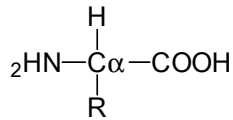


ACIDES AMINES

1. Définition :

Les acides aminés (aa) sont les constituants des protéines. Ceux sont des acides α carboxyliques ayant une fonction α amine primaire



R : représente le radical de structure variée
C α peut être asymétrique si R \neq H, COOH et NH₂

2. Classification :

2.1. aa communs : Il y a 20 α aa constitutifs de toutes les protéines classés en 2 groupes selon la nature du R

2.1.1. α aa apolaires ou hydrophobes : aa à R hydrocarboné, aliphatique ou aromatique : Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp, Pro.

2.1.2. α aa polaires ou hydrophiles :

- R hydrophile neutre : Ser, Thr, Tyr, Asn, Gln, Cys
- R hydrophile basique (chargé positivement) : Arg, Lys, His
- R hydrophile acide (chargé négativement) : Asp, Glu

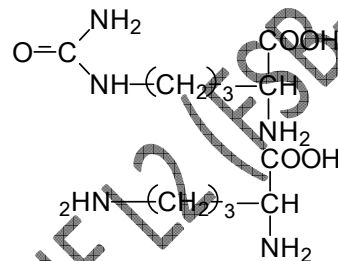
2.2. Autres aa :

2.2.1. aa libres :

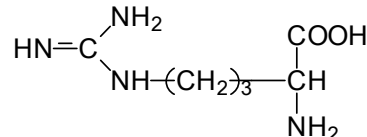
- β Ala : $\text{H}_2\text{N}-\beta\text{CH}_2-\alpha\text{CH}_2-\text{COOH}$ Les deux fonctions sont portées par 2C \neq , précurseur des l'acide pentoténique

- Citrulline

Ornithine



Intermédiaires dans la biosynthèse de l'Arg



2.2.2. aa incorporés dans des peptides de petites taille (-20 aa) tel que :

- Peptides synthétisés par des microorganismes : Ornithine incorporé dans la bacitracine (peptide cyclique antibiotique)

- Peptides synthétisés par des plantes : HydroxyLeu incorporé dans un peptide toxique de l'amanite phalloïde

2.2.3. aa résultants d'une modification post traductionnelle tel que le 4 hydroxyPro incorporé dans le collagène.

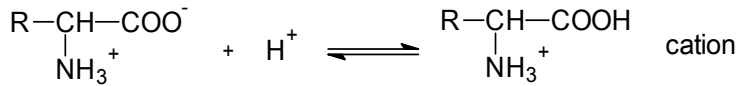
Tableau 01 : formule des amino-acides

Nature de R	Nb C	Formule de l'aa	Nom	Abréviation	aa polaires non chargés	Nature de R	Nb C	Formule de l'aa	Nom	Abréviation
Aliphatique	2	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Glycine ou glyocolle	Gly (G)		Peu ionisable	3	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	Sérine	Ser (S)
	3	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Alanine	Ala (A)		Alcool	4	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CHOH}-\text{CH}_3 \end{array}$	Thréonine	Thr (T)
	5	$\begin{array}{c} \text{CH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{HC} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	Valine	Val (V)		Thiol	3	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$	Cystéine	Cys (C)
	6	$\begin{array}{c} \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Leucine	Leu (L)		Amide	4	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CONH}_2 \end{array}$	Asparagine	Asn (N)
	6	$\begin{array}{c} \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$	Isoleucine	Ile (I)			5	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}_2 \end{array}$	Glutamine	Gln (Q)
Thioéther	5	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$	Méthionine	Met (M)		Phénol	9	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Tyrosine	Tyr (Y)
Aromatique	9	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	Phénylalanine	Phe (F)		Ionisable	4	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	Aspartate	Asp (D)
						Acide	5	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	Glutamate	Glu (E)
Hétérocyclique	11	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Indole} \end{array}$	Tryptophane	Trp (W)		aa chargés (-) aa chargés (+)	Basique	6	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2 \end{array}$	Lysine
					6		$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH} \end{array}$	Arginine	Arg (R)	
Alicyclique	5	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	Proline	Pro (P)	6		$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{C}(\text{NH})=\text{CH}-\text{N} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{CH} \end{array}$	Histidine	His (H)	

3. Propriétés acido-basiques ou ionisation des α aa :

Les aa sont des composés amphotères, on les appelle les ampholytes :

