . On les obtient par traitement alcalin des lipides : **la saponification**. La saponification est une réaction chimique transformant un ester et un alcool en un ion carboxylate. Est un **composé bipolaire** : une **tête hydrophile**  $\text{COO}^-$  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.



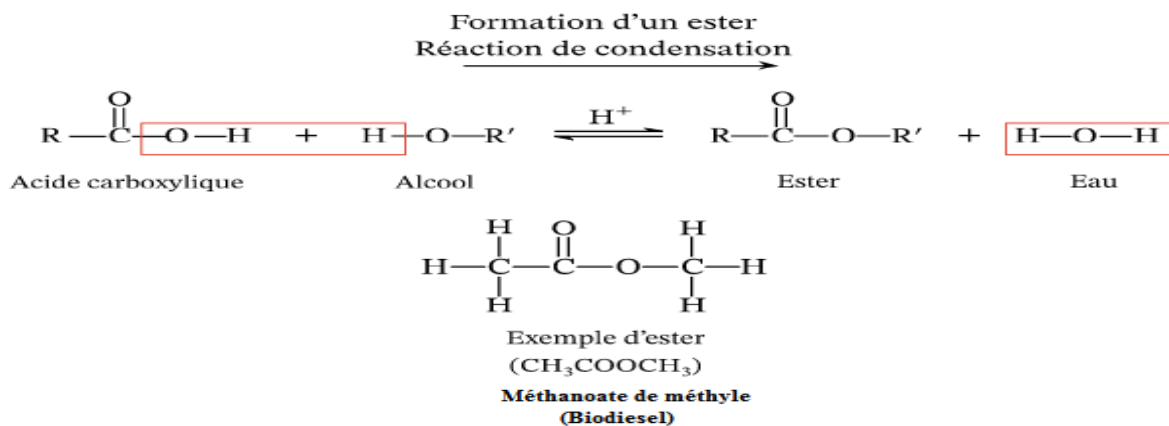
On obtient un sel métallique qui est beaucoup plus hydrophile que l'acide gras.

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 d'acide gras ou de lipide.

- **Formation d'esters**

La fonction carboxylique se caractérise également par son implication dans la réaction d'estérification (Fig.). Il s'agit d'une condensation avec une fonction alcool. On fabrique

surtout des esters méthyliques (par action du méthanol  $\text{CH}_3\text{OH}$  ou éthanol  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ , en présence d'un catalyseur) qui permettent le fractionnement des acides gras par distillation ou par chromatographie. Les esters obtenus sont utilisés comme carburants dans les moteurs Diesel. Ces carburants sont connus sous le nom générique de biodiesel (est un carburant alternatif au pétro-diesel).



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 ( $\beta$ -oxydation) lorsqu'elle a lieu avec la coenzyme A (notée CoA-SH). On forme alors un acyl-CoA qui présente une liaison thio-ester. 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.

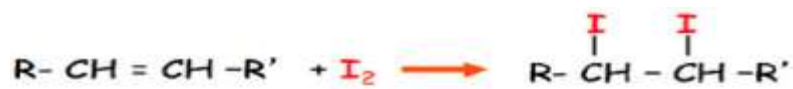
### 3.2.4.2. Propriétés dues à la présence de doubles liaisons

#### • Réactions d'addition

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

### a. Addition d'halogènes (réaction d'halogénéation par le Br ou I<sub>2</sub>)

C'est un procédé d'évaluation de l'insaturation (nombre des doubles liaisons) d'un acide gras par addition d'iode. L'acide gras mono-insaturé est transformé par halogénéation en un dérivé di-halogéné (2 molécules d'iodes pour chaque insaturation.).

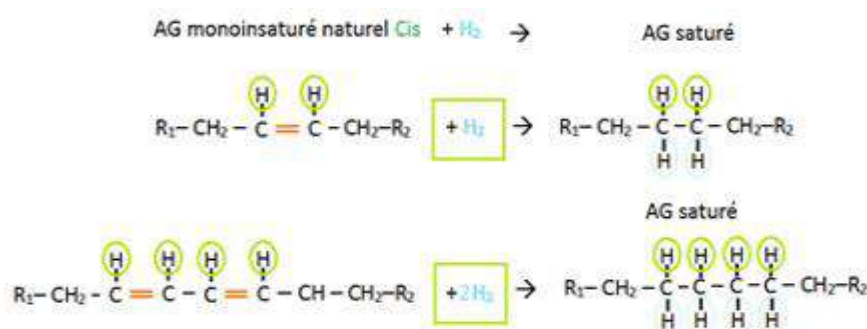


L'indice d'insaturation (Ii) égal à la masse d'iode i (exprimé en g) capable de se fixer sur les insaturations des acides gras contenus dans 100g de corps gras. L'Ii étant nul, il s'agit d'un acide gras saturé.

### b. Addition d'hydrogène (réaction d'isomérisation ou hydrogénation)

Les acides gras ont la double liaison qui se trouve le plus souvent en position cis, il existe un procédé technique pour passer d'un acide gras (AG) insaturé à un AG saturé et certains AG insaturés de la configuration cis à trans. Ce procédé est utilisé pour transformer les huiles comestibles d'acides gras insaturés en margarine, une forme solide à la température ambiante et qui, de plus, ne s'oxydent pas (Fig).

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.



**Figure.** Réaction d'hydrogénation totale d'un acide gras insaturé



Dans les cellules, l'oxydation des lipides peut être d'origine physiologique ou physiopathologique. En effet, les oxygénations enzymatiques (via des oxygénases) de l'acide arachidonique conduisent à la formation de plusieurs molécules informationnelles telles que les prostaglandines, leucotriènes et thromboxanes. Cependant, l'oxydation par l'irradiation ultraviolette et par les espèces réactives de l'oxygène peuvent avoir un effet négatif en affectant les lipides insaturés des membranes cellulaires.

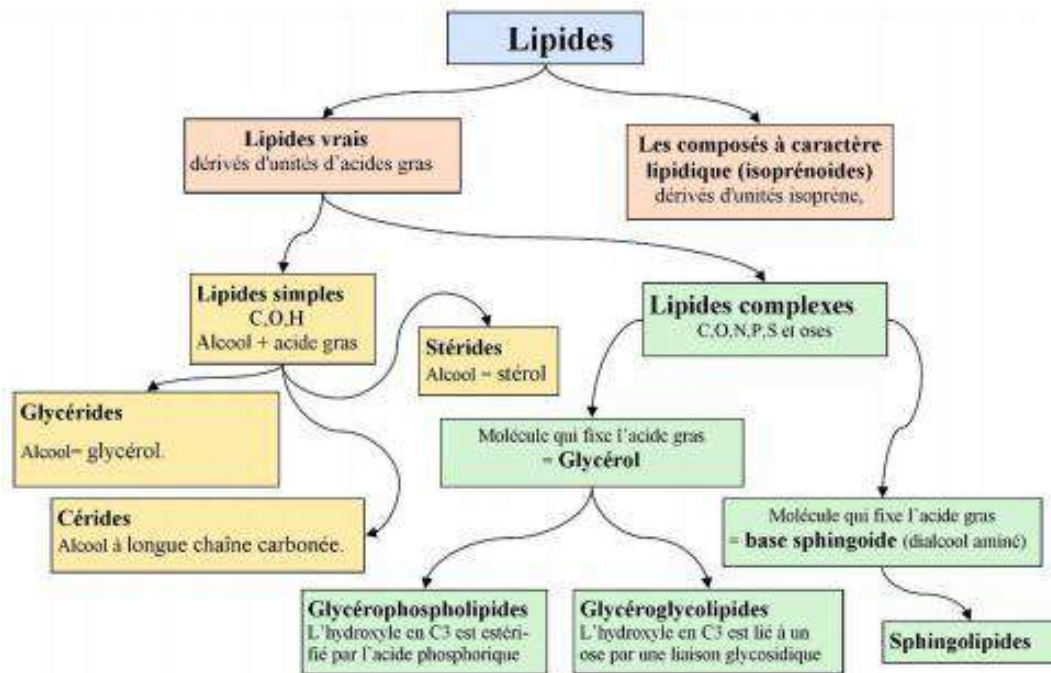
### 3.3. Classification des lipides

Il existe plusieurs classifications pour les lipides, on peut citer celles basées sur :

- les propriétés chimiques (lipides saponifiables et lipides insaponifiables)
- le comportement dans les milieux aqueux (lipides polaires et lipides apolaires)
- la fonction (lipides de réserves, lipides de structure et lipides informationnels)

**Mais**, elles ont été toutes abandonnées au profit d'une classification basée sur la structure chimique du lipide. En effet, selon leur structure chimique, les lipides sont subdivisés en lipides vrais et en composés à caractère lipidique (lipoïde).

Les lipides vrais sont subdivisés en **lipides simples (homo-lipides)** qui englobent les acylglycérols (ou glycérides), les cériques et les stérides ; **Les lipides complexes (hétérolipides)** qui englobent les glycéro-phospholipides, les glycéro-glycolipides et les sphingolipides qui renferment dans leur structure respectivement des groupes phosphate, sulfate ou glucidique.



#### 3.3.1. Les lipides vrais

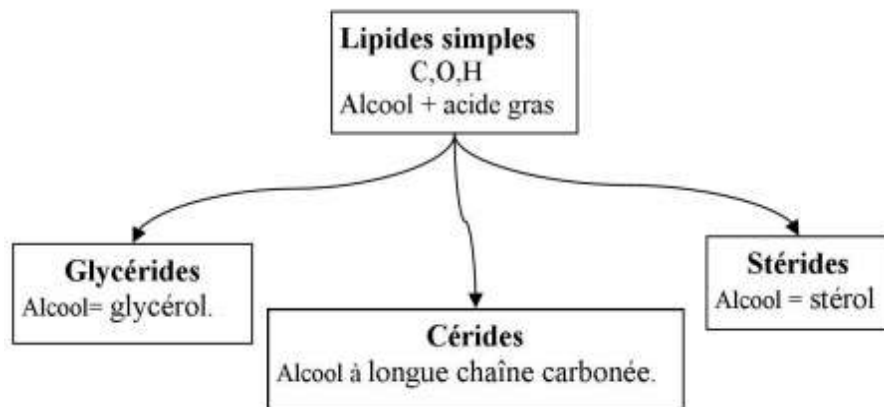


Ce sont des composés ternaires constitués de **C, H, O**, et sont le résultat d'une combinaison d'un acide gras et des alcools reliés par une liaison de type ester ou amide. Ces lipides présentent une propriété chimique commune puisqu'ils sont tous saponifiables. Il existe deux types de lipides vrais : les lipides simples et les lipides complexes.

### a) Les lipides simples

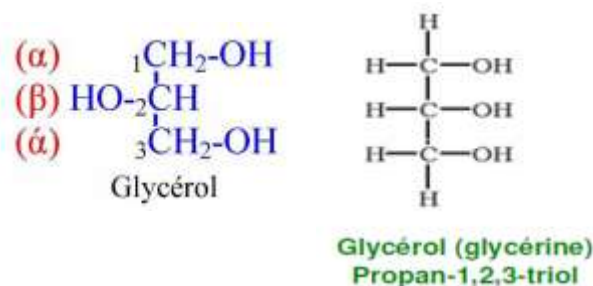
Ils sont constitués par une estérification d'acide gras. En fonction de l'alcool qui a été estérifié, on trouve trois classes de lipides simples:

- Si l'alcool est un glycérol, on obtient des acides glycérols (glycérides).
- Si l'alcool a une longue chaînes ont obtient des cérides.
- Si l'alcool est un stérol (alcool polycyclique), on obtient des stérides.



#### a.1. Les glycérides

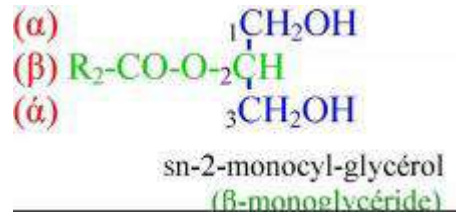
Ce sont des esters du glycérol. Le glycérol est un trialcool (qui est un liquide translucide, très visqueux, inodore, non toxique, au goût sucré)



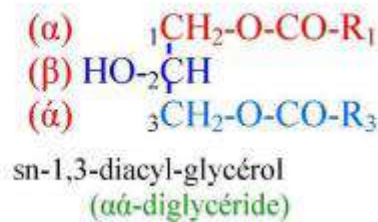
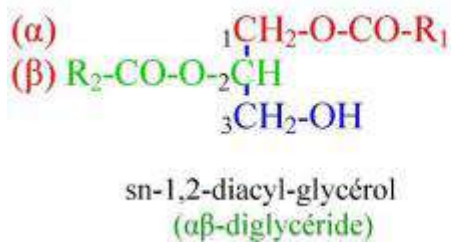
**Figure.** Structure du glycérol

Il pourra donc être estérifié par :

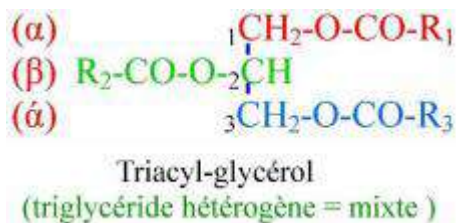
- Un seul acide gras pour donner des mono-esters (**mono-acyl-glycérol** ou encore mono-glycéride).



- Deux acides gras pour donner des di-esters (**di-acyl-glycérol** ou encore di-glycérider).



- Trois acides gras pour donner des triesters (**tri-acyl-glycérol** ou tri-glycérider), ce sont des lipides neutres.



Ils sont insolubles dans l'eau, solubles dans l'acétone car très apolaires. Lorsque les molécules d'acides gras constituant le di ou triester sont identiques, on parlera de di-acyl-glycérol= tri-acyl-glycérol homogènes. Dans le cas contraire, il s'agira de di-acyl-glycérol ou tri-acyl-glycérol hétérogènes ou mixtes.

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. 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.

Alors que, 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.

## • Nomenclature

La nomenclature des acyl-glycérols est la combinaison de deux critères :

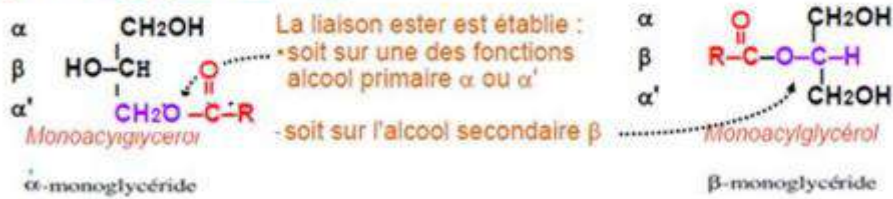
- La nature des acides gras qui estérifient le glycérol. Si les trois acides gras sont identiques, le glycéride est dit « homogène », s'ils sont différents, il est dit « hétérogène ou mixte »
- Le nombre et la position d'estérification des acides gras avec le glycérol.

Pour localiser la position des acides gras on numérote les atomes de carbone : en utilisant la projection de Fischer, si le groupe alcool secondaire est orienté à gauche du carbone C2 (on numérote le squelette du glycérol de haut en bas), le carbone au-dessus est appelé C1 et l'autre C3. La position de l'acide gras est indiquée par le préfix *sn* (stereospecifically numbered ou numérotation spécifique) ou usuellement par le numéro du carbone. Le carbone **C2** (ou  $\beta$ ) du squelette du glycérol devient un carbone chiral.

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



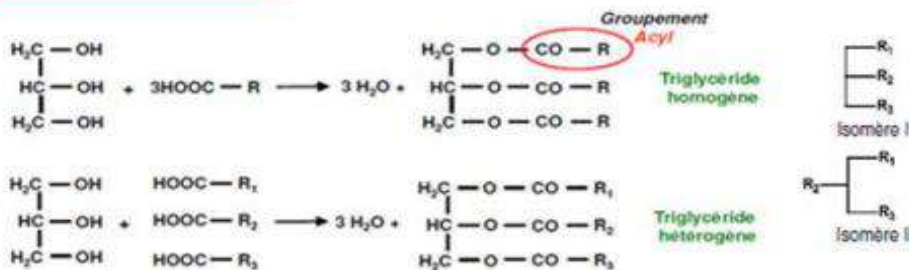
**Monoacylglycérol (MAG):**



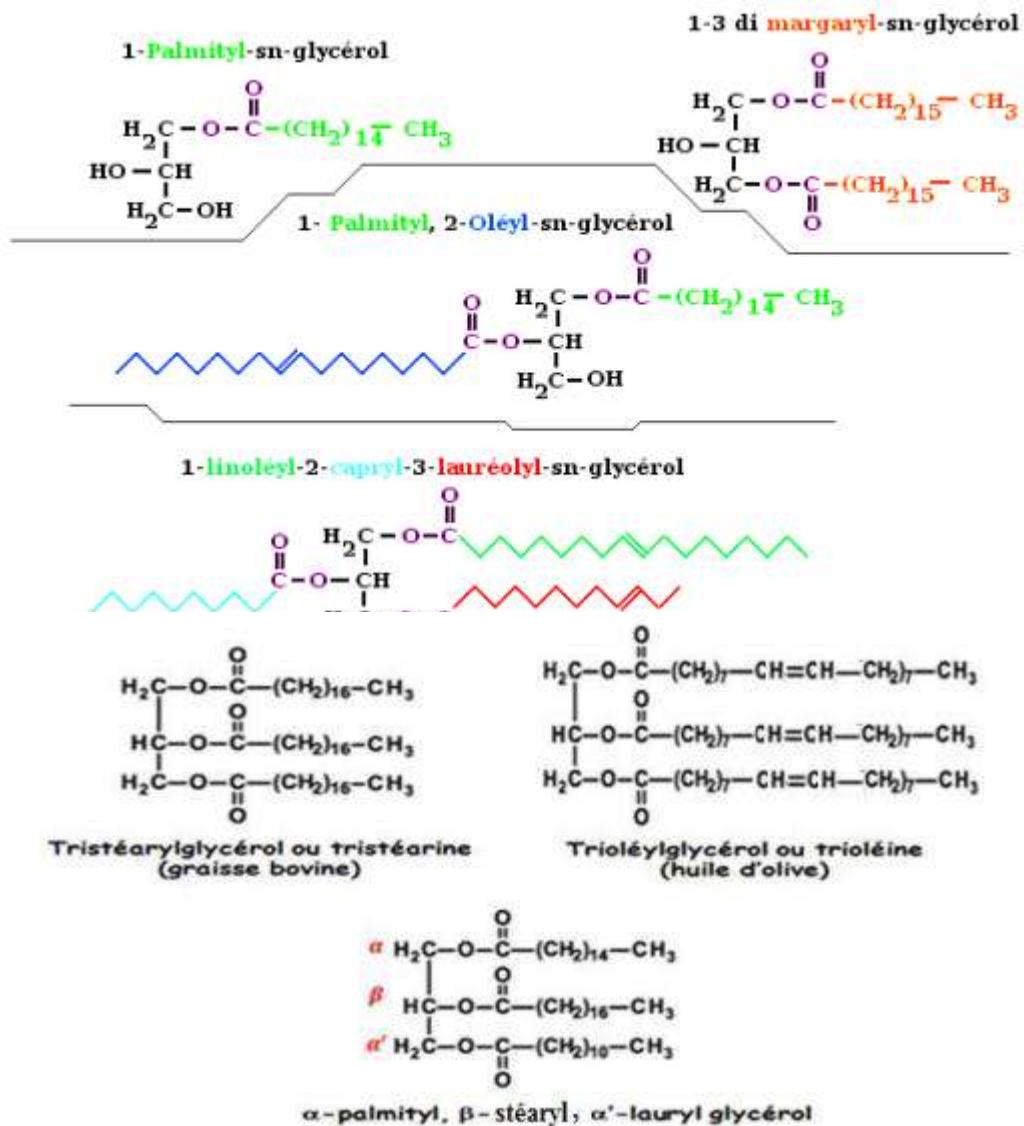
**Diacylglycérol (DAG) :**



**Triacylglycérol (TAG):**



Exemples :



### a.1.1. Propriétés physiques

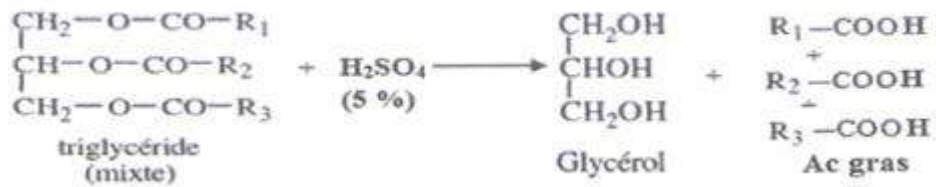
Les groupes polaires (hydroxyle ou carboxyle) disparaissent dans les liaisons esters. Les acylglycérols adoptent un caractère complètement apolaire. Dans les milieux aqueux, les triacylglycérols se mettent en suspension sous forme de micelles. Tels que les acides gras, les acylglycérols sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants les plus apolaires comme l'acétone. Le point de fusion des glycérides dépend des acides gras estérifiant le glycérol.

### a.1.2. Propriétés chimiques

Elles sont celles des chaînes d'acide gras et des esters. Toutes les propriétés des chaînes aliphatiques des acides gras existent dans les acides glycérols (oxydation, hydrogénation addition d'halogène).

• **Hydrolyse chimique**

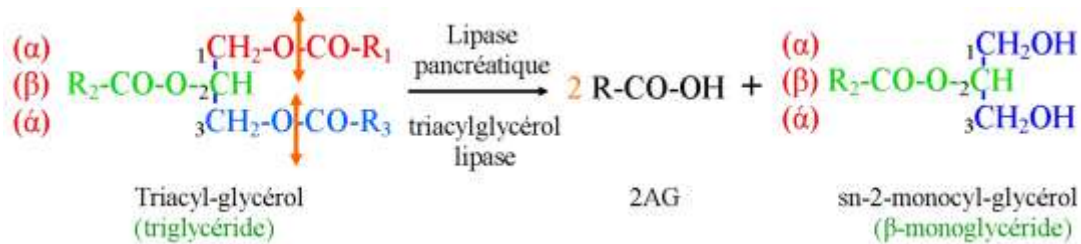
Le traitement acide (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 5%) du triglycéride entraîne la rupture (en général de façon incomplète) des liaisons esters et la libération des constituants : acides gras et glycérol.



• **Hydrolyse enzymatique**

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

Elle catalyse l'hydrolyse des triacylglycérols en position 1 et 3 pour donner des 1,2-diacylglycérols puis des 2-monoacylglycérols. Cependant les triglycérides hydrophobes sont inaccessibles à la lipase qui est en solution aqueuse ; c'est pourquoi ils sont émulsifiés par les sels biliaires sécrétés par la bile, formant



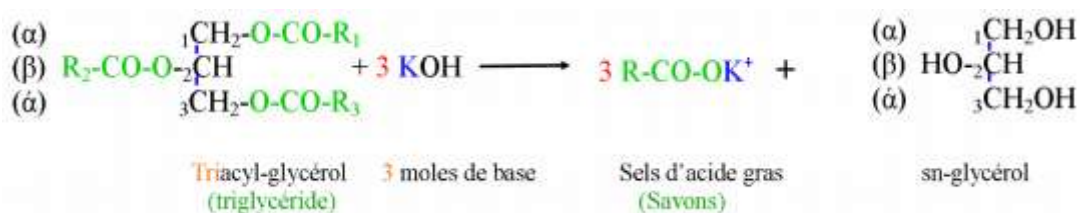
des micelles dans lesquelles les liaisons esters sont orientées en surface.

• **Saponification**

Les bases en solution alcoolique (hydroxyde de sodium NaOH ou de potassium KOH) 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. Grace à cette réaction, on peut déduire un indice de saponification défini comme la masse de KOH (en **mg**) nécessaire pour saponifier une masse de 1g de corps gras.

1 mole de lipide **mono-**, **di-** ou **tri-**glycéride est saponifiée par 1, 2 ou 3 moles de KOH, respectivement.

**Is** = 1g x [Masse molaire de la base (PM KOH=56 g/mol, PM NaOH=40 g/mol) x Nombre de

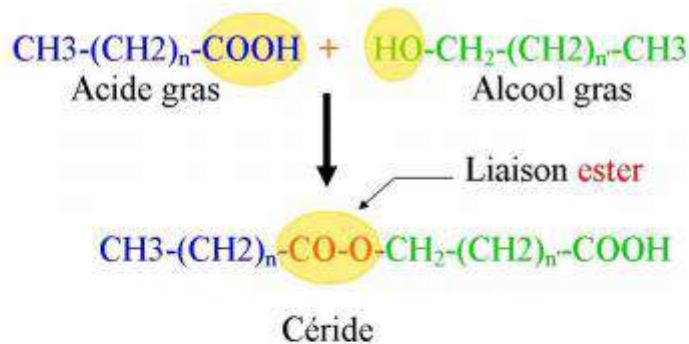


mole de la base ] /masse molaire du lipide.

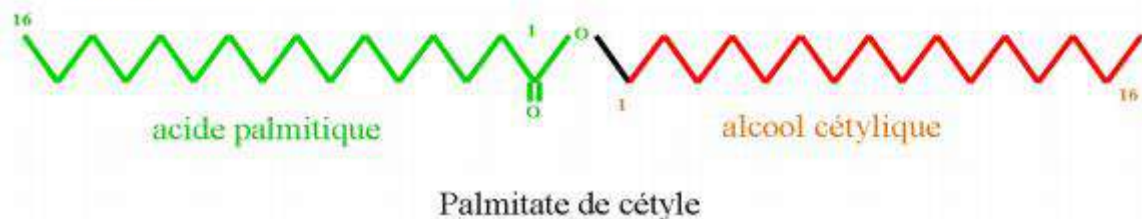


## a.2. Les cérides

Ils sont des mono-esters d'acides gras (14 à 30 C) et d'alcools aliphatiques à longue chaîne. Ces alcools aliphatiques sont en général des alcools primaires à nombre pair de carbones, saturés et non ramifiés. Ils constituent les cires animales, végétales et bactériennes.



Exemple: palmitate de cétyle



Le blanc de baleine et la cire d'abeille sont constitués essentiellement de palmitate de cétyle.

### a.2.1. Propriétés physicochimiques

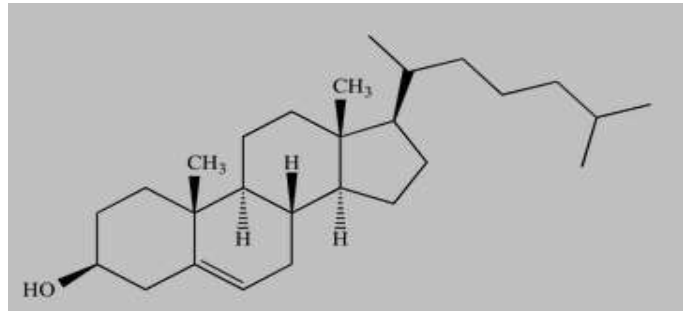
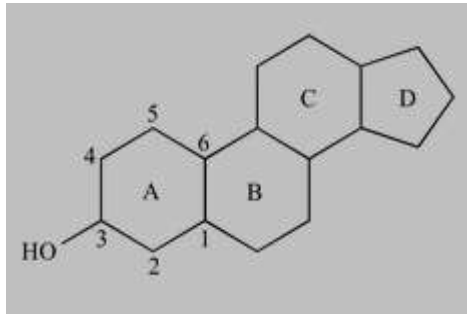
L'association de la chaîne carbonée de l'alcool avec celle de l'acide gras dans les cérides permet à ces derniers d'avoir un caractère très apolaire et une température de fusion élevée (60 à 100°C) et par conséquent, un état solide à température ordinaire. Chimiquement, les cérides sont inertes et résistent aux acides et à la plupart des réactifs et sont difficilement saponifiables.

#### • Rôles biologiques

Chez les vertébrés, elles ont une fonction de protection, de lubrification et d'imperméabilisation des cheveux, laines, fourrures et plumes. Chez les végétaux, elles limitent l'évaporation au niveau des feuilles. Elles constituent des réserves chez le plancton ou elles ont une importance alimentaire.

### a.3. Les stérides

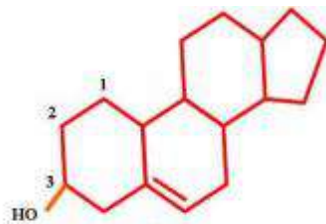
Ce sont des esters d'acide gras et de stérol, créés par une estérification entre le groupe hydroxyle d'un stérol et un acide gras. Les stérols dérivent du noyau stéroïde, ils sont des alcools dérivant d'un alcane quadri-cyclique ou stérane (cyclo-pentano-perhydrophénantrénique), une structure à 17 atomes de carbone et produit de la condensation de 4 cycles (3 cycles hexagonaux notés



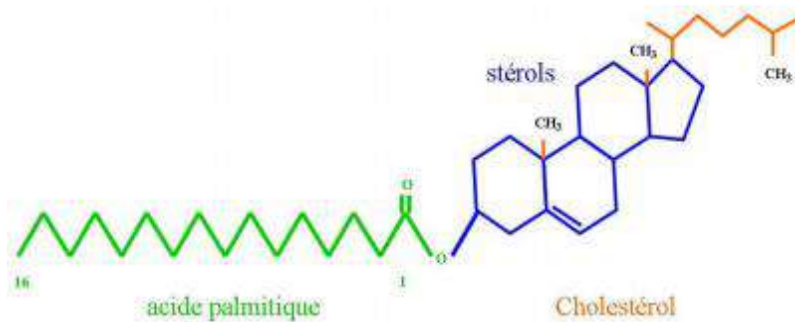
A, B et C, et un cycle pentagonal noté D) ayant une fonction alcool secondaire toujours au même endroit. Le stérol possède un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle.

Stérol

Cholestérol



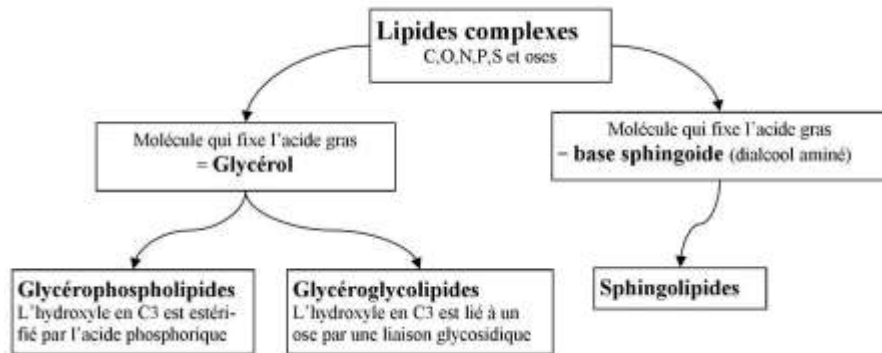
Noyau de base des stérols



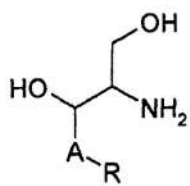
Palmitate de cholestéryle

## b) Lipides complexes

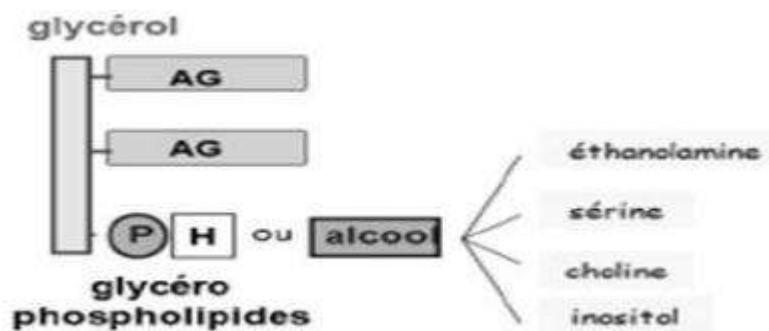
Ces hétérolipides renferment en plus des éléments C, H, O : du phosphore (P), de l'azote (N), du soufre (S) ou un groupement glucidique. Ils sont classés selon la molécule qui fixe les acides gras : soit le glycérol qui se distingue des acylglycérols par l'hétérogroupe et qui sont subdivisés en:



glycérophospholipides et glycéroglycolipides, soit une base sphingoïde (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides.

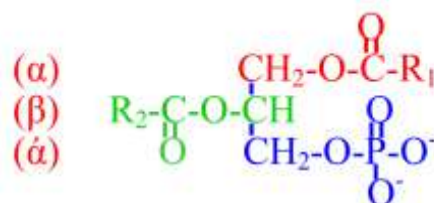


Base sphingoïde



### b.1. Les glycérophospholipides

Appelés également les phosphatides. Ce sont les principaux lipides des membranes des eucaryotes et des bactéries. Ils dérivent de l'acide phosphatidique, constitué d'une molécule de glycérol dans laquelle les hydroxyles des carbones 1 et 2 sont estérifiés par des acides gras de 16 à 20 atomes de carbone. L'acide gras en position 2 est toujours insaturé et l'hydroxyle en position 3 est estérifié par l'acide phosphorique.

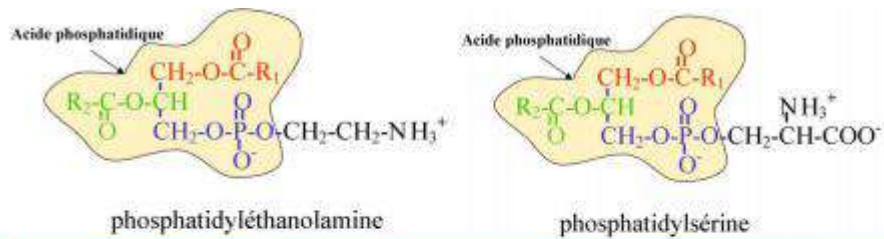


Acide phosphatidique



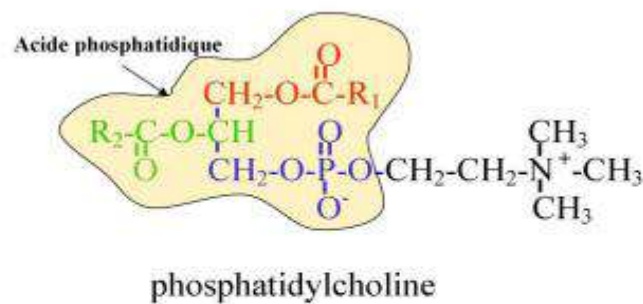
## Les dérivés d'alcools azotés :

- Sérine, éthanolamine :



Alcool	Nom	sérine	éthanolamine
Glycérophospholipides	nom complet	(3-sn-phosphatidyl) sérine	(3-sn-phosphatidyl) éthanolamine
	nom d'usage	Céphalines (présence dans le tissu cérébral)	

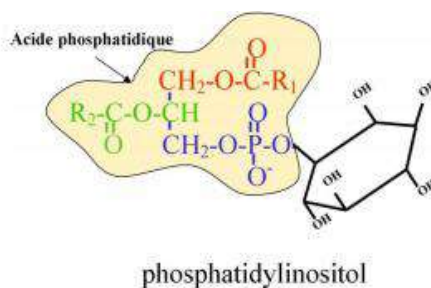
- Choline :



Alcool	Nom	choline
Glycérophospholipides	nom complet	(3-sn-phosphatidyl) choline
	nom d'usage	Lécithines (racine grecque : jaune d'œuf)

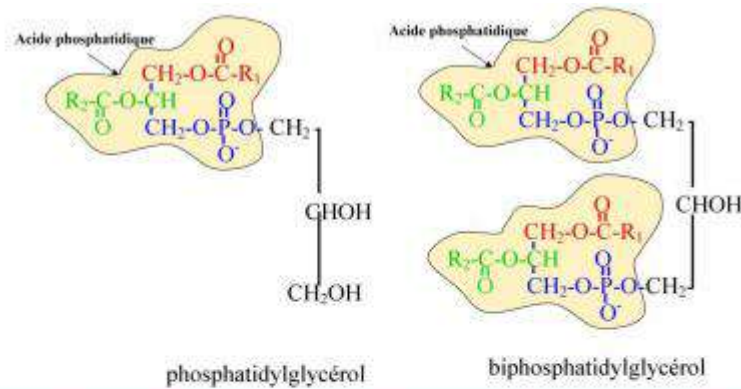
## Les dérivés d'alcools non azotés

- Inositol :



Alcool	Nom	inositol
Glycérophospholipides	nom complet	1-(3-sn-phosphatidyl) inositol
	nom d'usage	inositides

- **Glycérol, phosphatidyl glycérol :**

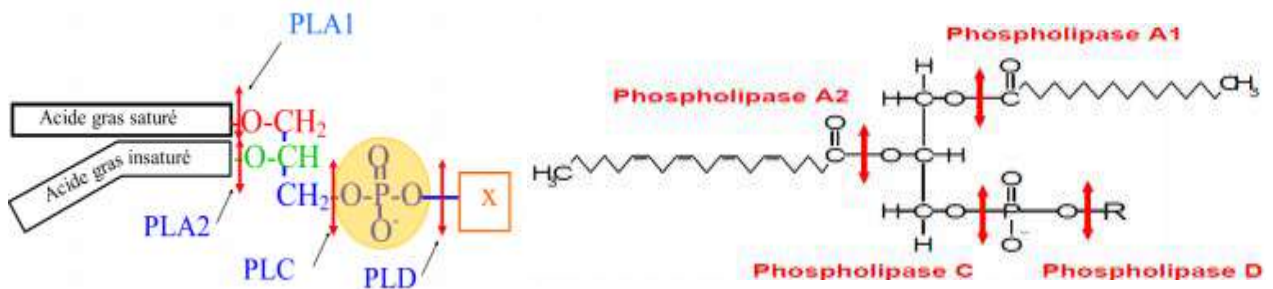


Alcool	Nom	Glycérol	Phosphatidyl glycérol
Glycérophospholipides	nom	1-(3-sn-phosphatidyl)	1,3bis (3-sn-phosphatidyl)
	complet	sn-glycérol	sn-glycérol
	nom d'usage		Cardiolipides, cardiolipines (isolé du muscle cardiaque)

**b.1.1. Hydrolyse enzymatique des glycérophospholipides**

Les phospholipides peuvent être hydrolysés par l'action de quatre phospholipases **PLA1**, **PLA2**, **PLC** et **PLD**. Les phospholipases **A1** (présente dans le pancréas, moisissures) et **A2** (présente dans les venins des serpents, abeilles, scorpions et suc pancréatique) conduisent à l'élimination des acides gras situés en position **1** et **2** et à la formation de lysophospholipides. La phospholipase **A2** libère des acides gras insaturés qui sont utilisés par la cellule, tel l'acide arachidonique qui conduit aux eicosanoïdes.

- La phospholipase **C** (présente chez les bactéries) intervient sur la fonction ester liant le glycérol et le phosphate, libérant un diglycéride et un phospho-alcool.
- La phospholipase **D** (présente chez les végétaux) conduit à l'élimination d'un acide phosphatidique et un alcool.
- 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

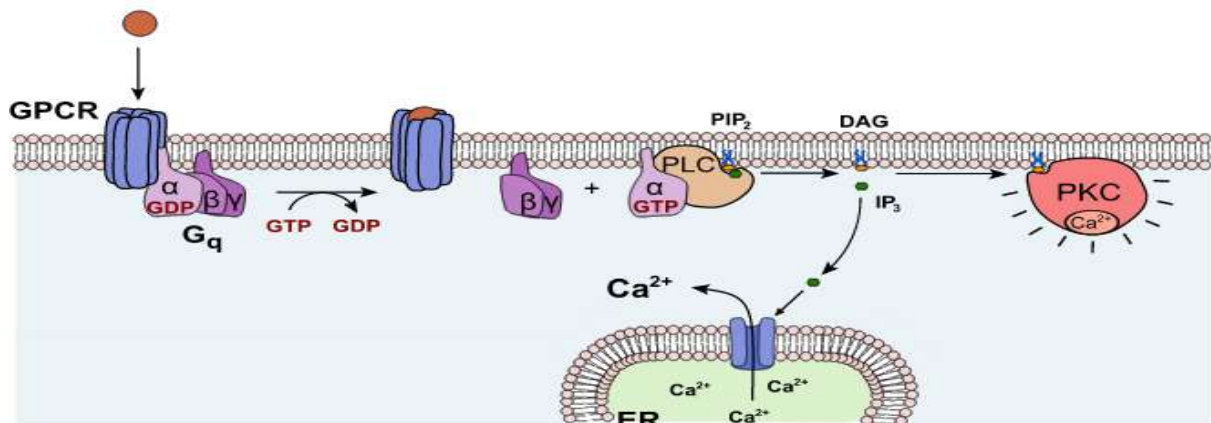


lyso-phospholipide. Elle cumule à ce titre les activités enzymatiques d'une phospholipase **A1** et d'une phospholipase **A2**.



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

- La phospholipase C (présente chez les bactéries) intervient sur la fonction ester liant le glycérol et le phosphate, libérant un diglycéride et un phosphoalcool. C'est l'enzyme qui



gène les DAG et l'IP3 à partir du phosphatidyl-inositol diphosphate.

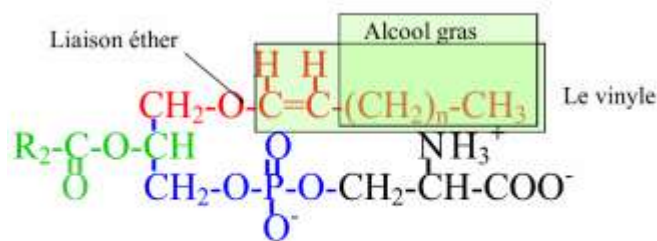
### b.1.2. Etherglycérolipides (étherphospholipide)

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

#### - Plasmalogène

Ou encore étherphospholipide, il est constitué d'une base glycérol, à laquelle sur le premier carbone ( $\alpha$ ) se lie un alcool gras (par une liaison vinyl-éther), sur le deuxième carbone ( $\beta$ ) se lie un acide gras et sur le troisième carbone ( $\alpha'$ ) se lie, par l'intermédiaire d'un phosphate, un alcool (azoté ou non) comme la choline, l'éthanolamine, la sérine ou l'inositol.

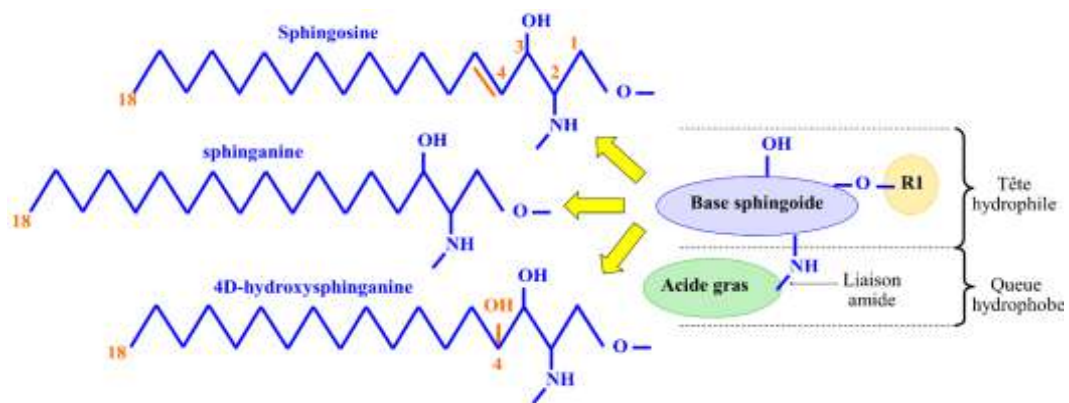
**Exemple :** la présence de la sérine dans les plasmalogènes du cœur.



