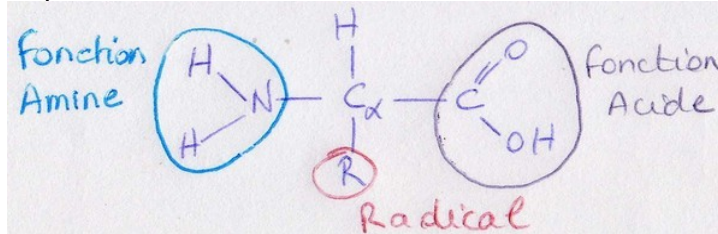


Les Acides Aminés

Les protéides sont les composés organiques les plus abondants dans la cellule (plus de 50% du poids sec). Ils jouent un rôle prédominant dans le fonctionnement cellulaire. Ils sont constitués de molécules élémentaires: les Acides Aminés (AA).

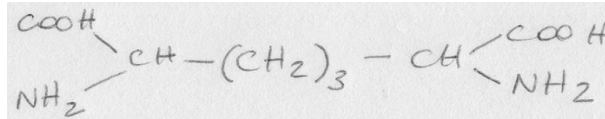
1. Formule Générale

Un « Acide Aminé » est par définition un acide avec une fonction amine:



Il existe 20 AA courants faisant partis des protéines naturelles. Par définition, ils possèdent une fonction acide carboxylique et une fonction amine liées sur le Carbone alpha. Certains AA sont « essentiels » cad que l'organisme humain est incapable de les synthétiser et que donc l'alimentation doit nous les fournir.

Il existe en plus des 20 AA essentiels, des AA « particuliers » comme par exemple le DAP: acide DiAminoPimélique de formule:



2. Classification

Il existe plusieurs types de classification, on peut notamment les classer suivant la nature cyclique ou linéaire du radical. On dit que les AA sont soit « aliphatiques » cad avec un radical linéaire, soit cyclique.

On distingue les AA non-polaires (apolaire = hydrophobe) = pas de liaisons avec l'H₂O au niveau du radical.

Les AA polaires, quant à eux peuvent former des liaisons avec l'eau. Soit des liaisons hydrogènes = polaires non chargées, soit des liaisons ioniques = polaires chargées.

AA acides ou AA basiques en fonction du pH.

3. Propriétés Physiques des AA

• Leur solubilité

La solubilité dépend de la nature du radical (R). Plus la chaîne apolaire est longue, plus la solubilité est diminuée (l'hydrophobicité augmente).

Elle dépend également du pH dans lequel l'AA est placé. Au pHi la solubilité est minimale.

Enfin elle dépend de la concentration en ion ([ions]) de la solution. Plus il y a d'ions, plus la solubilité diminue.

• L'absorption dans l'UV

Si l'on se place à $\lambda=280\text{nm}$ alors on peut doser les AA aromatiques (cad avec un cycle).

On peut alors doser les protéines au spectrophotomètre.



Cycle aromatique

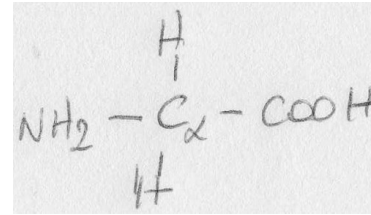
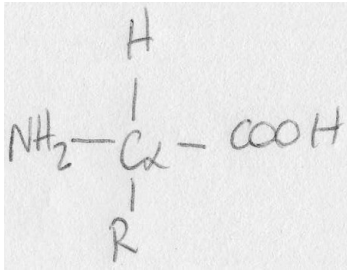
• Pouvoir rotatoire

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 ».



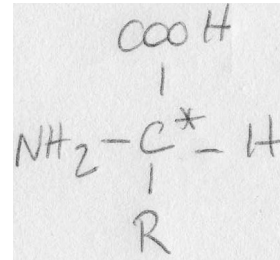
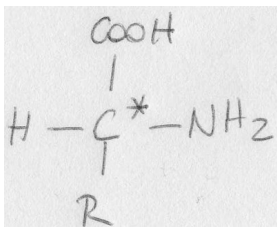
Glycine

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

Configuration spatiale:

Un composé présentant un C* peut être représenté de 2 façons selon la « Représentation de Fisher ». Ces 2 représentations sont appelées « Enantiomères » (=car particuliers des stéréoisomères). Ces deux composés sont images l'une de l'autre dans un miroir mais ne sont pas superposables.