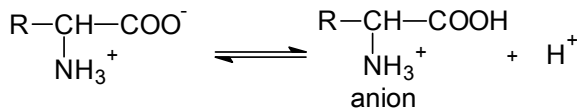
- En milieu acide ils acceptent les protons :



accepteur de proton

donneur de proton

- En milieu basique ils donnent les protons :

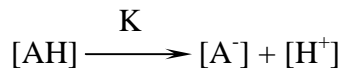


donneur de proton

accepteur de proton

La forme $\text{R}-\underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ est en même temps un donneur et un accepteur de proton, c'est un ion dipolaire ou Zwitterion

On mesure la constante de dissociation acide K de ce composé selon la réaction :



$$K = \frac{[\text{H}^+] \times [\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \Rightarrow K \times [\text{AH}] = [\text{H}^+] \times [\text{A}^-] \Rightarrow [\text{H}^+] = \frac{K \times [\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\text{Sachant que } \text{pH} = -\text{Log}[\text{H}^+] \Rightarrow \text{Log}[\text{H}^+] = \text{Log}K + \text{Log} \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]} \Rightarrow -\text{Log}[\text{H}^+] = -\text{Log}K - \text{Log} \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

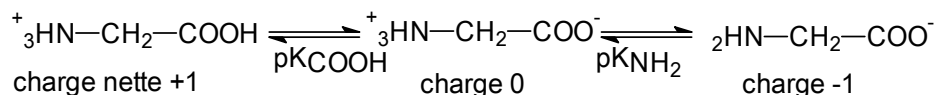
$$\text{pH} = \text{pK} + \text{Log} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \quad \text{A}^- \text{ forme basique accepteur / AH forme acide donneur}$$

$$\text{Pour que le } \text{pH} = \text{pK} \Rightarrow \text{Log} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} = 0, \text{ sachant que } \text{Log } 1 = 0 \Rightarrow \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} = 1 \Rightarrow [\text{A}^-] = [\text{AH}]$$

C'est la $\frac{1}{2}$ neutralisation et le pK est le pH de demi neutralisation ou demi titration.

3.1. Réactions d'ionisation :

En allant d'un pH très acide à un pH très basique nous pouvons schématiser l'évolution des charges comme suit :



A la forme Zwitterion correspond une valeur de pH appelée le point ou pH isoélectrique qui

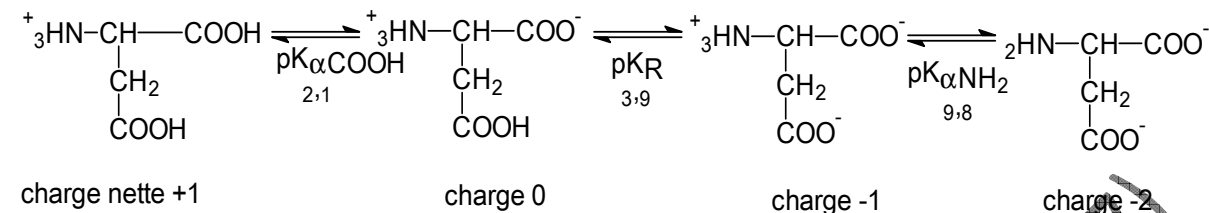
$$\text{est la moyenne arithmétique de } \text{pK}_{\alpha\text{NH}_2} \text{ et } \text{pK}_{\alpha\text{COOH}} \quad \text{pHi} = \frac{\text{pK}_{\alpha\text{COOH}} + \text{pK}_{\alpha\text{NH}_2}}{2}$$

Une aa se caractérise par 2 constantes de dissociation voir 3 :

- $\text{pK}_{\alpha\text{NH}_2} : 9 < \text{pK}_{\alpha\text{COOH}} < 10$

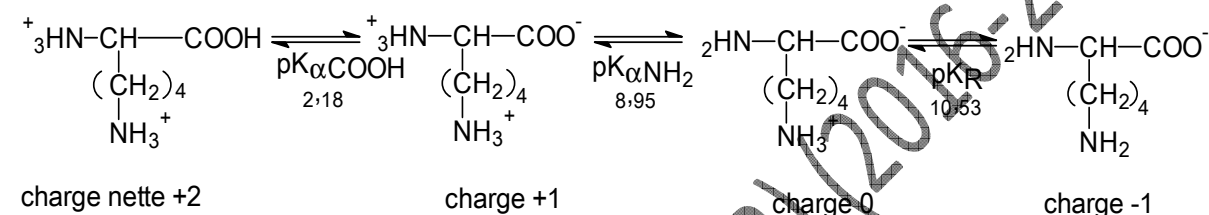
- $pK_{\alpha\text{COOH}} : 2 < pK_{\alpha\text{NH}_2} < 3$
- pK_R variable selon la nature du radical