Plasménylsérine



- **4-hydroxysphinganine** (sphinganine + un hydroxyle en position 4).



## La composition des sphingolipides

Groupement	R1	Noms
H	—	céramides
phosphate	—	céramides-1-phosphate
phosphocholine ou phosphoéthanolamine	—	sphingomyélines
glucide	—	glycosphingolipides
ose	—	cérébrosides
oside neutre	—	glycosphingolipides neutres
oside acide	—	glycosphingolipides acides
- sulfate	—	sulfo glycosphingolipides
- acide sialique	—	sialoglycosphingolipides ou gangliosides

### • Les sphingomyélines

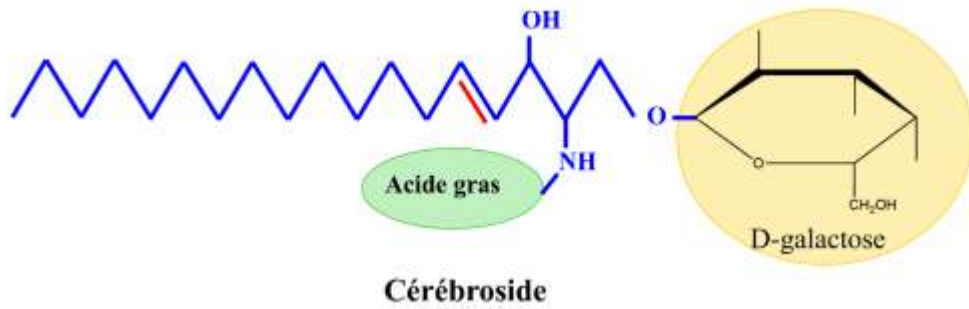
Le substituant R1 est une phosphocholine ou phosphoéthanolamine. Ce sont les constituants fondamentaux de la gaine de myéline des nerfs et sont donc de bons isolants électriques. La perte de sphingomyéline autour des nerfs dans le système nerveux central est une des caractéristiques de la sclérose en plaques.

**Exemple** : sphingomyéline à phosphocholine.



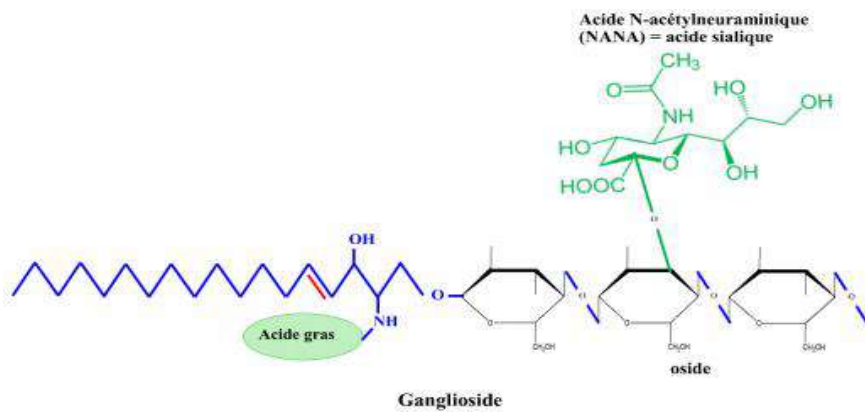
### • Les cérébrosides

Le substituant **R1** est un ose lié par une liaison  $\beta$ -osidique. Lorsque **R1** est un galactose (Gal), on appelle le sphingolipide : le galactosyl-cérébroside. Ce sont des glycolipides neutres, très abondants sur la surface externe des membranes plasmiques.



• **Les gangliosides**

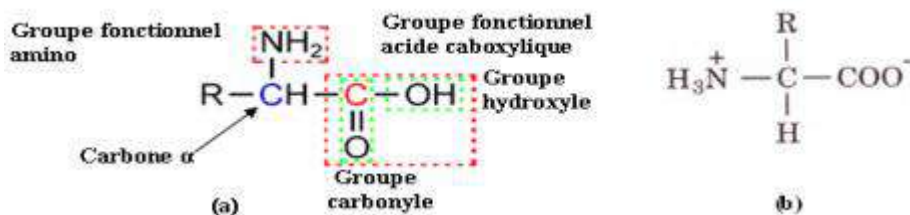
Le substituant R1 est une chaîne glycanne ramifiée avec les mêmes oses que les glycolipides neutres, mais aussi la N -acétylgalactosamine (GalNAc) et la N-acétylglucosamine (GlcNAc) ainsi que des molécules d'acide sialique (acide N-acétyl neuraminique ou NeuNAc ou NANA) branchées sur la chaîne oligo-saccharidique. Tous les sphingolipides sont essentiellement localisés dans la partie externe de la bicouche, les chaînes glycanne formant un revêtement à la surface des cellules.



**4. Les acides aminés, peptides et protéines. Structure et principales propriétés.**

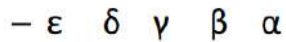
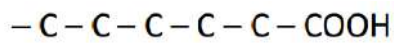
**1. Les acides aminés**

Les acides aminés ou aminoacides 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). L'usage en biochimie leur a attribué un nom commun, généralement à suffixe « ine ».



Ces deux fonctions sont portés par un même atome de carbone (noté  $\alpha$ )

- Les Aa diffèrent par la nature de la chaîne latérale R.
- **Remarque :** Nomenclature des carbones d'une chaîne



Les 20 acides aminés constitutifs des protéines (**protéinogènes**) naturelles ou acides aminés standards (quelles que soient leurs origines, virale, bactérienne, végétale ou animale). Ils sont codés dans l'ADN et incorporés dans la chaîne peptidique lors de la traduction de l'ARNm. Ils sont caractérisés par leur chaîne latérale (R) ; chaque  $\alpha$ -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.

<b>Nom</b>	<b>3 lettres</b>	<b>1 lettre</b>
<u>alanine</u>	<u>Ala</u>	<u>A</u>
<u>arginine</u>	<u>Arg</u>	<u>R</u>
<u>asparagine</u>	<u>Asn</u>	<u>N</u>
<u>aspartate</u> ou <u>acide aspartique</u>	<u>Asp</u>	<u>D</u>
<u>cystéine</u>	<u>Cys</u>	<u>C</u>
<u>glutamate</u> ou <u>acide glutamique</u>	<u>Glu</u>	<u>E</u>
<u>glycine</u>	<u>Gly</u>	<u>G</u>
<u>glutamine</u>	<u>Gln</u>	<u>Q</u>
<u>histidine</u>	<u>His</u>	<u>H</u>
<u>isoleucine</u>	<u>Ile</u>	<u>I</u>
<u>leucine</u>	<u>Leu</u>	<u>L</u>
<u>lysine</u>	<u>Lys</u>	<u>K</u>
<u>méthionine</u>	<u>Met</u>	<u>M</u>
<u>phénylalanine</u>	<u>Phe</u>	<u>F</u>
<u>proline</u>	<u>Pro</u>	<u>P</u>
<u>sérine</u>	<u>Ser</u>	<u>S</u>
<u>thréonine</u>	<u>Thr</u>	<u>T</u>
<u>tryptophane</u>	<u>Trp</u>	<u>W</u>
<u>tyrosine</u>	<u>Tyr</u>	<u>Y</u>
<u>valine</u>	<u>Val</u>	<u>V</u>

## 1. 2. Classification

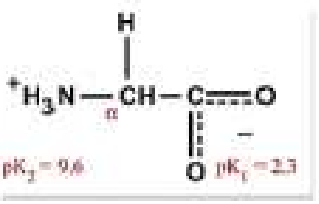
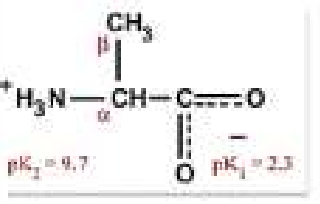
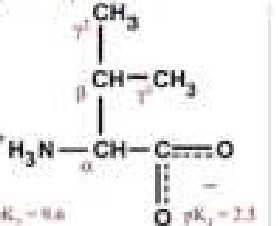
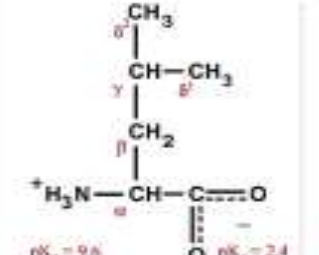
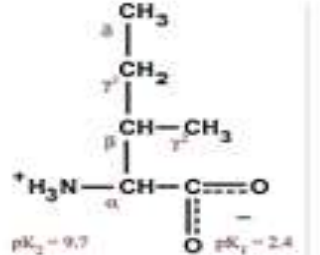
Les **acides aminés protéinogènes** peuvent être classés :

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

### A- les acides aminés neutres

#### A1- Les acides aminés aliphatique simple

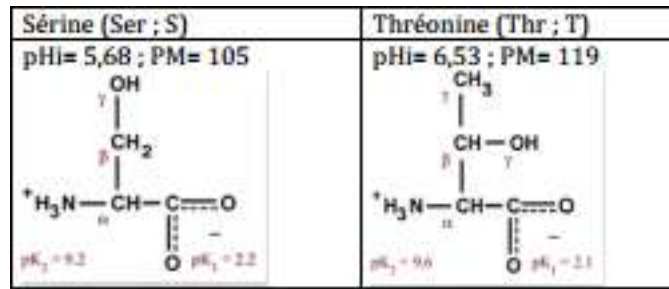
Le radical R est uniquement constitué d'atomes de carbones et d'hydrogène (Fig). La **glycine (Gly ou G)** : appelée aussi glycocolle. Outre qu'elle entre dans la composition des protéines, la glycine participe au niveau du foie à des processus de détoxification (réaction de conjugaison) ou encore à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

<p><b>Glycine (Gly, G)</b> pHi= 5,97 ; PM= 75</p>  <p><math>pK_1 = 9,6</math>      <math>pK_2 = 2,3</math></p>	<p><b>Alanine (Ala, A)</b> pHi= 6,02 ; PM= 89</p>  <p><math>pK_1 = 9,7</math>      <math>pK_2 = 2,3</math></p>	<p><b>Valine (Val, V)</b> pHi= 5,97 ; PM= 117</p>  <p><math>pK_1 = 9,6</math>      <math>pK_2 = 2,3</math></p>
<p><b>Leucine (Leu, L)</b> pHi= 5,98 ; PM= 131</p>  <p><math>pK_1 = 9,6</math>      <math>pK_2 = 2,4</math></p>	<p><b>Isoleucine (Ile, I)</b> pHi= 6,02 ; PM= 131</p>  <p><math>pK_1 = 9,7</math>      <math>pK_2 = 2,4</math></p>	

#### A2- Acides aminés hydroxylés (alcools)

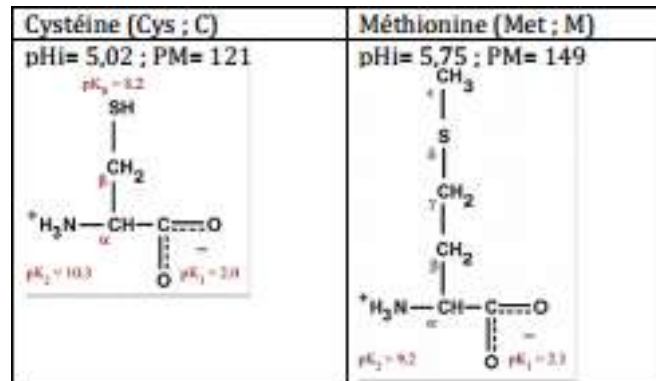
Il existe deux acides aminés standards présentant une fonction alcool au niveau de leur radical: la **sérine (Ser ou S)** et la **thréonine (Thr ou T)**, la thréonine fait également partie des acides aminés indispensables (Tableau 1 6). La fonction alcool rend leur chaîne latérale polaire, donc hydrophile. 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.





### A3- 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.

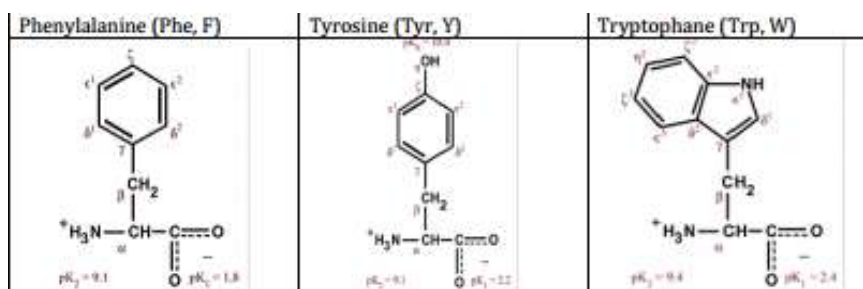


### A4- Acides aminés aromatiques

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 phényle, formant un radical hydrophobe.

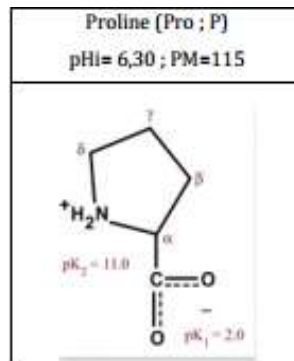
La **tyrosine** : obtenue par hydroxylation de la phénylalanine, sa chaîne latérale devient hydrophile (Fig). Ces deux acides aminés sont importants car ils servent de précurseurs de la biosynthèse des catécholamines (adrénaline et noradrénaline). La tyrosine participe à la formation des hormones thyroïdiennes.

Le **tryptophane (Trp ou W)** est un acide aminé indispensable. C'est le précurseur biosynthétique de la sérotonine (médiateur du système nerveux central) et de la vitamine B 3.



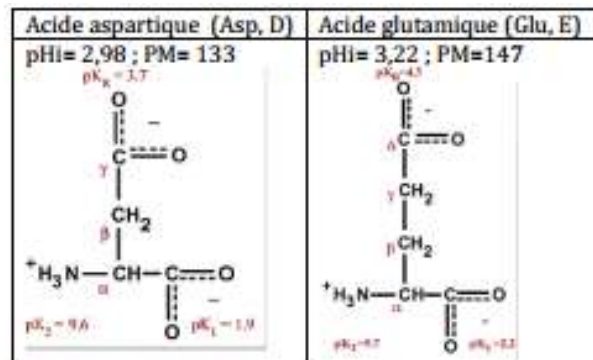
### A5- Acides aminés à fonction amine secondaire (hétérocyclique)

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  $\alpha$  en raison de cette structure cyclique, les résidus proline dans une protéine introduisent un coude dans la chaîne peptidique. Tout comme la lysine, elle présente la particularité d'être hydroxylée au sein du collagène (hydroxyproline).

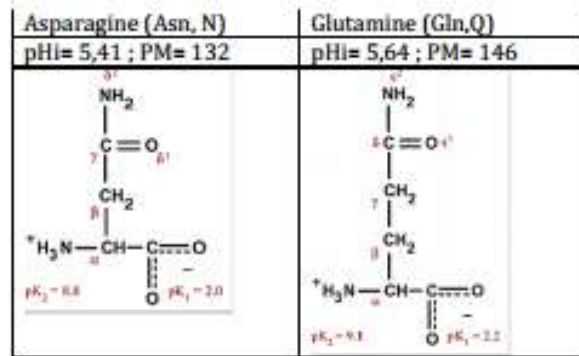


### B- Acides aminés dicarboxyliques (acides)

Il s'agit de l'**acide aspartique (Asp ou D)** et de l'**acide glutamique (Glu ou G)** (Fig). 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  $\gamma$ -amino-butérique (GABA médiateur du système nerveux central).



Leurs formes amines sont respectivement l'asparagine et la glutamine (**Les acides aminés amides**) qui sont très proches des acides aminés dicarboxyliques, ils présentent néanmoins une fonction amide au niveau du radical. Non ionisable mais polaire ; la chaîne latérale a un comportement hydrophile. L'**asparagine (Asn ou N)** et la **glutamine (Gln ou Q)** ont également un rôle important dans le métabolisme azoté.



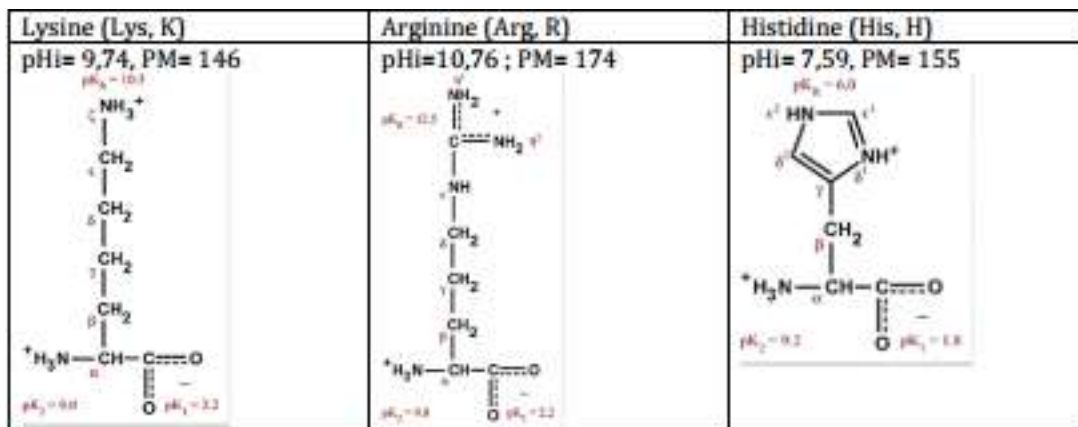
### C- Les acides aminés dibasiques

Ces acides aminés présentent une deuxième fonction amine au niveau du radical (Tableau 1 6). Cette fonction est ionisée à pH physiologique ( $-\text{NH}_3^+$ ) d'où un comportement hydrophile.

La **lysine (Lys ou K)** fait partie des acides aminés indispensables. Elle est retrouvée au niveau du collagène ou elle présente la particularité d'être hydroxylée (au niveau du C5) 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).

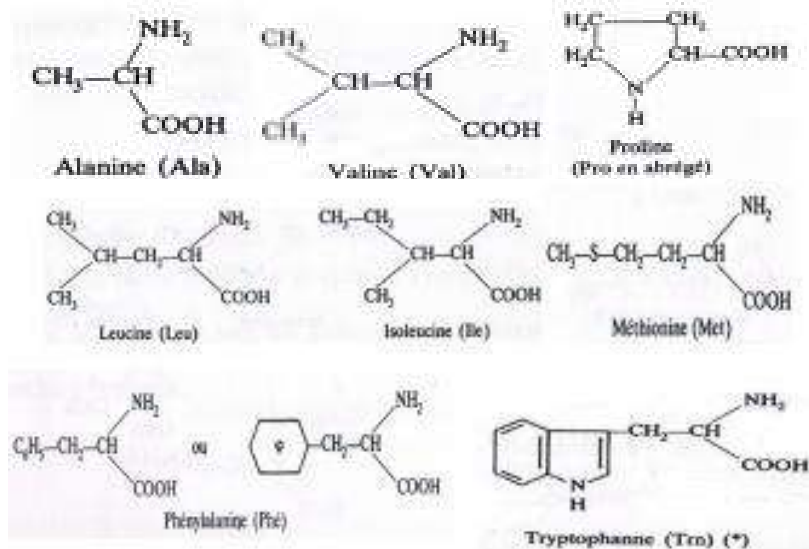


### 1.2.2. En fonction de la polarité de la chaîne latérale

Les acides aminés peuvent être classés d'après la structure et la complexité de leur chaîne latérale R. Parmi les différentes classifications possibles, l'une des plus intéressantes repose sur la polarité et les possibilités d'ionisation de cette chaîne. Selon la nature de la chaîne latérale, on distingue trois groupes d' $\alpha$ -aminoacides : apolaires, polaires neutres et polaires ionisables.

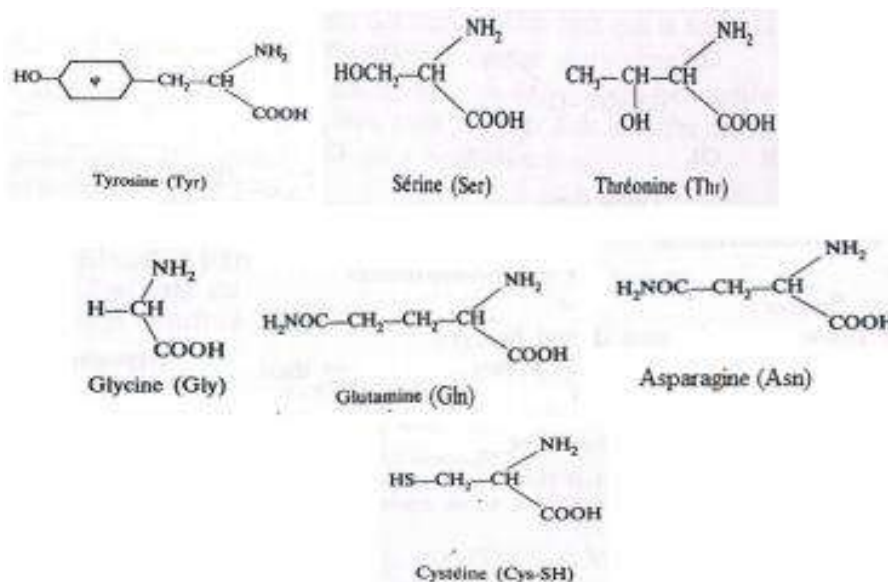
#### a. Aminoacides avec une chaîne latérale R non polaire ou hydrophobe

Cette famille contient cinq aminoacides ayant une chaîne hydrocarbonée aliphatique qui constituent souvent les poches hydrophobes des protéines : Ala, Leu, Ile, Val, Gly et Pro, deux possédant des noyaux aromatiques : Phe et Trp et un contenant du soufre : Met.



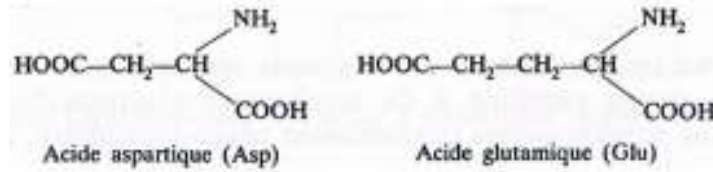
### b. Aminoacides avec une chaîne latérale R polaire non chargée

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. Ser, Thr et Tyr possèdent une fonction hydroxyle responsable de leur polarité. Asn et Gln doivent leur polarité à leur fonction amide et la Cys à sa fonction thiol SH.



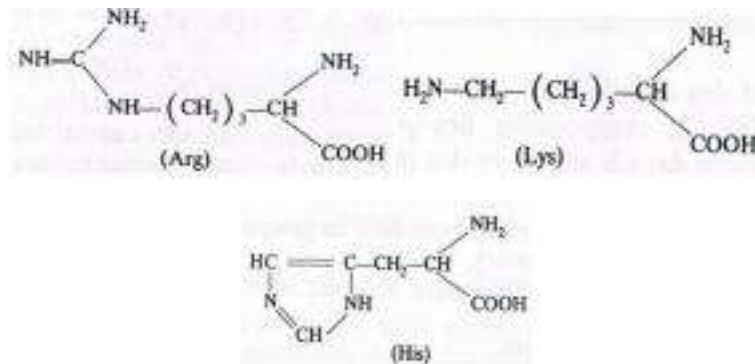
### c. Aminoacides avec une chaîne latérale R chargée négativement (acides)

Les représentants de cette catégorie ont une charge négative nette à pH 6-7 ; ce sont l'acide aspartique et l'acide glutamique qui possèdent une seconde fonction carboxylique.



#### d. Aminoacides avec une charge latérale R chargée positivement (basiques)

Les aminoacides basiques dont la chaîne latérale R présente une charge positive nette à pH=7 ont tous six atomes de carbone. La Lys possède une seconde fonction amine sur la chaîne aliphatique, et l'Arg possède un groupement guanidinium chargé positivement. L'His, qui contient la fonction imidazolium faiblement basique, est à la frontière de cette catégorie.



### 3. En fonction de l'essentialité de l'acide aminé

Certains aminoacides ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et lui sont indispensables (essentiels). Chez l'être humain, il y a huit acides aminés essentiels apportés par l'alimentation (tryptophane, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine, leucine et isoleucine). L'histidine et l'arginine sont dits semi-essentiels car seuls les nourrissons ont besoin d'un apport exogène (trouvés dans le lait maternel). La cystéine, la glycine et la tyrosine sont parfois nécessaires à certaines populations qui ne sont pas capables de les synthétiser en quantités suffisantes. Par exemple, les personnes atteintes de phénylcétonurie doivent réduire au maximum l'absorption de phénylalanine, or cet acide aminé est précurseur de la tyrosine : cette dernière ne peut alors plus être synthétisée et devient essentielle. Il existe deux phrases mnémotechniques pour se souvenir des 8 aminoacides indispensables chez l'adulte: **Le très lyrique Tristan fait vachement méditer Iseult**, ce qui donne : **Leucine, Thréonine, Lysine, Tryptophane, Phénylalanine, Valine, Méthionine**, et enfin **Isoleucine**. La deuxième phrase est dérivée du code à trois lettres des acides aminés essentiels (excluant l'arginine) : « **Mets-le dans la valise, il fait trop d'histoires** ».

### 4. Selon qu'ils soient glucoformateurs ou cétoènes

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)

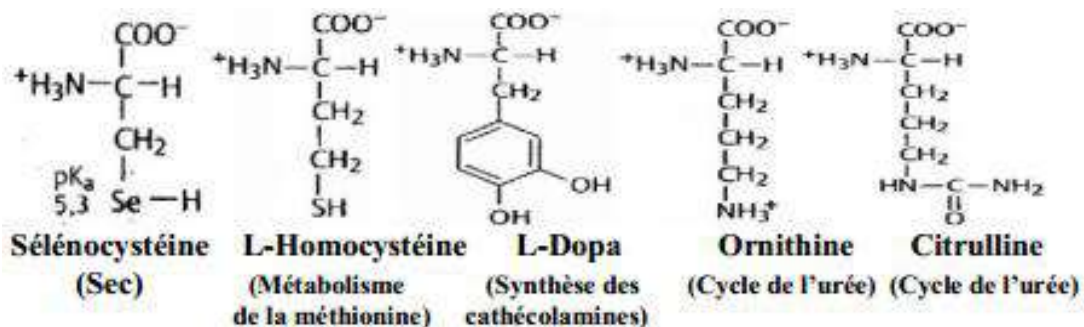
Les acides aminés glucoformateurs et cétoformateurs.

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

### 5. Acides aminés particuliers

A côté des acides aminés protéinogènes, il existe dans la nature de nombreux autres composés du même type. La **sélocystéine** 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 sélocystéine (telle que la glutathion peroxydase : enzyme impliquée dans la détoxification des peroxydes lipidiques) ont en général des fonctions rédox.

L'**homocystéine** est un produit intermédiaire de la dégradation de la méthionine. Sa chaîne latérale est allongée d'un groupement CH<sub>2</sub> par comparaison avec la cystéine (Fig. 96). La **dopa** (abréviation 3,4 dihydroxyphénylalanine) est formée par hydroxylation de la tyrosine et constitue un produit intermédiaire de la biosynthèse des catécholamines et de la mélanine. L'**ornithine**, un acide aminé basique, et la **citrulline** qui en dérive sont des



intermédiaires du cycle de l'urée. L'ensemble de ces composés forment la classe des acides aminés non protéinogènes (Fig.)



### 1. 3. Propriétés des acides aminés

#### 1. 3. 1. Propriétés physiques

##### 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<sub>2</sub>, 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.

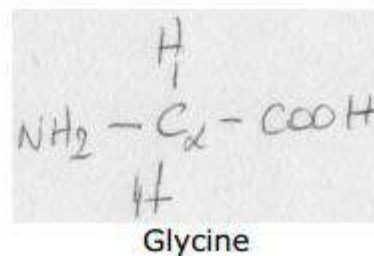
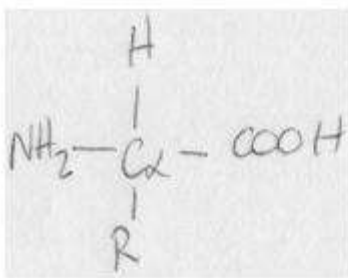
##### 1. 3. 1. 2. Propriétés optiques

###### a- Sétéré-isomérisation (Pouvoir rotatoire)

Capacité de faire dévier le plan d'une lumière polarisée (sur un seul plan).

Cette propriété physique est liée à l'existence d'un C asymétrique (notée C\*), on dit alors que la molécule est « optiquement active ».

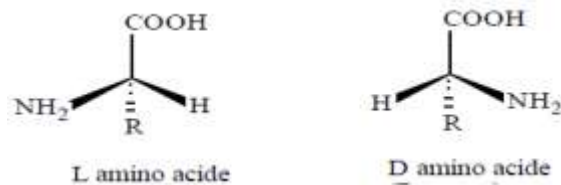
Mis à part la glycine, tous les acides aminés standards ont un carbone central (C $\alpha$  (**carbone asymétrique** ou **chiral**)). Cela amène une isomérisation optique permettant de définir la série de l'acide aminé.



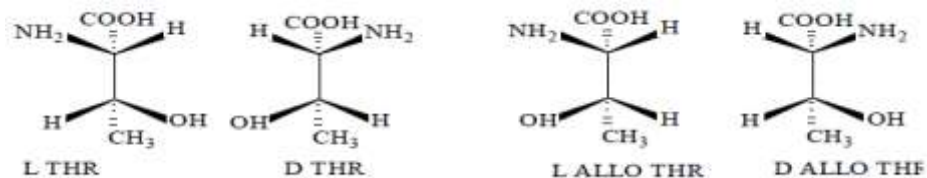
Les AA qui dévient la lumière à droite sont dits « Dextrogyrent (+) », ceux qui la dévient à gauche sont dits « Lévoogyrent (-) ».

Lorsque les modèles des  $\alpha$ -aminoacides sont disposés selon la convention de Fischer, la chaîne carbonée est verticale et vue par sa convexité ; le -COO<sup>-</sup>, dont le niveau d'oxydation est le plus élevé, est placé vers le haut et le -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> peut alors se situer soit à gauche, soit à droite du C $\alpha$  chiral ; les  $\alpha$ -aminoacides appartiennent alors à la série L (du latin *laevus*, côté gauche) ou à la

série D (du latin *dexter*, côté droit), respectivement (Fig.). Il existe donc, pour chaque  $\alpha$ -aminoacide, sauf pour la glycine où  $R = H$ , deux stéréo-isomères (énantiomères), images l'un de l'autre dans un miroir ; les  $\alpha$ -aminoacides des protéines de la plupart des êtres vivants connus appartiennent à la série L.



Il existe quatre acides aminés constitutifs des protéines qui possèdent deux carbones asymétriques. Dans ce cas le nombre de stéréo-isomères est égal à  $2^n$  soit 4. Les isomères sont alors qualifiés de **dia-stéréo-isomères**. 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.).



### b- Activités spectrales

La mesure de la quantité de lumière absorbée par une molécule s'appelle la spectrophotométrie. Donc l'absorbance  $A$  est le logarithme décimal du rapport entre l'intensité énergétique  $I_0$  à une longueur d'onde donnée, avant traversée du milieu, et l'intensité énergétique transmise  $I$

$$A = \log ( I_0 / I )$$

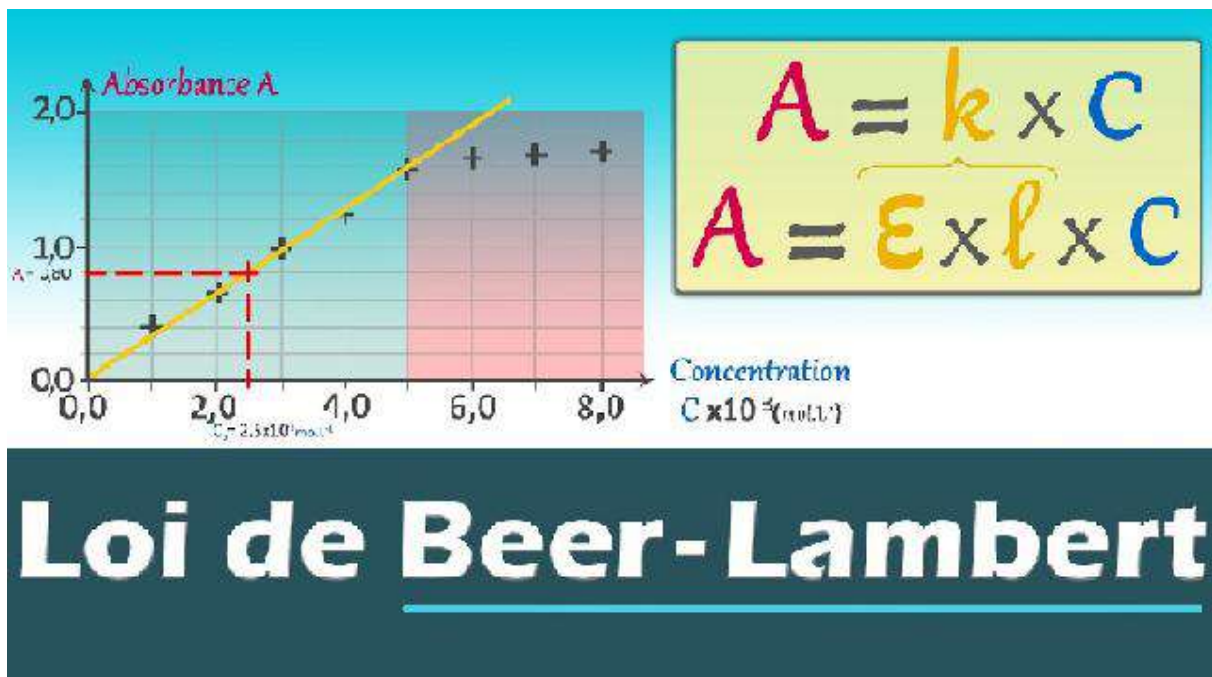
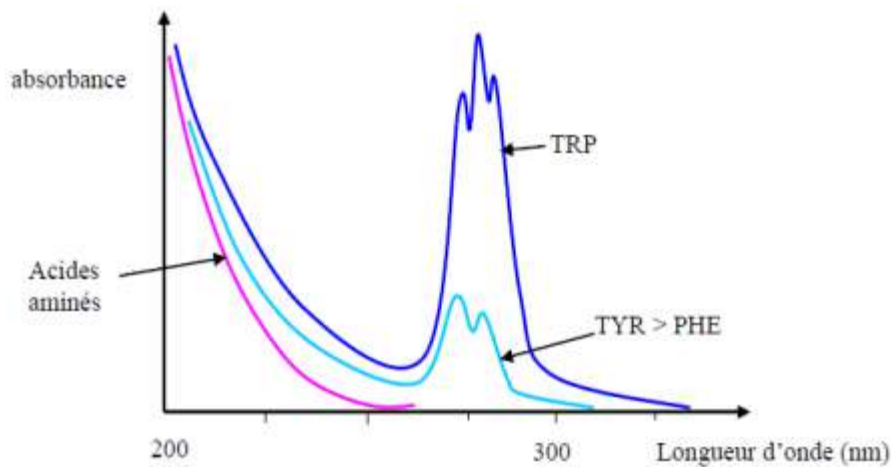
Les aminoacides n'absorbent pas la lumière visible (400 à 750 nm), leurs solutions sont incolores.

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

$$A = \epsilon M \cdot l \cdot [C]$$

$\epsilon M$  coefficient d'absorption molaire ( $l$  : molaire<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) :  $\epsilon M = 5600$  (Trp à 280 nm) ;  $\epsilon M = 1400$  (Tyr à 275 nm) ;  $\epsilon M = 200$  (Phe à 257 nm).

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

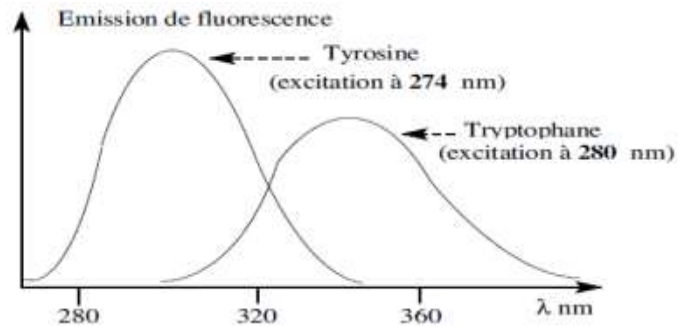
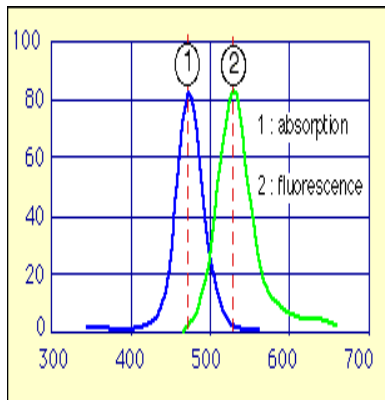


#### d- Fluorescence

La fluorescence est la propriété que possèdent certains corps d'émettre de la lumière après avoir absorbé des photons de plus haute énergie. La microscopie en fluorescence repose sur la formation d'une image par détection de cette lumière émise. Donc la molécule fluorescente (échantillon AA) est caractérisée par deux spectres : son spectre d'absorption (de la lumière incidente) et son spectre d'émission de 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.)



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

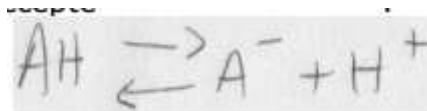
#### 1. 3. 2. 1. Ionisation, propriétés acido-basique (Caractère amphotère)

Propriété essentielle car elle conditionne le comportement de l'AA en solution aqueuse selon le pH de cette solution.

#### Rappels

Un acide est un composé qui cède un / des protons (H<sup>+</sup>).

Une base est un composé qui accepte un / des protons (H<sup>+</sup>).



Cet équilibre répond à une constante de dissociation KA :

$$KA = [A^-] \times [H^+] / [AH]$$

On pose pKA = - log KA

On sait que pH = - log [H<sup>+</sup>]

Si [A<sup>-</sup>] = [AH]  $\Leftrightarrow$  KA = [H<sup>+</sup>]  $\Leftrightarrow$  pH = pKA

Le pKA correspond au pH de demi-dissociation. Donc quand pH = pKA il y a autant de Base que d'Acide conjugué.

Plus le pKA d'un couple est faible, plus l'acide est fort (cas qu'il libère plus facilement des protons).

$$KA = [A^-] \times [H^+] / [AH]$$

$$[H^+] = KA \times [AH] / [A^-]$$

$$\log [H^+] = \log (K_A \times [AH] / [A^-])$$

$$\log [H^+] = \log K_A + \log ([AH] / [A^-])$$

$$-\log [H^+] = -\log K_A - \log ([AH] / [A^-])$$

$$\text{pH} = \text{p}K_A + \log ([A^-] / [AH])$$

Equation d'Henderson – Hasselbalch.

**A-** = accepteur de protons

**AH** = donneur de protons

Les acides aminés possèdent **au moins 2 groupements ionisables**, le groupe -NH<sub>2</sub> et le groupe -COOH, ionisables en -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> et -COO<sup>-</sup> : **ils sont amphotères** car ils peuvent être à la fois donneur ou accepteur d'électrons et existent sous différentes formes ionisées selon le pH.

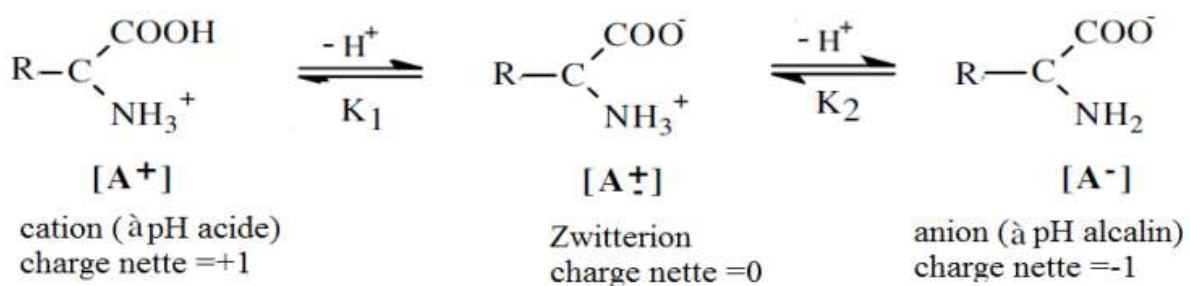
A pH acide (en excès d'H<sup>+</sup>), le groupement aminé peut fixer un proton (caractère basique) et il apparaît un cation :

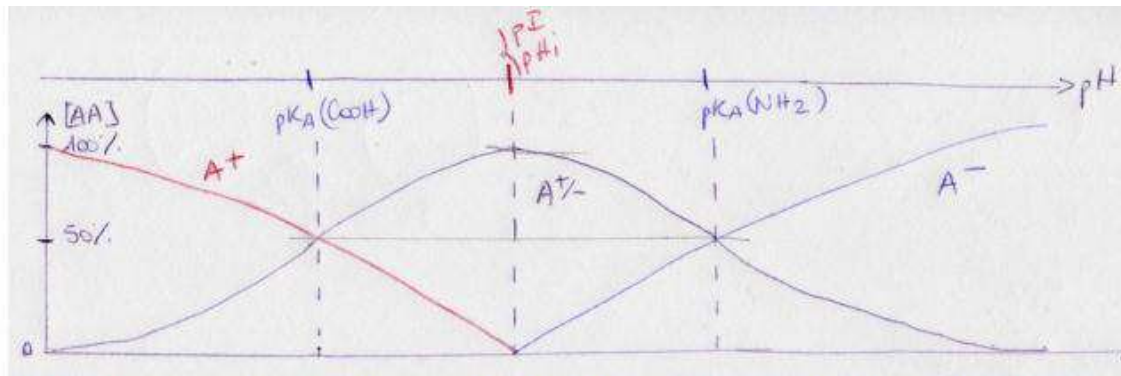


Tandis qu'à pH alcalin (en excès d'OH<sup>-</sup>), le groupement carboxyle peut céder un proton (caractère acide) et il apparaît un anion :



Lorsqu' on fait passer une solution d'un aminoacide d'un pH bas à un pH élevé, on a les transformations suivantes :





Quand le pH du milieu est inférieur au  $pK_A$  d'un couple A/B, la forme majoritaire est la forme acide conjuguée  $A^+$ .

$\Rightarrow$  Qd  $pH = pK_A \Leftrightarrow A = B \Leftrightarrow A^{\pm}$

$\Rightarrow$  Qd  $pH > pK_A \Leftrightarrow$  majoritaire =  $A^-$

$\Rightarrow$  Qd  $pH = pI$ , la solution est globalement neutre.