Règles de représentation: COOH toujours en haut, R en bas.



Si NH₂ à droite, l'AA appartient à la série D

Si NH₂ à gauche alors l'AA appartient à la série L

Tous les AA naturels appartiennent à la série L.

Rmq: le pouvoir rotatoire est une donnée physique, non prévisible a priori, il faut l'étudier expérimentalement.

Il n'y a aucun lien entre la série D et le terme dextrogyre comme il n'y a aucun lien entre la série L et le terme lévygyre (et vice versa).

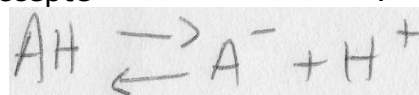
4. Propriétés d'ionisation

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⁺).

Une base " " accepte " "



Cet équilibre répond à une constante de dissociation K_A:

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

On pose pK_A = - log K_A

On sait que pH = - log [H⁺]

Si [A⁻] = [AH] <=> K_A = [H⁺] <=> pH = pK_A

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

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

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

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

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

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

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

$$pH = pK_A + \log ([A^-] / [AH])$$

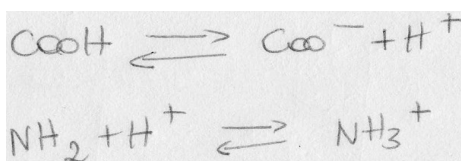
Equation d'Henderson - Hasselbalch

A^- = accepteur de protons

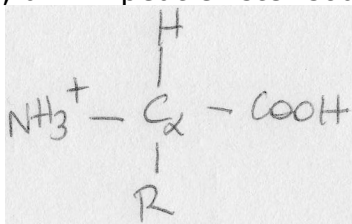
AH = donneur de protons

- **Ionisation de groupement COOH et NH2 des AA**

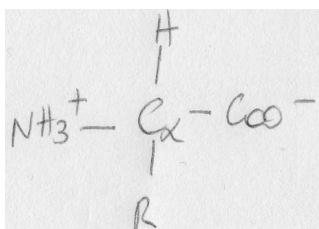
Les fonctions COOH et NH2 sont les uniques fonctions ionisables des AA. Chaque s'ionise de la façon suivante:



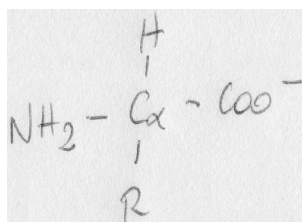
En solution, un AA peut exister sous plusieurs ionisations en fonction du pH de la solution.