3.1.1. Exemple 1 Acide Aspartique :



Dans ce cas $pHi = \frac{pK_{\alpha\text{COOH}} + pK_R}{2}$ car la forme zwitterion est entre $pK_{\alpha\text{COOH}}$ et pK_R

3.1.2. Exemple 2 Lysine :

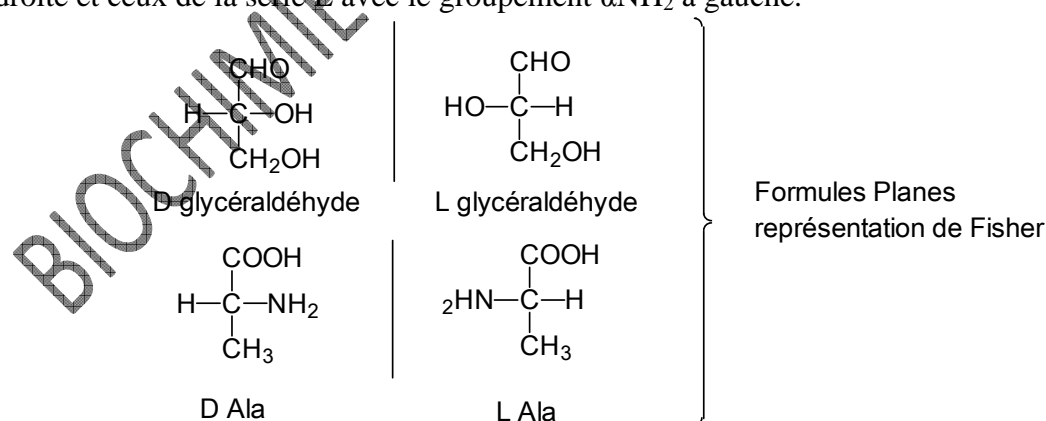


Dans ce cas $pHi = \frac{pK_{\alpha\text{NH}_2} + pK_R}{2}$ car la forme zwitterion est entre $pK_{\alpha\text{NH}_2}$ et pK_R

4. Propriétés physiques des acides aminés :

4.1. Isomérisie optique et pouvoir rotatoire (activité optique) :

4.1.1. Isomérisie optique : Tous les aa ont un Cα asymétrique (les 4 valences sont liées à des atomes ou des groupements chimiques différents) sauf la Gly qui a 2H sur le Cα. Ceci donne lieu à 2 configurations spatiales : la série D et la série L. on distingue ainsi pour chaque aa un isomère D et un isomère L, selon que la structure spatiale est identique à celle du D ou du L glycéraldéhyde. Par convention on écrit les aa de la série D avec le groupement αNH₂ à droite et ceux de la série L avec le groupement αNH₂ à gauche.



Ces 2 isomères optiques (stéréo-isomérisies) sont non superposables car l'un est l'image de l'autre par rapport à un miroir, mais les propriétés physicochimiques sont identiques (sauf le pouvoir rotatoire).

4.1.2. Pouvoir rotatoire : Certaines substances en solution mises sur le trajet d'un faisceau de lumière monochromatique (une seule couleur du spectre), ont la propriété de

dévier le plan de polarisation de la lumière selon un angle de déviation α . On dit que ces substances sont douées d'*activité optique*. Tous les aa ayant un C asymétrique (sauf la Gly) ont cette propriété :

- Lorsque le plan de polarisation est dévié vers la droite, ils sont Dextrogyre, le PR est précédé d'un signe +
- Lorsqu'il est dévié vers la gauche, ils sont Levogyre et le PR est précédé d'un signe -