On appelle **zwitterion** (ion hybride en allemand) une molécule qui porte à la fois une charge positive et négative. Ils peuvent par conséquent servir d'agent tampon. Le pH où les molécules d'acide aminé sont sous la forme dipolaire et où la charge nette de la molécule est nulle, correspond au **point isoionique** ou **isoélectrique** (pI ou pHi) de l'acide aminé. A ce pH, sa solubilité dans l'eau est minimale et il ne migre pas dans un champ électrique à courant continu (électrophorèse).

### Le pouvoir tampon

Une solution tampon est une solution dont le pH varie peu soit par addition d'acide, soit par addition de base ou par dilution dans de l'eau. Le pouvoir tampon est exprimé en nombre de moles de protons captés ou cédés faisant varier le pH d'une unité. Ce pouvoir tampon correspond à l'inverse du coefficient directeur de la tangente à la courbe. L'effet tampon est max. quand on est à  $pH = pK$ .

Pour choisir un tampon il faut que le couple A/B ait un  $pK_A$  le plus proche possible du pH que l'on souhaite maintenir.

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

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



Connaissant la valeur de K1 et celle de K2, il est possible, pour chaque concentration en ions H<sup>+</sup> (pour chaque pH), de calculer le pourcentage des molécules ionisées. Lorsque la concentration en ions H<sup>+</sup> est égale à K1 ou K2, 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 :

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

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

Code	Abrév.	Acide amine	pK <sub>a</sub> (α-COOH)	pK <sub>b</sub> (α-NH3)	pK <sub>R</sub> (chaîne latérale)	pI	Masse molaire	(% protéines humaines)
A	Ala	Alanine	2,35	9,87	-	6,01	89	7,8
C	Cys	Cystéine	1,92	10,70	8,18	5,05	121	1,9
D	Asp	A. aspartique	1,99	9,90	3,90	2,85	133	5,3
E	Glu	A. glutamique	2,10	9,47	4,07	3,15	147	6,3
F	Phe	Phénylalanine	2,20	9,31	-	5,49	165	3,9
G	Gly	Glycine	2,35	9,78	-	6,06	75	7,2
H	His	Histidine	1,80	9,33	6,04	7,60	155	2,3
I	Ile	Isoleucine	2,32	9,76	-	6,05	131	5,3
K	Lys	Lysine	2,16	9,06	10,54	9,60	146	5,9
L	Leu	Leucine	2,33	9,74	-	6,01	131	9,1
M	Met	Méthionine	2,13	9,28	-	5,74	149	2,3
N	Asn	Asparagine	2,14	8,72	-	5,41	132	4,3
P	Pro	Proline	1,95	10,64	-	6,30	115	5,2
Q	Gln	Glutamine	2,17	9,13	-	5,65	146	4,2
R	Arg	Arginine	1,82	8,99	12,48	10,76	174	5,1
S	Ser	Sérine	2,19	9,21	-	5,68	105	6,8
T	Thr	Thréonine	2,09	9,10	-	5,60	119	5,9
U	Sec	Sélocystéine	-	-	5,73	-	168	-
V	Val	Valine	2,39	9,41	-	6,00	117	6,6
W	Trp	Tryptophane	2,46	9,21	-	5,89	204	1,4
Y	Tyr	Tyrosine	2,20	9,74	10,46	5,64	181	3,2

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

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

### a) 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  $pK_{\alpha}NH_2$  de l'ordre de 10 (Fig.). Le  $pH_i$  où l'acide aminé est amphotère se calcule par la formule :

$$pH_i = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$$

Notion de  $pH_i$

C'est le  $pH$  dit « isoélectrique » pour lequel la charge globale de l'AA est nulle et pour lequel la  $[A^+] = [A^-]$ . C'est donc à ce  $pH$  que l'AA sera le moins soluble. Cette forme globalement neutre  $A^{+/-}$  est dite « zwitterionique ».

Calcul du  $pH_i$  :

$$pH = pK_A + \log \frac{[A^-]}{[A^+]}$$

couple:  $COOH/COO^-$       $pK_1: pH = pK_1 + \log \frac{[A^-]}{[A^{+/-}]} \quad [1]$   
 couple:  $NH_2/NH_3^+$       $pK_2: pH = pK_2 + \log \frac{[A^{+/-}]}{[A^+]} \quad [2]$   
 On additionne [1] et [2]:  
 $2pH = pK_1 + pK_2 + \log \frac{[A^-]}{[A^{+/-}]} + \log \frac{[A^{+/-}]}{[A^+]}$   
 $2pH = pK_1 + pK_2 + \log \left( \frac{[A^-]}{[A^{+/-}]} \times \frac{[A^{+/-}]}{[A^+]} \right)$   
 $2pH = pK_1 + pK_2 + \log \frac{[A^-]}{[A^+]}$   
 Or on a  $pH = pH_i \Leftrightarrow [A^-] = [A^+]$   
 $2pH_i = pK_1 + pK_2$   
 $pH_i = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$

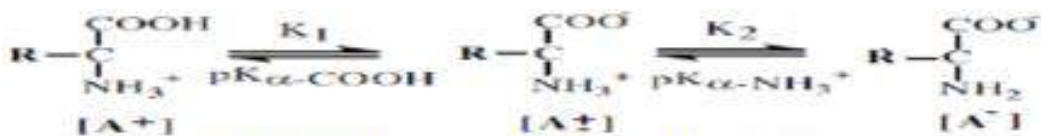
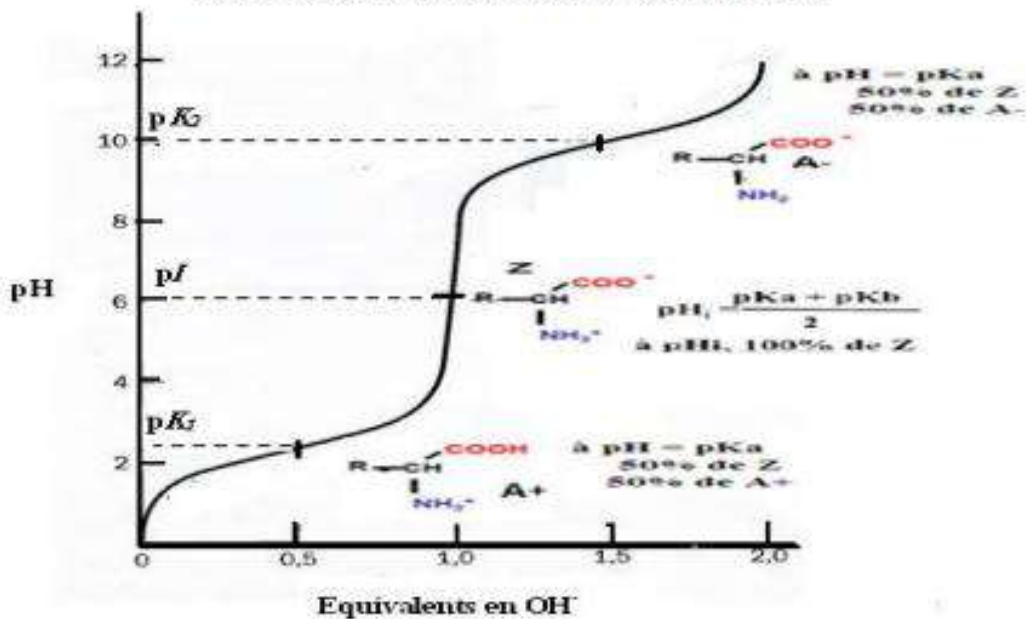


Fig. 102. Equilibre protonique d'un aminoacide neutre.



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.

### 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.). 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  $pK$  intervenant de part et d'autre de la forme amphotère, au niveau de l'équation de dissociation.

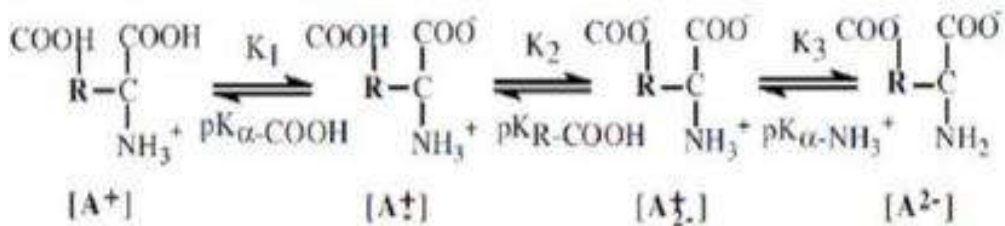
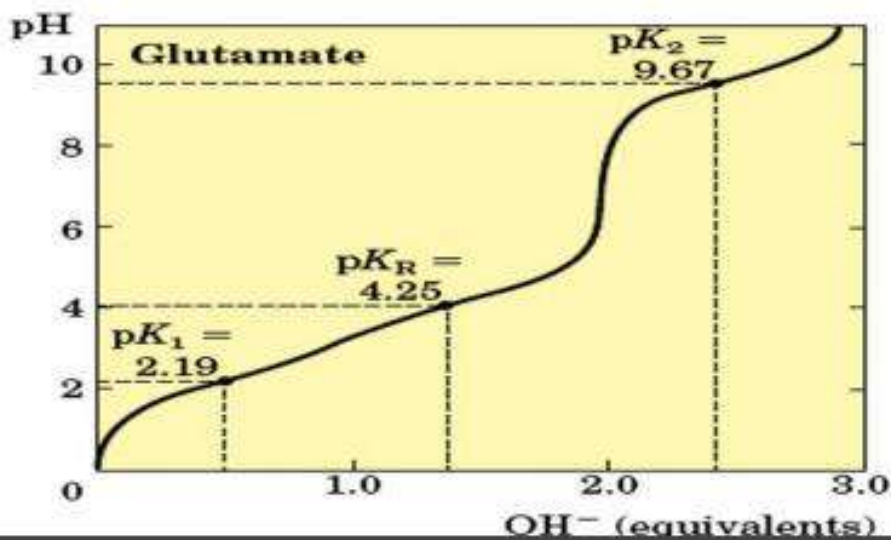
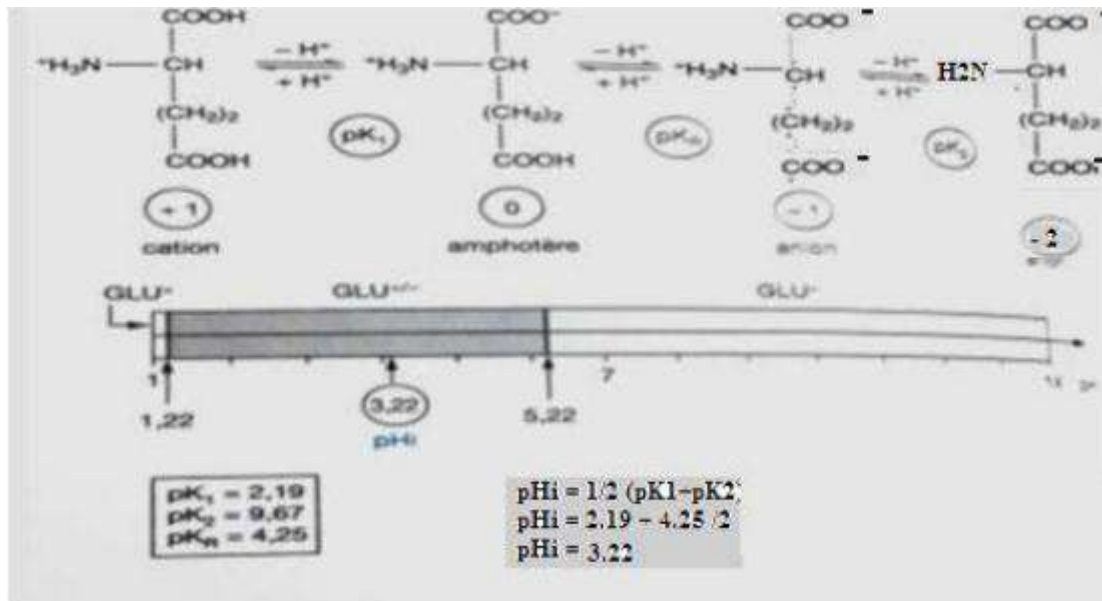


Fig. 104. Etat ionique d'un aminoacide acide en fonction du pH.



Exemple d'un acide aminé à chaîne latérale comportant un groupement acide : (l'acide glutamique)



### c) Ionisation d'un acide aminé à chaîne latérale comportant une fonction base

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

$$\text{pHi} = \frac{(\text{p}K_2 + \text{p}K_3)}{2}$$

Pour l'arginine et la lysine, le  $\text{p}K_{\alpha\text{NH}_2}$  est de l'ordre de 12 et le pHi s'étend de 7,8 à 10,8.

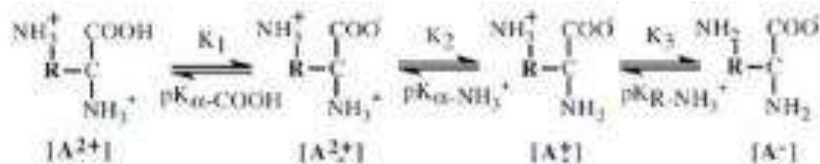
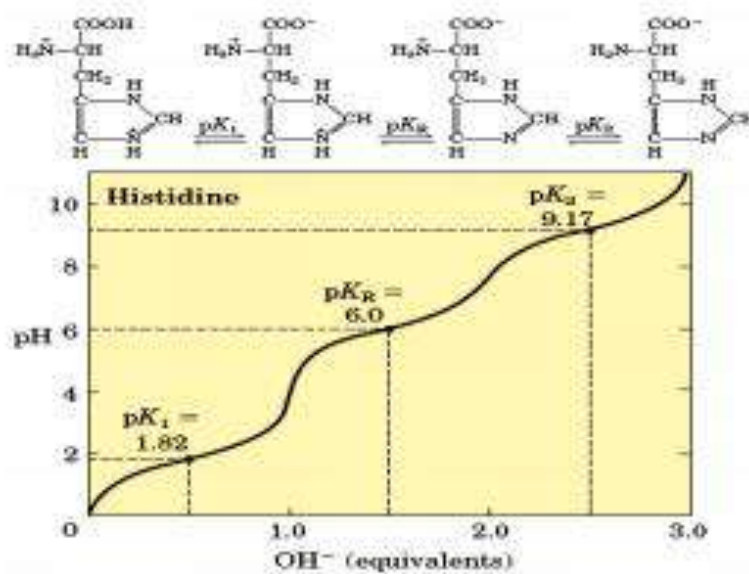


Fig. 106. Etat ionique d'un aminoacide basique en fonction du pH.

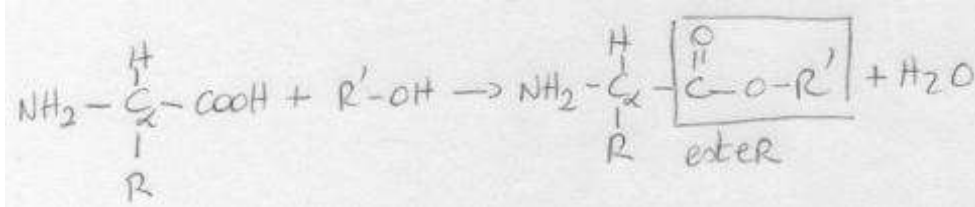


### 1. 3. 2. 3. Autres propriétés chimiques

#### • Dues à la fonction -COOH

##### a) Estérification

AA + Alcool => Ester + Eau

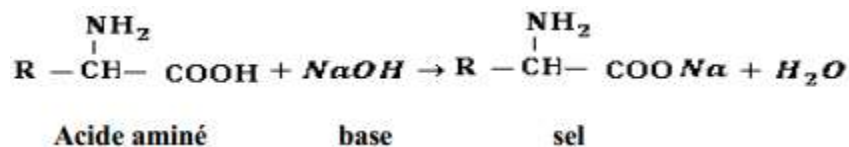


C'est une réaction pour séparer les AA des mélanges car les esters obtenus sont volatiles et peuvent être alors distillés.

Réaction utilisée pour protéger la fonction -COOH lors de la synthèse de peptides.

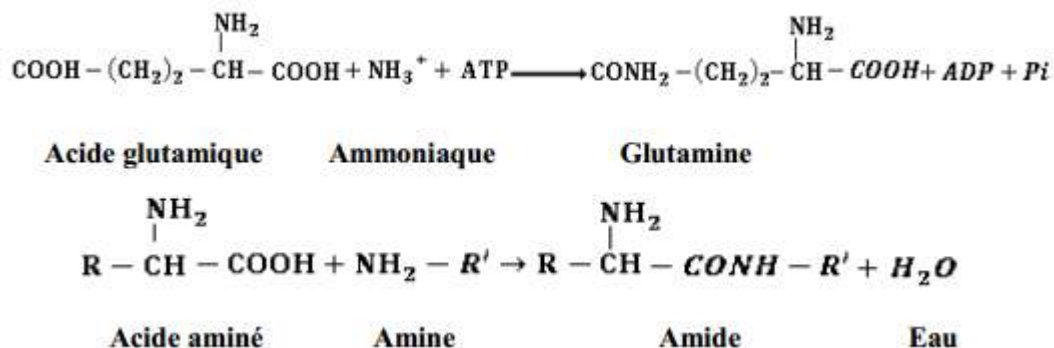
##### b) Formation des sels

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.). La formation de sels se fait généralement avec la soude (NaOH) ou la potasse (KOH).



##### C) Amidification

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



Quand le groupement amine est fourni par un autre acide aminé, la liaison est dite peptidique.

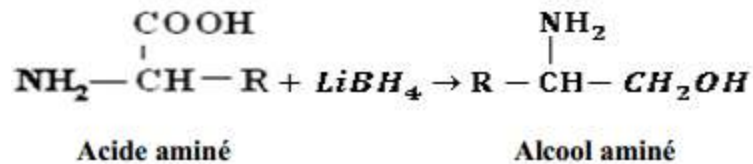
Si la liaison implique un COOH ou un NH2 situé dans une autre position (β-COOH γ-COOH



ε-COOH), la liaison est dite peptioide (ex. la liason entre l'acide glutamique et la cystéine dans le glutathion).

#### D- Réduction

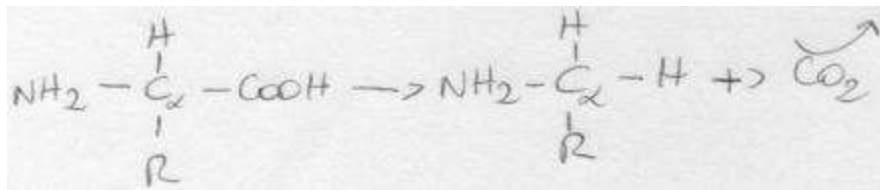
La fonction acide peut être réduite en fonction alcool, en présence de LiBH<sub>4</sub> ou NaBH<sub>4</sub> ou par voie enzymatique. Le produit obtenu est un alcool α aminé (Fig.). Cette réaction est utilisée pour identifier les acides aminés.



#### E- Décarboxylation

La décarboxylation, est une élimination du di-oxyde de carbone CO<sub>2</sub> d'un acide aminé (généralement par chauffage). Cette réaction est catalysée par des décarboxylases cellulaires et conduisant ainsi à la formation des amines qualifiés de biogènes car doués d'une activité physiologique considérable comme ils peuvent être toxiques.

Lysine => cadavérine (lors de la putréfaction) enzyme = Lysine décarboxylase.



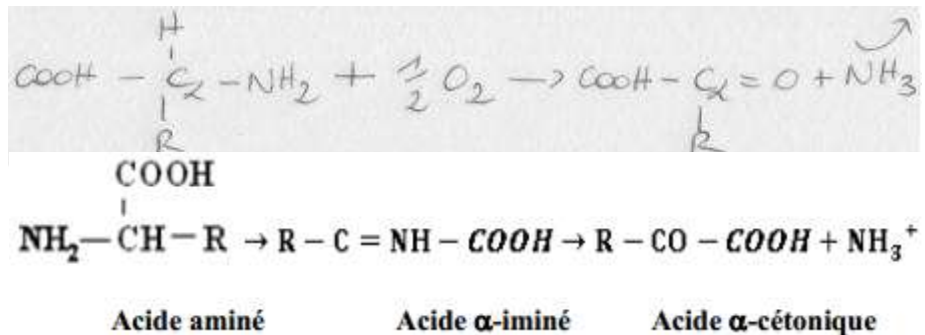
Ac. aminé	Amine	Fonction
<b>Aspartate</b>	α-alanine β-alanine	Dans les protéines Composant du coenzyme A
<b>Glutamate</b>	γ-Amino-butyrat	Neurotransmetteur (GABA) Médiateur du système nerveux central
<b>Cystéine</b>	Cystéamine	Composant du coenzyme A
<b>Sérine</b>	Ethanolamine	Composant des phospholipides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



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

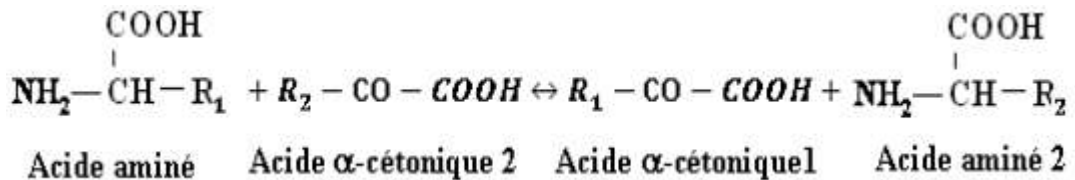
#### A- Désamination

La désamination est une réaction au cours de laquelle, l'acide aminé perd son groupement  $\alpha$ -aminé sous forme de  $\text{NH}_3$ . Elle peut être réalisée par voie chimique (acide nitreux  $\text{HNO}_2$ ) 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  $\alpha$  cétoniques, source principale, à partir de laquelle les aminoacides sont synthétisés.



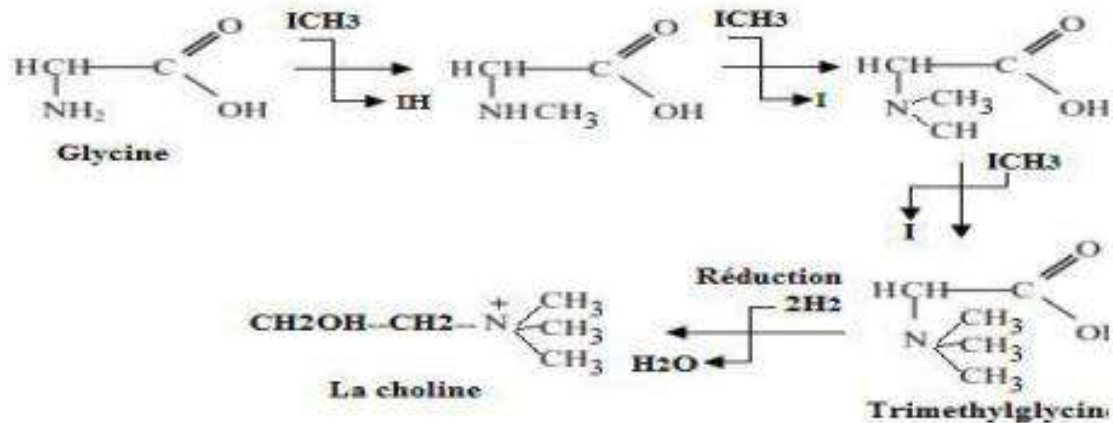
#### B- Transamination

C'est le transfert directe et réversible du groupe  $\text{NH}_2$  d'un acide aminé à un acide  $\alpha$ -cétonique ( $\alpha$ -cétoacide) pour former un autre acide aminé sous l'action d'aminotransférase ou transaminase.



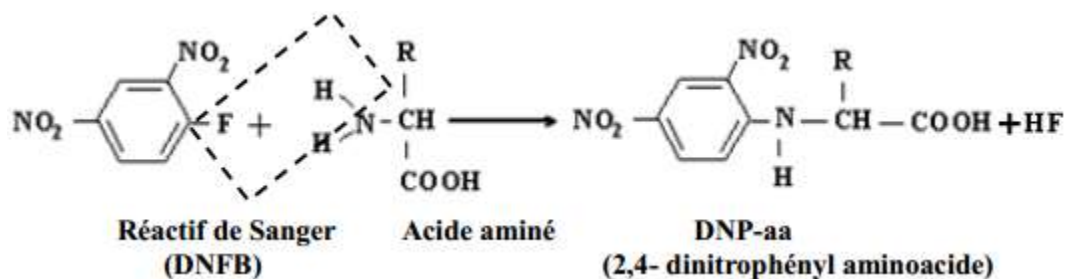


La méthylation de la glycine est l'exemple le plus courant, il se fait dans les organismes vivants et *in vitro* est conduit à la formation d'un tri-méthyl-glycine après une réduction de la fonction carboxyle



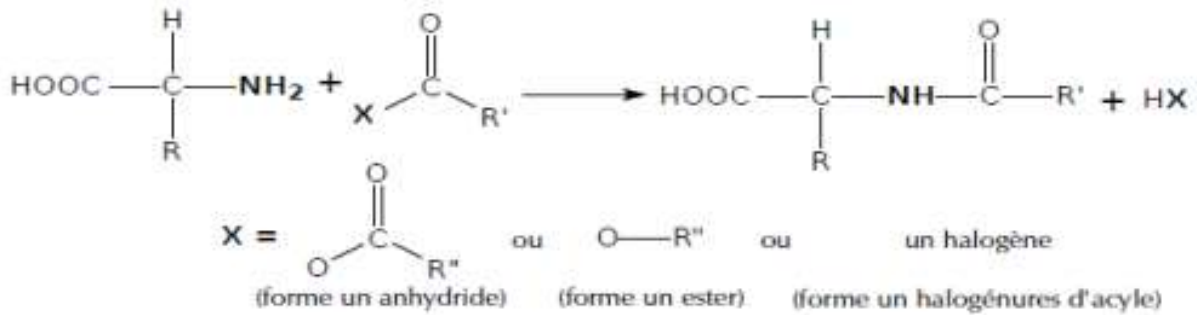
### - Réaction d'arylation

L'arylation est la réaction de remplacement d'un H de la fonction NH<sub>2</sub> par un groupement aryle (hydrocarbure aromatique). Cette réaction à l'aide d'un dérivé aromatique, le 2, 4-dinitrofluorobenzène (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). La protéine est par la suite hydrolysée en milieu acide ou basique. Les acides aminés sont libérés sauf ceux qui possèdent un NH<sub>2</sub> libre et qui restent combinés au dinitrobenzène. Le DNP-aa est un composé jaune, facile à identifier par chromatographie et à doser par spectrophotométrie.



### - Formation de dérivés N acylés

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



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

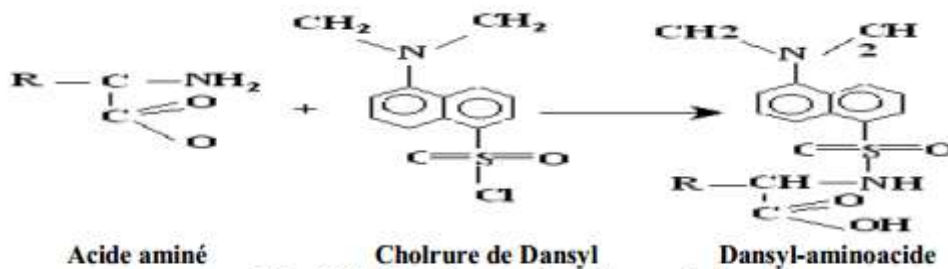
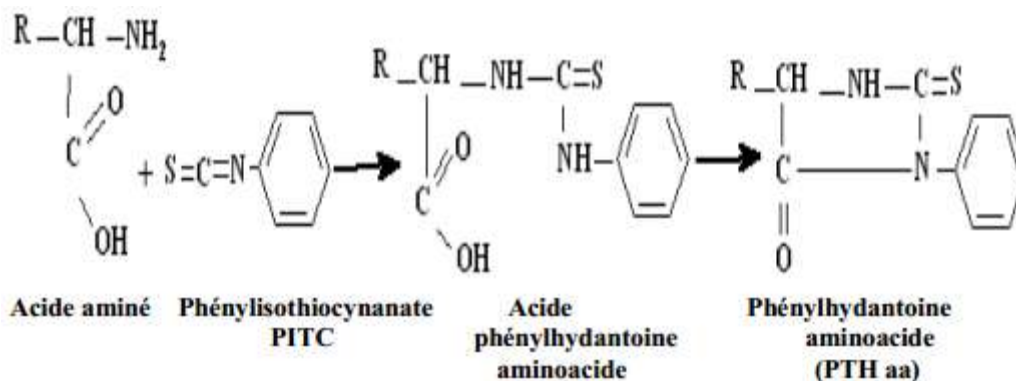


Fig. 118. Réaction avec le chlorure de dansyl.

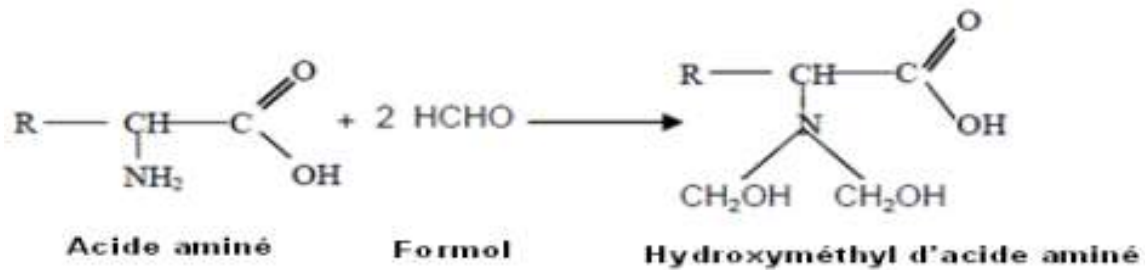
### - La carbamylation (méthode d'Edman)

La carbamylation correspond à la fixation irréversible et cumulative d'acide isocyanique (de formule HN=C=O) sur les groupements aminés des AA. Elle se fait avec le phényl-isothiocyanate (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.)



### - Substitution par le formaldéhyde (formol)

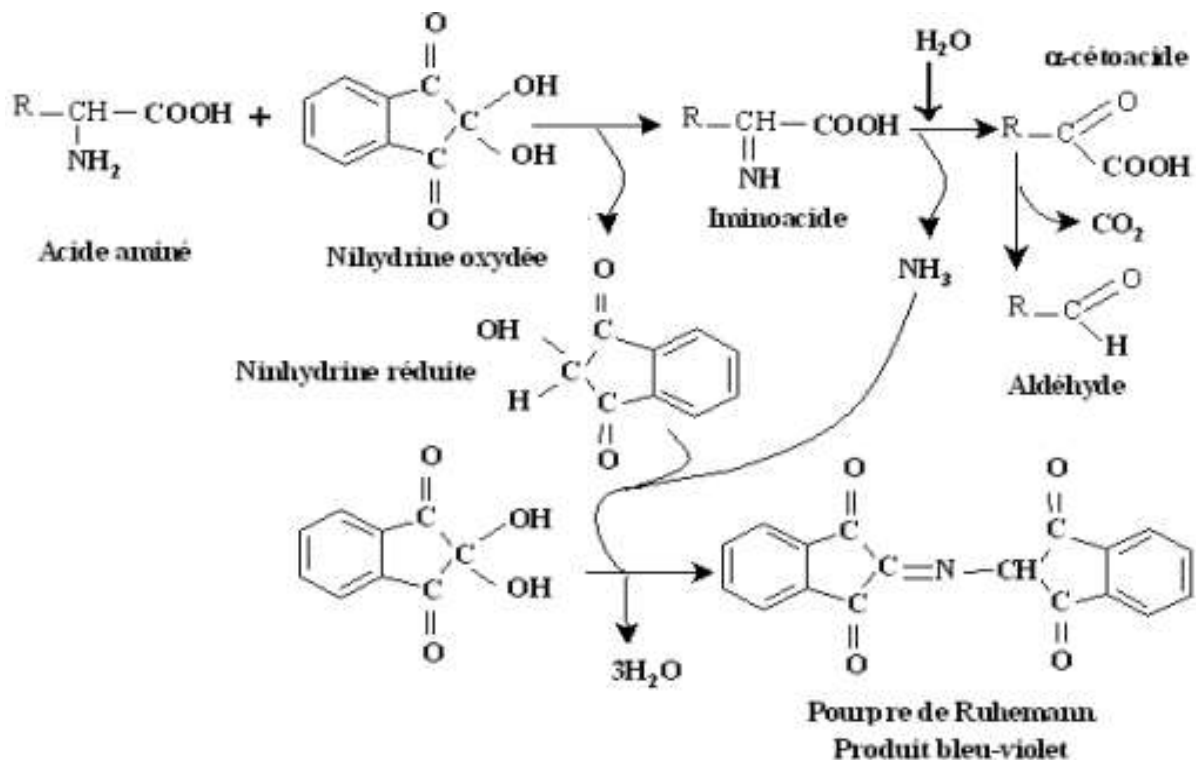
Cette réaction permet de bloquer la fonction amine (Fig. 1 20). L'acide amine n'est plus amphotère mais il est acide. On peut le titrer par alcalimétrie en présence de phénophtaléine. C'est la méthode de la formol-titration de SORENSEN.



### 1. 3. 5. Réactions liées au groupe COOH et NH<sub>2</sub>

#### Réaction avec la ninhydrine

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



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  $\alpha$  cétoacide qui est décarboxylé en un aldéhyde ayant un atome de moins que l'acide aminé de départ. Puis,

l'ammoniac (NH<sub>3</sub>) 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.)

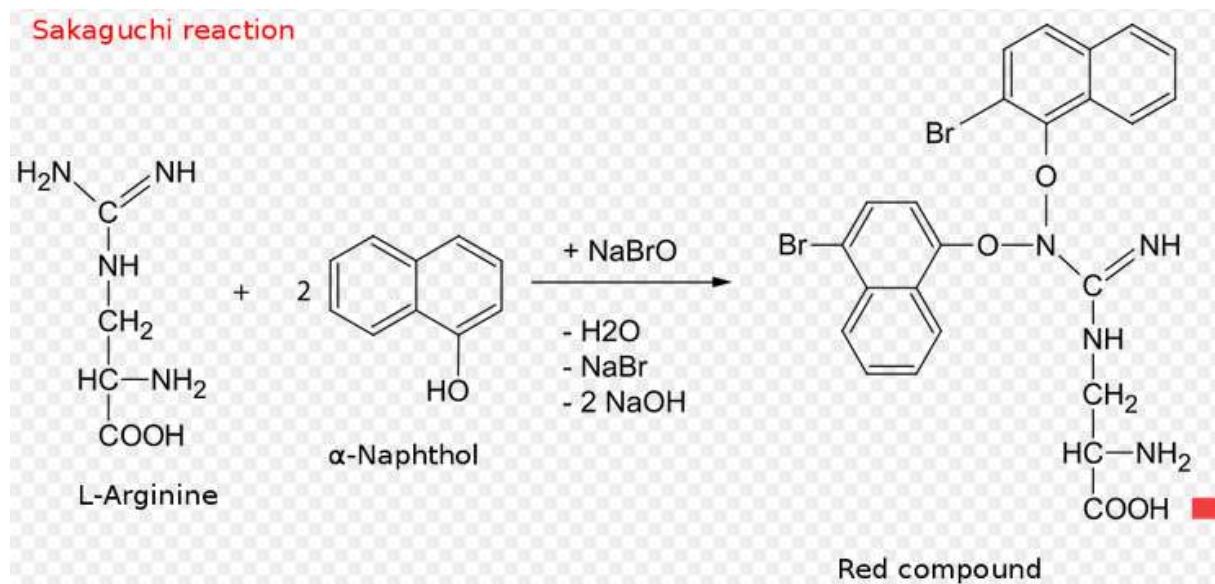
Il est à noter que la coloration n'est pas spécifique des acides aminés. Elle se produit avec d'autres composés ayant des groupements aminos libres : glucosamine, peptides et protéines. Cette coloration peut être utilisée pour doser les acides aminés après chromatographie sur une colonne d'échangeur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

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

**Groupements carboxyliques et amines** : généralement, les groupements latéraux carboxyliques 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

Le test de Sakaguchi est un test chimique utilisé pour détecter la présence d'arginine dans les protéines. Il porte le nom du scientifique alimentaire et chimiste organique japonais Shoyo Sakaguchi (1900–1995) qui a décrit le test en 1925. Le réactif de Sakaguchi utilisé dans le test se compose de 1-Naphtol et d'une goutte d'hypobromite de sodium. (L' $\alpha$ -naphtol en présence d'hypobromite ou hypochlorite de sodium) et en milieu basique réagit avec le groupement guanidine (NH=C-NH<sub>2</sub>) de l'arginine pour former un composé rouge orange.



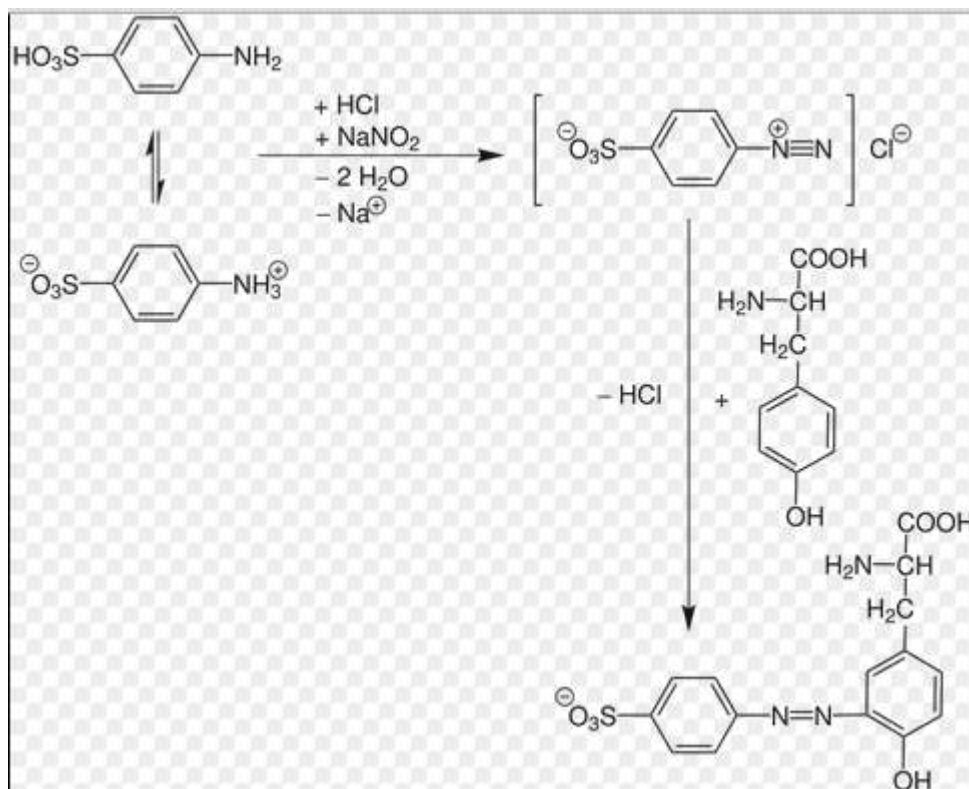
**Groupement imidazole** : le groupement imidazole de l'histidine permet à certains résidus d'histidine présents dans les sites actifs d'enzymes d'intervenir dans des réactions de transfert de proton.



### - Réaction de Pauly

Cette réaction est utilisée pour la détection qualitative des acides aminés : tyrosine et histidine. Le test est nommé d'après Hermann Pauly (1870-1950). (acide diazosulfanilique en milieu alcalin) : coloration rouge avec l'histidine.

La première étape est la diazotation de l'acide sulfanilique par l'addition du nitrite de sodium en présence de l'acide chlorhydrique. A l'ajout de l'acide aminé, il y a formation d'une coloration rouge. L'ajout d'une solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) peut mieux révéler cette coloration.

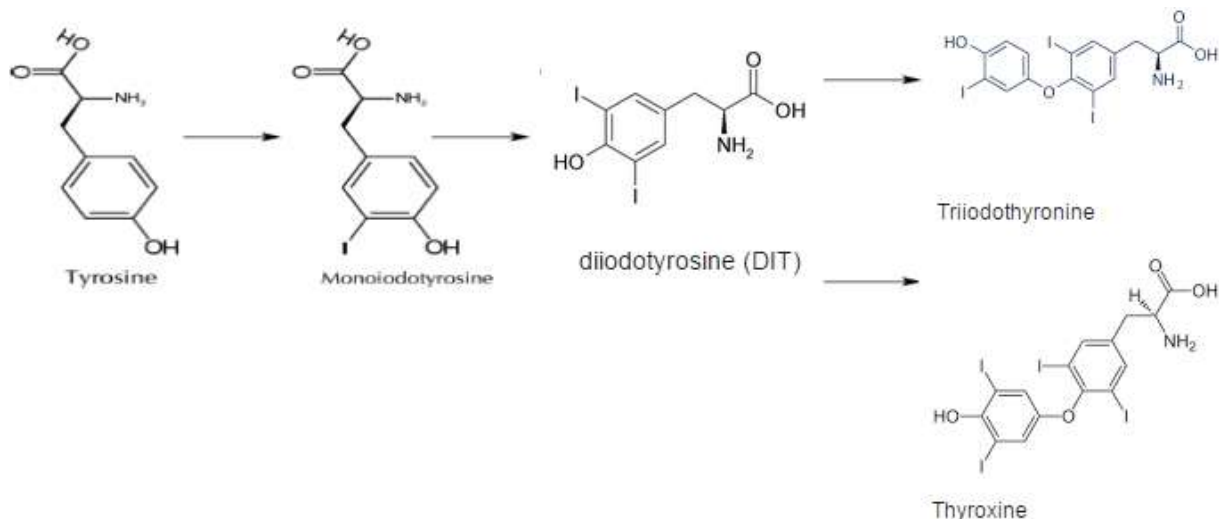


### Acides aminés aromatiques

- Les acides aminés aromatiques (Trp, Tyr, Phe) absorbent les radiations lumineuses dans l'UV et présentent des  $\lambda_{\text{max}}$  différentes (**fluorescence**).

### - Groupement phénol

Le groupement phénol de la tyrosine peut être halogéné, donnant respectivement la monoiodotyrosine (MIT) et la diiodotyrosine (DIT) qui sont des précurseurs d'hormones thyroïdiennes T3 (triiodothyronine) et T4 (thyroxine).



### - 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 Million

Les groupements phénoliques (tyrosine) substitués réagissent avec le mercure (nitrate mercurique et mercurieux en milieu acide nitreux à chaud) en donnant une coloration rouge cerise.

### - Réaction d'Uderfriend et Cooper

( $\alpha$ -nitroso, - $\alpha$ -naphthol) donnent 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

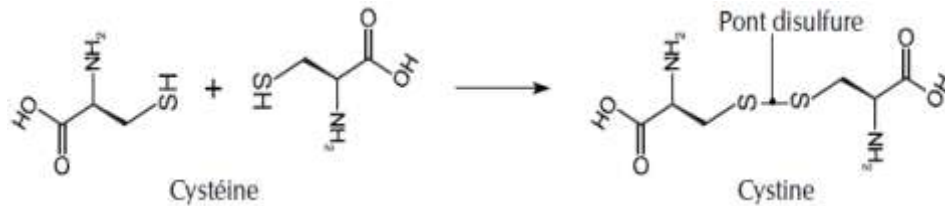
- Donne une coloration particulière avec la ninhydrine.
- Réagit avec l'isatine pour former un composé bleu intense.