A^+

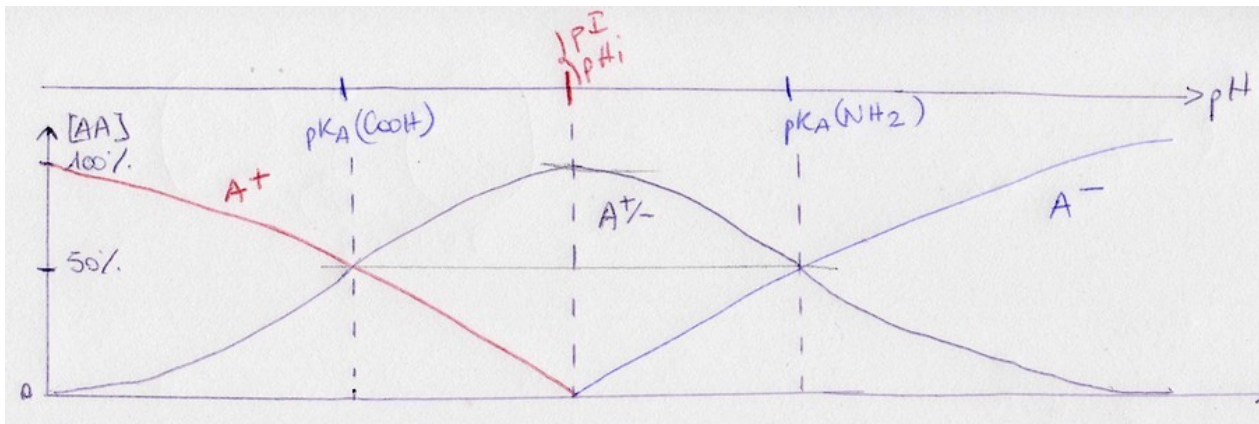
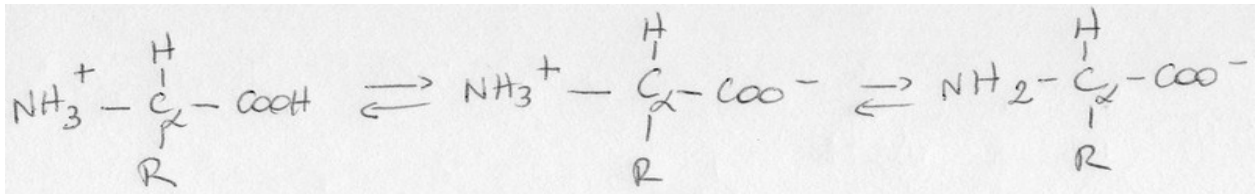


$A^{+/-}$



A^-

Un AA ne peut exister en solution que sous une de ces trois formes ci-dessus. Donc la forme $NH_2-CH-COOH$ avec le radical est la forme dite solide.



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

=> Qd $pH = pK_A \Leftrightarrow A = B \Leftrightarrow A^{+/-}$

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

=> Qd $pH = pHi$, la solution est globalement neutre.

• Notion de pHi

C'est le pH dit « isoélectrique » cad le pH 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 pHi:

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

couple: COOH/COO^- $pK_1: pH = pK_1 + \log \frac{[A^-]}{[A^{+/-}]}$ [1]

couple: $\text{NH}_2/\text{NH}_3^+$ $pK_2: pH = pK_2 + \log \frac{[A^{+/-}]}{[A^+]}$ [2]

On additionne [1] et [2]:

$$2pH = pK_1 + pK_2 + \log \frac{[A^-]}{[A^{+/-}]} + \log \frac{[A^{+/-}]}{[A^+]}$$

$$2pH = pK_1 + pK_2 + \log \left(\frac{[A^-]}{[A^{+/-}]} \times \frac{[A^{+/-}]}{[A^+]} \right)$$

$$2pH = pK_1 + pK_2 + \log \frac{[A^-]}{[A^+]}$$

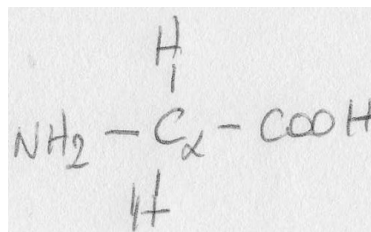
Or on a $pH = pHi \Leftrightarrow [A^-] = [A^+]$

$$2pHi = pK_1 + pK_2$$

$$pHi = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$$

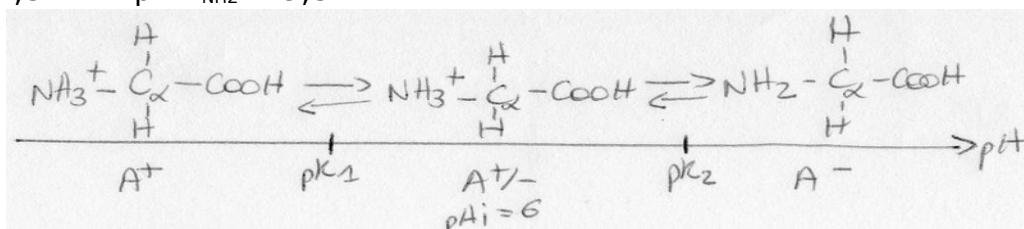
Exemple du Glycocolle:

Formule:



$pK_1_{\text{COOH}} = 2,5$

$pK_2_{\text{NH}_2} = 9,5$



Montrer qu'à pHi la forme ultramajoritaire est la forme A^{+/-}

A un pH donné on a: $|A^+| + |A^{+/-}| + |A^-| = 100\%$

$pHi = pK1 + \log(|A^{+/-}|/|A^+|)$

En plus à pHi: $|A^+| = |A^-|$

$6 - 2,5 = \log(|A^{+/-}|/|A^+|) = 3,5$

$\Rightarrow 10^{3,5} = |A^{+/-}|/|A^+| \Rightarrow$ environ $|A^{+/-}| = 3000 |A^+|$

Or si on remplace dans $|A^+| + |A^{+/-}| + |A^-| = 100\%$

$|A^+| + 3000 |A^+| + |A^+| = 100$

$3002 |A^+| = 100$

$|A^+| = 0,003\% \Rightarrow$ donc $|A^{+/-}|$ majoritaire.

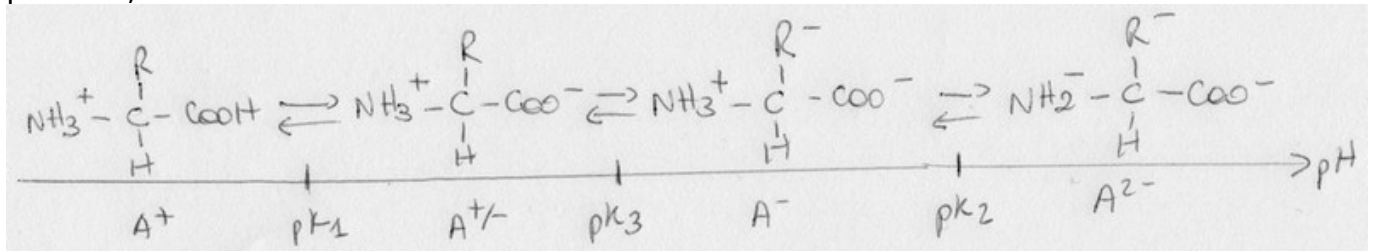
Exemple de l'Acide Aspartique (Asp):

Cet acide a trois fonctions ionisables:

pK1 = 2,3 C-COOH

pK2 = 9,7 C-NH₂

pK3 = 3,9 C-R



Le pHi est dans A^{+/-} : $pHi = \frac{1}{2} (2,3 + 3,9) = 3,1$.

Pour les AA dont le Radical s'ionise, et qui sont dits "acide" (Asp et Glu), on montre que:

$pHi = \frac{1}{2} (pK1 + pKR)$

Montrer qu'au pHi, la forme A²⁻ est négligeable.

$pHi = pKNH_2 + \log(|A^{2-}| / |A^-|)$

$3,1 = 9,7 + \log(|A^{2-}| / |A^-|)$

$|A^{2-}| = 10^{-6,6} |A^-|$

$pHi = pKR + \log(|A^-| / |A^{+/-}|)$

$|A^-| = 10^{-0,8} = 0,158 |A^{+/-}|$

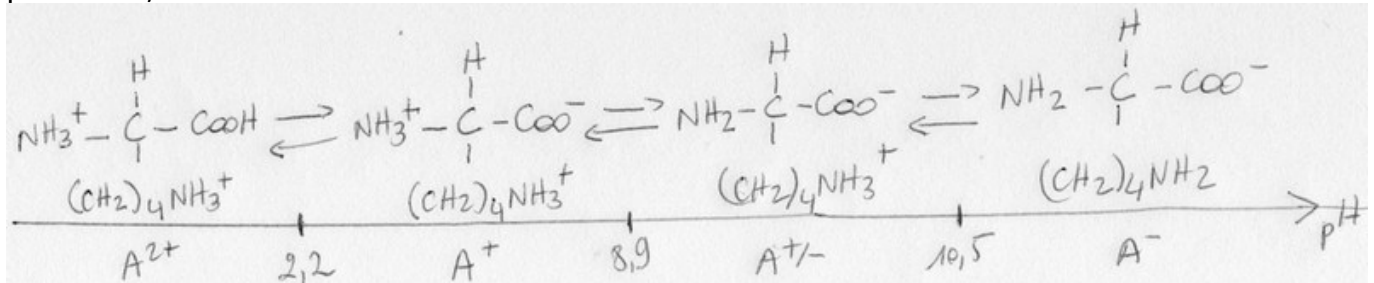
Donc $|A^{2-}|$ au pHi est ultraminoritaire.