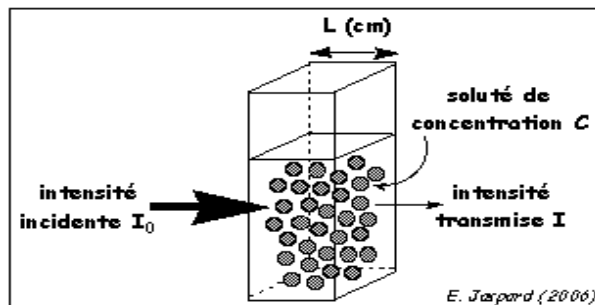
Remarques :

- L'appartenance à la série D ou L n'a rien avoir avec le PR.
- Les aa constitutifs des protéines sont tous de la série L. mais dans divers peptides bactériens notamment ceux qui entrent dans la constitution de la paroi cellulaire, ou encore dans certains peptides doués d'activité antibiotique on trouve des aa de la série D.
- Les dénominations L et D sont actuellement remplacées en chimie organique par les symboles S (du latin sinistrum : gauche) et R (rectum : droit).

4.2. Propriétés spectrales :

Les aa absorbent dans l'UV à 220nm ce qui présente peu d'intérêt car on ne peut pas les différencier sauf pour les aa présentant dans leur radical des chromophores (tel que le noyau phényle (Tyr) ou le noyau indole (Trp), permettant ainsi le dosage spectrophotométrique des protéines.

Principe de la spectrophotométrie : Lorsqu'une lumière monochromatique d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s).



Loi de Beer Lambert : $DO = \epsilon L C$

- DO (sans unité) est l'absorbance ou la densité optique de la solution pour une longueur d'onde λ
- C (en mol.l^{-1}) est la concentration de l'espèce absorbante
- l (en cm) est la largeur de la cuve
- ϵ est le coefficient d'extinction molaire ou pondéral de l'espèce absorbante en solution.

(dépend de la longueur d'onde λ)

-Si la concentration du soluté est en M (ou mol.l^{-1}) ϵ est en $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et on l'appelle **coefficient d'extinction molaire : ϵ_M**

-Si la concentration du soluté est en % (masse/volume), ϵ est en $\text{g}^{-1}.\text{l}.\text{cm}^{-1}$ et on l'appelle **coefficient d'extinction pondéral : $\epsilon_{1\%}$**

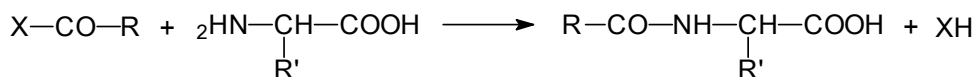
4.3. Solubilité :

Les aa sont solubles dans l'eau et les solvants polaires (alcools) et insolubles dans les solvants apolaires (benzène, hexane, éther).

5. Propriétés chimiques des aa :

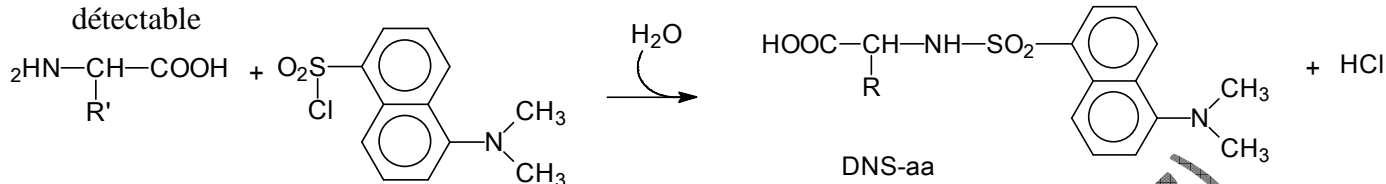
5.1. Propriétés dues au groupement αNH_2 :

5.1.1. N acylation : Formation de dérivés N-acylés avec les halogénures (iodes, chlore, brome) et les anhydrides d'acide carboxylique (gaz carbonique O-COR')