## Acides aminés soufrés

- Ils réagissent avec l'acétate de plomb  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  en milieu alcalin pour former du sulfure de plomb ( $\text{PbS}_2$  noir).

### - Cystéine

Le groupement thiol de la cystéine est très réactif, son oxydation en présence de  $\text{O}_2$  permet la formation des ponts disulfures (Fig.) que l'on trouve dans les protéines (pont intra-chaîne ou entre chaînes polypeptidiques). Cette réaction est catalysée par la présence de métaux



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

- Le nitroprussiate de sodium dans l'ammoniaque diluée réagit avec la cystéine en donnant des dérivés rouges.

- La réaction de Sullivan (1,2 naphthoquinone-4-sulfonate de sodium et l'hydrosulfite de sodium) donne une coloration rouge avec la cystéine.

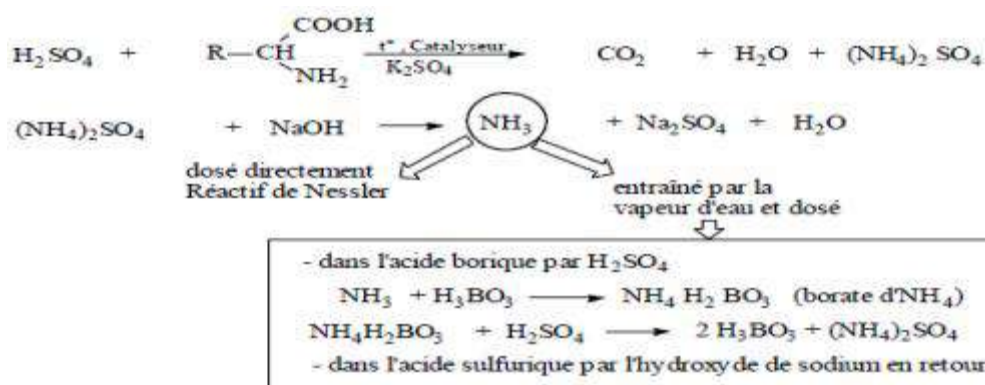
## 1. 4. Méthodes de dosage et d'analyse des acides aminés

### 1. 4. 1- Dosage des acides aminés totaux (azote total)

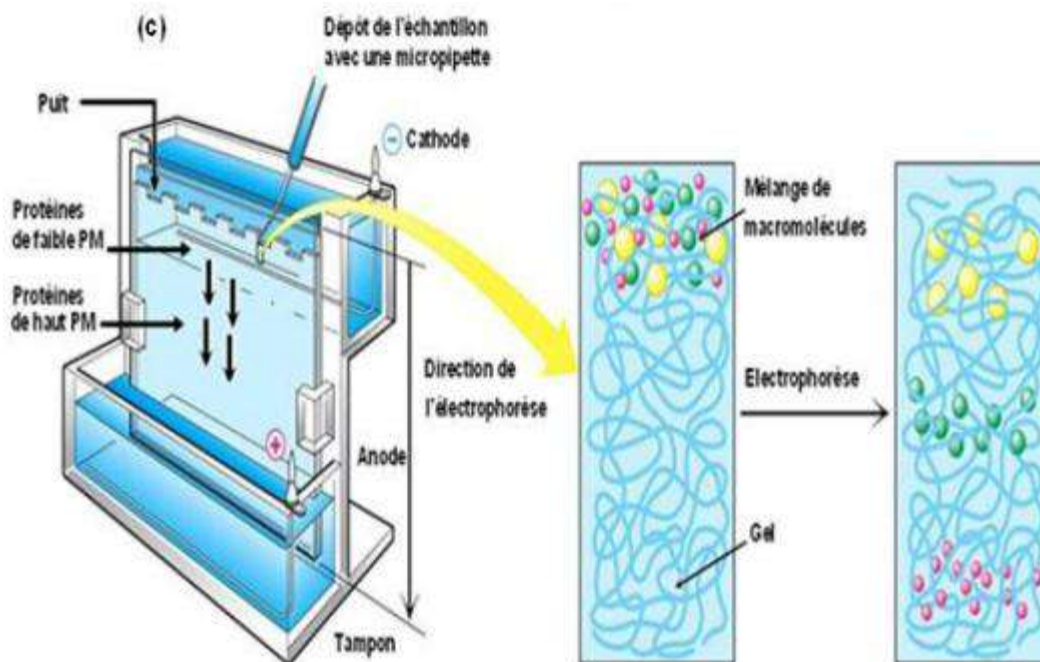
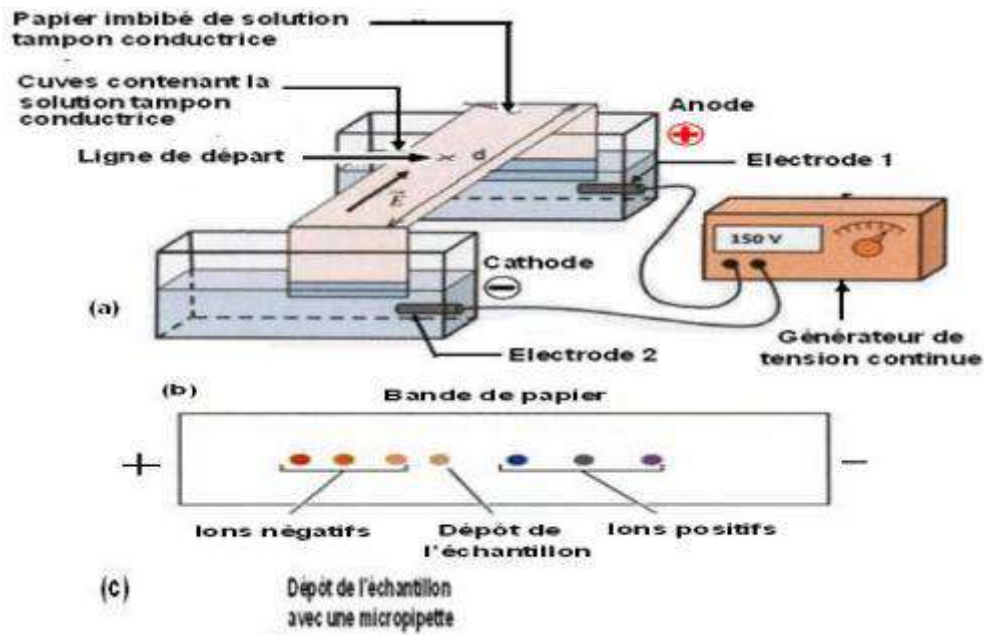
Ces méthodes permettent de doser tous les acides aminés, quelle que soit la nature du radical R.

#### 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).







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

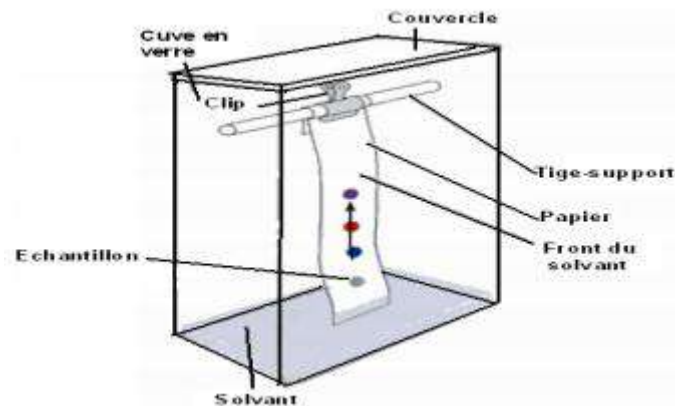
## b- Chromatographie

La chromatographie est une méthode d'analyse physico-chimique qui sépare les constituants d'un mélange par entraînement au moyen d'une phase mobile (liquide ou gaz) le long d'une

phase stationnaire (solide ou liquide fixé), grâce à la (ré) partition sélective des solutés entre ces deux phases. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre les phases fixe et mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers. Pour les acides aminés, les techniques qui peuvent être mises en œuvre: chromatographie sur papier, chromatographie sur couche mince, chromatographie échangeuse d'ions, chromatographie en phase gazeuse.

### - Chromatographie sur papier

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



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

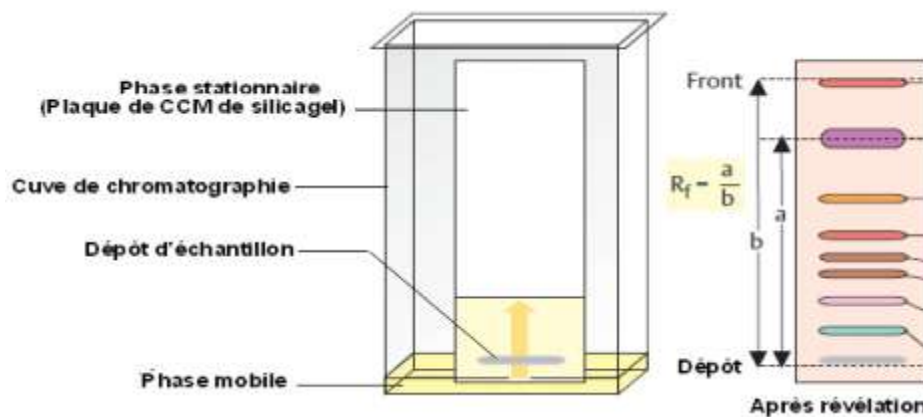
Le  $R_f$  est une caractéristique d'un composé dans un système donnée pour des conditions opératoires définies. Plus les substances constituant le mélange sont solubles dans cette phase mobile, ou plus leur  $R_f$  est élevé, plus elles migrent rapidement sur la feuille. Lorsque la migration est terminée, la ninhydrine est pulvérisée sur la feuille. Après chauffage, des taches bleu-violet apparaissent dans les zones où se trouvent les aminoacides. La chromatographie sur papier peut être bidimensionnelle: le dépôt du mélange à analyser se fait dans un angle, sans témoin, la migration dans la 1<sup>ère</sup> dimension se fait avec un premier solvant organique puis le



papier est tourné d'un  $\frac{1}{4}$  de tour et une nouvelle migration se fait avec un autre solvant organique de polarité différente.

### - Chromatographie sur couche mince

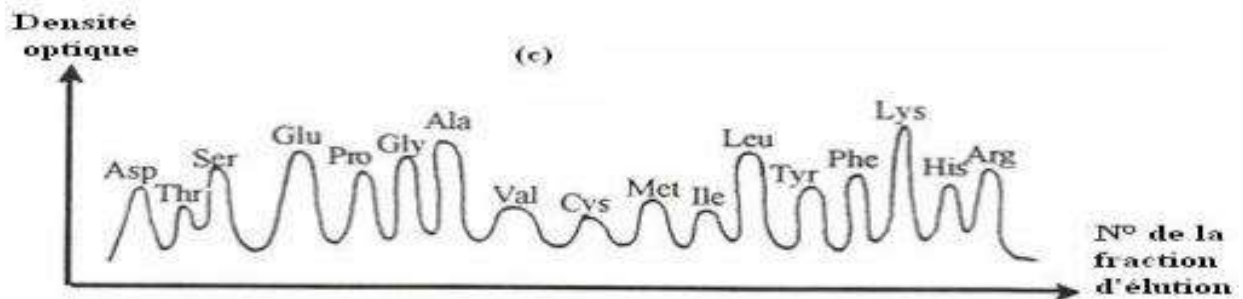
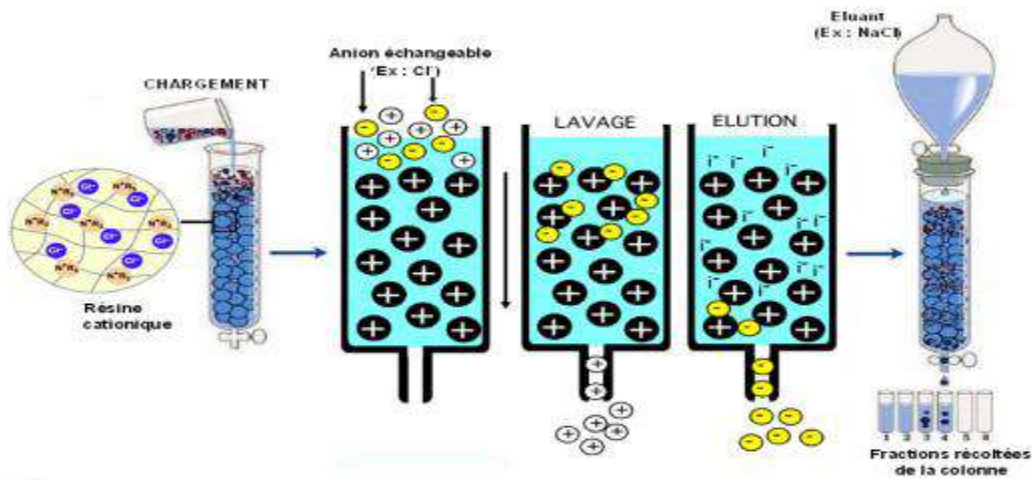
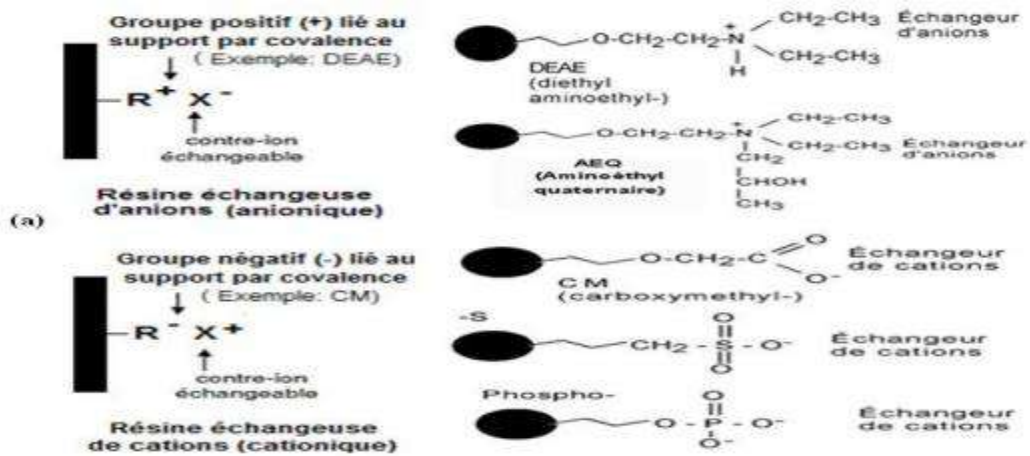
C'est une chromatographie d'adsorption avec une phase stationnaire polaire (cellulose ou silice) étalée en fine couche sur un support rigide inerte (verre ou feuille de métal) et une phase mobile qui est un solvant organique moins polaire (Fig.). Les acides aminés à séparer sont chromatographiés en présence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



### Chromatographie échangeuse d'ions

Est une technique d'isolement et de purification d'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 -). La résine est dans une colonne et on fait passer la solution dans cette colonne. Le pH d'éluion 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).

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.

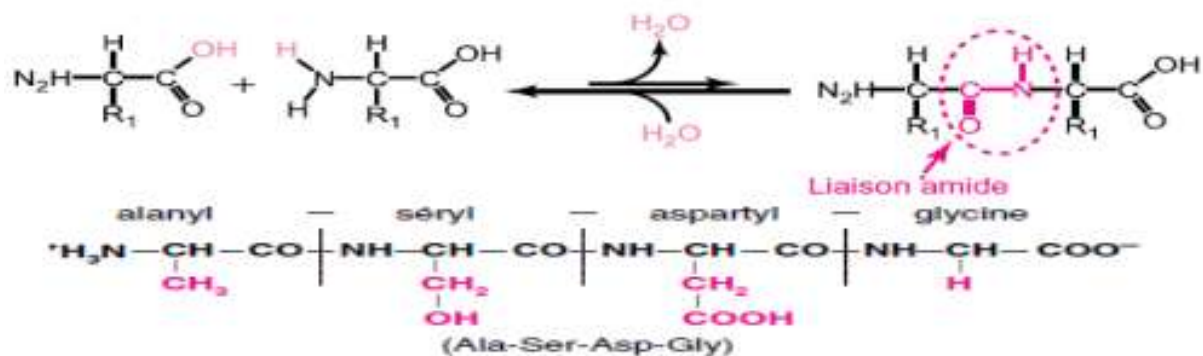


## 2. Les peptides

### 2.1. Structure primaire des peptides et des protéines

#### 2.1.1. Liaison peptidique

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  $\alpha$ -amine d'un acide aminé et le groupement  $\alpha$ -carboxyle d'un autre acide aminé. Cette liaison est également appelée **liaison peptidique** (Fig).



Si la liaison peptidique implique un COOH ou un NH<sub>2</sub> situé dans une autre position ( $\beta$  COOH,  $\gamma$  COOH,  $\epsilon$  NH<sub>2</sub>) on parle de **liaison peptidoïde**.

L'enchaînement successif des acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique constitue la **structure primaire** ou **séquence** de la protéine. Les acides aminés présents dans le peptide ont ainsi perdu le H de leur NH<sub>2</sub> 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.

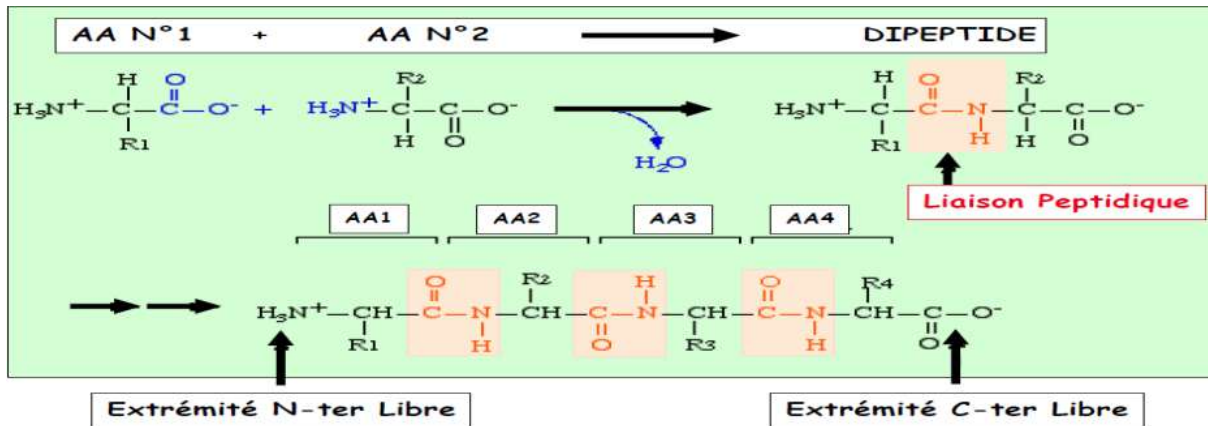
Quand il y a deux résidus d'acides aminés, il s'agit d'un dipeptide, quand il y a en 3, c'est un tripeptide. On parle aussi d'oligopeptide pour un nombre de résidus allant de 2 à 9 et de polypeptide pour un nombre supérieur. Au-delà de 100 résidus, ce n'est plus un polypeptide mais une protéine. La limite 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  $\alpha$ -amine présent à une extrémité (extrémité N-terminale) et un groupe  $\alpha$  carboxyle présent à l'autre extrémité (extrémité C-terminale). Par convention une séquence en acides aminés est toujours écrite en partant du résidu N-terminal. La chaîne peptidique contient une partie répétitive nommée

**chaîne principale** ou **squelette** et une partie variable correspondant aux chaînes latérales des résidus d'acides aminés.

### Mode de représentation d'une séquence peptidique

La chaîne qui comprend les liaisons amide est appelée la chaîne principale, alors que les substituants, R, constituent les chaînes latérales.

- Les peptides ont toujours une extrémité amine libre ou extrémité N terminale, et une extrémité carboxyle libre ou extrémité C terminale.



## 2. 2. Propriétés des peptides

### 2. 2 .1. Propriétés physiques

**Solubilité** : Elle est inversement proportionnelle avec la longueur de la chaîne peptidique (les peptides sont d'autant plus solubles dans l'eau qu'ils sont plus petits et contiennent d'avantage d'acides aminés hydrophiles).

### Pouvoir rotatoire

Les peptides sont actifs envers la lumière puisque ils présentent des C asymétriques.

### Absorption de la lumière

Les peptides absorbent la lumière dans l'UV (180 à 230nm) si AA aromatiques, alors absorbent aussi à 280nm = propriété importante lors des dosages.

### Propriétés acido-basiques

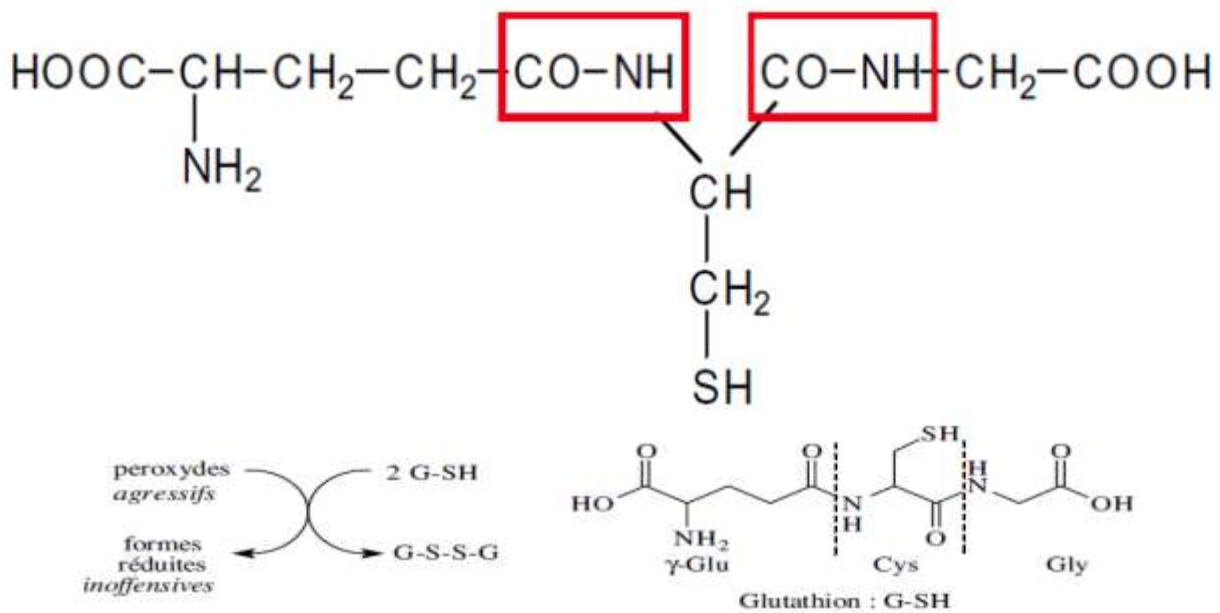
De nombreux petits peptides ont été obtenus à l'état pur sous forme cristalline. Ils ont des points de fusion élevés. Aucune des fonctions α-aminées combinées dans les liaisons peptidiques ne pouvant s'ioniser dans la zone de pH 0 à 14, le comportement acido-basique des peptides est dû à la fonction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

### 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.

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

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



#### 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 :

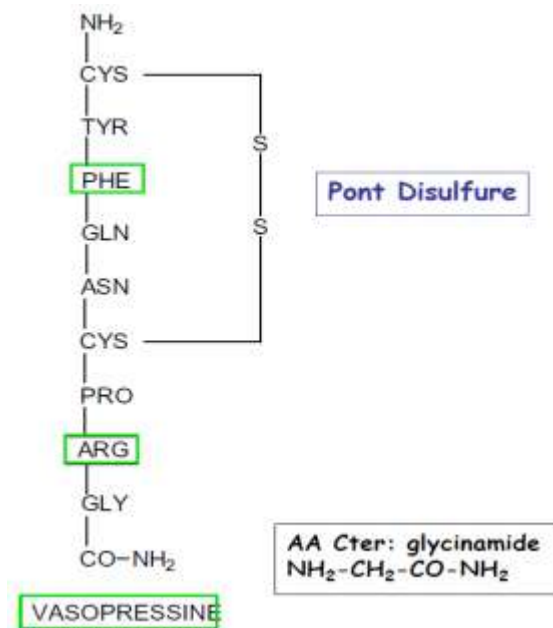
#### 2. 2. 2. 3. Les peptides hormonaux

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)

L'hormone antidiurétique ou vasopressine, parfois également désignée par l'abréviation AVP pour Arginine-vasopressine (fig), est une hormone produite par l'hypothalamus et stockée dans l'hypophyse. Elle est relâchée dans la circulation si l'osmolarité plasmatique augmente ou si la

volémie diminue. Cette hormone favorise alors la réabsorption d'eau dans l'organisme en agissant au niveau du tubule distal rénal.



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 acides aminés.

Le pancréas endocrine sécrète :

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

#### 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

**Les peptides vasoconstricteurs :**

- l'**angiotensine II** est un octapeptide
- les **endothélines**, dont la production est localisée dans le tissu pulmonaire sont des peptides de 21 acides aminés,



### Les 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<sup>+</sup> et dans la diurèse (élimination d'eau) : chez l'homme, l' $\alpha$ -ANP est un polypeptide de 28 aminoacides.

- la **bradykinine** est un hypotenseur libéré lors d'une réaction inflammatoire.

### 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 œdème 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 glycy-bradykinine.

### 2. 2. 2. 6. Peptides antibiotiques

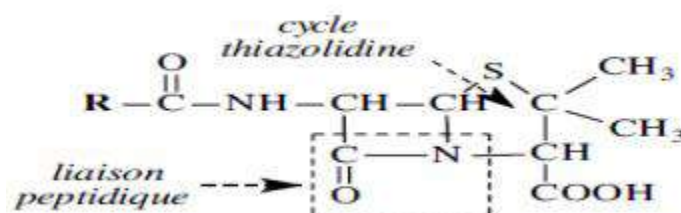
Les peptides antimicrobiens (PAM), (AMPs) également appelés peptides de défense de l'hôte (HDPs), Ces peptides sont de puissants antibiotiques à large spectre qui présentent un potentiel en tant que nouveaux agents thérapeutiques. Il a été démontré que les peptides antimicrobiens tuent les bactéries à Gram négatif et à Gram positif, les virus enveloppés, les champignons et même les cellules transformées ou cancéreuses<sup>1</sup>. Contrairement à la majorité des antibiotiques classiques, il apparaît que les peptides antimicrobiens déstabilisent fréquemment les membranes biologiques, peuvent former des canaux transmembranaires et peuvent également renforcer l'immunité (en) en jouant le rôle d'immunomodulateurs.

**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.

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



### 2. 2. 2. 9. Peptides immuno-modulateurs

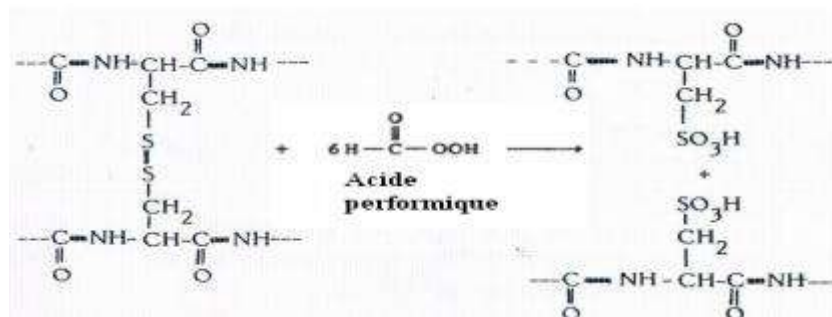
Le champignon micromycète *Tolypocladium* sécrète des métabolites secondaires dont une famille de peptides antifongiques, les **cyclosporines**, qui sont des immunosuppresseurs utilisés dans les transplantations d'organes. Ils inhibent l'activation des lymphocytes T sans affecter les autres systèmes de défense ni la moelle osseuse. La **cyclosporine A** est un décapeptide cyclique (11 aminoacides) comportant de nombreux aminoacides atypiques : une D- alanine, 7 aminoacides N-méthylés : ce qui se traduit par 7 liaisons peptidiques modifiées et un acide aminé non-standard (en C9), spécifique des cyclosporines : 2-amino-3-hydroxyl-4-méthyl-6 octénoïque.

### 2. 3. Détermination de la structure des chaînes peptidiques (séquençage)

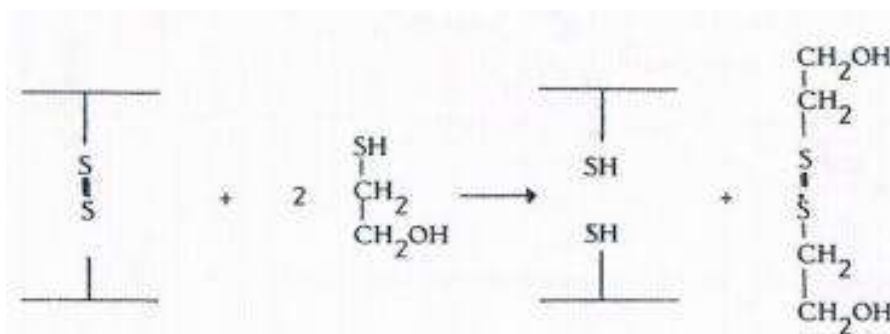
La détermination de la nature exacte, des proportions de chacun des acides aminés constitutifs et de l'ordre de leur enchaînement dans un peptide ou une protéine donné nécessite en premier lieu le clivage des liaisons covalentes.

#### A- Séparation de plusieurs chaînes peptidiques

Fréquemment les chaînes peptidiques sont unies entre elles par des points disulfures. Les liaisons disulfures sont scindées par des agents oxydants.



On utilise aussi des agents réducteurs tels que le β mercaptoéthanol.



Pour que le pont disulfure ne se reforme pas, il faut traiter ensuite par un agent d'alkylation comme l'iodoacétate:



### **A- Hydrolyse des liaisons peptidiques**

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

#### **- L'hydrolyse acide**

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

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

#### **- Hydrolyse alcaline**

Elle se fait en utilisant de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 mol/L à chaud (110°C) pendant 4 à 8h environ. L'hydrolyse totale alcaline détruit la sérine, la thréonine, la cystéine. L'identification et le dosage des acides aminés constitutifs s'effectuera par chromatographie sur résine échangeuse de cations après hydrolyse totale du peptide.

#### **- Hydrolyse enzymatique**

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

Mais pour connaître la séquence des acides aminés il faut d'abord déterminer les acides aminés N- et C- terminaux, puis l'ordre d'enchaînement des autres acides aminés. Les tableaux 2 et 3 donnent les principales méthodes utilisées.

**Tableau.** Détermination de l'acide aminé en position N-terminale.

Méthodes	Réactions
Sanger par le dinitro-fluoro benzene	<p>puis hydrolyse</p> <p>DNP Aa + Les autres acides aminés</p>
EDMAN ou méthodes par récurrence par le phényl-isothiocyanate	<p>cyclisation-libération</p> <p>phénylthiohydantoin Aa + reste de la chaîne</p>
Dansyl ou chlorure de diméthyl amino 1-sulfonyl 5-naphtalène	<p>Tous les autres Aa non modifiés et un Dansyl-amino acide fluorescent</p>
Amino-peptidase	<p>•Enzyme spécifique qui hydrolyse la liaison peptidique impliquant l'acide aminé N-terminale</p> <p>ACIDE AMINÉ N-TERMINAL LIBÉRÉ LE PREMIER</p>

**Tableau.** Détermination de l'acide aminé en position C-terminale.

	Méthodes	Réactions
Acide aminé C-terminale	Méthodes chimiques	<p><u>Traitement par LiBH<sub>4</sub></u></p> <p>LiBH<sub>4</sub> ou NaBH<sub>4</sub> réduit la fonction carboxylique en fonction alcool primaire</p> $\text{--- NH-CH-COOH} \xrightarrow[\text{ET HYDROLYSE}]{\text{LiBH}_4} \text{Rn-CH-CH}_2\text{OH}$ <p style="text-align: center;">  NH<sub>2</sub></p> <p>+ AUTRES ACIDES AMINÉS NON RÉDUITS</p>
		<p><u>Hydrazinolyse</u></p> $\text{H}_2\text{N-CH(R}_1\text{)-CO} \text{---} \text{NH-CH(R}_2\text{)-CO} \text{---} \text{NH-CH(R}_3\text{)-COOH}$ <p>+ n (NH<sub>2</sub> - NH<sub>2</sub>) → formation d'hydrazides n-1 (H<sub>2</sub>N-CH-CO-NH-NH<sub>2</sub>) + l'acide aminé C-terminale libre</p>
	Méthodes enzymatiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La carboxypeptidase A : Elle coupe les liaisons C-terminales sauf celles du glyco-colle et des acides aminés basiques à condition que le (Rn-1) ne soit pas une proline.</li> <li>- La carboxypeptidase B : Elle libère les acides aminés basiques à condition que (Rn-1) ne soit pas une proline.</li> <li>- La pepsine et la papaine : sont peu spécifiques et sont surtout utilisés comme endopeptidase.</li> </ul>

## 2.4. Fragmentation des chaînes peptidiques

Si la chaîne peptidique est trop longue, il faut au préalable la fragmenter en chaînes plus courtes qui seront analysées séparément (tableau)

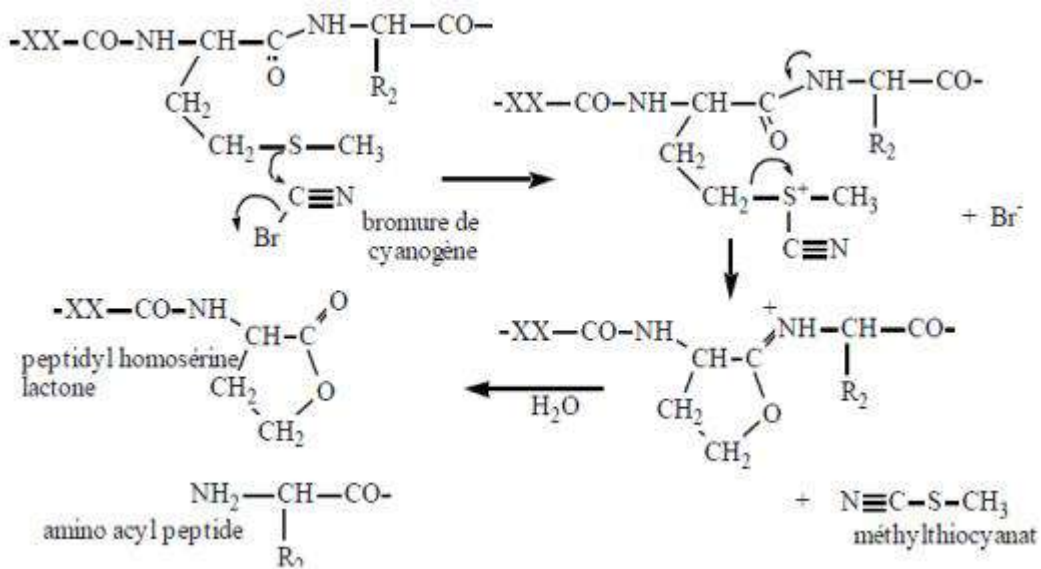
**Tableau.** Fragmentation des chaînes peptidiques.

Réactifs	Spécificité
Trypsine	Elle coupe spécifiquement les liaisons peptidiques impliquant le –CO– d'un maillon correspondant à un acide aminé basique.  $\text{--- NH-CH-CO} \begin{array}{c} \updownarrow \\   \\ \text{R}_1 \end{array} \text{--- NH-CH-CO ---}$ $\text{--- NH-CH-CO} \begin{array}{c} \updownarrow \\   \\ \text{R}_2 \end{array} \text{---}$ R <sub>1</sub> = Lys ou Arg
Chymotrypsine	Elle attaque spécifiquement les liaisons peptidiques impliquant le –CO– d'un maillon correspondant à un acide aminé aromatique.  $\text{--- NH-CH-CO} \begin{array}{c} \updownarrow \\   \\ \text{R}_1 \end{array} \text{--- NH-CH-CO ---}$ $\text{--- NH-CH-CO} \begin{array}{c} \updownarrow \\   \\ \text{R}_2 \end{array} \text{---}$ R <sub>1</sub> = Phe, Tyr, Trp
Pepsine	Spécificité plus faible, elle coupe la liaison peptidique impliquant le –NH– d'un maillon correspondant à un acide aminé aromatique.  $\text{--- NH-CH-CO} \begin{array}{c} \updownarrow \\   \\ \text{R}_1 \end{array} \text{--- NH-CH-CO ---}$ $\text{--- NH-CH-CO} \begin{array}{c} \updownarrow \\   \\ \text{R}_2 \end{array} \text{---}$ R <sub>2</sub> = Phe, Tyr, Trp
Clostripaine	Coupe la liaison peptidique impliquant le –CO– de l'Arg
Protéase staphylococcique	Coupe la liaison peptidique impliquant le –CO– des résidus Asp et Glu.
BrCN	Coupe la liaison peptidique impliquant le –CO– d'une Met et transforme le résidu Met en HSL (homosérine lactone).
Hydroxylamine	Coupe la liaison Asn–Gly.

- **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)

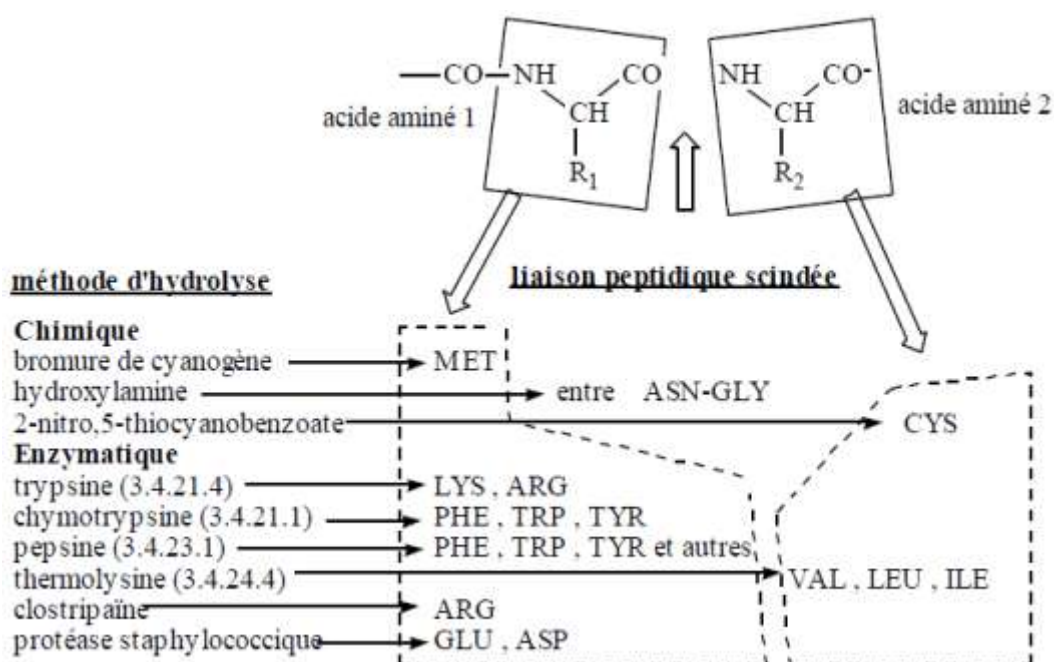




**Au 2 –nitro-5-thiocyanobenzoate (NTCB)** hydrolyse la liaison peptidique du côté amine de la cystéine.

- **Méthodes enzymatiques**

Ce sont des endopeptidases à spécificité d'action étroite qui permet des coupures très localisées (Fig.). 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.



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

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

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

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

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

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

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

### Exercices sur l'étude de la séquence des protéines

1/ On désire déterminer la séquence d'un décapeptide dont la composition est la suivante : Asp ; Val ; Gly 2 ; Tyr ; Ile ; Cys ; Arg ; Leu ; Ala. La méthode d'Edman donne Gly, puis Leu et ensuite un acide aminé soufré. La carboxypeptidase libère Ala.

L'hydrolyse trypsique donne un térapeptide basique et un hexapeptide. La

chymotrypsine hydrolyse le hexapeptide et donne un dipeptide qui possède un acide aminé à 2 carbones asymétriques et un térapeptide donnant un DNP-acide aminé acide par la méthode de Sanger puis DNP-Val. Donner la séquence de ce peptide.

### 3. Les protéines

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

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

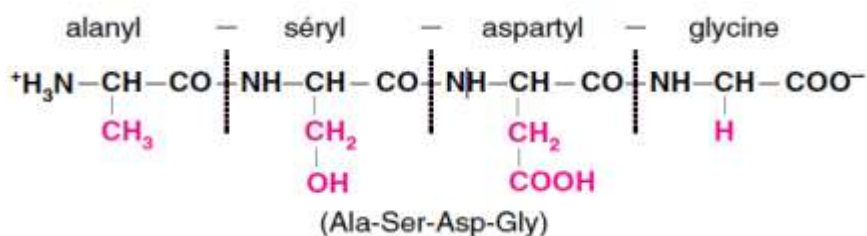
Les **scléroprotéines** ou protéines fibreuses, de forme allongée, peu solubles, très résistantes, ce sont des molécules de structure ; les **sphéro-protéines** ou protéines globulaires, de forme compacte, solubles, fragiles, ce sont des molécules possédant une fonction biologique active. Les protéines 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** est une protéine capable de transformer de l'énergie chimique.

### 3. 1. Structure tridimensionnelle des protéines

#### 3. 1. 1. Structure primaire des protéines

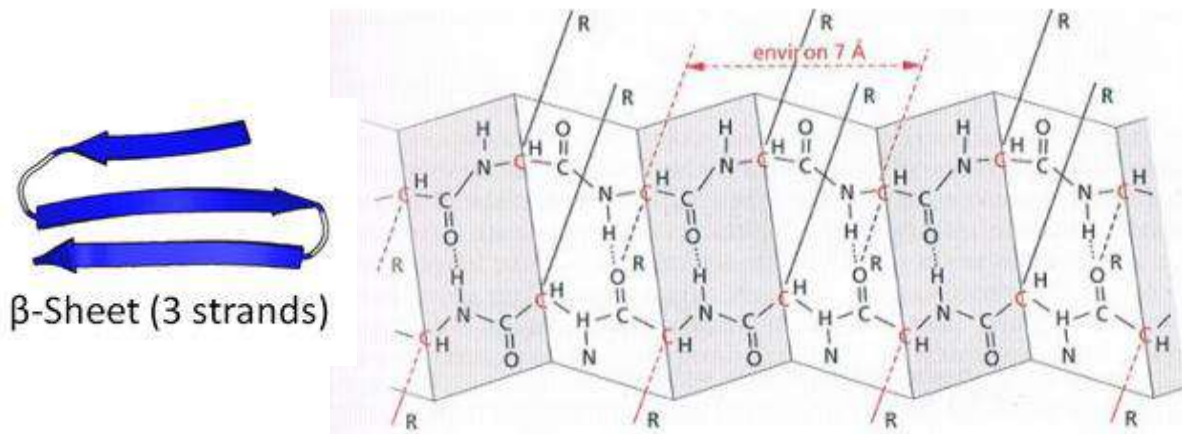
L'enchaînement successif des acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique constitue la structure primaire ou séquence de la protéine. Dans cette structure chaque acide aminé prend le nom de résidu. Une séquence en acides aminés est toujours écrite en partant du résidu Nterminal. Pour décrire la séquence des acides aminés, le suffixe « -yl » est ajouté à tous les résidus, sauf au C-terminal.