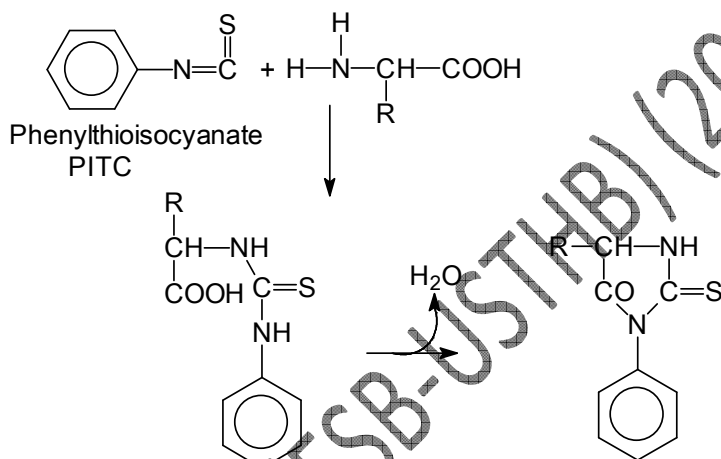


Dérivé N-acylé

5.1.2. Réaction de Dansylation : le résultat est un composé fluorescent donc facilement détectable

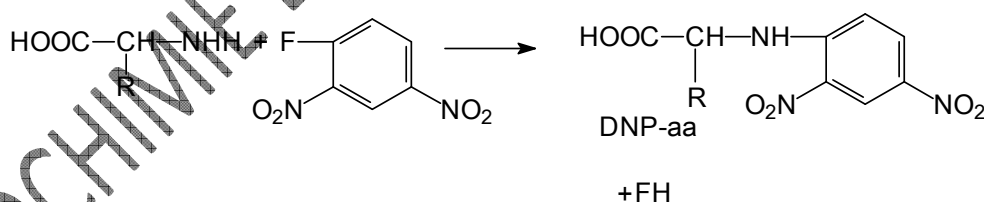


5.1.3. Réaction d'EDMAN : Les thiocyanates et isothiocyanates vont réagir avec la fonction N pour donner en milieu alcalin un dérivé N phényl thiocarboxylé, en milieu acide ce dernier se cyclise pour donner du phenylthiohydantoïne facile à identifier.

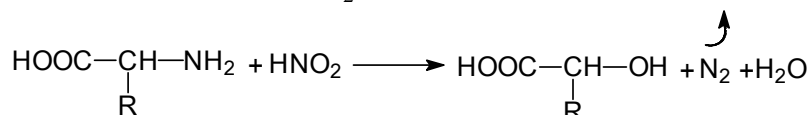


PTH-aa: Phenylthiohydantoïne

5.1.4. Réaction de Sanger : Le 2,4-dinitrofluorobenzène (DNFB) réagit facilement avec la fonction amine pour former le 2,4 dinitrophenyl-aa (DNP-aa)



5.1.5. Désamination : cette réaction utilise l'acide nitreux, cette réaction est à la base du dosage des aa par mesure du volume de N₂ libéré

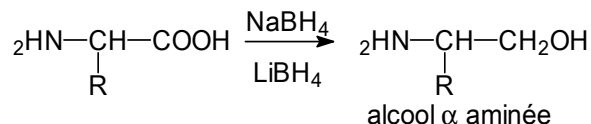


5.1.6. Dérives fluorescent : La fluorescamine est un composé qui réagit avec l'amine primaire pour former des substances fortement fluorescentes. La réaction est rapide et le composé fluorescent est en quantité strictement proportionnelle au nombre de fonctions amines.

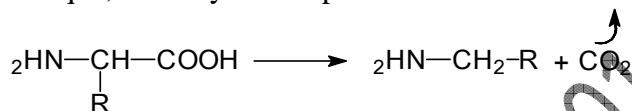
5.1.7. Réaction de désamination enzymatique : certaines enzymes sont capables de désaminer la fonction α amine des aa.

5.2. Réactions dues au groupement α COOH :

5.2.1. Formation d'alcool α aminé : Le NaBH_4 ou le LiBH_4 réduit le carboxyle en fonction alcool primaire. La réduction s'effectue plus facilement sur les fonctions esters.

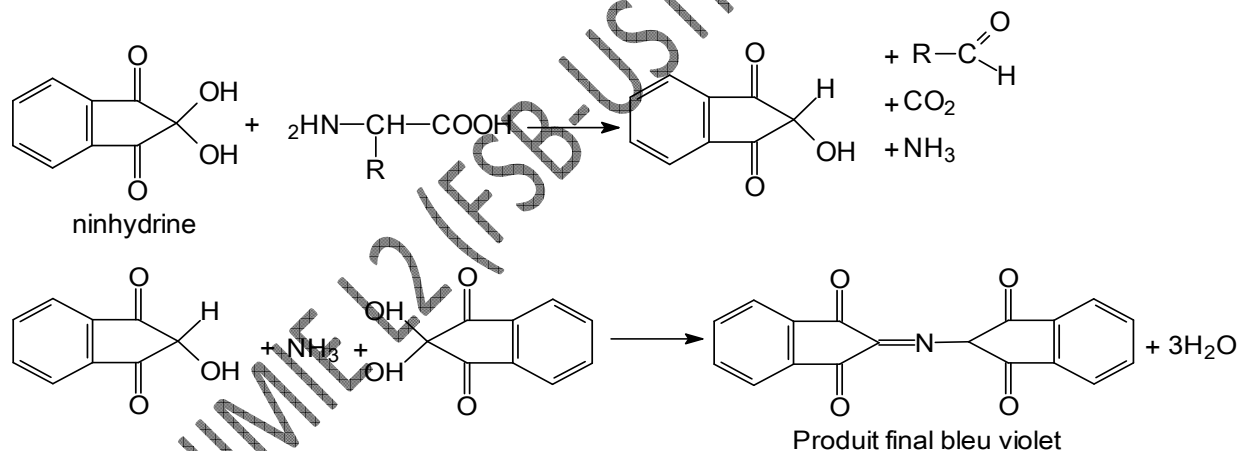


5.2.2. Réaction de décarboxylation : Cette réaction donne lieu à une amine, elle est possible par voie enzymatique, les enzymes responsables sont les decarboxylases



5.3. Réactions dues aux groupements COOH et NH_2 simultanément :

Réaction à la ninhydrine : la ninhydrine est un agent oxydant puissant, par chauffage les aa réagissent avec 2 molécules de ninhydrine pour donner un composé coloré en pourpre (αNH_2 libre) jaune pour la Pro et l'hydroxyPro (αNH_2 non libre)

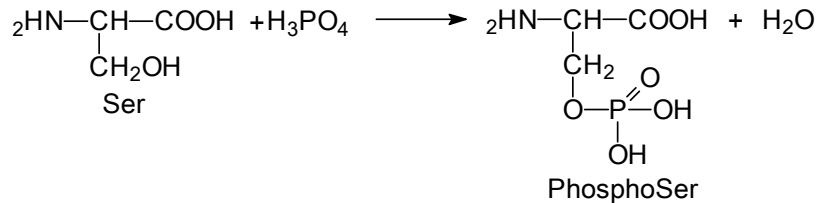


5.4. Réactions dues au radical :

5.4.1. Carboxyle supplémentaire : le 2ème COOH de l'Asp, Glu confère une acidité supplémentaire abaissant ainsi le pHi de l'aa.

5.4.2. Fonction amine supplémentaire : les 3 aa diamines (His, Lys, Arg) ont une fonction N supplémentaire, ce qui renforce leur basicité.

5.4.3. Fonction alcool : la fonction alcool primaire dans la Ser et secondaire dans la Thr permet l'esterification des chaînes latérales essentiellement par l'acide phosphorique (H_3PO_4^-) pour donner la phosphoSer ou la phosphoThr :



6. Séparation d'un mélange d'aa :

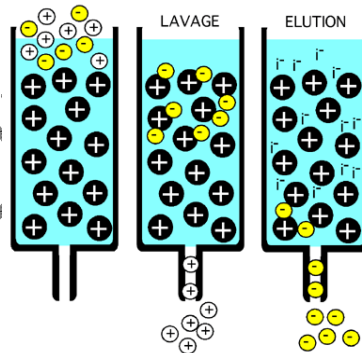
6.1. Chromatographie par échange d'ion :

6.1.1. Définition :

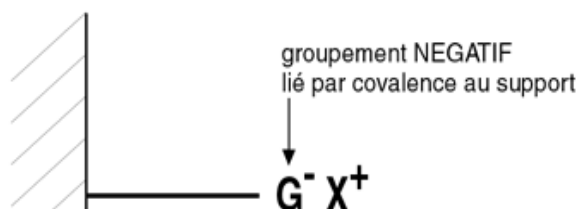
La chromatographie, méthode d'analyse physico-chimique, sépare les constituants d'un mélange (les solutés) par entraînement au moyen d'une **phase mobile** (liquide ou gaz) le long d'une **phase stationnaire** (solide ou liquide fixé), grâce à la (ré) partition sélective des solutés entre ces deux phases. Chaque soluté est donc soumis à une force de rétention (exercée par la phase stationnaire) et une force de mobilité (due à la phase mobile).