**3. 1. 2. Structure secondaire des protéines** La structure secondaire caractérise le premier degré de repliement de la chaîne polypeptidique. C'est l'organisation de la chaîne polypeptidique dans l'espace par intervention des liaisons Hydrogène entre éléments constitutifs proches. Cette structure due à la

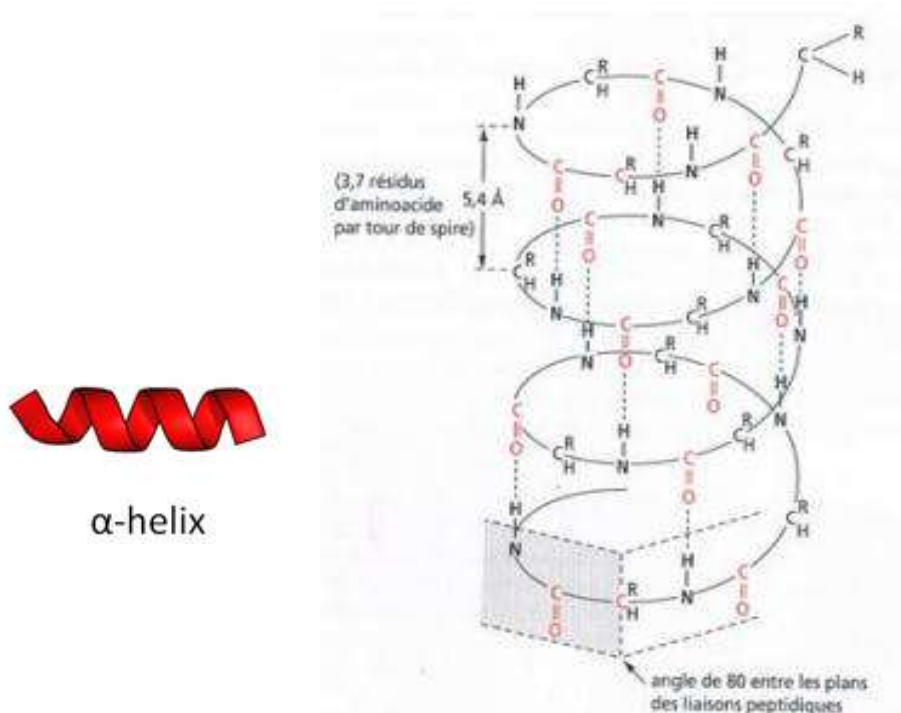
répétition d'un motif structural de base. On distingue en générale deux types principaux de structure secondaire : l'état étiré (feuilletts plissés  $\beta$ ) et l'état hélicoïdal (hélice  $\alpha$ ).

**a. ETAT étiré ou structure en feuilletts plissés  $\beta$**  Les protéines fibreuses possèdent ce type de conformation, schématisé à la figure. On voit deux chaînes polypeptidiques antiparallèles, unies par des liaisons hydrogène interchaînes. Les atomes de la liaison peptidique sont situés dans un même plan, mais les carbones  $\alpha$  appartiennent simultanément à deux plans différents.



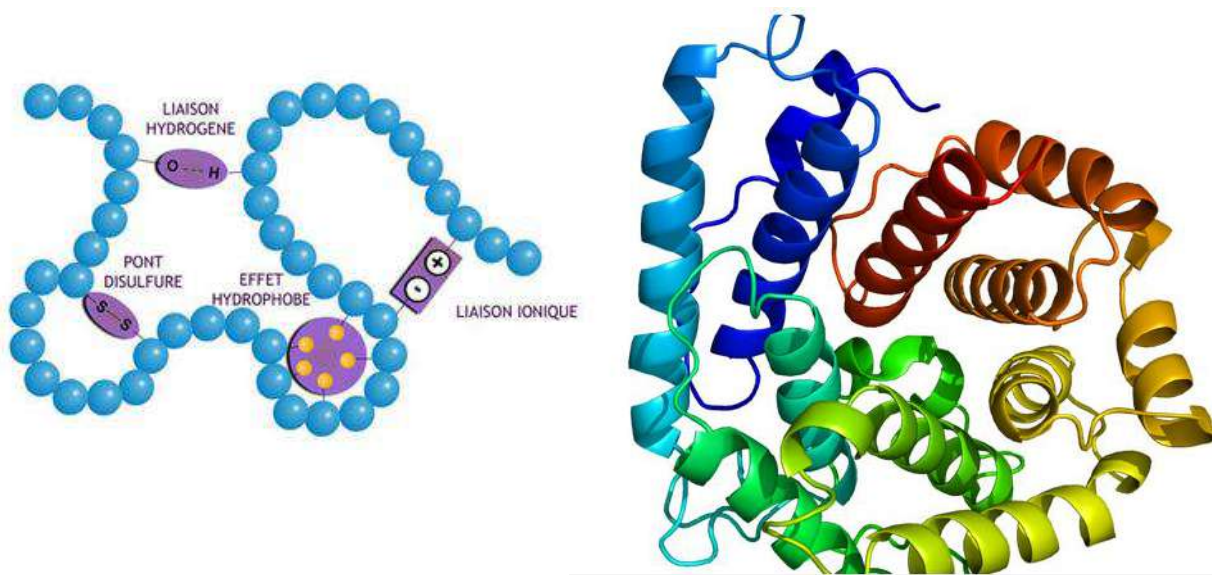
**b. Etat hélicoïdal ou hélice  $\alpha$**

L'hélice  $\alpha$  est représentée à la figure 1 5. On voit que la chaîne peptidique est maintenue dans cette configuration hélicoïdale grâce à des liaisons hydrogène intrachaîne. L'hélice comporte 3,7 résidus d'acide aminé par tour de spire. Les liaisons peptidiques forment entre eux un angle de  $80^\circ$  environ. Les chaînes latérales sont dirigées vers l'extérieur et peuvent réagir entre elles ou avec le milieu.



### 2.3. Structure tertiaire

C'est une structure tridimensionnelle compacte due au repliement et à l'enroulement de la chaîne polypeptidique sur elle-même par suite d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène, hydrophobes ou covalentes (ponts disulfures). Les chaînes latérales polaires des acides aminés se trouveront à la surface et hydratées, alors que les chaînes latérales non polaires (hydrophobes) seront dirigées vers l'intérieur, protégées du contact de l'eau. La figure 16 schématise la structure tridimensionnelle de la myoglobine d'après des études effectuées par diffraction aux rayons X.



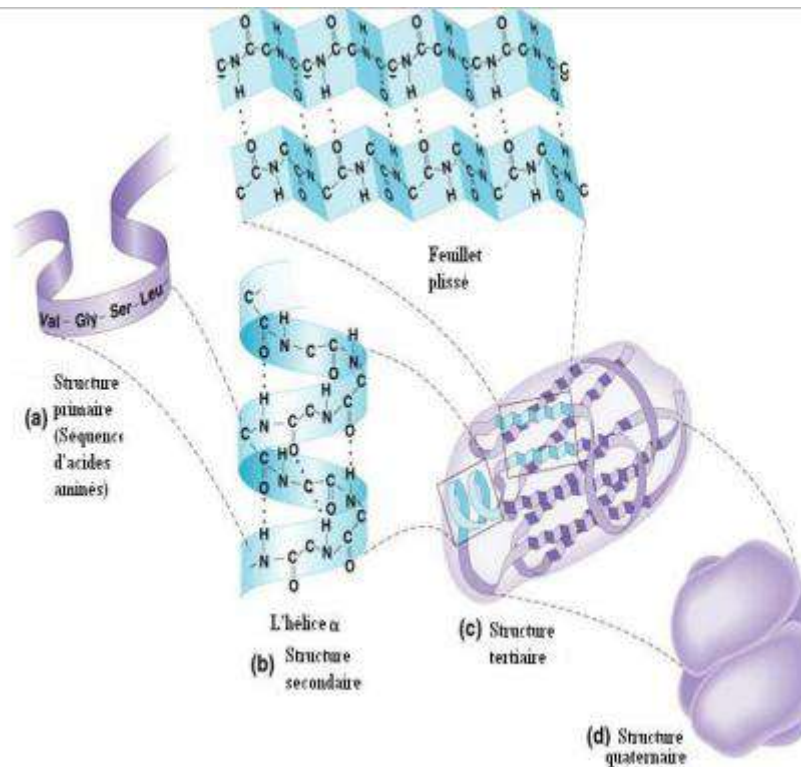
### 3. 1. 4. Structure quaternaire des protéines

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

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. homo-dimère). Le préfixe **hétéro-** sera utilisé lorsque les sous-unités d'un oligomère sont différentes (ex. hétéro-tétramère).

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.





### 3. 2. Dénaturation des protéines

La dénaturation est une désorganisation de la structure interne (structures secondaire, tertiaire, quaternaire) des édifices protéique sans rupture de liaison peptidique, ce qui la différencie de l'hydrolyse.

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

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

- la chaleur entraîne une perturbation des liaisons hydrogène et provoque la coagulation des protéines (c'est le cas de l'ovalbumine lors de la cuisson du blanc d'œuf). La plupart des protéines sont dénaturées vers 45°C.

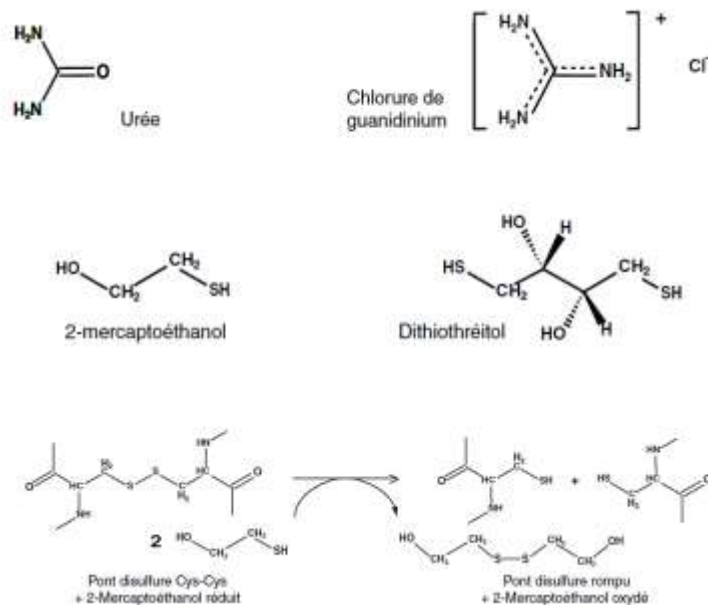
- un pH très acide ou très alcalin dénature les protéines par perturbation des liaisons ioniques. L'acidité gastrique permet une dénaturation des protéines alimentaires, ce qui facilite leur digestion par la pepsine.



- Les agents chaotropiques comme l'urée ou le chlorure de guanidinium. Utilisés à des concentrations élevées (6 à 8 mol.L<sup>-1</sup>), ils désorganisent la structure de l'eau, disloquent les liaisons hydrogène, affaiblissent les interactions hydrophobes et augmentent la solubilité de tous les groupements, polaires ou apolaires.

- Les **thiols** comme le **2-mercaptoéthanol** (ou β-mercaptoéthanol) ou le dithiothréitol (DTT). Ces thiols réduisent les ponts disulfure formés entre des paires de résidus cystéine :

- Les détergents comme le  **dodécylsulfate de sodium** (SDS, ou laurylsulfate de sodium). La chaîne carbonée du SDS s'associe avec les chaînes latérales apolaires (Leucine, Valine, Phénylalanine, etc.) et la partie ionisée (sulfonate chargé négativement) entre en contact avec le milieu aqueux. Ce détergent désorganise l'intérieur hydrophobe des protéines et donc déstabilise l'ensemble de la structure protéique.



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

L'obtention d'une protéine pure à partir d'un homogénat de cellules est en général une tâche longue et délicate, car on est le plus souvent en présence de plusieurs centaines de protéines ayant des propriétés chimiques assez voisines. Il faut prendre garde de ne pas dénaturer la protéine que l'on veut isoler. Plusieurs méthodes sont fréquemment utilisées on peut citer quelques-unes : la dialyse pour éliminer les petites molécules, la précipitation par les sels neutres (ou relargage), la précipitation au point isoélectrique, la précipitation par les solvants organiques à basse température, la chromatographie par filtration sur gels de dextrane, l'électrophorèse, l'ultracentrifugation et la cristallisation.

## 5. Enzymes

Les enzymes sont des protéines douées d'activité catalytique spécifique. Elles catalysent et accélèrent les réactions chimiques nécessaires à la vie et à la multiplication cellulaire de avec une spécificité qui élimine la formation des sous-produits.

### 5.1. 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 physicochimiques. Il existe deux grandes catégories d'enzymes :

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

**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** ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$  : 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).

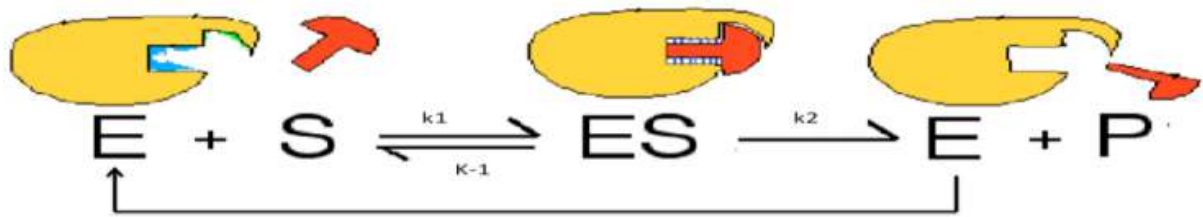
Ils possèdent un noyau flavinique comme le FAD et FMN ou nicotinamide comme le  $\text{NAD}^+$  et le  $\text{NADP}^+$ . Lorsque le cofacteur est fortement lié à la protéine on le qualifie de **groupement prosthétique**. C'est par exemple le cas des noyaux fer-tétrapyrroles, parties intégrantes des **cytochromes**. A l'opposé, les coenzymes nicotiniques (**coenzymes mobiles**),  $\text{NAD}^+$  et  $\text{NADP}^+$  passent alternativement de l'état oxydé à l'état réduit en faisant la navette d'une enzyme à l'autre.

**3. Substrat** : Le substrat est la substance qui interagit spécifiquement avec le 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.

**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.

### 5.2. Notions de spécificité

Dans les réactions biologiques catalysées par des enzymes, le 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.



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.

**5.1.1. 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).

**5.1.2. 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.

### 5.1.3. Régulation de l'activité catalytique

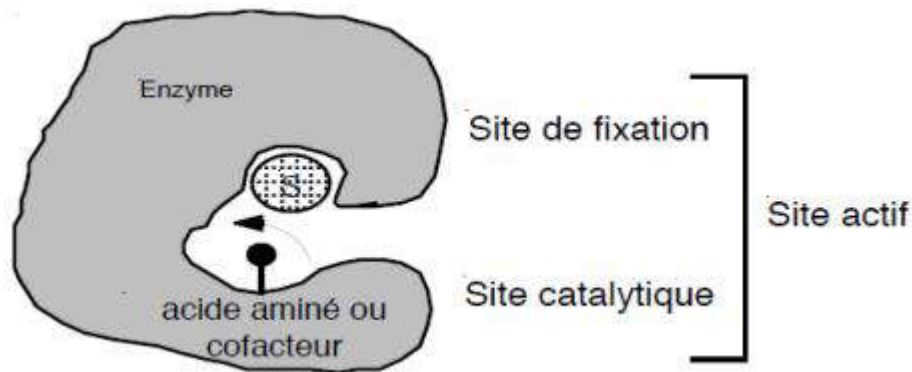
L'activité d'une enzyme est contrôlée par des modulateurs (activateurs, inhibiteurs) ; ce qui permet d'ajuster la vitesse globale d'un métabolisme au besoin cellulaire :

**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.

### 5.1.4. 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).



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

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

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

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

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

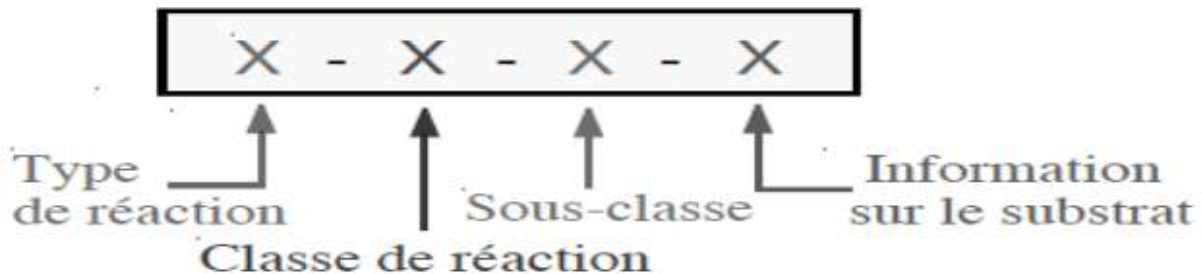
### 5.1.5. Nomenclature et classification

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

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

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

actuellement connues sont répertoriées sous un numéro portant 4 nombres (Fig., Tableau) séparés par des points et précédés de EC (Enzyme Commission number) : (EC : **x1.x2.x3.x4**). La signification des nombres est la suivante :



**X<sub>1</sub>** : 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<sub>2</sub>O)

**4 : Lyases** (Coupure des liaisons par d'autres modes autres que l'hydrolyse, sans consommation de H<sub>2</sub>O).

**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<sub>2</sub>** : Le 2ème définit la sous-classe (son mécanisme d'action). Dans le cas des oxydoréductases on distingue les déshydrogénases, les mon-oxygénases et les dioxygénases.

**X<sub>3</sub>** : Le 3ème nombre désigne sous-classe : la nature de la molécule qui sert d'accepteur, lorsqu'il s'agit d'un transfert d'électrons.

**X<sub>4</sub>** : Le 4ème nombre est un numéro d'ordre dans le groupe et dans le sous-groupe (caractéristique de l'enzyme).

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

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

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

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

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

**6. 4. Activité spécifique moléculaire (ASM)**

Nombre de molécules de substrat transformées par min et par molécule d'enzyme. C'est une caractéristique de l'enzyme et ne peut se calculer que si la préparation enzymatique est pure.

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

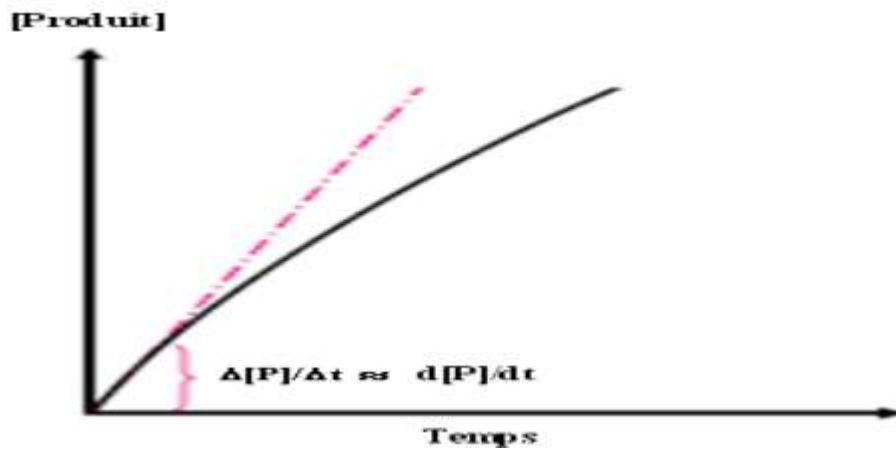
**7. Cinétique enzymatique**

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.

**7. 1. Notion de « vitesse initiale »**

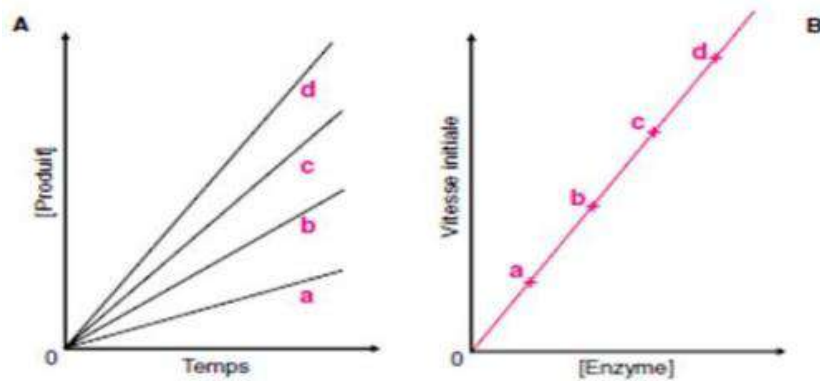
Dès qu'une enzyme est mise en contact avec le substrat, une formation du produit en fonction du temps est observée (Fig.). En pratique, on considère que la courbe présente une partie rectiligne et l'on mesure l'augmentation de la concentration de produit d[P] pendant un intervalle de temps dt. On estime 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.





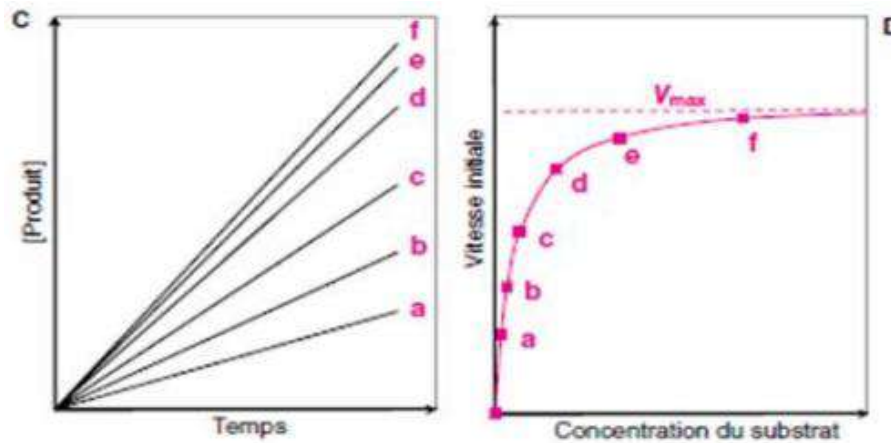
### 7. 2. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale

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



### 7. 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. C), montre que cette vitesse augmente en fonction de  $[S]$  (Fig. 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.

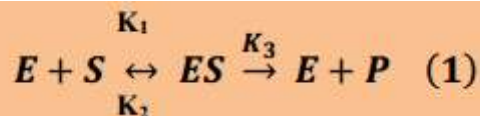


## 7. 4. Modèle de Michaëlis-Menten

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.

### 7. 4. 1. Équation de Michaelis-Menten

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



Dans ce schéma :

- $K_1$  : constante de vitesse de formation du complexe  $ES$ , dimension  $\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  ; la vitesse de formation du complexe  $[ES]$  est  $V_1 = K_1 [E][S]$  :

- $K_2$  : constante de vitesse de dissociation du complexe  $ES$ , dimension  $\text{s}^{-1}$  ; la vitesse d'élimination du complexe  $[ES]$  est :  $V_2 = (K_2 + K_3) [ES]$

- $K_{cat}$  : constante catalytique, constante de vitesse qui englobe la formation du complexe  $EP$  et sa dissociation en  $E + P$  ; dimension  $\text{s}^{-1}$ .

- la concentration de produit est nulle, puisque l'on mesure la vitesse initiale ; aussi, on ignore toute formation de complexe  $EP$  à partir de  $E + P$ . La réaction progresse uniquement vers la formation de produit, d'où l'expression de la vitesse de réaction :  $V_0 = k_{cat}[ES]$

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

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

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

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

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

En appelant  $[E_T]$  la concentration totale en enzyme, la concentration en enzyme libre est égale

$$\text{à : } [E] = [E_T] - [ES] \quad \text{et} \quad K_m = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{([E_T] - [ES])[S]}{[ES]}$$

$$K_m + [S] = \frac{[E_T][S]}{[ES]} \Rightarrow [ES] = \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

$$V = \text{vitesse de la réaction enzymatique} = V_3 \quad V = V_3 = k_3 [ES] \quad \text{donc} \quad V = \frac{k_3 [E_T] \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

La vitesse de la réaction dépend de la concentration : en enzyme totale, en substrat et de la constante de Michaelis.

#### 7. 4. 2. Vitesse maximale $V_{max}$

À la concentration saturante de substrat,  $V_0 = V_{max}$  ; de plus, tout l'enzyme est complexé et donc  $[ES] = [ET]$  si on désigne par  $[ET]$  la concentration de l'enzyme total ; on peut écrire :

$$V_{max} = k_{cat} [ET] \quad \text{et par conséquent :} \quad V_i = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad \text{C'est l'équation de Michaelis et Menten,}$$

avec:

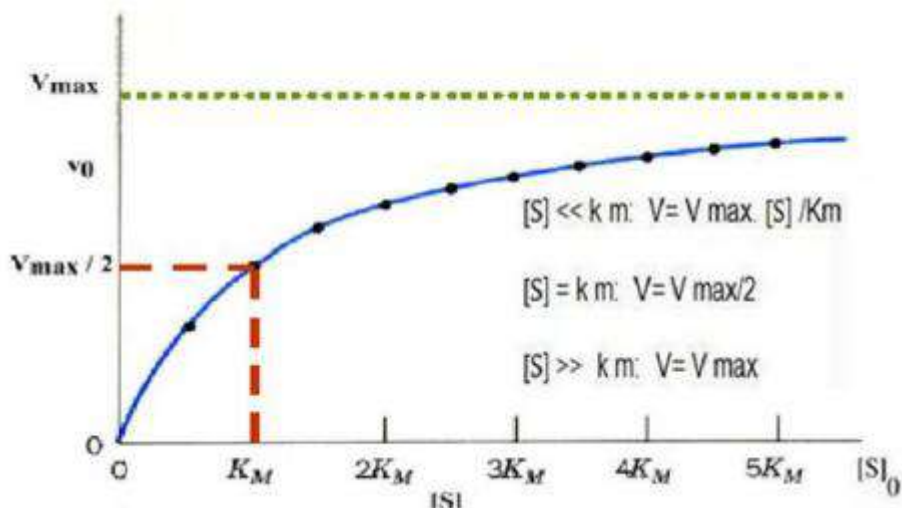
**$V_i$**  : vitesse initiale de la réaction enzymatique pour une concentration de substrat (en  $\mu\text{Mol/min}$ ) ;

**$V_{max}$**  : Vitesse maximale mesurée pour une concentration saturante de substrat (en  $\mu\text{M/min}$ );

**[S]** : Concentration en substrat (en mol/L) ;

**$K_m$**  : Constante de Michaelis spécifique de l'enzyme.

La courbe qui traduit les variations de  $V$  en fonction de  $[S]$  selon cette équation est une branche d'hyperbole (Fig.)



### 7. 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).

ENZYME	SUBSTRAT	CONCENTRATION ( $\mu\text{M}$ )	$K_M$ ( $\mu\text{M}$ )
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

### 7. 4. 4. Signification physique de la constante catalytique $k_{cat}$

La constante catalytique de vitesse  $k_{cat}$ , exprime le nombre de molécules de substrat transformé en produit par molécule d'enzyme et par seconde, dans des conditions expérimentales données, à l'état de saturation de l'enzyme 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 à 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.

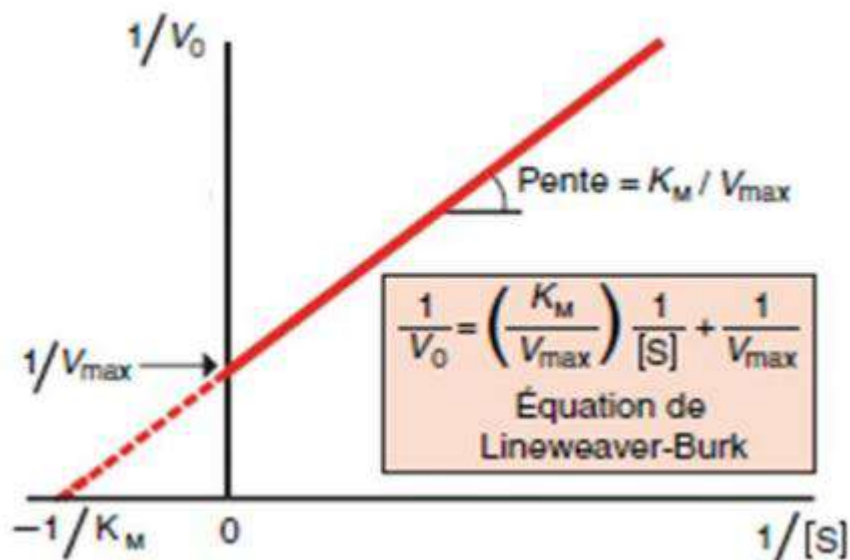
#### 7. 4. 5. Représentation de Lineweaver et Burk

Parmi les méthodes les plus utilisées pour la linéarisation et le réarrangement de l'équation de Michaelis-Menten (Fig.) est la représentation en double inverse selon Lineweaver-Burk. En prenant l'inverse des deux côtés de l'équation de Michaelis-Menten, nous obtenons :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M + [S]}{V_{max} \cdot [S]} = \frac{K_M}{V_{max} \cdot [S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

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

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



Représentation de Lineweaver-Burk et détermination des constantes cinétiques.

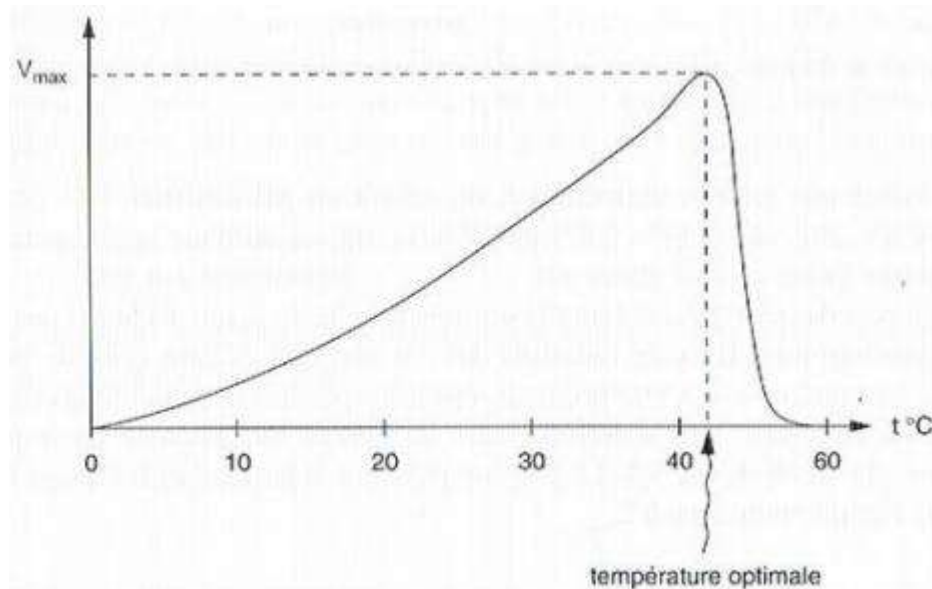
Sous cette forme, on a une équation linéaire de type  $y=ax+b$ , où la pente  $a=K_M/V_{max}$ . L'intersection de la droite représentative avec l'abscisse détermine  $-1/K_M$  et son intersection avec l'ordonnée  $1/V_{max}$  (ordonnée à l'origine).

#### 8. Influence de différents paramètres sur la vitesse initiale

### 8.1. Influence 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).



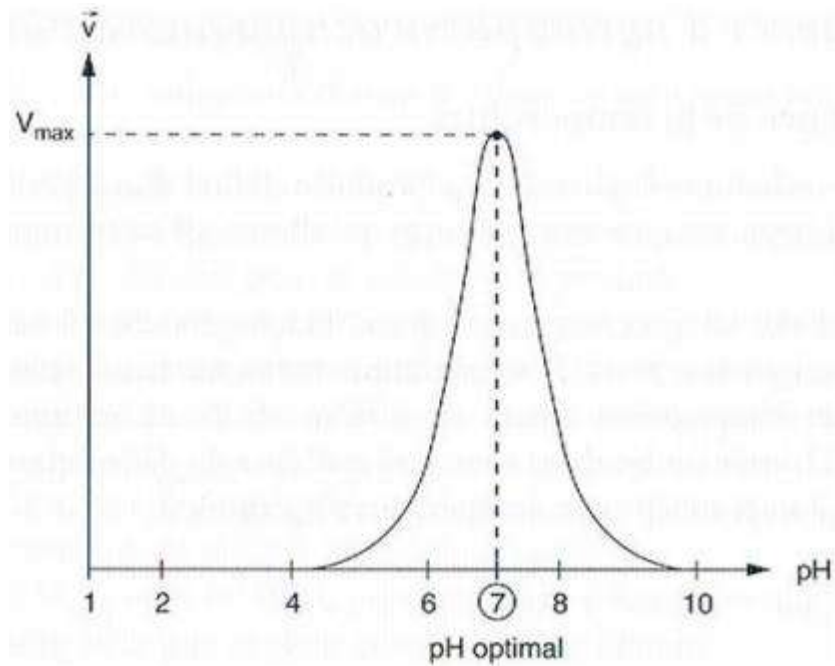
Influence de la température sur l'activité enzymatique.

### 8.2. Influence du pH

La variation du pH entraîne des modifications du degré d'ionisation de certains groupements fonctionnels (résidus Asp, Glu, Lys, Arg, His).

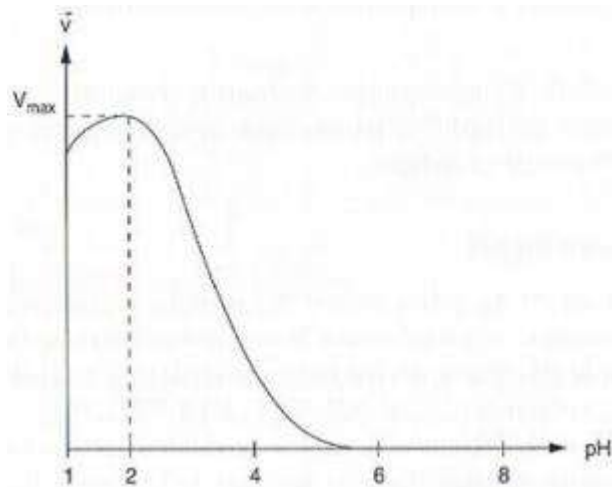
Donc la reconnaissance enzyme-substrat et l'activité catalytique qui s'ensuit sont très dépendantes du pH. Une enzyme possède un grand nombre de chaînes latérales ionisables et parfois des groupements prosthétiques extrêmement impliqués dans son site actif. De plus, le substrat a souvent des groupes 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).





#### Influence du pH sur l'activité enzymatique.

De même que pour la température, on définit un pH optimal, Dès que l'on s'écarte de cette valeur ( $\pm 0,5$  unité pH), la vitesse diminue rapidement. Elle devient très faible à  $\pm 2$  unités pH. La plupart des enzymes ont un pH optimal proche de 7, qui est le pH des liquides physiologiques. Il existe toutefois des cas particuliers dont celui de la pepsine est très intéressant. Cette protéase, enzyme spécialisée dans l'hydrolyse des liaisons peptidiques au niveau de la cavité gastrique où règne un pH allant de 2 à 3,5. La pepsine présente la particularité d'avoir un pH optimal sensiblement égal à 2 (figure).



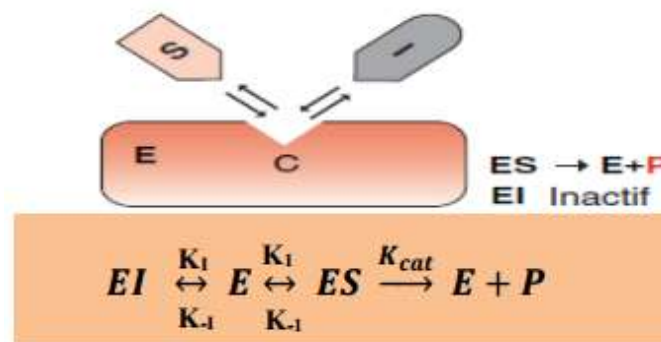
Influence du pH sur l'activité enzymatique de la pepsine.

### 8.3. Inhibition enzymatique

Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Il peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa place (analogue structural de substrat), ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive (inhibiteur allostérique).

#### 8.3.1. Inhibiteurs compétitifs

Ces composés moléculaires présentent une analogie structurale avec le substrat et le site actif de l'enzyme. 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)



La fixation réversible de l'inhibiteur sur l'enzyme est caractérisée par la constante de dissociation **K<sub>I</sub>**

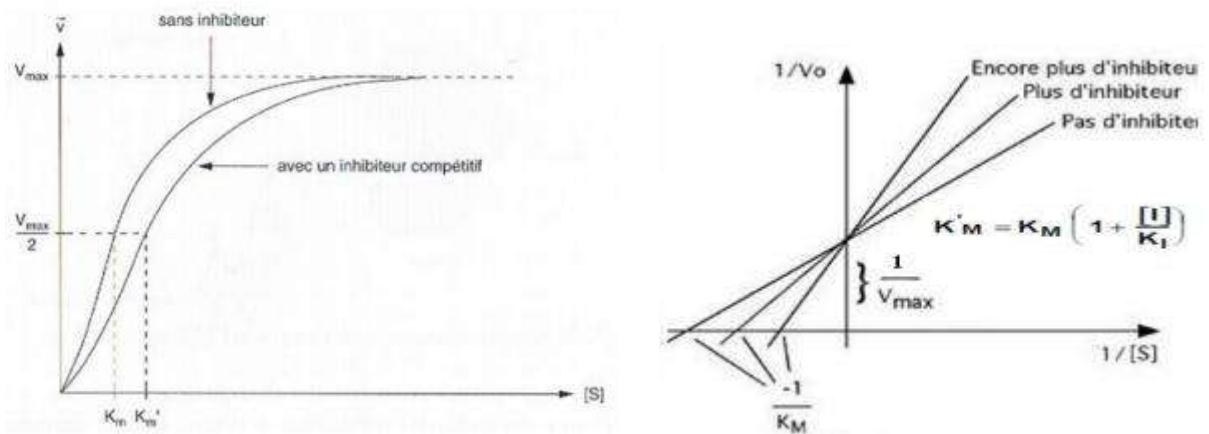
$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{K_{-1}}{K_1}$$

La présence de l'inhibiteur **ne change pas V<sub>max</sub>** mais **augmente K<sub>m</sub>**. En d'autres termes, dans l'équation de Michaelis-Menten, K<sub>m</sub> est remplacé par un K<sub>m</sub>'

$$K'_m = K_m \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$

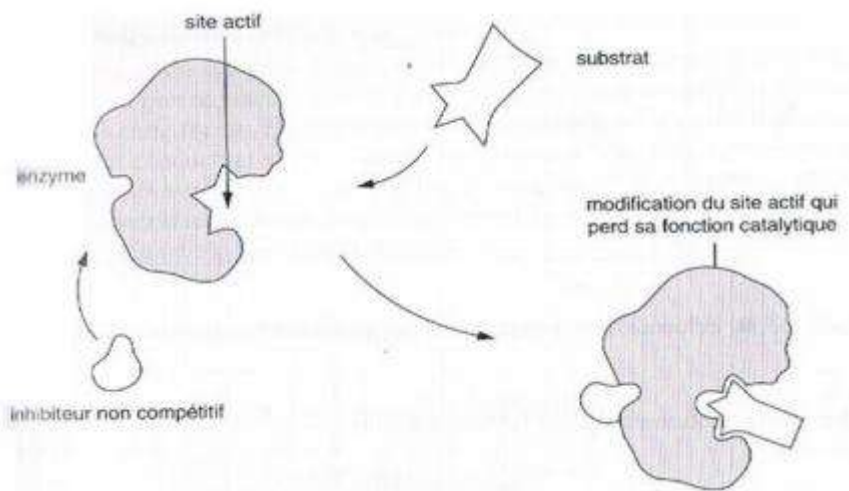
$$V_{max}' = V_{max}$$

Equation de Michaelis-Menten en présence d'inhibiteur	$V'_{max} = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_m \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}$
$\frac{1}{V'_{max}} = \frac{1 + K'_m}{V_{max} [S]}$	Equation de Lineweaver-Burk en présence d'inhibiteur



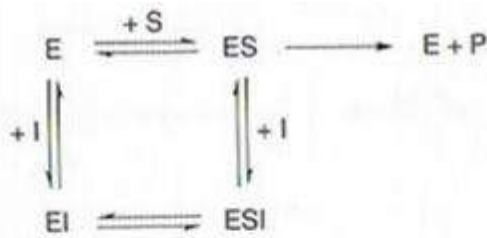
### 8. 3. 2. Les inhibiteurs non compétitifs

Dans ce cas, la fixation de l'inhibiteur se fait sur l'enzyme au niveau d'un site différent du site de fixation du substrat. Il n'y a donc aucune compétition entre le substrat et l'inhibiteur pour l'occupation du site actif. Un inhibiteur non compétitif donc, peut se lier à la fois, et avec une même affinité, sur l'enzyme libre et sur l'enzyme liée au substrat (Fig.). Cependant, l'inhibiteur et le substrat ne rentrent 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.



Fixation d'un inhibiteur non compétitif.