6.1.2. Chromatographie échangeuse d'ions :

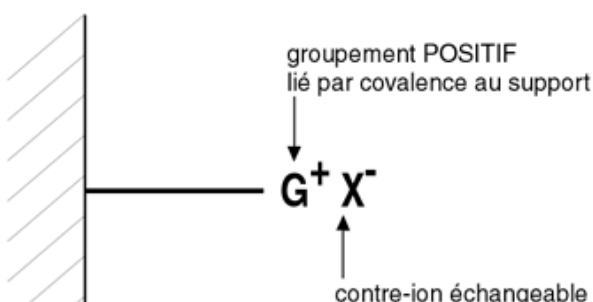
La chromatographie par échange d'ions se pratique le plus souvent sur colonne. La phase stationnaire porte des charges ioniques qui retiennent les molécules de charges opposées. Les phases stationnaires généralement utilisées sont le DiEthylAminoEthyl Cellulose (**DEAE-Cellulose**) qui est chargé positivement (chromatographie échangeuses d'anions) et la CarboxyMéthyl Cellulose (**CM-Cellulose**) et la Phosphocellulose qui sont chargées négativement (chromatographie échangeuse de cations). La force d'association entre les molécules chargées et la phase stationnaire dépend de la **force ionique** et du **pH** de la solution d'élution.



Résine échangeuse de cations (cationique) :



Résine échangeuse d'anions (anionique) :

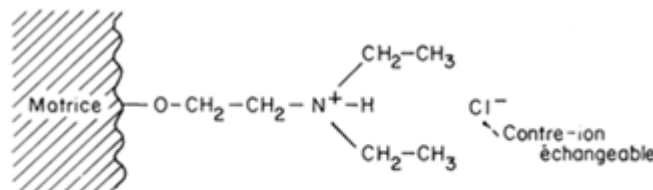


- 1- Les aa doivent être chargés positivement donc les mettre dans une solution à pH acide ($\text{pH} < \text{au plus petit pHi du mélange d'aa}$)
- 2- Elution se fait avec un gradient de pH croissant
- 3- L'ordre d'élution : les aa sortent selon un ordre croissant de leur pHi (du plus petit au plus grand)

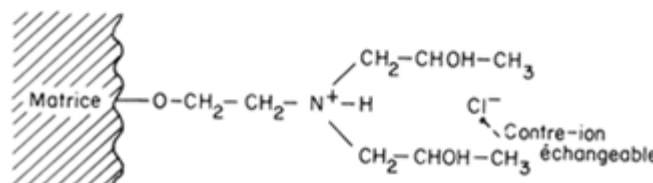
- 1- Les aa doivent être chargés négativement donc les mettre dans une solution à pH basique (pH > au plus grand pHi du mélange d'aa)
- 2- Elution se fait avec un gradient de pH décroissant
- 3- L'ordre d'élution : les aa sortent selon un ordre décroissant de leur pHi (du plus grand au plus petit)

Echangeurs anioniques Sephadex :

- le DEAE-polyoside (diéthylaminoéthyle), échangeur anionique faible :

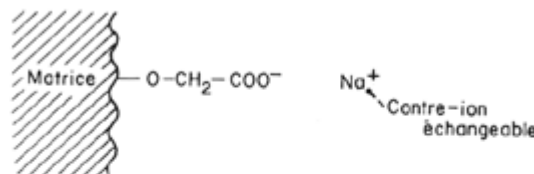


- le QAE-polyoside (quaternaire aminoéthyle), échangeur anionique fort :

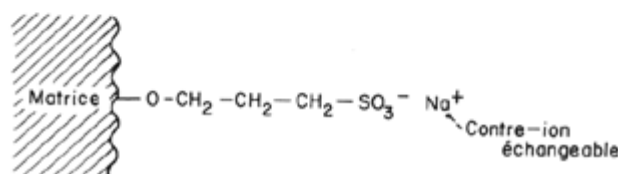


Echangeurs cationiques Sephadex :

- le CM-polyoside (carboxyméthyle) : échangeur cationique faible :



- le SP-polyoside (sulfopropyle) : échangeur cationique fort :



6.2. Chromatographie sur papier :

Dans la chromatographie sur papier la phase stationnaire est représentée par une feuille de cellulose. Les solvants de la **phase mobile** migreront par capillarité tout au long de la **phase stationnaire**. La séparation des composés d'un mélange est due aux différences de **solubilité** entre les deux phases c'est à dire de leur affinité pour l'une ou l'autre des phases. Tout dépend de leur **coefficient de partage**. Le **coefficient de partage** (K) d'un composé entre les 2 phases correspond à : $K = \frac{\text{(concentration dans la phase stationnaire)}}{\text{(concentration dans la phase mobile)}}$.