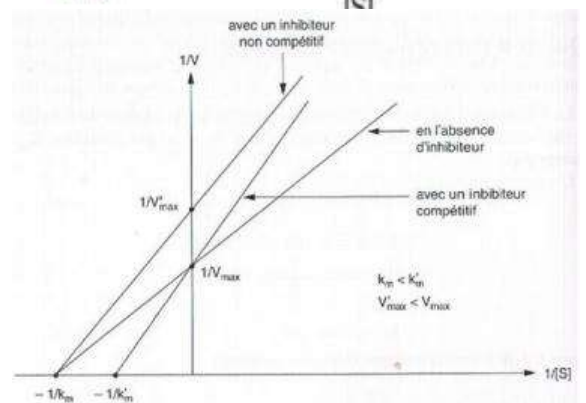
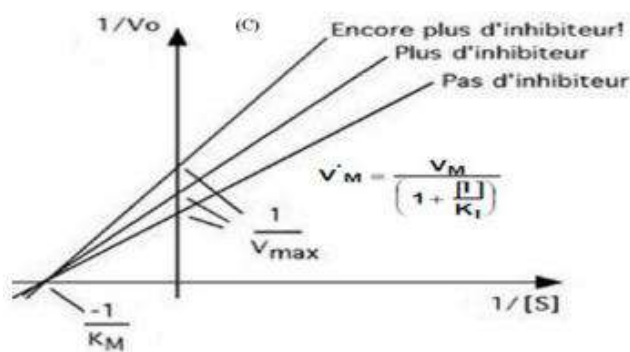
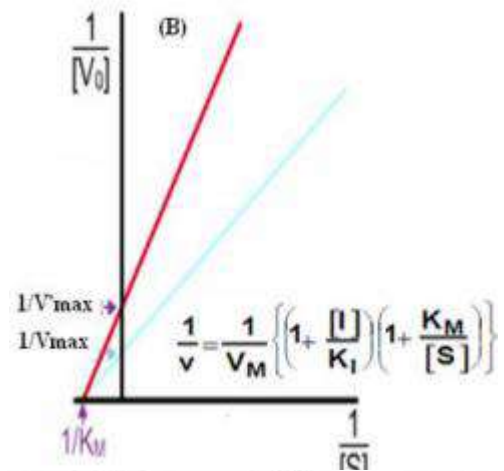
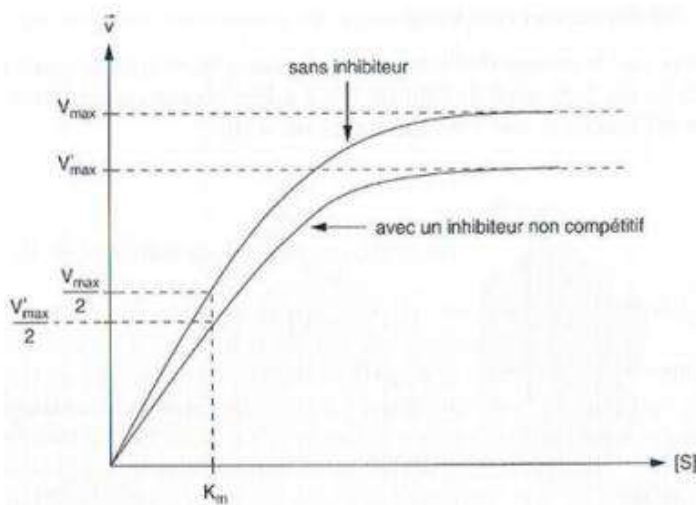
La fixation de l'inhibiteur sur l'enzyme ne gêne pas la fixation du substrat sur le site catalytique. L'affinité du complexe ES n'est donc pas modifiée, **Km ne change pas, la Vmax est alors diminuée** (figure). L'équation devient :



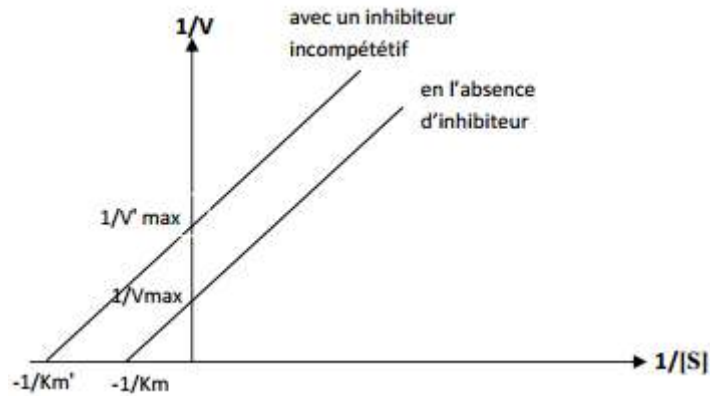
$$V'_{\max} = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$$

$$K_m' = K_m$$

$\frac{1}{V'_{\max}} = \frac{1 + K_m \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}{[S] V_{\max}}$	Equation de Lineweaver-Burk en présence d'inhibiteur
$V'_{\max} = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m} \times \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$	Equation de Michaelis-Menten en présence d'inhibiteur







## 9. Les enzymes allostériques

### 9. 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**).

#### 9. 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).

#### 9. 1. 2. Effet de coopérativité

La coopérativité traduit le fait que la fixation d'une molécule d'un effecteur allostérique sur l'enzyme 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.

## 10. Cofacteurs

De nombreuses enzymes ont besoin pour exercer leur activité catalytique d'un cofacteur. Il existe plusieurs sortes de cofacteurs.

### • Ion métalliques

Le cation métallique est un oligoélément fourni par l'alimentation à la cellule où fonctionne la métallo-enzyme. Un exemple est le cation  $Zn^{2+}$  présent dans le site actif de nombreuses enzymes : carboxypeptidase, phosphatase alcaline, par exemple. Cet ion est fortement lié à la protéine. Il participe à la fois à la reconnaissance du substrat et à la catalyse, mais il joue aussi un rôle de structuration en stabilisant la conformation spatiale efficace du site actif. Il existe un



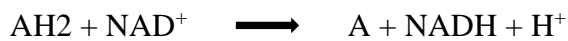
très grand nombre d'autre métallo-enzymes utilisant divers cations tels que  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ .

- **Groupement prosthétique ou coenzyme vrais**

Ce sont des molécules organiques de petite taille et de nature non protéique, fortement liées au site actif de l'enzyme, par des liaisons covalentes. Leur présence est indispensable à l'expression de l'activité catalytique. Un bon exemple est la porphyrine liée aux cytochromes+.

- **Coenzymes mobiles ou cosubstrat**

Cette catégorie ne mérite pas vraiment le nom de coenzyme, mais plutôt de *cosubstrat*, capable de se fixer réversiblement au site actif de l'enzyme. Un bon exemple est fourni par les dérivés du nicotinamide, NAD et NADP. Ils permettent le transfert d'hydrogène et d'électrons d'un substrat, qui sera donc oxydé, à un autre qui sera réduit :



- **Les vitamines**

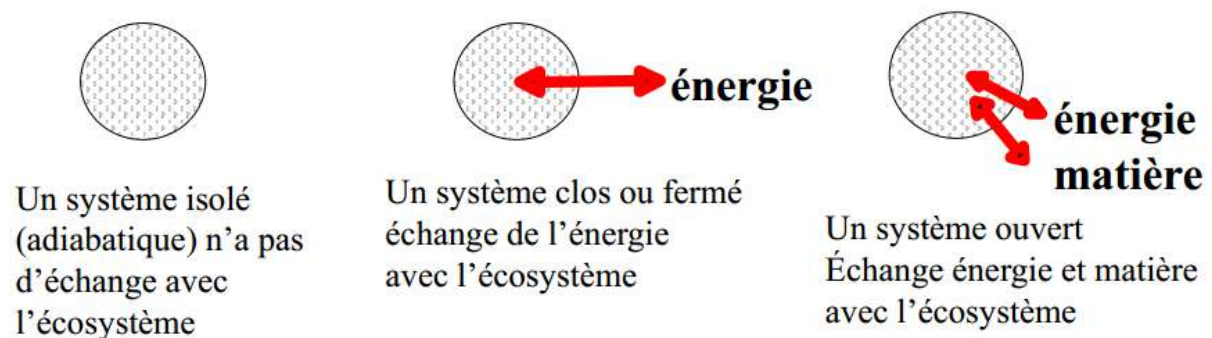
Les vitamines sont des composés organiques que certains organismes sont incapables de synthétiser et qui doivent donc leur être fournis par l'alimentation, régulièrement mais en faibles quantités. Les principales vitamines hydrosolubles : vitamines du groupe B et vitamines C.

## 6. Notion bioénergétiques

La thermodynamique, ou thermomécanique, est la science qui étudie les phénomènes thermiques liés à des transformations d'énergie.

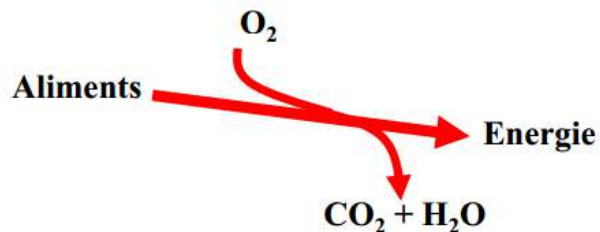
Les transformations d'énergie des machines thermiques ne sont possibles et un travail obtenu que s'il existe une  $\Delta t^0$  (variation de  $t^0$  entre une source chaude / une source froide). La bioénergétique, elle, a pour objet l'étude des échanges globaux d'énergie des organismes vivants, donc à  $t^0$  constante, à pH constant.

Un système est un ensemble d'éléments matériels ayant des interactions entre eux. Un être vivant peut être considéré comme un biosystème. L'écosystème est tout ce qui est extérieur au biosystème



Un biosystème est donc un système ouvert qui tire son énergie de la transformation de la matière empruntée à l'écosystème. Il rejette de l'énergie dans l'écosystème, matière et chaleur. Tout bilan bioénergétique inclut nécessairement un bilan de matière.

## Au niveau de la cellule



La production d'énergie est représentée en biologie par l'oxydation ou catabolisme,



L'énergie provenant de l'oxydation des combustibles métaboliques conservée sous forme d'ATP (source d'énergie universelle) transférée par des électrons à haut potentiel énergétique sur des coenzymes pour consommation.

La consommation de cette énergie, permet : travail mécanique interne (au biosystème. Ex.: le travail de contraction musculaire du myocarde) ou externe (dans l'écosystème. Ex. du muscle squelettique), travail interne de synthèse chimique (biosynthèse protéines), transport actif, régulation température.

### 6.1. Quelques définitions

**Une variable d'état** est une variable qui définit l'état d'un système.

**Une fonction d'état, F**, dépend seulement des valeurs des variables d'état : indépendamment du chemin thermodynamique suivi pour passer de l'état 1 (initial) à l'état 2 (final).

$$\int_1^2 dF = \Delta F = F_2 - F_1$$

**Enthalpie, H** = l'énergie maximum libérable au cours d'une réaction d'oxydation c'est une fonction d'état.

En physiologie, c'est l'énergie produite par l'organisme à partir d'un substrat énergétique à condition que les produits terminaux soient les mêmes, indépendamment de la voie métabolique choisie.

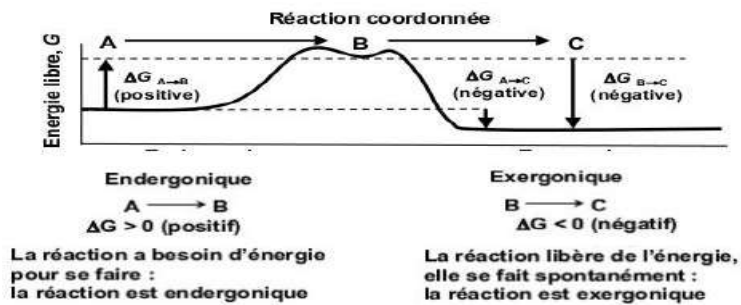
Pour un substrat que l'organisme ne peut pas totalement dégrader, l'enthalpie sera la chaleur dégagée (énergie consommée) pour arriver au stade de dégradation possible dans l'organisme considéré.

La variation d'enthalpie ainsi mesurée est égale à la valeur énergétique d'un nutriment (exprimée par mole de substrat oxydé ou par gramme) Variation d'enthalpie à Pression constante = chaleur de réaction

Si  $\Delta H > 0$  réaction endothermique ou endergonique est une réaction chimique nécessitant un apport d'énergie pour pouvoir se réaliser. C'est une réaction pour laquelle la variation de l'enthalpie libre de Gibbs est positive.

Si  $\Delta H < 0$  réaction exothermique ou exergonique (ne nécessitant pas un apport d'énergie pour pouvoir se réaliser)

### Variation d'énergie libre Exemple chimique



- $\Delta G$  dépend :
  - de la nature de la réaction
  - du pH
  - de la température
  - des concentrations initiales de A et B
  - est additif

#### En résumé

- si :  $\Delta G < 0$ , réaction spontanée (exergonique)
- $\Delta G = 0$ , réaction en équilibre énergétique
- $\Delta G > 0$ , réaction ne peut avoir lieu (endergonique), sauf si :

#### Notion de couplage des réactions biochimiques

L'énergie fournie par un processus biologique est souvent couplée à un autre processus qui, sans cet apport énergétique, ne pourrait avoir lieu.

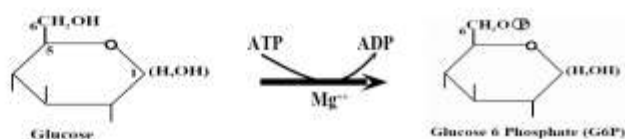
En d'autres termes, le couplage d'une réaction très EXERgonique avec une réaction moins ENDERgonique que ne l'est la première, donne une réaction globale dont la valeur de la variation d'énergie libre est suffisamment négative pour que cette réaction globale soit spontanée.

On peut schématiser le couplage de 2 réactions de la manière suivante :

réaction 1 : A $\rightleftharpoons$ B	$\Delta G' \ll 0$	réaction <b>spontanée</b> dans le sens de formation de B
réaction 2 : C $\rightleftharpoons$ D	$\Delta G' > 0$	réaction <b>impossible</b> dans le sens de formation de D
réactions 1 et 2 couplées : A + C $\rightleftharpoons$ B + D	$\Delta G' < 0$	réaction <b>spontanée</b> dans le sens de formation de D (et de B en conséquence)

- Dans les réactions des voies métaboliques, le couplage dépend de la présence d'un intermédiaire commun aux divers composants de la réaction globale.
- Cet intermédiaire commun est une molécule dont la structure chimique lui confère une forte énergie libre de Gibbs qui peut être transférée à une autre molécule.
- La molécule universelle qui possède cette forte énergie libre est l'**adénosine triphosphate** ou **ATP**.

#### Exemple de réaction couplée



## Entropie, S = forme d'énergie dégradée non utilisable en travail

Le vivant rejette de l'entropie et l'ensemble bio-écosystème évolue de façon telle que l'entropie augmente.

Toutes les modifications physiques ou chimiques spontanées, c'est-à-dire irréversibles, tendent à s'effectuer dans une direction telle que l'énergie utile subit une dégradation irréversible en une forme désordonnée, distribuée au hasard, appelée entropie (S). Elles s'arrêtent à un point d'équilibre où l'entropie formée est la plus grande possible.

- Il n'existe qu'une direction pour les processus spontanés (naturels):  $\Delta S > 0$  mais il faut considérer :  $\Delta S_{\text{total}} = \Delta S(\text{système}) + \Delta S(\text{milieu extérieur}) > 0$ .

## Energie libre de Gibbs (G)

$\Delta G$ : Variation de l'énergie d'un système qui produit un travail utile dans des conditions constantes de température et de pression

$G = H - T.S$  = enthalpie - entropie x température

= énergie maximum libérable – la  $T^\circ$  x l'énergie « dégradée »

$\Delta G = \Delta H - T. \Delta S$

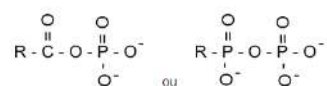
$\Delta G$  représente la chaleur de réaction diminuée de l'énergie perdue en entropie. ( $\Delta G$  s'exprime en Joule/mole)

La variation d'énergie interne du système est égale à la somme des variations d'énergie utilisable  $\Delta G$  et d'énergie perdue  $\Delta S$  x la  $T$ , soit :  $\Delta H = \Delta G + T.\Delta S$

## 6.2. Notion de composés «riches en énergie», dits à haut potentiel d'hydrolyse

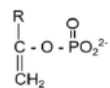
Il existe 5 types de liaisons « riches » en énergie

1- Anhydride phosphorique

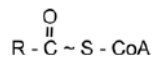


2- Anhydride phosphorique mixte

3- Phosphate éno



4- Thioester (Acétyl CoA)



5- Guanidine phosphate – PhosphoCréatine

## Energies libres standard de l'hydrolyse de composés phosphorylés et de l'acétyl-coenzyme A

Liaison riche en énergie si  $\Delta G^{\circ} < - 25 \text{ kJ/mol}$

	$\Delta G^{\circ}$ kJ/mol	
Phosphoénolpyruvate	- 61,9	Riche
1,3-Bisphosphoglycérate ( $\rightarrow$ 3-Phosphoglycérate + P <sub>i</sub> )	- 49,3	
Créatine phosphate	- 43,0	
PPI ( $\rightarrow$ 2P <sub>i</sub> )	- 33,4	
ATP ( $\rightarrow$ AMP + PP <sub>i</sub> )	- 32,2	
Acétyl-CoA	- 31,4	
ADP ( $\rightarrow$ AMP + P <sub>i</sub> )	- 30,5	
ATP ( $\rightarrow$ ADP + P <sub>i</sub> )	- 30,5	
Glucose-1-phosphate	- 20,9	Non Riche
Fructose-6-phosphate	- 15,9	
AMP ( $\rightarrow$ Adénosine + P <sub>i</sub> )	- 14,2	
Glucose-6-phosphate	- 13,8	
Glycérol-1-phosphate	- 9,2	

### 6.3. La chaîne respiratoire mitochondriale (CRM)

Le métabolisme des cellules hétérotrophes comprend le catabolisme oxydatif (la respiration cellulaire) permettant la synthèse d'ATP par oxydation de molécules organiques en CO<sub>2</sub>. Par contre les cellules chlorophylliennes autotrophes peuvent réaliser la photosynthèse qui correspond à la réduction du CO<sub>2</sub> minéral en molécules organiques, grâce à l'énergie lumineuse. L'ATP est formé à l'issue d'un ensemble de processus de dégradations pendant lesquels les glucides, lipides (parfois les protéines) sont oxydés en CO<sub>2</sub> avec production de cofacteurs réduits riches en énergie (NADH, H<sup>+</sup> et FADH<sub>2</sub>). Ces derniers alimentent le transport des électrons dans la chaîne respiratoire, à laquelle est couplée la formation de l'ATP. Il s'agit de la **phosphorylation oxydative**.

**La chaîne respiratoire mitochondriale (CRM)** est un ensemble de réactions catalysées par de gros complexes enzymatiques de la membrane *interne* des mitochondries, dont l'effet est le couplage de l'oxydation des coenzymes transporteurs d'hydrogène en présence d'oxygène avec la phosphorylation de l'ADP en ATP.

#### 6.3.1. Constituants de la chaîne respiratoire

Cette voie métabolique nécessite la présence des quatre complexes enzymatiques avec leurs cofacteurs liés :

### **6.3.1.1. La Flavoprotéine**

Ce sont des déshydrogénases qui utilisent soit le FAD, soit le FMN, on les classe en **protéines Fe-S** (protéines fer-souffre), sont associées aux flavoprotéines. Au cours des réactions de transport d'électrons, les atomes de fer passent réversiblement de l'état ferrique à l'état ferreux.

### **6.3.1.2. Les coenzymes quinoniques**

Le coenzyme Q ou ubiquinone est le transporteur liposoluble de la chaîne respiratoire mitochondriale, c'est la *seul* qui ne soit pas groupement prosthétique d'une protéine.

### **6.3.1.3. Les cytochromes**

Ce sont des hémoprotéines capables de transporter des électrons grâce au fer présent au centre de l'hème. Dans les mitochondries des mammifères, la chaîne respiratoire comprend :

- Les cytochromes c et b, qui sont dans la membrane mitochondriale.
- Les cytochromes a et a<sub>3</sub> qui sont en bout de chaîne respiratoire car ils permettent le transfert des électrons au dioxygène.

## **6.3.2. Organisation des transporteurs mitochondriaux et transfert des électrons**

Les transporteurs d'électrons sont regroupés pour former des complexes enzymatiques étroitement liés à la membrane interne de la mitochondrie. Le transfert des électrons de l'un à l'autre est assuré par le Coenzyme Q et par le cytochrome c. (fig.)

### **6.3.2.1. Complexe I (NADH,H<sup>+</sup> - CoQ Réductase ou FP1)**

C'est un complexe multi-enzymatique qui transporte les électrons de NADH, H<sup>+</sup> au coenzyme Q appelé encore Ubiquinone à travers une séquence où apparaissent des protéines Fer-Souffre (FeS), l'enzyme principale de ce complexe I est la *NADH,H<sup>+</sup> déshydrogénase* à FMN.

### **6.3.2.2. Complexe II (Succinate - CoQ réductase ou FP2)**

Ce complexe enzymatique transporte les électrons du succinate jusqu'au coenzyme Q. L'enzyme principale du complexe est la *succinate déshydrogénase* à FAD.

### **6.3.2.3. Complexe III (CoQH<sub>2</sub> - Cytochrome c réductase)**

Ce complexe multi-enzymatique transporte les électrons entre le coenzyme Q réduit (CoQH<sub>2</sub>) et le cytochrome c.

### **6.3.2.4. Complexe IV (Cytochrome c oxydase)**

Il est composé de nombreuses protéines + deux cytochromes a et a<sub>3</sub> + deux ions calcium. Il permet l'oxydation de plusieurs molécules de cytochrome c réduite, ce qui permettra la réduction de l'O<sub>2</sub>. L'énergie libérée par cette réaction permet de pomper 4 protons de la matrice vers l'espace inter-membranaire.



#### 6.4. Transport des électrons le long de la chaîne respiratoire

Les coenzymes ( $\text{NADH} + \text{H}^+$  et  $\text{FADH}_2$ ) libèrent leurs électrons et protons ( $\text{H}^+$ ) au premier élément de la chaîne respiratoire. Les ions hydrogènes et les électrons libérés passent le long de la chaîne, d'un transporteur à la suite et se lient enfin à l'oxygène moléculaire. Il y a donc une série de réactions de redox (oxydoréduction).

L'oxygène moléculaire est donc l'accepteur final d'électrons. Le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire s'accompagne d'une libération d'énergie et de l'activation de l' $\text{O}_2$  qui devient l'accepteur d'hydrogène. La libération de l'énergie par ces électrons se fait en étapes lors du transfert le long de la chaîne. Les électrons atteignent donc le niveau énergétique le plus bas au moment de la formation de l'eau.

D'autre part, le déplacement des protons a pour conséquence de créer un gradient électrochimique **de protons** à travers la membrane mitochondriale interne entraînant un flux de protons qui passent dans l'espace intermembranaire (fig.). Ce **gradient électrochimique** a deux composantes : **Un potentiel transmembranaire**, compris entre -150 et -180mV

**Un gradient chimique** car l'accumulation de protons abaisse le pH (acidifie) de l'espace intermembranaire.

Le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire s'accompagne d'une libération d'énergie car les électrons se déplacent suivant un gradient de potentiel ; c.à.d. du NADH (potentiel d'oxydoréduction : - 320mV) vers l'oxygène (potentiel d'oxydoréduction : +816 mV). Cette translocation se fait de la matrice vers l'espace intermembranaire.

Le passage des électrons du dernier élément de la chaîne à l'oxygène se fait à travers le complexe enzymatique ATP synthétase qui est un complexe qui permet l'addition d'un groupement phosphate à l'ADP pour former l'ATP dans la matrice mitochondriale. Il agit de 2 façons :

Il synthétise l'ATP en stockant l'énergie motrice des protons qui pénètrent la matrice  
- Il hydrolyse l'ATP en pompant les protons contre leur gradient électrochimique.  
L'ATP néoformé est finalement transférée de la mitochondrie au reste de la cellule où il est utilisé pour diverses réactions métaboliques.

## Chaîne respiratoire

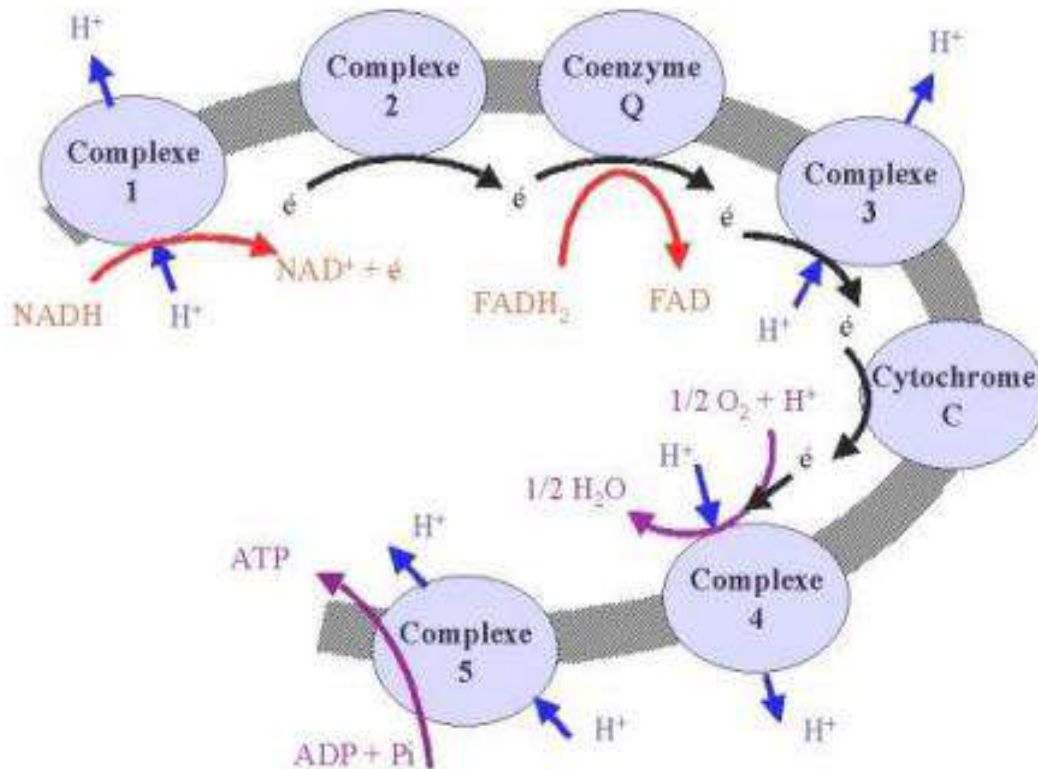


Figure : Organisation de la CRM.

### 6.5. Synthèse d'ATP

**6.5.1. Complexe V ou ATP synthétase :** Elle est constituée de deux sous-unités :

**F1 :** Elle contient les protomères catalytiques. C'est une ATPase.

**F0 :** C'est un canal à protons, qui s'étend sur toute l'épaisseur de la membrane interne et va être utilisé pour le retour des protons dans la matrice. Quand F1 est associé à F0, F1 récupère une activité ATP synthétase.

**6.5.2. Transport d'ADP, Pi et ATP à travers la membrane interne de la mitochondrie :**

L'ATP synthétase doit être alimentée en ADP et en phosphate, de plus, l'ATP produit doit sortir de la mitochondrie. L'ADP est transporté vers la matrice depuis l'espace inter-membranaire par un système antiport ADP/ATP (pour un ATP entré dans la matrice, un ATP va sortir de la matrice selon son gradient de concentration).

### 6.6. Bilan de la phosphorylation oxydative

L'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP par l'ATP synthase est apportée par le gradient électrochimique de protons alimenté par les complexes de la chaîne respiratoire. On estime que la formation d'une molécule d'ATP à partir d'ADP et de Pi nécessite le passage de quatre

protons. Chaque **NADH + H<sup>+</sup>** libère assez d'énergie pour la formation de **3 ATP** et chaque **FADH<sub>2</sub>** libère assez d'énergie pour la formation de **2 ATP**.

## **7. Métabolisme des glucides (Glycolyse, cycle de krebs, voie des pentoses phosphates, glycogénolyse, glycogénogénèse et néoglucogénèse)**

Le **métabolisme** est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein d'un être vivant pour lui permettre notamment de se maintenir en vie, de se reproduire, de se développer et de répondre aux stimuli de son environnement. Certaines de ces réactions chimiques se déroulent en dehors des cellules de l'organisme, comme la digestion ou le transport des substances entre les cellules. Cependant la plupart de ces réactions ont lieu dans les cellules elles-mêmes. C'est un processus ordonné, qui fait intervenir des réactions de dégradation (catabolisme) et de synthèse organique (anabolisme).

### **1. Anabolisme des glucides**

#### **1.1. La glycogénogénèse**

La **glycogénogénèse** est la voie métabolique qui permet, dans le foie et le muscle, la synthèse de glycogène endogène à partir du glucose. Son but principal est la mise en réserve du glucose issu d'une alimentation riche en glucides (est une courte voie métabolique permettant la mise en réserve du glucose en glycogène quand la glycémie est élevée).

Le mécanisme qui aboutit à la synthèse du glycogène à partir d'un nombre important de molécules de glucose est résumé par la formule :



##### **1.1.1. Etapes de la glycogénogénèse**

###### **a. Incorporation d'un résidu glucose en $\alpha$ (1-4)**

**Phosphorylation du glucose :** Cette étape est commune avec la glycolyse. Elle est catalysée par la glucokinase (ou hexokinase):  $\text{Glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{G6P}$

**Isomérisation du glucose 6-phosphate (G6P) en glucose 1-phosphate (G1P) :** Elle est catalysée par la phosphoglucomutase :  $\text{G6P} \leftrightarrow \text{G1P}$

**Activation du G1P en UDPG :** Elle est effectuée par l'UTP, UDP gluco-pyrophosphorylase :  $\text{G1P} + \text{UTP} \rightarrow \text{UDPG} + \text{P} + \text{P}$  (Pyrophosphate).

**Incorporation du résidu glucose à partir de l'UDPG :** Elle est catalysée par la glycogène synthase :  $\text{UDPG} + \text{Glycogène} \rightarrow \text{UDP} + \text{Glycogène} (n+1)$

**b. Création de ramifications :** Quand la chaîne linéaire atteint une certaine longueur, l'enzyme de ramification branchant catalyse le transfert d'un oligosaccharide de 6 à 8 unités sur le carbone 6 d'un résidu glucose situé en amont sur la chaîne en croissance, créant ainsi une ramification en  $\alpha$  (1-6). (**Fig.**)

### **1.1.2. Bilan de la glycogénogenèse**

Pour incorporer un résidu dans le glycogène, il faut apporter 1 ATP et 1 UTP. La glycogénogenèse nécessite un apport d'énergie, c'est donc une voie endergonique.

Du point de vue énergétique, la consommation d'UTP équivaut à celle d'ATP car pour générer l'UTP, il faut consommer 1 ATP d'où le bilan énergétique pour l'incorporation d'un résidu glucose dans le glycogène (-2 ATP).

### **1.1.3. Régulation de la glycogénogenèse**

L'activité du glycogène synthase est régulée par modification covalente. L'enzyme se présente sous forme non phosphorylée qui est active. Le passage d'une forme à une autre est réalisé par des protéines kinases ou des phosphoprotéines phosphatases en réponse à des stimulations hormonales : l'activité de la synthase est augmentée par l'insuline dans le foie et le muscle, elle est diminuée par le glucagon dans le foie et par l'adrénaline dans le muscle.

L'augmentation du G6P issue d'un régime riche en glucide et par conséquent en glucose active la glycogène synthétase.

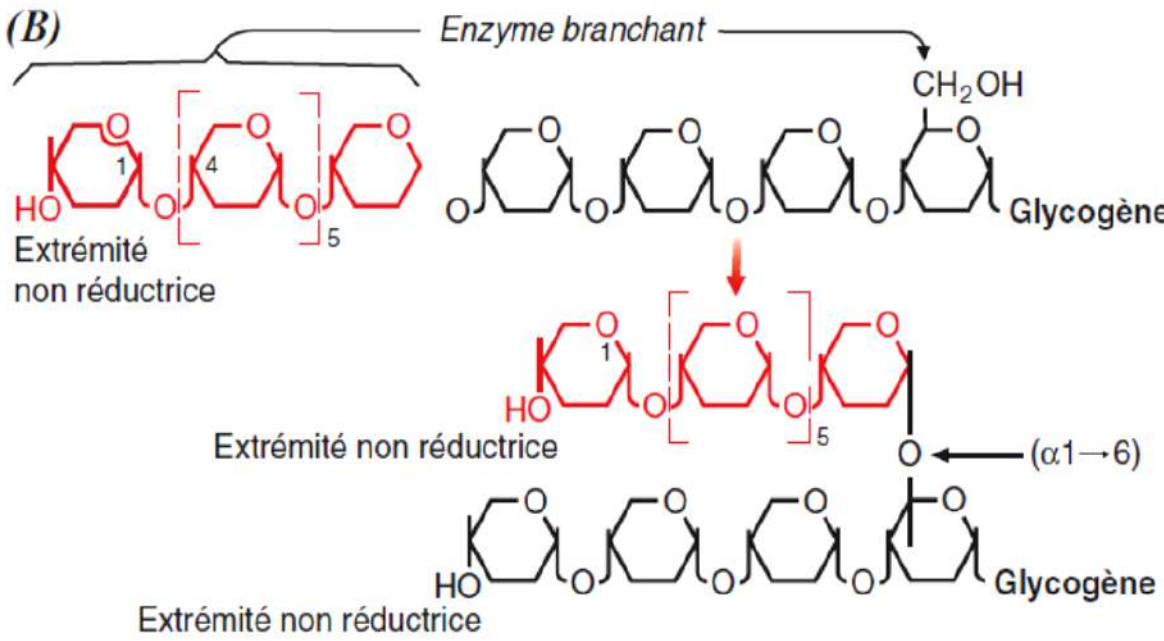
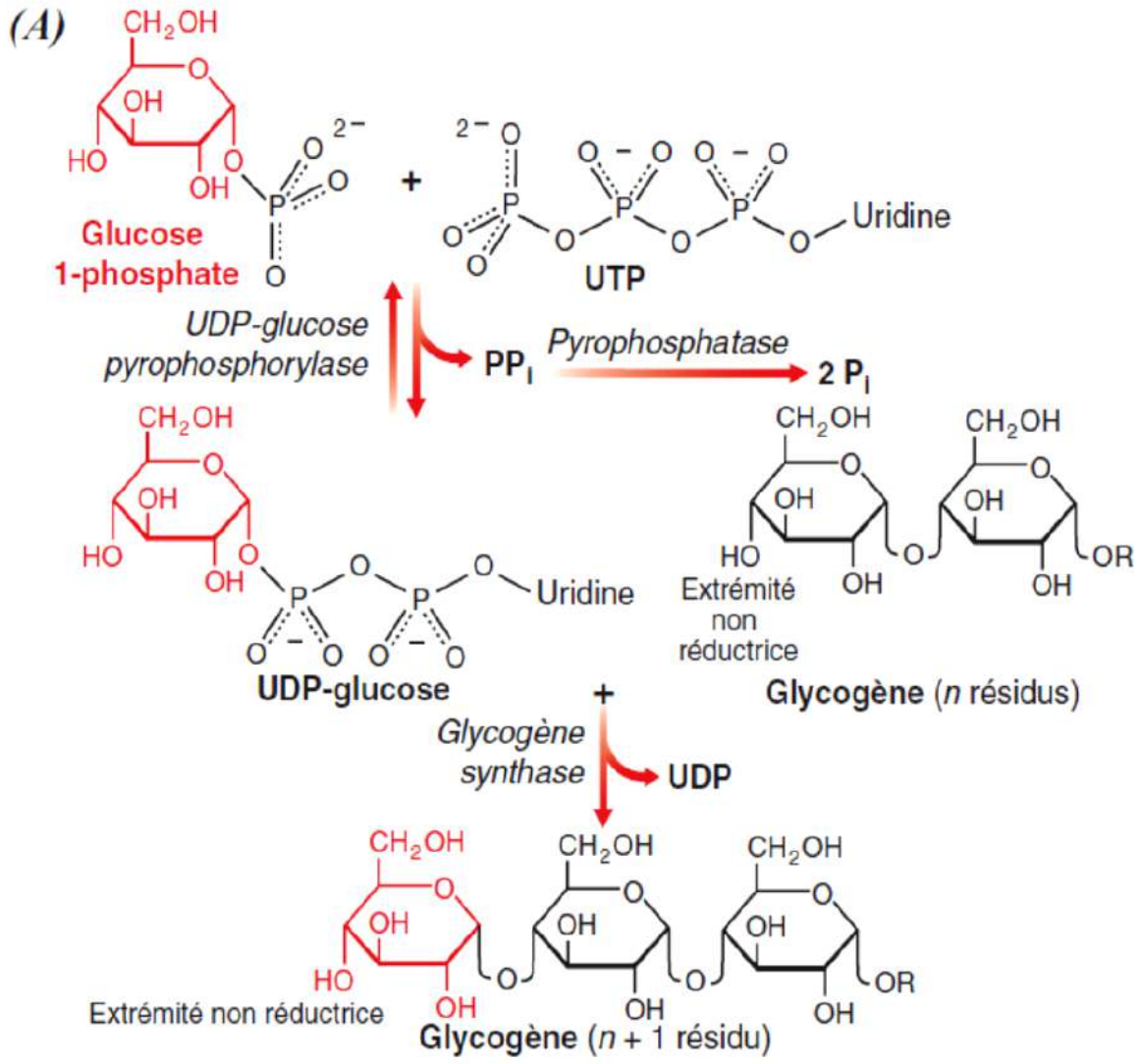


Figure : La glycogénogénèse.

## 2. Catabolisme des glucides

### 2.1. La glycogénolyse

La glycogénolyse (ou dégradation du glycogène) permet l'utilisation des réserves glucidiques en restituant le glucose stocké en vue de sa dégradation. Elle est active en période de jeûne. En réalité, le glycogène est hydrolysé en glucose-phosphate par une phosphorylase et une enzyme "débranchant". Le glucose-phosphate (G-6-P) peut être utilisé directement par la cellule ou être libéré sous forme de glucose libre dans le plasma.

#### 2.1.1. Etapes de la glycogénolyse

##### a. Coupure des liaisons $\alpha(1-4)$ glucosidiques

###### · Phosphorylation du glycogène

La glycogène phosphorylase coupe les liaisons  $\alpha 1-4$  et détache les unités de glucose, une par une, de manière récurrente à partir des extrémités *non réductrices*.

La coupure de la liaison se fait avec addition de phosphate d'où le nom de phosphoryle.

Il y a libération de G1P (**Fig.**).

###### **Isomérisation du G1P en G6P**

Cette réaction, déjà vue à propos de la glycogénogenèse, est une réaction réversible catalysée par la phosphoglucomutase.

###### **Hydrolyse du G6P**

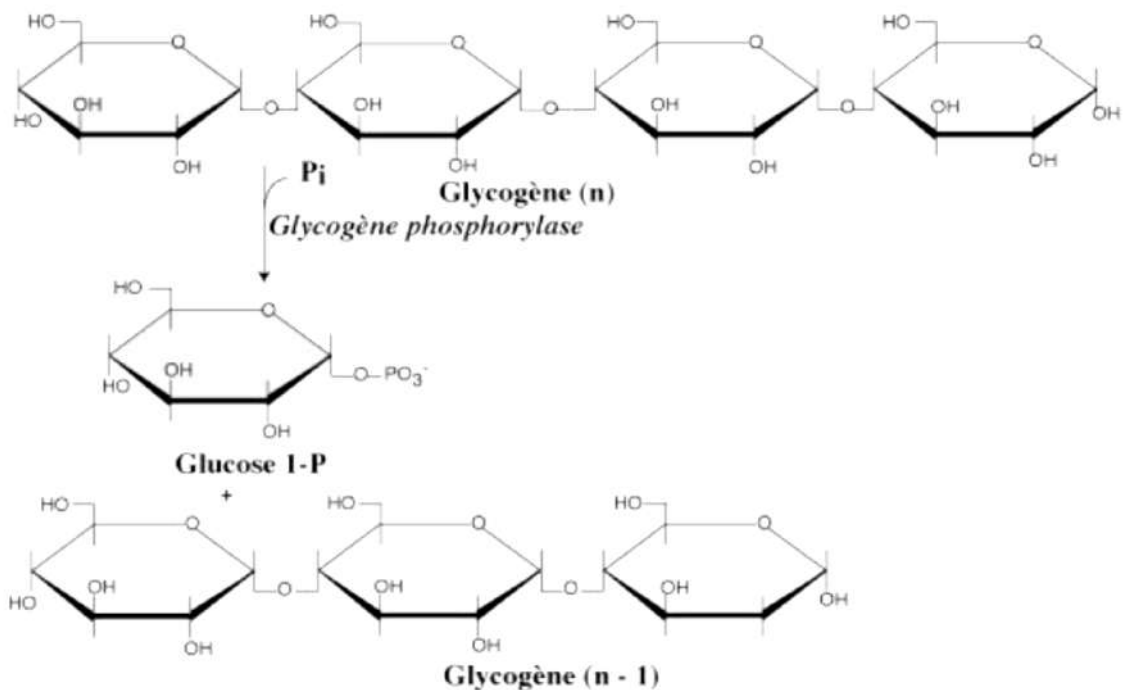
La liaison ester phosphate du G6P est hydrolysée par la G6-phosphatase. Cette enzyme n'existe pratiquement que dans les cellules hépatiques. Le glucose libre formé peut alors sortir de l'hépatocyte et passer dans le sang. Le foie sécrète du glucose et participe ainsi à la régulation de la glycémie.

Le glycogène est présent sous forme de granules directement dans le cytosol, associé à des enzymes, essentiellement dans le foie et les muscles, mais on en trouve un peu dans tous les tissus.

Le glycogène hépatique sert à maintenir la glycémie, il a donc un rôle énergétique pour toutes les cellules de l'organisme.

Le glycogène musculaire a un rôle énergétique pour la cellule musculaire elle-même





**Figure 4.1 :** Coupure des liaisons linéaires  $\alpha(1-4)$  par la glycogène phosphorylase.

#### b. Coupure des liaisons $\alpha(1-6)$ glucosidiques

L'action du glycogène phosphorylase s'arrête 4 résidus avant ramification. Deux réactions sont nécessaires :

- Transfert d'un trisaccharide sur la chaîne principale.
- Hydrolyse de la liaison  $\alpha 1-6$  par une  $\alpha 1-6$  glucosidase, avec libération de glucose libre.

#### – 2. Coupure des branchements

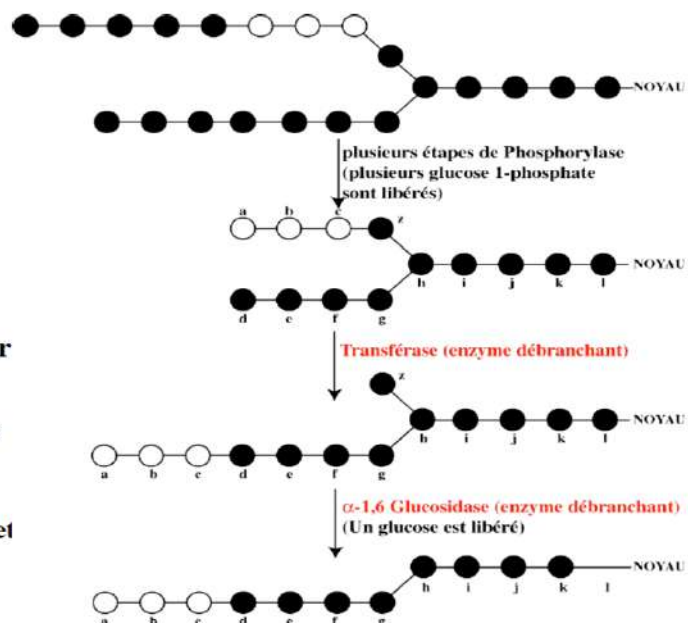
enzyme : enzyme débranchant avec deux activités

- transférase
- $\alpha-1,6$  glucosidase : libère un glucose libre.

#### – 3. Conversion G1P en G6P

#### – 4. Libération du glucose libre par la glucose 6 phosphatase

- enzyme qui n'existe que dans le foie (le rein et l'intestin)
- $G6P \rightarrow G + Pi$
- étape finale de la glycogénolyse et de la néogluconéogenèse hépatique



**Figure:** Coupure des liaisons ramifiées  $\alpha(1-6)$  et libération du glucose.

### 2.1.2. Bilan de la glycogénolyse

La glycogénolyse ne consomme pas d'énergie mais n'en produit pas non plus. Dans le foie, la glycogénolyse produit du glucose qui est sécrété dans le sang et sert ensuite de combustible énergétique aux cellules qui en ont besoin.

Dans le muscle, la glycogénolyse produit du G6P qui est ensuite dégradé *in situ* (**Fig.**).

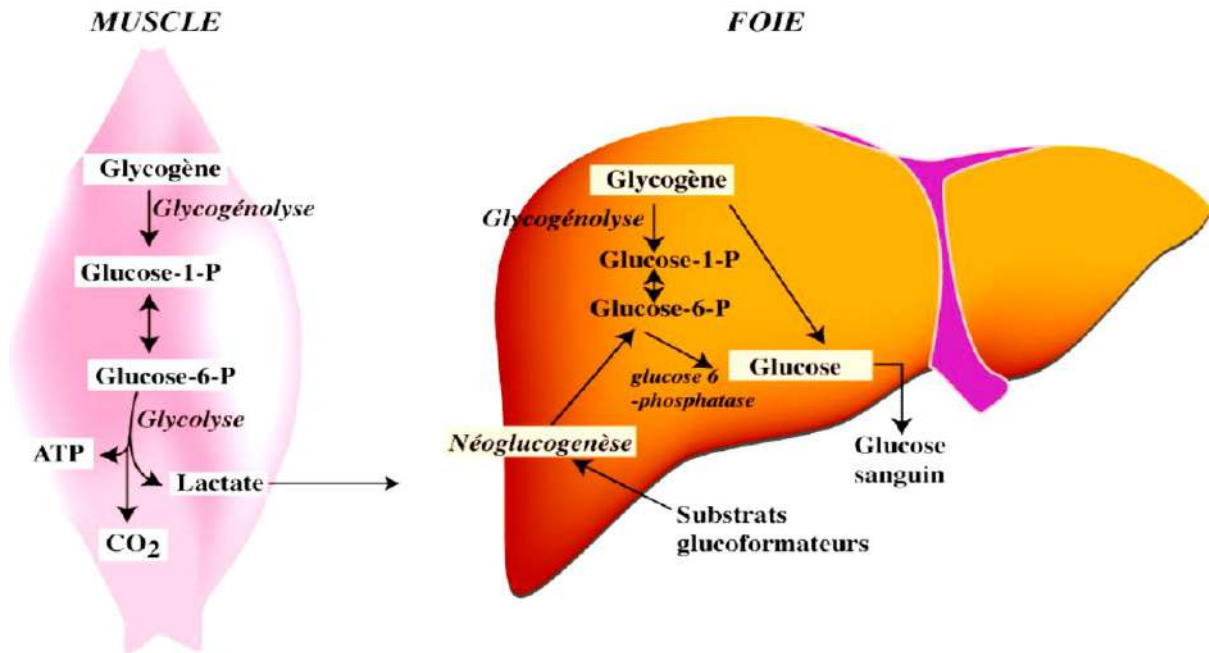


Figure : Utilisation du glycogène hépatique et musculaire.

### 2.1.3. Régulation de la glycogénolyse

L'enzyme clé de la glycogénolyse est la **glycogène phosphorylase**, qui est contrôlée par un mécanisme de **régulation covalente** (phosphorylation et déphosphorylation), par les **hormones** (voir **fig** ).

**a) Le glucagon et les catécholamines :** en effet, les **catécholamines** (adrénaline) au niveau des muscles et le **glucagon** au niveau du foie entraînent l'activation de protéines kinases qui auront deux fonctions différentes mais complémentaires :

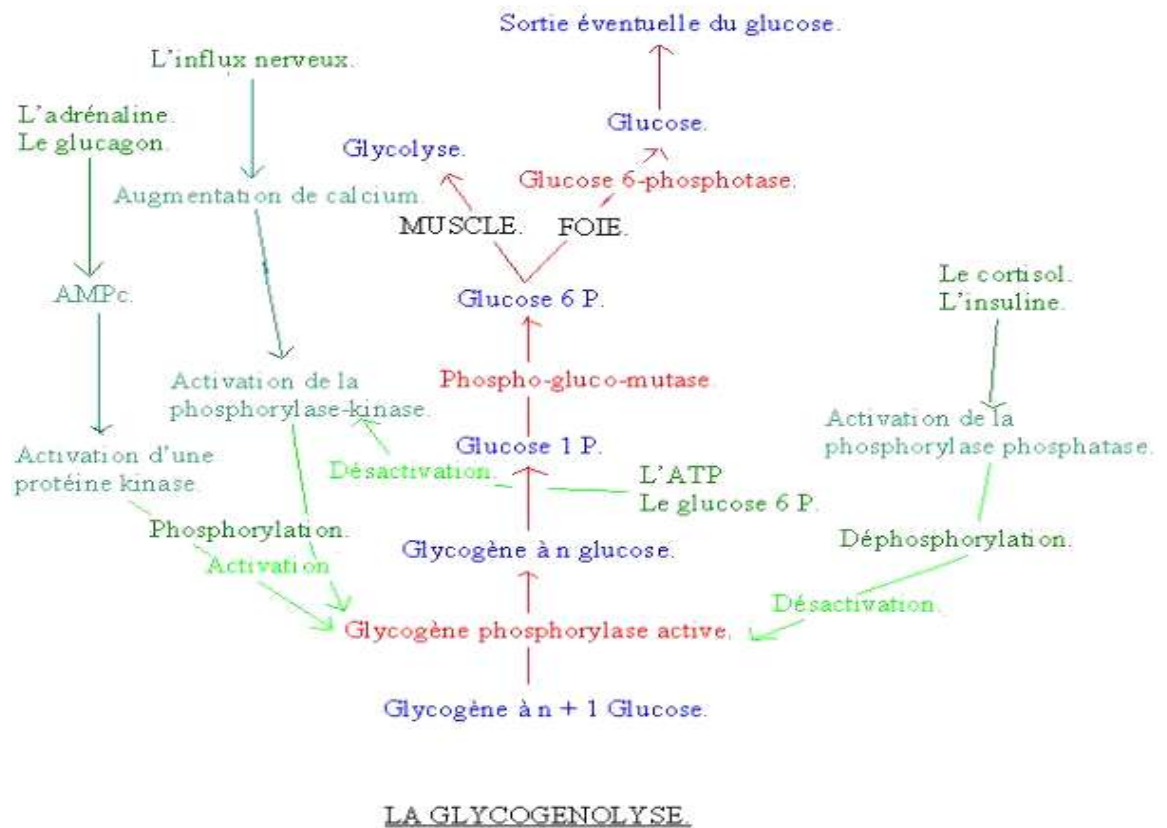
- La phosphorylation de la glycogène-synthase active pour la désactiver, stoppant ainsi la glycogénogenèse.
- La phosphorylation de la (glycogène phosphorylase) phosphorylase-kinase inactive pour l'activer, déclenchant ainsi la glycogénolyse.

**b) L'insuline** aura un effet inverse au niveau du foie et ceci en agissant à différent niveau de la mise en réserve du glucose sous forme de glycogène :

- L'insuline et l'augmentation de glucose (et donc de glucose-6-phosphate) entraîne l'activation de la glucokinase (foie), induisant une diminution de la glycémie. On note

que l'hexokinase, qui a la même fonction catalytique que la glucokinase, est moins spécifique d'un tissu et est inhibée par le glucose-6-phosphate.

- L'insuline entraîne l'activation de phosphatases qui auront deux fonctions différentes mais complémentaires : La déphosphorylation de la glycogène-synthase inactive pour l'activer, déclenchant ainsi la glycogénogenèse. La déphosphorylation de la phosphorylase-kinase active pour la désactiver, stoppant ainsi la glycogénolyse.



## 2.2. Métabolisme du glucose

Le glucose plasmatique est un nutriment pour toutes les cellules. Ainsi que de nombreux autres glucides entrent dans le mécanisme de la **glycolyse** pour y être dégradée et fournir de l'énergie: Glycogène et Amidon (polysaccharides de stockage).

L'oxydation du glucose dont l'énergie permet la production de l'ATP, est un ensemble de voies métaboliques : la glycolyse. Le substrat passe par des carrefours métaboliques : glucose 6-phosphate, pyruvate, coenzymes transporteurs d'Hydrogène. On distingue entre ces carrefours les voies métaboliques suivantes **Glycolyse cytoplasmique**, du glucose -phosphate au pyruvate

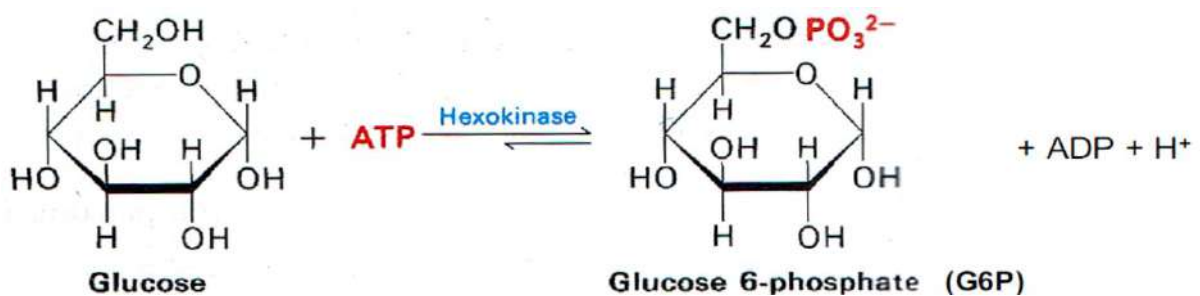
le **Cycle de KREBS** ; la **Chaîne respiratoire mitochondriale**, des coenzymes transporteurs d'hydrogène à l'eau et de l'ADP à l'ATP ; la **Glycogénolyse**, du glycogène au glucose 6-phosphate.

### 2. 2. 1. La glycolyse

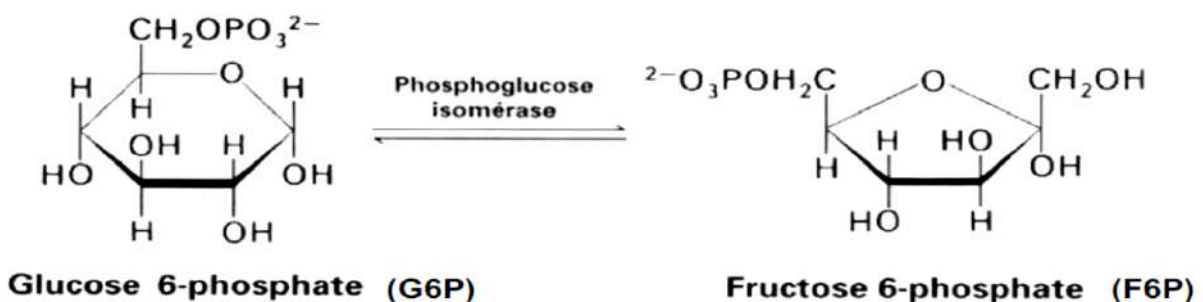
Décrite par d'EMBDEN et MEYERHOF est la séquence de réactions enzymatiques conduisant à la transformation dans le cytosol, du glucose en pyruvate. Elle **se déroule en 10 réactions réparties en deux parties**.

- une première partie : (consommation d'ATP) activation en fructose 1,6-bisphosphate, qui sera scindé en deux trioses-phosphates.
- Dans une deuxième partie (libération d'ATP), les trioses-phosphates sont oxydés en pyruvate, tandis qu'une partie de l'énergie produite par cette oxydation sert à phosphoryler l'ADP en ATP (oxydation phosphorylante de la glycolyse).

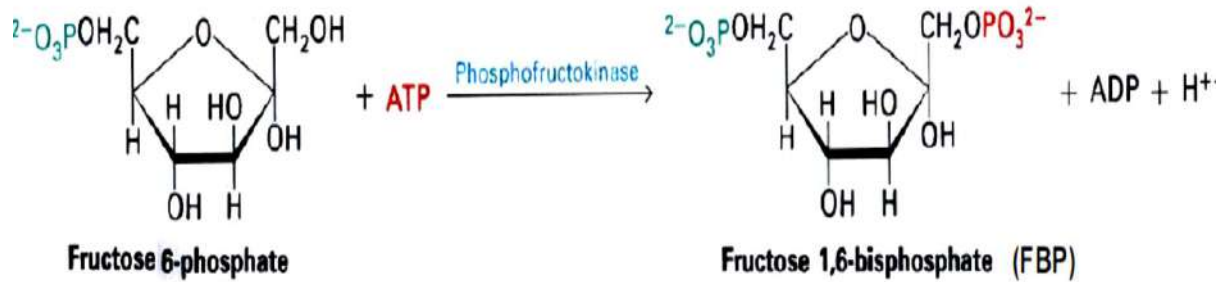
**1ère réaction** : phosphorylation du glucose en glucose-6-P par l'hexokinase (**HK**).



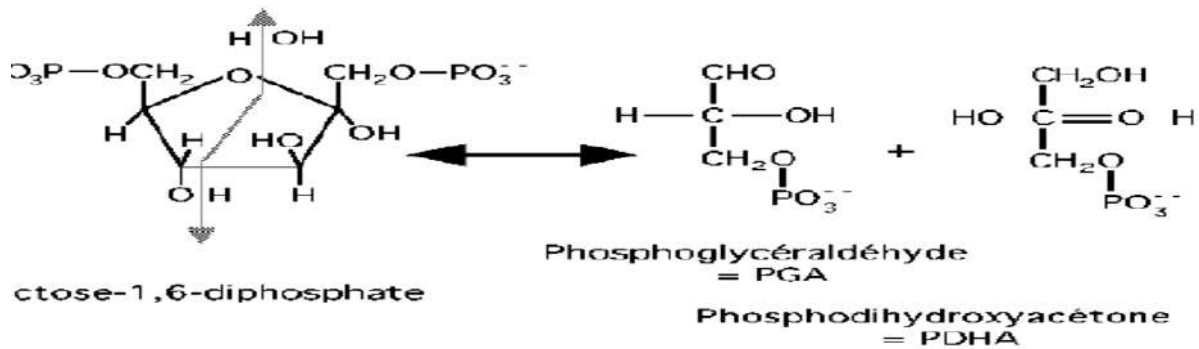
**2ème réaction** : isomérisation du G6P en F6P – réversible catalysée par une phosphohexose isomérase.



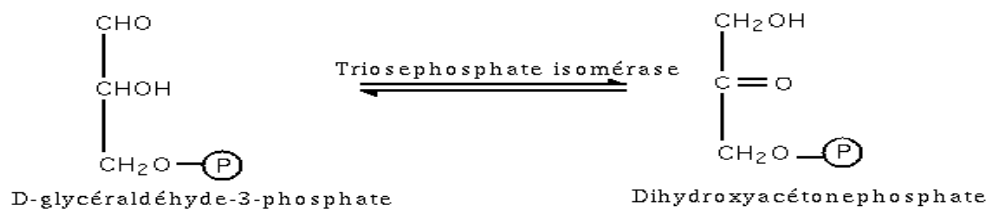
**3ème réaction** : phosphorylation du F6P en F1,6BP – Consommation d'un ATP – enzyme: phosphofructokinase (**PFK1**) - réaction irréversible.



**4ème réaction** : F 1,6 Bi P est scindé en 2 molécules à 3C sous l'action d'une aldolase : Glycéraldéhyde 3P (G3P ou 3PGA) et en Dihydroxyacétone Phosphate (PDHA)- réaction réversible.

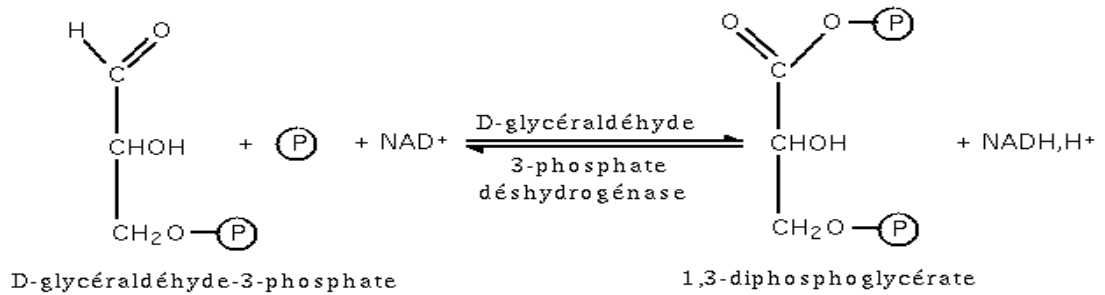


**5ème réaction** : DHAP est isomérisé en G3P catalysée par une triose phosphate isomérase, on a donc **2 G3PA**.

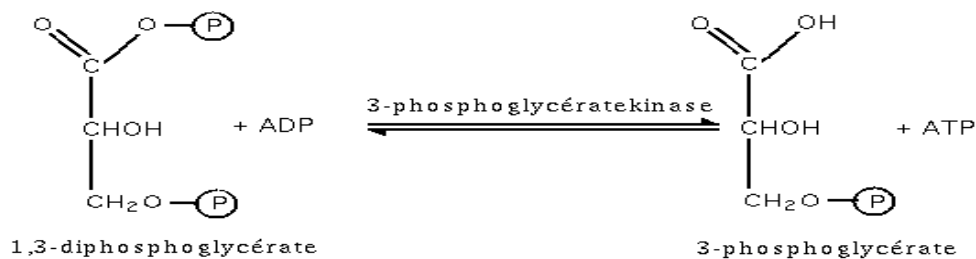


**FIN de la 1ère phase  
au cours de laquelle  
2 ATP ont été  
consommés**

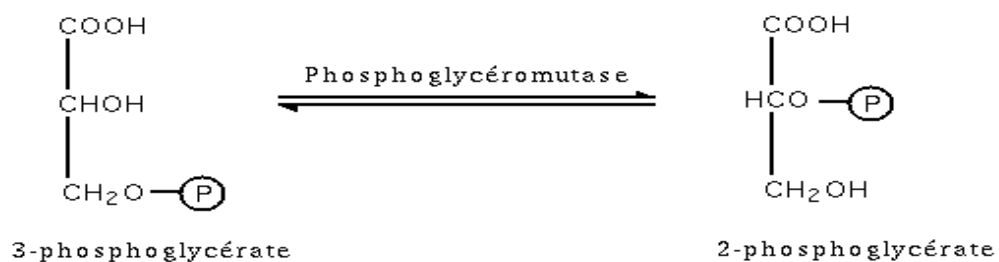
**6ème réaction :** G3P subit une oxydation puis une phosphorylation par une D-glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (oxydoréductase), conduit à la formation d'une liaison acylthioester.



**7ème réaction :** synthèse de 3-phosphoglycérate cette réaction, réversible, est catalysée par une phosphoglycérate kinase (transférase).

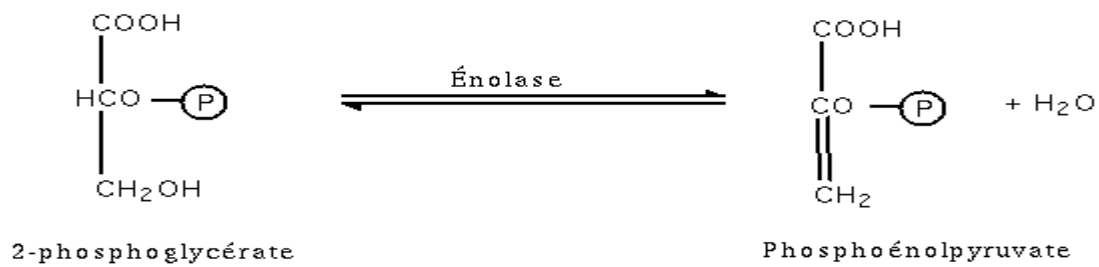


**8ème réaction :** cette réaction, réversible, est catalysée par une phosphoglycérate mutase.

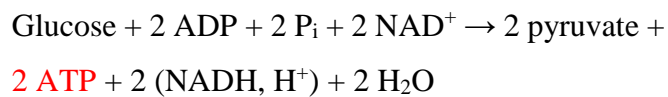
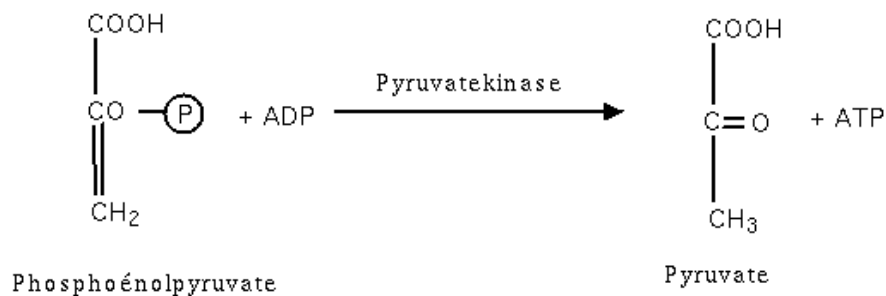




**9ème réaction :** cette réaction, catalysée par une émolase (groupe des lyases), réversible, conduit à la formation le phosphoénolpyruvate (PEP).

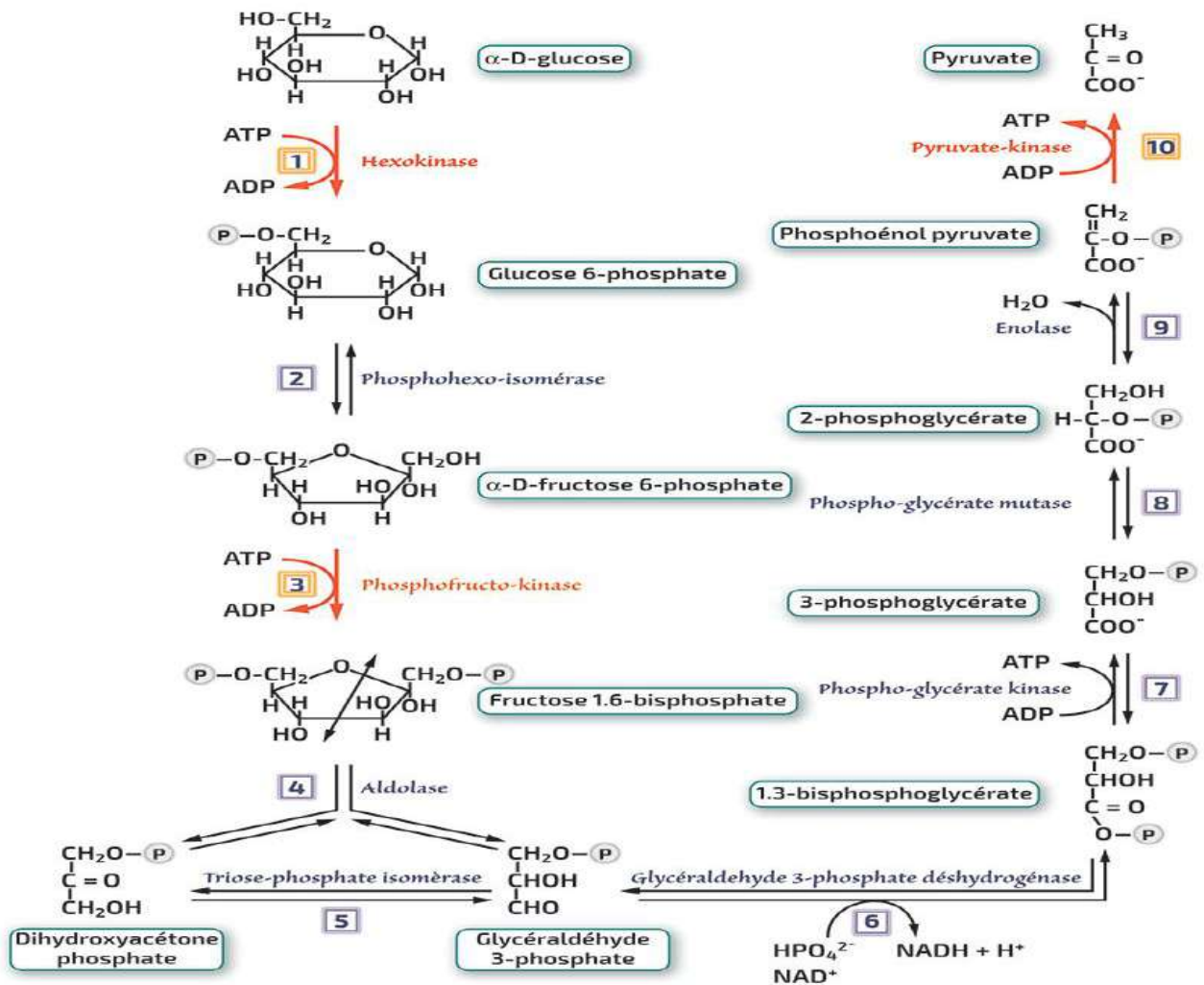


**10ème réaction :** synthèse de pyruvate. Cette réaction,  $\text{Mg}^{2+}$  dépendante et irréversible, est catalysée par une pyruvate kinase (PK).



**Bilan de la glycolyse :** Glycolyse en milieu ANAEROBIE (absence d'oxygène) s'effectue dans le cytoplasme des cellules. On a finalement produit 2 moles d'ATP pour dégrader 1 mole de glucose.

## DEGRADATION DU GLUCOSE OU GLYCOLYSE (voie d'Embden-Meyerhof)



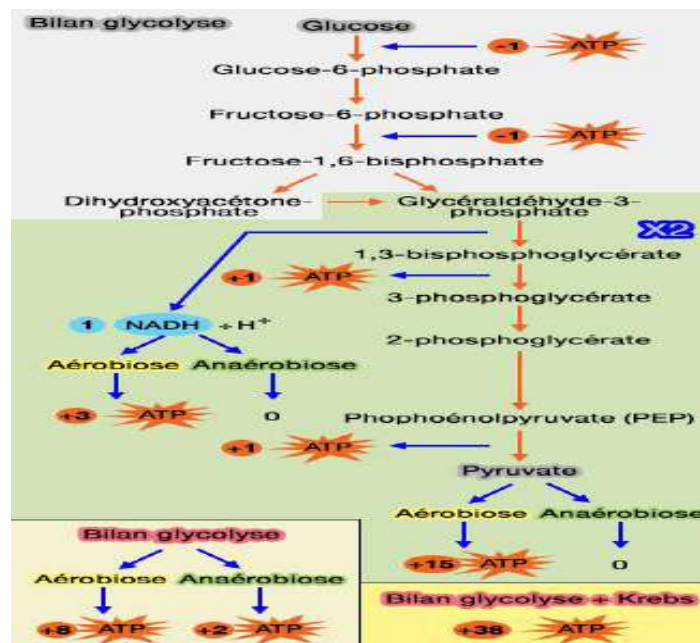
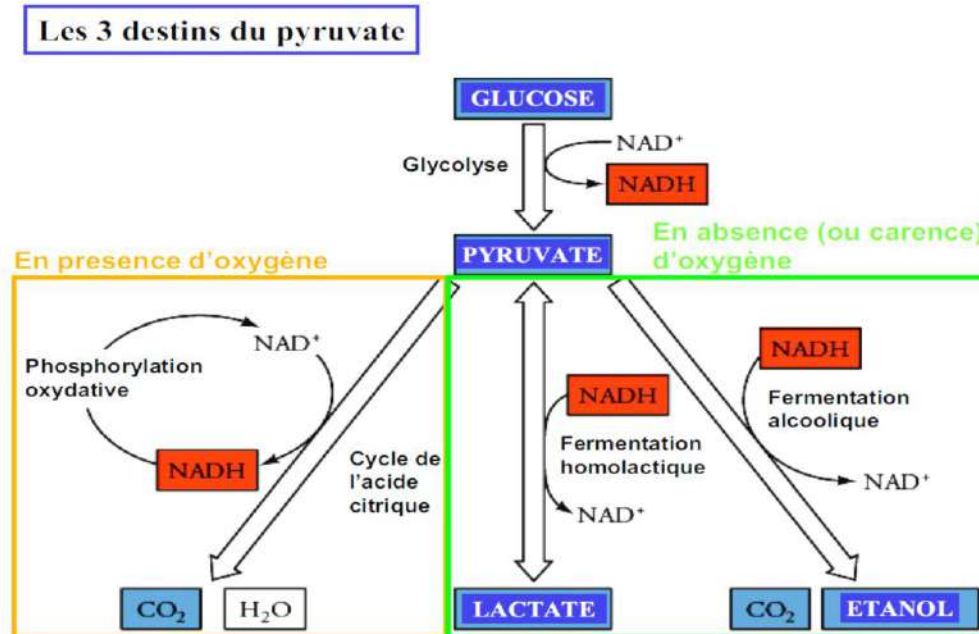
### 2.2.2. Devenir du pyruvate

#### 2.2.2.1. En anaérobiose : fermentation homolactique

Dans le muscle, le pyruvate issu de la glycolyse lors de la contraction musculaire est transformé en lactate. Chez les levures il se produit une fermentation alcoolique à partir du pyruvate grâce à la pyruvate décarboxylase (en acétaldéhyde +  $\text{CO}_2$ ) et à l'alcool déshydrogénase (en éthanol).

### 2.2.2.2. En aérobiose

Le Pyruvate transféré dans les mitochondries des cellules animales et/ou végétales est transformé en Acétyl CoA sous l'action d'un complexe d'enzymes appelé : **Pyruvate déshydrogénase (PDH)**. (Fig.)



### Régulation de la glycolyse

La glycolyse est principalement régulée au niveau des enzymes clés allostériques qui sont la phosphofructokinase PFK-1, l'héxokinase (HK) et la pyruvate kinase (PK). Ces dernières catalysent les réactions irréversibles de la glycolyse. Ce contrôle s'effectue par des métabolites dans deux niveaux : cellulaire et hormonal. (tableau)

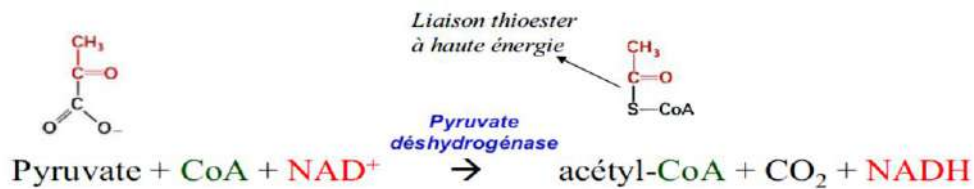
**Tableau.** Régulation allostérique de la glycolyse au niveau cellulaire.

Enzymes	Activateur	Inhibiteur
Glucokinase	/	G6P
Phosphofructokinase 1	ADP-AMP	ATP, Fructose 1,6 diP, NADH, H <sup>+</sup> , citrate
Pyruvate kinase	ADP-AMP	ATP, PEP, Fructose 1,6 diP

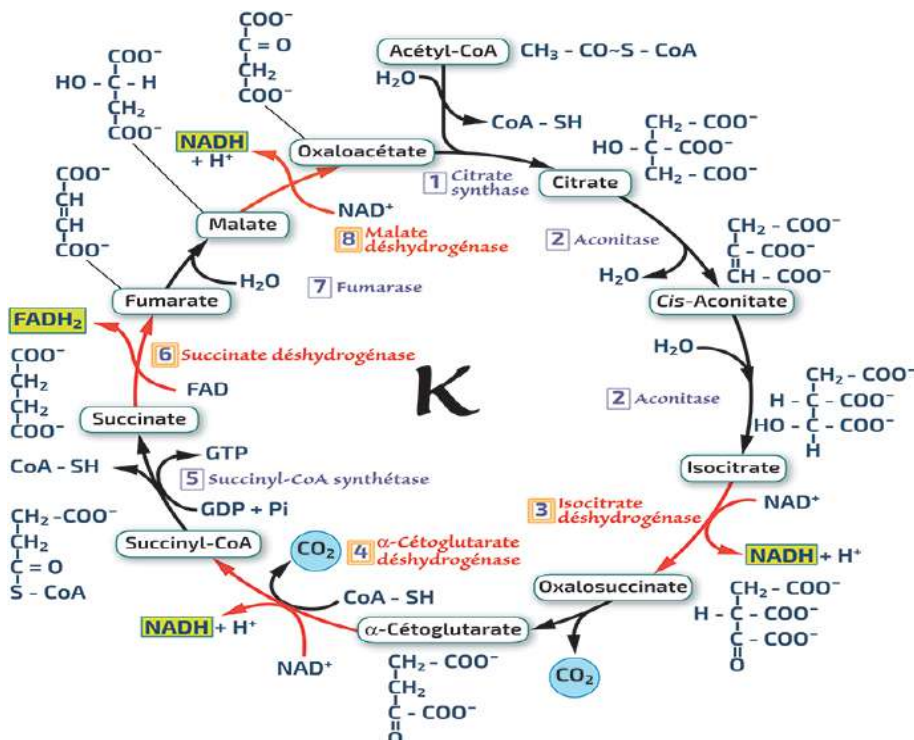
**Régulation hormonale :** L'héxokinase et la phosphofructokinase sont activées par l'insuline, la phosphofructokinase 1 et la pyruvate kinase sont inhibées par le glucagon.

### 2.2.2. Cycle de Krebs

Après l'entrée du pyruvate dans la matrice de la mitochondrie, sa décarboxylation oxydative est réalisée par la *pyruvate déshydrogénase* avec formation d'une molécule énergétiquement activée (acétyl-CoA) et NADH.



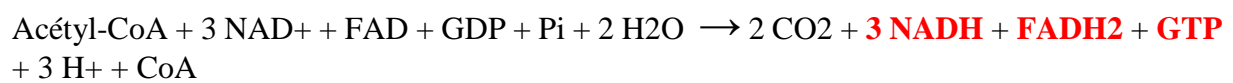
L'acétyl-coenzyme A produit final du pyruvate déshydrogénase va entrer dans les réactions d'une nouvelle voie métabolique qui fait partie de la glycolyse aérobie : le cycle tricarboxylique ou cycle de KREBS. Ce cycle se déroule en 8 étapes dont 4 sont catalysées par des déshydrogénases (voir **planche 2**).



Le cycle de Krebs est un cycle enzymatique. Cela signifie que le premier substrat de cette chaîne est également le dernier. Ici l'oxaloacétate réagit avec l'acétyl-coenzyme A pour donner du citrate qui sera dégradé par étapes successives en oxaloacétate et en CO<sub>2</sub>. L'oxaloacétate est donc disponible pour effectuer un nouveau tour du cycle avec un nouveau coenzyme A.

Les étapes 3, 4 et 8 produisent du NADH, l'étape 6 du FADH<sub>2</sub>. Ces quatre coenzymes seront réoxydés par la chaîne respiratoire, ce qui conduira à la synthèse d'ATP. La réaction 4 est une décarboxylation oxydative dont le mécanisme est analogue à celui de la transformation du pyruvate en acétyl-CoA.

### Bilan énergétique :



Ce qui correspond, au total, pour l'ensemble de la respiration aérobie (glycolyse en aérobie, cycle de Krebs, réduction des coenzymes NAD<sup>+</sup> par la chaîne respiratoire) : **38 ATP** pour une molécule de glucose (cela dépend de la navette utilisée pour transporter le NAD<sup>+</sup> de la glycolyse).

### Régulation du cycle

Le contrôle du cycle de Krebs se fait au niveau des enzymes allostériques ou régulatrices qui sont la citrate synthétase, l'isocitrate déshydrogénase, α cétooglutarate déshydrogénase.

**La citrate synthétase** : est activée par une concentration élevée de l'oxaloacétate et Acétyl CoA et inhibée par des concentrations élevées en citrate.

**L'isocitrate déshydrogénase** : activée par une concentration élevée d'ADP et inhibée par des concentrations élevées d'ATP, NADH.

**α cétooglutarate déshydrogénase** : activée par une concentration élevée en NADH et succinyl CoA.

### 2.3. La voie des pentoses phosphate

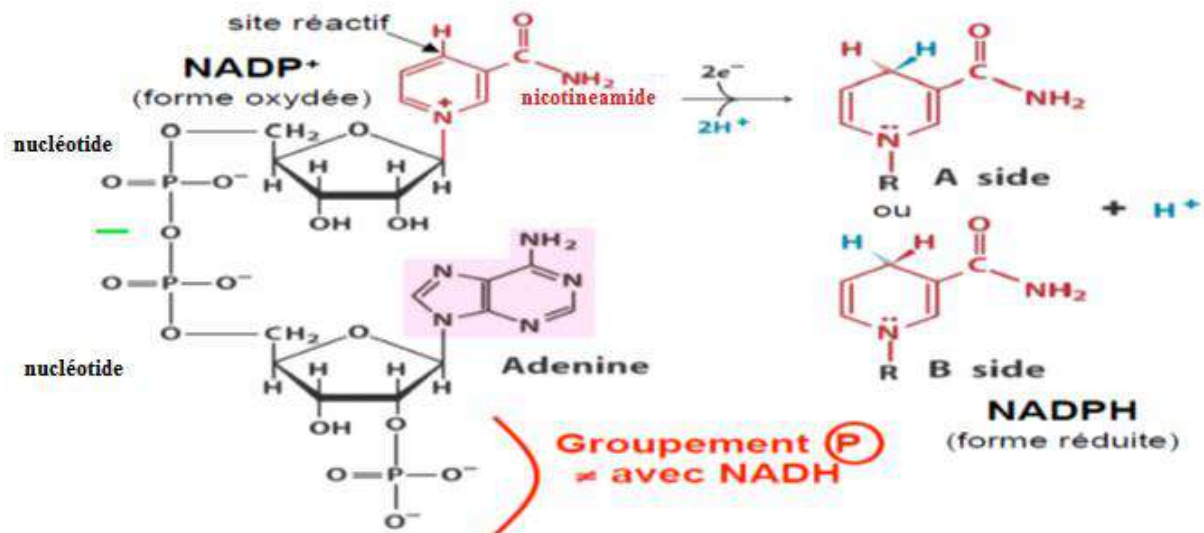
La voie des pentoses phosphate est une voie de dégradation du glucose branchée en dérivation sur la glycolyse productrice de NADPH, H<sup>+</sup> et de ribose-5-phosphate. C'est une voie quantitativement minoritaire (moins de 10% du glucose est dégradé par cette voie).

Les rôles essentiels de cette voie sont :

- la production de NADPH + H<sup>+</sup>, utilisé lors de la biosynthèse des acides gras, du cholestérol et pour la réduction du glutathion (fig),

- la production de ribose-5-phosphate utilisé lors de la synthèse des nucléotides.
- la production d'érythrose-4-phosphate, précurseur d'acide aminés aromatiques : phénylalanine, tyrosine et tryptophane.

Cette voie existe chez tous les eucaryotes et la quasi-totalité des bactéries. Elle est indépendante de l'oxygène. Elle se fait aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose, dans le cytoplasme.



Structure du NADP (H).

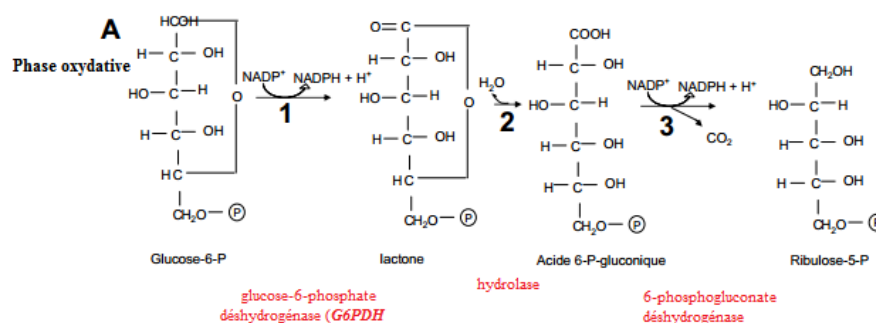
### 2.3.1. Etapes de la voie des pentoses phosphate :

• **Phase oxydative**, productrice de NADPH, H<sup>+</sup>. Durant cette phase, deux molécules de NADP<sup>+</sup> sont réduites en NADPH en utilisant l'énergie de conversion du glucose-6-phosphate (G6P) en ribulose-5-phosphate (fig). Elle est subdivisée en :

- *Déshydrogénation du glucose-6-phosphate* par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (**G6PDH**).
- *Hydrolyse de la lactone* par une hydrolase pour donner du 6-phosphogluconate.
- *Décarboxylation oxydative*

Le ribulose-5-phosphate (un cétose) subit ensuite une isomérisation catalysée par la ribose-5-phosphate isomérase qui donne le ribose-5-phosphate (un aldose), précurseur de la biosynthèse des nucléotides, ou une épimérisation catalysée par la ribulose-phosphate 3-épimérase qui mène au [xylulose-5-phosphate](#).

du 6-phosphogluconate par la 6-phosphogluconate déshydrogénase. Ceci produit un pentose phosphate, le ribulose-5-phosphate et génère une seconde molécule de NADPH.







## 2.4. La néoglucogenèse

La néoglucogenèse consiste en une série de réactions biochimiques visant à la synthèse de glucose à partir de composés non-glucidiques. Les substrats néoglucoformateurs les plus importants sont le propionate, le lactate et pyruvate, le glycérol et certains acides aminés. La majeure partie du glucose néoformé (85-90%) est synthétisée dans le foie et les 10-15% restants dans les reins. Ces réactions sont les mêmes chez les animaux, les végétaux, les champignons et les microorganismes.

La conversion du pyruvate ou lactate est la voie centrale de la néoglucogenèse ; elle a pour but la synthèse du glycogène (n glucoses) pour compenser le manque d'apport nutritif et l'épuisement des réserves du glycogène afin de maintenir l'homéostasie glycémique ou apporter le glucose indispensable pour le système nerveux central et au muscle.

### 2.4.1. Etapes enzymatiques

La néoglucogenèse évolue en quatre étapes spécifiques à partir du pyruvate :

**1. Carboxylation du pyruvate :** Le pyruvate est tout d'abord transféré du cytosol vers les mitochondries où il carboxylé est en oxaloacétate par la pyruvate carboxylase et se transforme en phosphoénolpyruvate (PEP).

**2. Déphosphorylation du fructose 1,6-bisphosphate en fructose 6-phosphate :** La conversion du fructose 1,6-bisphosphate en fructose 6-phosphate est une étape irréversible catalysée par la fructose 1,6-bisphosphatase.

**3. Isomérisation du fructose-6-phosphate en glucose-6-phosphate.**

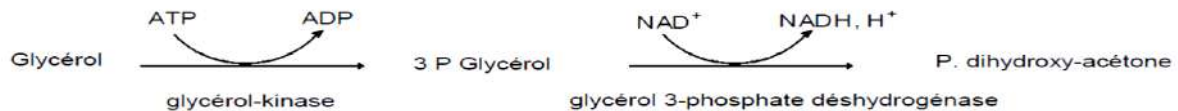
**4. Passage du glucose 6-phosphate au glucose** par la G6 phosphatase.

Dans la plupart des tissus, la néoglucogenèse s'arrête au niveau du glucose 6-phosphate. Cependant, dans ceux qui ont en charge le maintien de l'homéostasie du glucose sanguin, essentiellement le foie, le glucose libre est formé à partir du glucose 6-phosphate par une simple réaction d'hydrolyse catalysée par la glucose 6-phosphatase du réticulum endoplasmique. (voir **figure**).