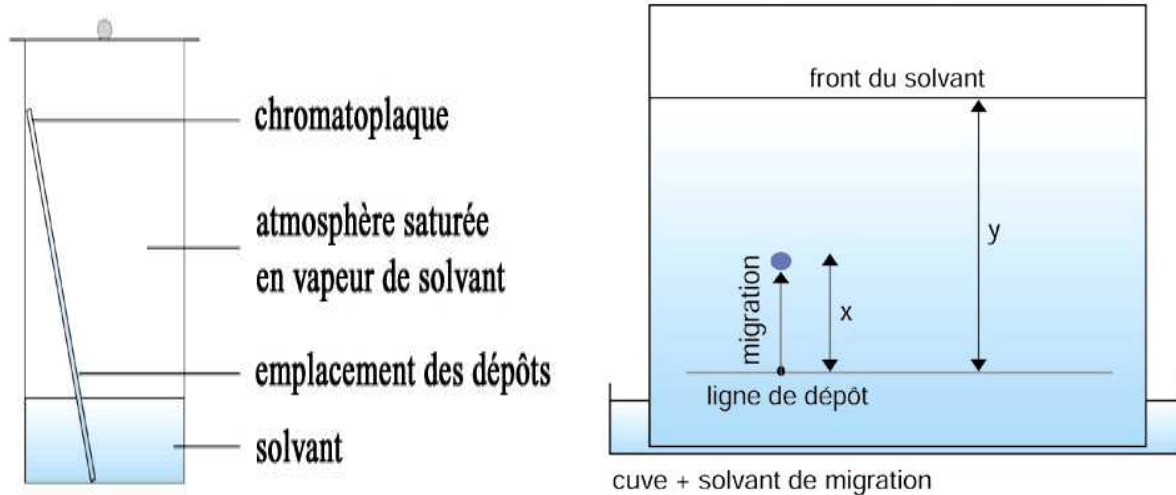


Schéma d'une chromatographie sur papier ou sur couche mince

Rapport frontal.

Rapport frontal : On appelle rapport frontal, R_F (ou référence front, coefficient de migration), le rapport suivant :

Distance parcourue par le soluté / Distance parcourue par le solvant

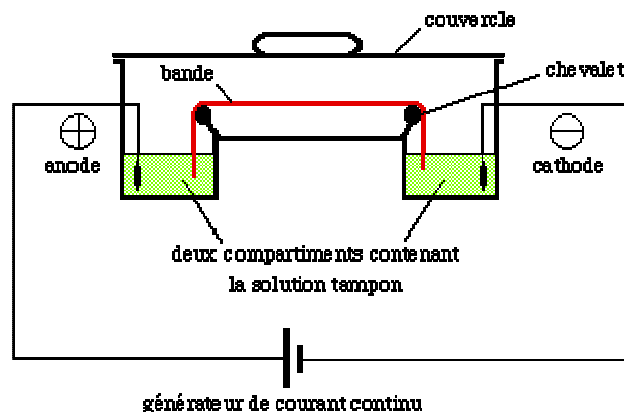
Le rapport frontal est donc égal à :

$$R_F = \frac{x}{y} \quad (R_F < 1)$$

Un soluté très soluble dans la phase fixe aura un R_F faible ; très soluble dans la phase mobile, son R_F sera élevé et proche de 1.

6.3. Electrophorèse sur papier :

L'électrophorèse a pour but de séparer des molécules chargées par migration différentielle sous l'effet d'un champ électrique. Les molécules se déplacent vers le pôle de charge opposée à leur charge.



La charge de la particule est fonction du pH_i et du pH du solvant : on appelle pH isoélectrique d'une particule (pH_i ou pI) le pH pour lequel cette particule a une charge globale nulle et ne migre pas dans un champ électrique.

si $pH > pH_i$	charge nette négative (anion)	migration vers l'anode
si $pH < pH_i$	charge nette positive (cation)	migration vers la cathode
si $pH = pH_i$	charge nette nulle	pas de migration

BIOCHIMIE L2 (FSB-USTHB) (2016-2017)