Dans la glycolyse, le glucose est convertit en pyruvate au cours d'une suite de dix réactions ; dans la gluconéogenèse, le pyruvate conduit au glucose grâce à un ensemble de dix réactions également. Elle est catalysée par les mêmes enzymes de la glycolyse pour les étapes réversibles par contre les réactions irréversibles sont catalysées par d'autres enzymes spécifiques de cette voie. Cependant, la glycolyse et la néoglucogenèse ne sont pas rigoureusement l'inverse l'une de l'autre ; seules sept des réactions sont communes.

### A partir du glycérol

Lorsque les animaux sont à jeun ou durant une carence énergétique, l'activité néoglucogénique du glycérol devient importante car celui-ci est libéré à partir des réserves lipidiques. Le glycérol est d'abord activé en glycérol-3-phosphate par une glycérokinase et de l'ATP. Le glycérol-3-phosphate est ensuite oxydé en dihydroxyacétone-phosphate qui réagit avec le glyceraldéhyde-3-phosphate pour former le fructose-1,6-bisphosphate, lequel sera éventuellement transformé en glucose.

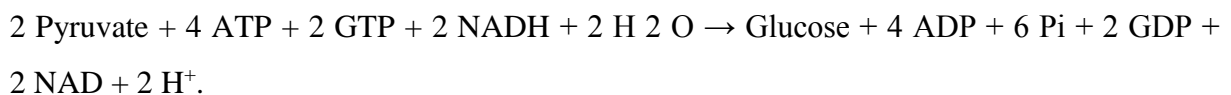


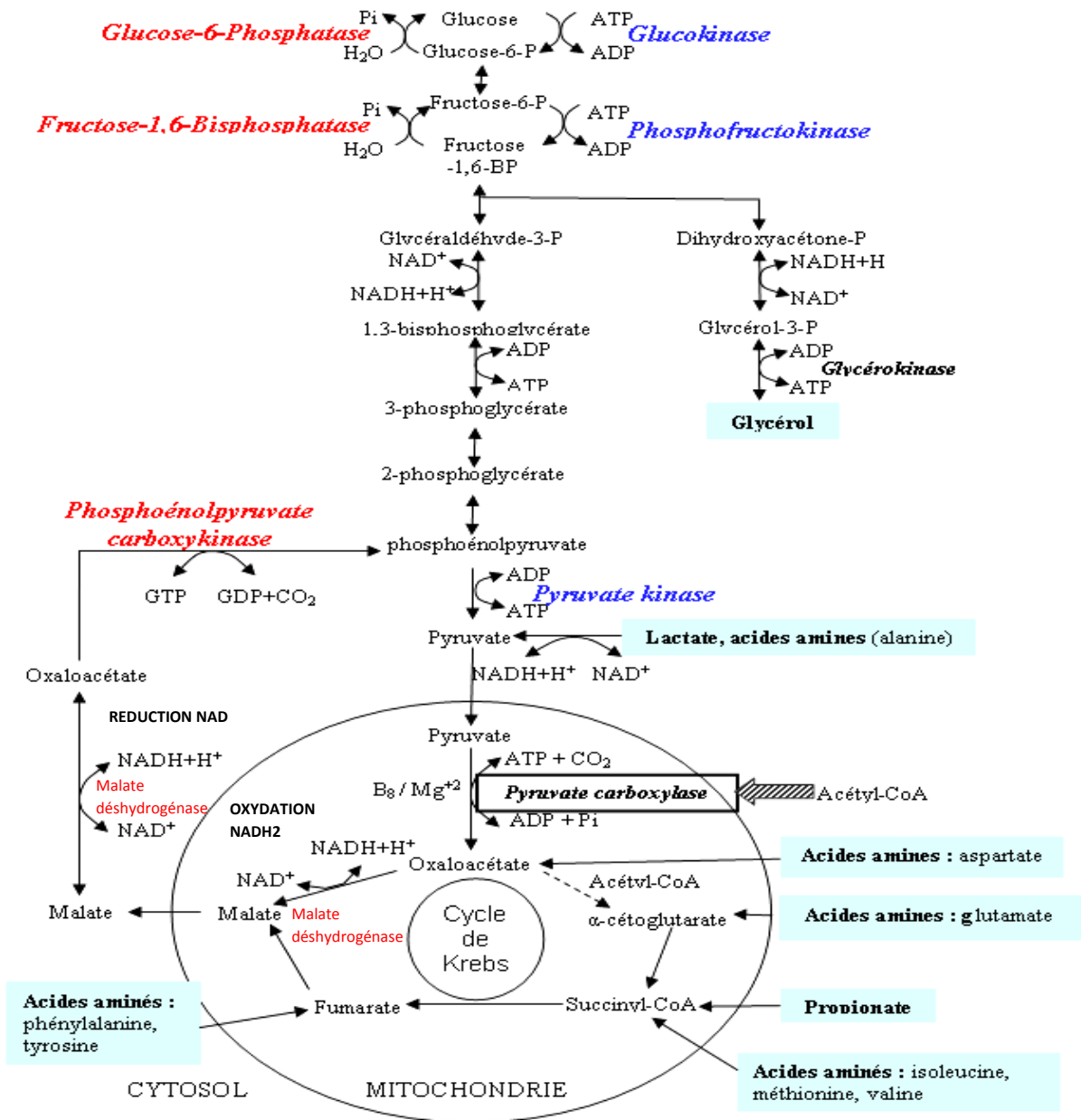
### A partir des acides aminés glucoformateurs

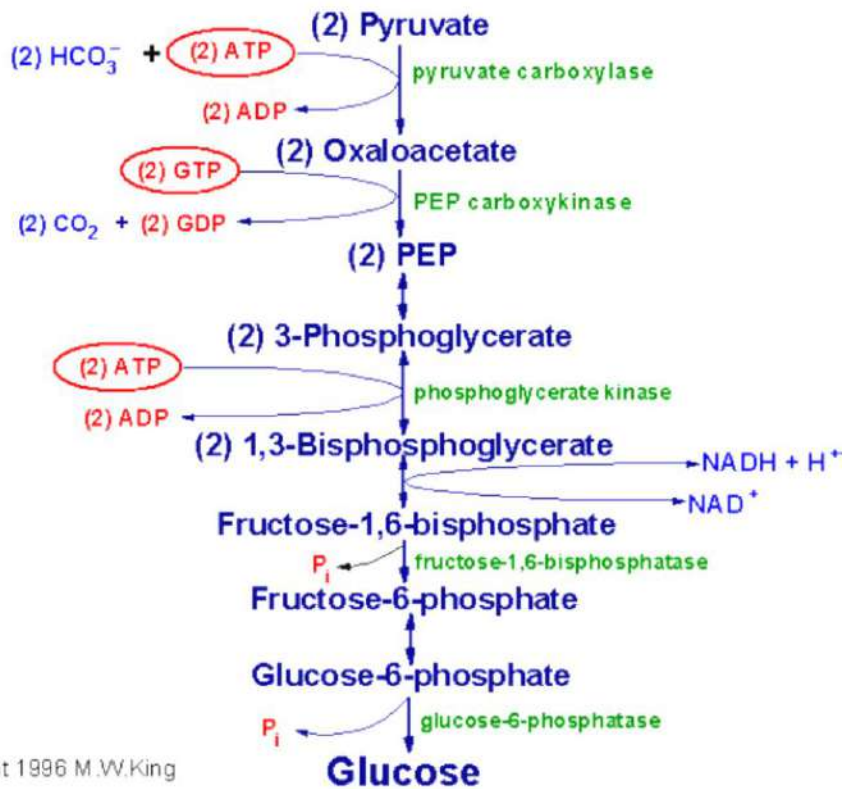
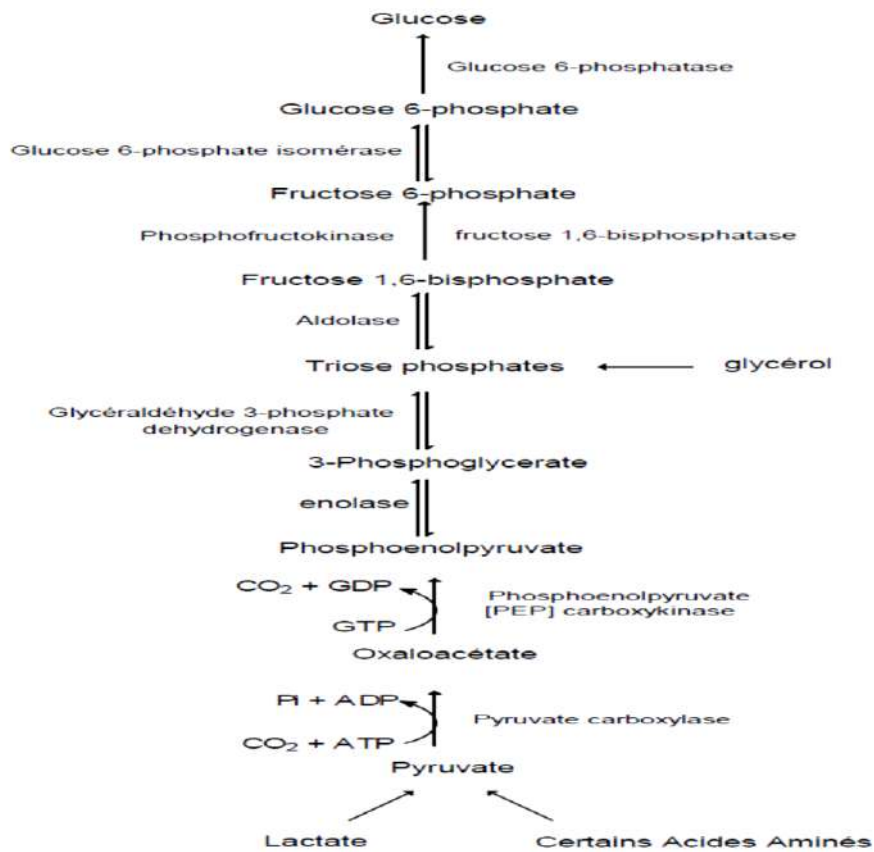
Après transamination ou désamination, les acides aminés glucoformateurs forment soit du pyruvate, soit des composés du cycle de Krebs ( $\alpha$  cétooglutarate, succinyl CoA, fumarate et l'oxaloacétate). Le pouvoir glucoformateur diffère d'un acide aminé à l'autre : l'alanine, le glutamate, l'aspartate et la glycine se révèlent être les plus efficaces alors que la lysine et la leucine sont les seuls acides aminés à n'avoir aucun potentiel néoglucogénique.

### Bilan de la gluconéogenèse

La gluconéogenèse est couplée à l'hydrolyse de 4 ATP et de 2 GTP : six molécules de nucléosides triphosphate sont donc nécessaires pour synthétiser une molécule de glucose à partir du pyruvate et transformer un processus énergétiquement défavorable en processus énergétiquement favorable par couplage de réactions d'hydrolyse de molécules de haut potentiel de transfert de phosphoryle.



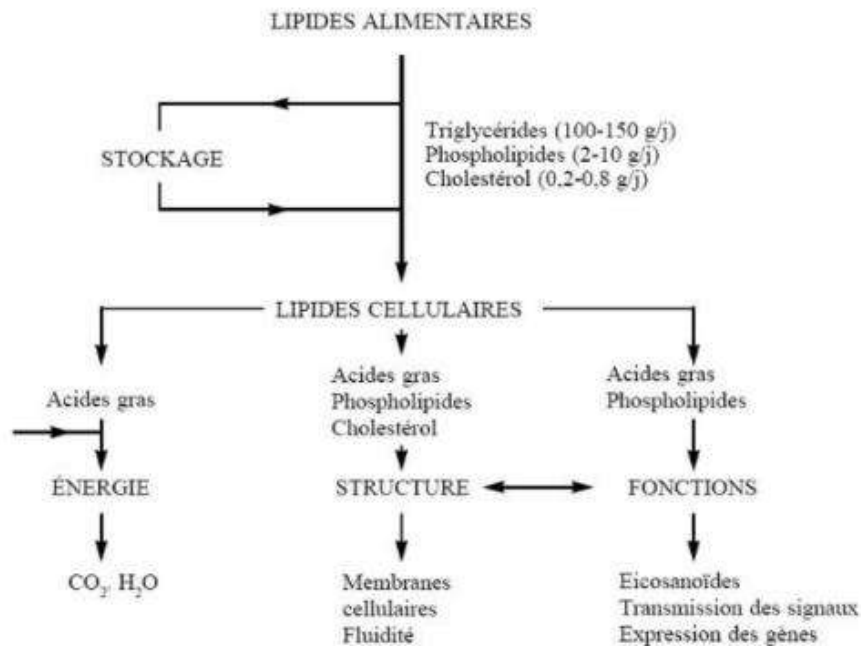




yright 1996 M.W.King

## 8. Métabolisme des lipides et des acides gras

Les lipides sont des produits complexes dont les différents constituants jouent de façon directe ou indirecte, immédiate ou retardée, un rôle énergétique, structural et fonctionnel (Fig.). L'alimentation est à la fois exclusive des acides gras dits essentiels (acide linoléique et l'acide linoléique) et la source quasi exclusive des acides gras non essentiels tant les capacités de synthèse endogène sont quantitativement mineures.



### 8.1. Métabolisme des lipides

#### 8.1.1. Catabolismes des lipides

##### 8.1.1.1. Lipides alimentaires

Les principaux lipides de l'alimentation humaine ou animale sont constitués essentiellement de triglycérides (triacylglycérols), de phospholipides et de stérols. La digestion de ces lipides est sous la dépendance des enzymes pancréatiques et des sels biliaires.

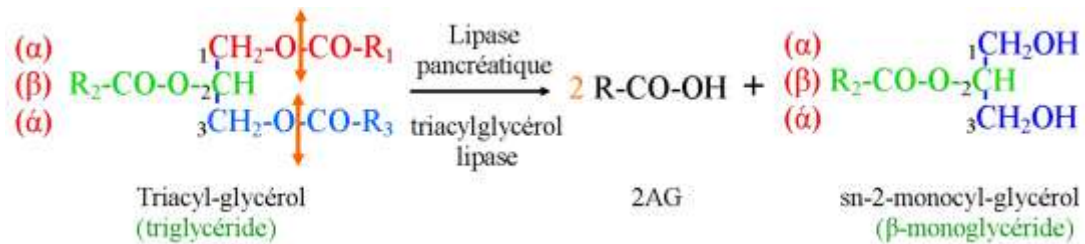
##### a)- Hydrolyse enzymatique

Les lipases et les phospholipases sont les principales enzymes d'hydrolysent des lipides au niveau de l'intestin grêle.

##### La triglycéride lipase

Elle catalyse l'hydrolyse des triacylglycérols en position 1 et 3 pour donner 2-monoacylglycérols. Cependant les triglycérides hydrophobes sont inaccessibles à la lipase qui est en solution aqueuse ; c'est pourquoi ils sont émulsifiés par les sels biliaires sécrétés par la bile, formant des micelles dans lesquelles les liaisons esters sont orientées en surface.

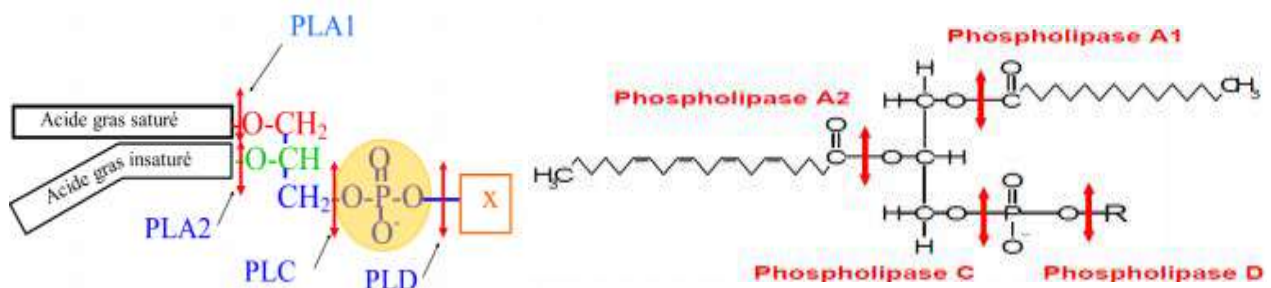




### Les phospholipases (hydrolyse enzymatique des glycérophospholipides)

Les phospholipides (le foie, le pancréas, l'intestin, la rate, le cerveau, les hématies ...) peuvent être hydrolysés par l'action de quatre phospholipases **PLA1**, **PLA2**, **PLC** et **PLD**. Les phospholipases **A1** (présente dans le pancréas, moisissures) et **A2** (présente dans les venins des serpents, abeilles, scorpions et suc pancréatique) conduisent à l'élimination des acides gras situés en position **1** et **2** et à la formation de lysophospholipides. La phospholipase **A2** libère des acides gras insaturés qui sont utilisés par la cellule, tel l'acide arachidonique qui conduit aux eicosanoïdes.

- La phospholipase **C** (présente chez les bactéries) intervient sur la fonction ester liant le glycérol et le phosphate, libérant un diglycérone et un phospho-alcool.
- La phospholipase **D** (présente chez les végétaux) conduit à l'élimination d'un acide phosphatidique et un alcool.



### b- Absorption intestinale et reconstitution des triglycérides

Les acides gras et les  $\beta$ -mono-acylglycérols libérés sous l'action des lipases, sont absorbés par les entérocytes (cellules absorbantes de l'intestin grêle). Une fois entrés dans l'entérocyte, les acides gras sont pris en charge par un transporteur spécifique qui les achemine dans le réticulum endoplasmique lisse. Ils rejoignent les  $\beta$ -monoacylglycérols qui ont la capacité de traverser par diffusion passive. Les acides gras et les  $\beta$ -mono-acylglycérols sont recombinaés à nouveau en triacylglycérols par les enzymes du réticulum endoplasmique.

### **c- Lipoprotéines (transport des TG)**

Les lipoprotéines sont des formes de transport des graisses hydrophobes dans le plasma sanguin. De structure globulaire, elles sont constituées d'un cœur hydrophobe de triglycérides, entouré de protéines, d'esters de cholestérol et de phospholipides. Les lipoprotéines majeures sont : **Chylomicrons** synthétisés dans les entérocytes (intestin) : forme de transport des triglycérides alimentaires vers les tissus utilisateurs et le tissu adipeux.

**VLDL** (very low density lipoproteins) synthétisées dans le foie, transportent des TGs endogènes..

**HDL** (high density lipoproteins) synthétisés dans le sang, retour du cholestérol non utilisé par les cellules vers le foie (les lipoprotéines HDL capturent les molécules de cholestérol qui se déposent dans les tissus dont les artères pour les transporter vers le foie, qui se chargera ensuite de les éliminer par le tube digestif grâce à la bile).

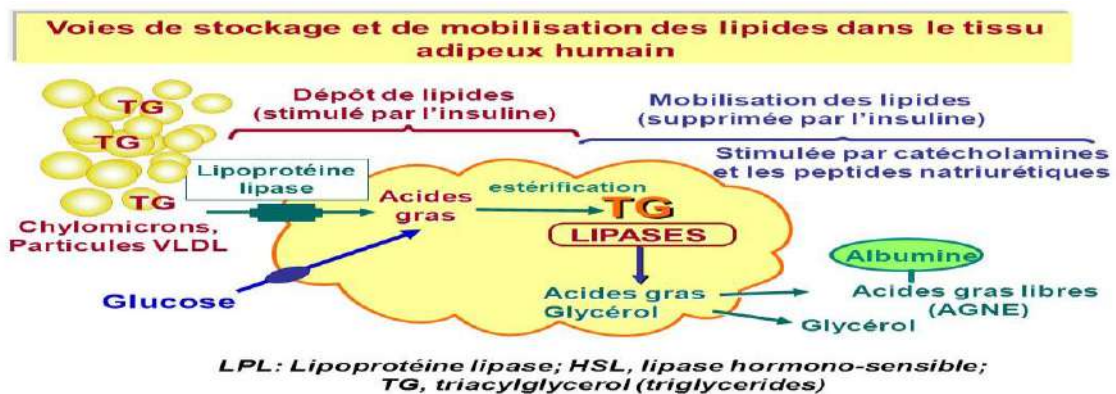
**LDL** (low density lipoproteins) : transportent du cholestérol, elles sont mauvaises pour la santé (En revanche, le cholestérol LDL est un mauvais cholestérol. Tout simplement car les lipoprotéines LDL déposent le cholestérol dans certains tissus dont les parois des artères et entraînent la formation de plaques de graisse pouvant mener à de gros problèmes de santé).

**IDL** (intermediary lipoproteins): intermédiaire métabolique : elles n'existent pas dans la circulation, sauf dans les hypo-lipidimies héréditaires = anomalie métabolisme lipidique.

C'est sous la forme de triglycérides que les lipides sont transportés vers les tissus adipeux et c'est sous la même forme qu'ils sont acheminés vers les tissus utilisateurs. Au niveau des capillaires, les chylomicrons et les VLDL s'attachent progressivement aux parois où une lipoprotéine lipase les débarrasse de leur triglycéride en les hydrolysant en acides gras et en  $\beta$ -mono-acylglycérol. Le reste protéique du chylomicron retourne dans le flux sanguin et est retiré par le foie. Les acides gras et le monoglycéride pénètrent dans les cellules adjacentes : musculaires ou adipeuses, par diffusion grâce au gradient entre les deux compartiments. Ces composés sont utilisés directement dans la  $\beta$ -oxydation ou sont retransformés en triglycérides pour être stockés.

### 8.1.1.2. Lipides alimentaires de réserve

Les triglycérides de réserve constituent une source d'énergie utilisable par toutes les cellules. Ils sont mobilisés en l'absence du glucose. La diète prolongée, les exercices physiques et le stress favorisent leur mobilisation. Ils sont hydrolysés par une triglycéride **lipase sensible aux hormones** (adrénaline, glucagon, noradrénaline, corticostéroïdes, hormones hypophysaires, etc.). Leur hydrolyse dans les adipocytes fournit des acides gras et des  $\beta$ -mono-acylglycérol. Ce dernier est hydrolysé dans les cellules par une lipase intracellulaire non sensible aux hormones.



### 8.1.2. Anabolismes des lipides

Elle a lieu dans le réticulum endoplasmique. Les triglycérides sont intensément fabriqués dans le foie et dans les cellules adipeuses (adipocytes) et intestinales. Chez les végétaux supérieurs et les animaux, les lipides ont deux précurseurs ; le L-glycérol et l'acétyl-CoA.

#### 8.1.2.1. Synthèse de triglycéride

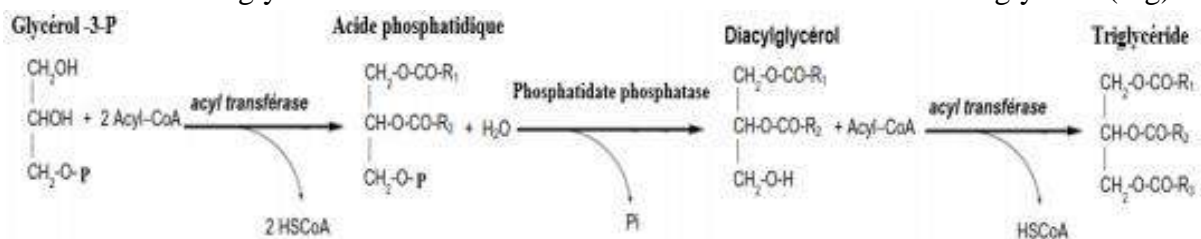
Est assurée par une Triglycéride synthase (complexe multienzymatique).

- Il existe deux types de TG synthase, selon que nous sommes dans l'entérocyte ou bien dans le tissu adipeux, les muscles, le myocarde et le foie.

- Dans l'entérocyte : synthèse des TG à partir d'AG et mono-glycérol

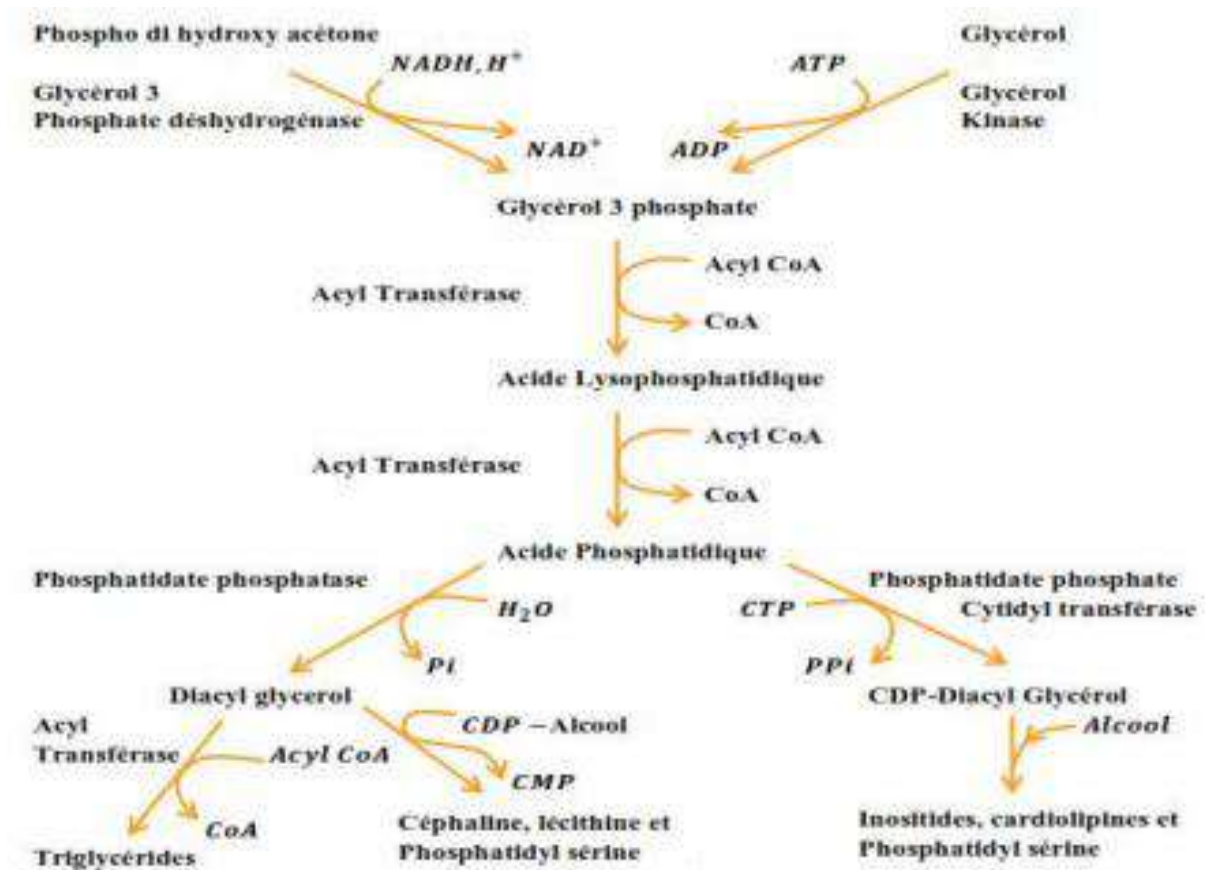
- Dans les autres tissus : à partir d'AG et glycérol

Le L-glycérol provient de la réduction de la 3-phosphodihydroxyacétone formée au cours de la glycolyse. La réaction est catalysée par la **3-phosphoglycérol déshydrogénase**. La synthèse des triglycérides comporte trois étapes : formation de l'acide phosphatidique, déphosphorylation de ce dernier en diglycéride et estérification de la dernière fonction alcool du glycérol (Fig).



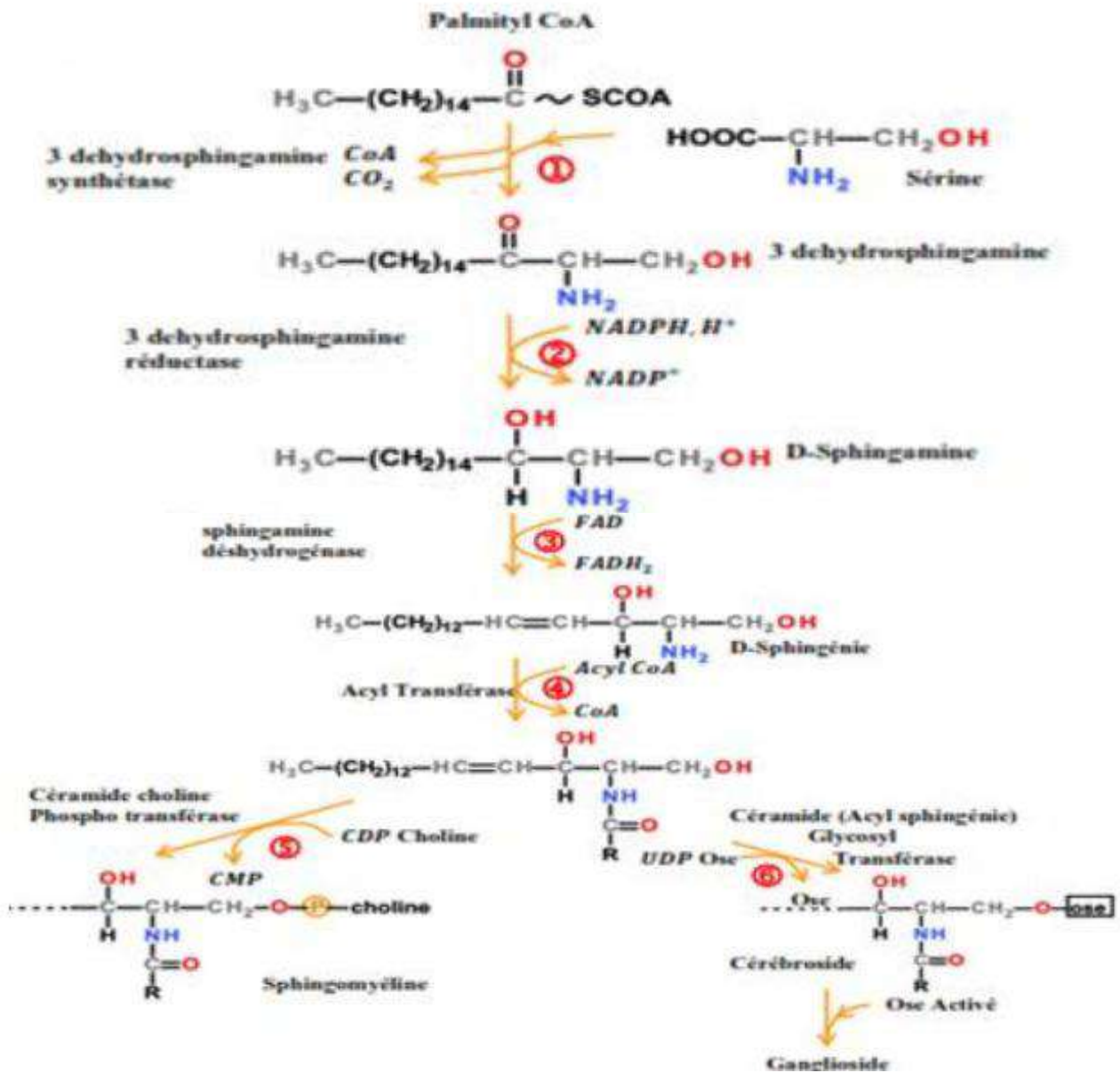
### 8.1.2.2. Synthèse des phospholipides

La synthèse des triglycérides et celle des phospholipides utilisent les mêmes étapes enzymatiques jusqu'au niveau du di-acyl-glycérol. La synthèse des phospholipides est caractérisée par des réactions spécifiques qui permettent de fixer l'alcool (choline, éthanolamine, inositol, etc.) et déterminent ensuite la nature du phospholipide (Fig).



### 8.1.2.3. Synthèse des sphingolipides

Tous les sphingolipides proviennent des céramides « acides sphingosine » issue lui-même de palmitoyl CoA et un acide aminé hydroxylé qui est la serine (Fig).



## 8.2. Métabolisme des acides gras

Les acides gras ont un rôle essentiel dans d'importants processus structuraux tels que la biosynthèse des phospholipides et des glycolipides qui constituent les membranes cellulaires ou l'adressage vers les membranes de nombreuses protéines auxquelles ils se fixent par covalence. Ils participent à la biosynthèse d'hormones et de messagers intracellulaires, ainsi, ils interviennent dans la production d'énergie sous forme d'ATP.

### 8.2.1. Catabolismes des acides gras

#### 8.2.1.1. Activation des AG

Les AG n'entrent en métabolisme qu'une fois activé sous forme d'acyl CoA. Les acides gras cytosoliques sont tout d'abord activés en acyl CoA, la réaction est catalysée par une acyl CoA synthétase (thiokinase), où intervient l'ATP (Fig).

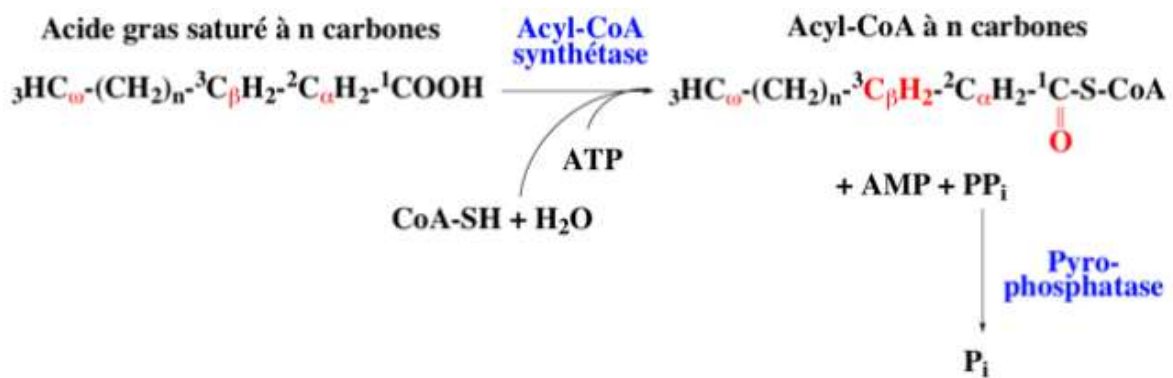
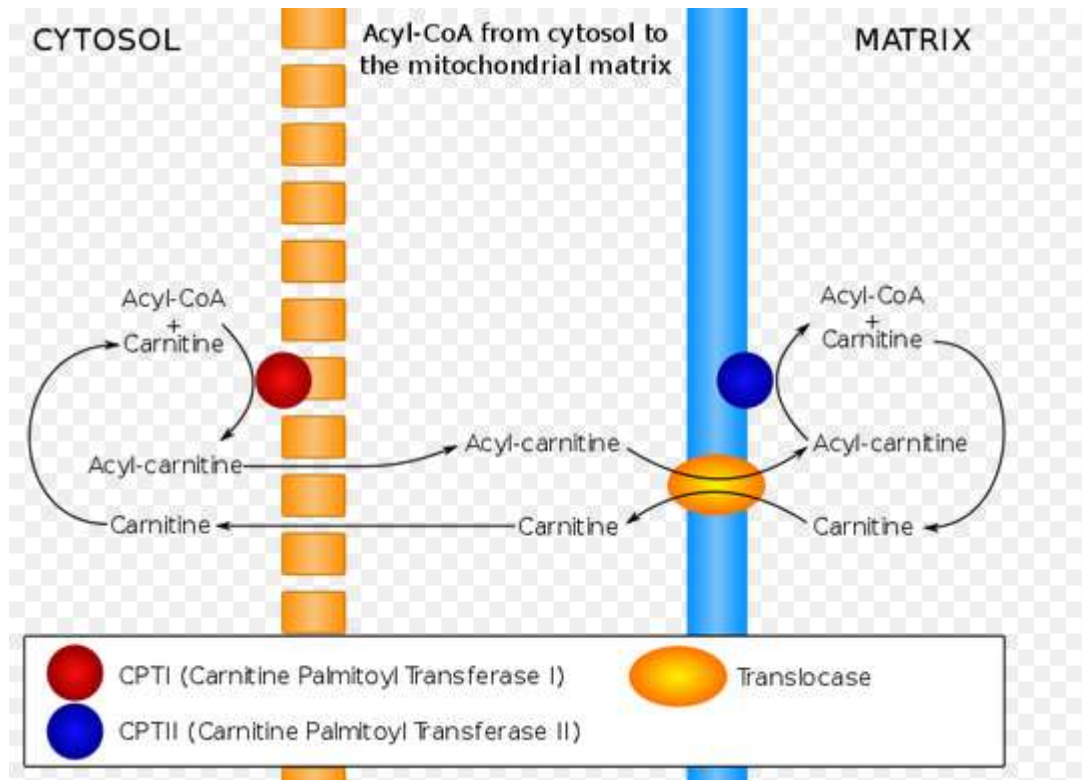


Fig. Activation des AG cytosolique.

#### 8.2.1.2. Transfert de l'acyl CoA dans la mitochondrie

La membrane mitochondriale interne étant imperméable à l'acyl-CoA, il doit être transporté dans la matrice à l'aide d'un transporteur : la navette carnitine. Au niveau de la membrane mitochondriale externe, au cours d'une réaction catalysée par la carnitine acyltransférase I, le groupe acyl est transféré de l'atome de soufre du CoA au groupe hydroxyle de la carnitine, qui est un zwitterion, et les acyl CoA sont convertis en acyl carnitine. C'est sous cette forme que les acides gras traversent les membranes mitochondriales sous l'action d'une translocase et arrivent dans la matrice où ils sont à nouveau conjugués au CoA au cours d'une réaction catalysée par la carnitine acyl-transférase II (Fig).





**Fig.** Transfert de l'acyl CoA dans la mitochondrie.

### 8.2.1.3. Oxydation mitochondriale des acides gras ( $\beta$ -oxydation)

#### 8.2.1.3.1. Acide gras saturés

La  $\beta$  oxydation (communément appelée spirale de Lynen ou hélice de Lynen) est la principale voie métabolique de dégradation des molécules d'acides gras au niveau du carbone  $\beta$  pour produire :

- d'une part de l'acétyl-CoA, dont le groupe acétyle est oxydé par le cycle de Krebs
- et d'autre part du NADH et du FADH<sub>2</sub>, dont les électrons à haut potentiel alimentent la chaîne respiratoire.

Elle comporte 4 réactions récurrentes (répétitives) permettant l'oxydation du Carbone- $\beta$  des acyl-CoA et la libération d'acétyl-CoA à chaque fois. Cette voie est cyclique car chaque étape de 4 réactions : oxydation, hydratation, oxydation et thiolyse, part d'un acyl-CoA et aboutit à la formation d'un acyl-CoA raccourci de deux carbones (C<sub>n</sub>-2 fig).

Réaction	Enzyme	Description
<p>Acyl-CoA → trans-<math>\Delta^2</math>-Enoyl-CoA</p>	Acyl-CoA déshydrogénase	<p><b>Déshydrogénation par le FAD.</b> La déshydrogénation, en présence de FAD, catalysée par une oxydo-réductase, l'acyl-CoA déshydrogénase, a lieu entre les carbones <math>\beta</math> et <math>\alpha</math> (carbones 2 et 3 dans la nomenclature IUPAC). Il y a formation de <b>trans-<math>\Delta^2</math>-énoyl-CoA</b> en <math>C_n</math>.</p> <p>Le FADH<sub>2</sub> est oxydé par la chaîne respiratoire avec libération d'énergie sous forme d'ATP.</p>
<p>trans-<math>\Delta^2</math>-Enoyl-CoA + H<sub>2</sub>O ⇌ L-3-Hydroxyacyl-CoA + H<sub>2</sub>O</p>	Ényl-CoA hydratase	<p><b>Hydratation.</b> Cette réaction d'addition est catalysée par une crotonase du groupe des lyases. Du fait de la proximité du groupe cétone, la double liaison est polarisée (le carbone <math>\beta</math> est <math>\delta^+</math>, le carbone <math>\alpha</math> est <math>\delta^-</math>) : le groupe OH de l'eau se lie au carbone <math>\beta</math> avec formation de <b>L-<math>\beta</math>-hydroxyacyl-CoA</b> en <math>C_n</math>.</p> <p>Cette réaction réversible est stéréospécifique et aboutit à l'isomère L.</p>
<p>L-3-Hydroxyacyl-CoA + NAD⁺ → 3-Ketoacyl-CoA + NADH + H⁺</p>	3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase	<p><b>Oxydation par le NAD⁺</b> avec formation de <b><math>\beta</math>-cétoacyl-CoA</b> en <math>C_n</math>.</p> <p>Le NADH est oxydé par la chaîne respiratoire avec libération d'énergie sous forme d'ATP.</p>
<p>3-Ketoacyl-CoA + CoA-SH → Acyl-CoA + Acetyl-CoA</p>	Acétyl-CoA C-acyltransférase	<p><b>Thiolyse.</b> Cette réaction est catalysée par une transférase, la <math>\beta</math>-cétotliase, en présence de coenzyme A, et conduit à la formation :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>d'<b>acétyl-CoA</b>, dégradée par le cycle de Krebs, la lipogenèse, la cétogenèse ;</li> <li>d'<b>acyl-CoA</b> en <math>C_{n-2}</math>, dégradée par <math>\beta</math>-oxydation selon un processus itératif tant que <math>n &gt; 3</math>.</li> </ul>

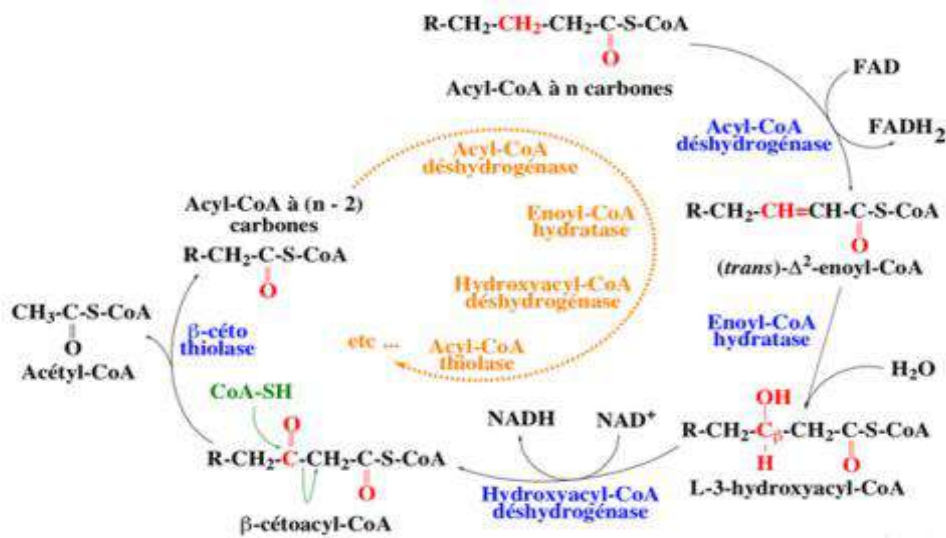


Fig.  $\beta$ -oxydation des AG saturé à nombre paire d'atomes de carbones.