Exemple de la Lysine (Lys):

pK1 = 2,2 C-COOH

pK2 = 8,9 C-NH₂

pK3 = 10,5 C-R



Pour tous les AA avec un R dit "basique", on montre:

$pHi = \frac{1}{2} (pK2 + pKR)$

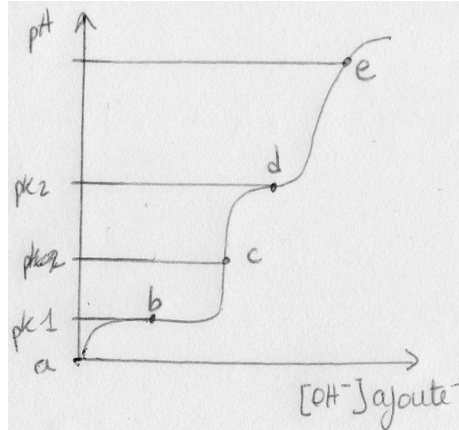
• Conséquences de l'ionisation des AA

Courbe de Titrage

Il est possible de doser des AA par pHmétrie. En solution (aqueuse) pour pouvoir étudier toutes les fonctions présentes, il est indispensable de rendre la solution très acides par ajout d'un acide fort (H₃O⁺Cl⁻). L'AA est alors dit sous forme chlorhydrate » cad chargé +

(A⁺ ou A²⁺).

Ensuite on ajoute une solution de soude concentrée. Chaque addition est suivie de la mesure du pH.



Courbe de neutralisation

On observe 3 zones dont 2 zones de faible pente 1 et 3.

Dans la zone 1: pH acides, l'addition de soude neutralise progressivement les protons issus de la fonction dont le pK est le plus faible, cad la fonction C-COOH.

Quand la fonction est titrée à 50%, la [COOH] = [COO⁻] et donc le pH = pK1.

La courbe de titration possède une pente faible autour de pK1 cad que le pH varie peu malgré l'ajout de base. Cette propriété est largement utilisée lors de la préparation de solutions tampons.

Dans la zone 3: on observe la titration des protons venus de la dissociation de la fonction NH³⁺. La demi titration correspond à pH = pK2. Il y a également une pente faible autour de pK2.

La zone 2: ici pente la plus forte. Elle représente la fin de la titration de la fonction -COOH et le début de la titration de la fonction -NH³⁺. C'est dans cette zone que l'on rencontre la plus forte concentration de zwitterion.

On remarque: la courbe de titration des AA dont le R est ionisable fera apparaître une autre zone de titration.

Le pouvoir tampon

Une solution tampon est une solution dont le pH varie peu soit pas 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.

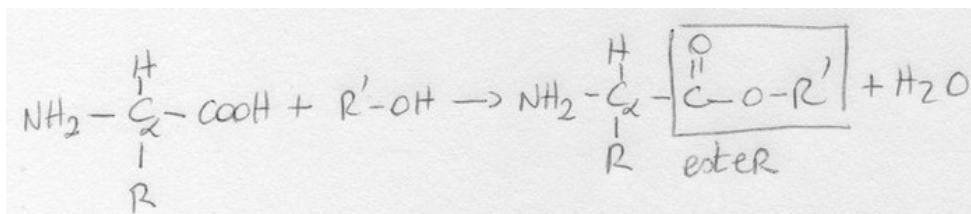
Pour choisir un tampon il faut que le couple A/B ait un pKA le plus proche possible du pH que l'on souhaite maintenir.

5. Autres propriétés chimiques

• Dues à la fonction -COOH

Estérification

AA + Alcool => Ester + Eau



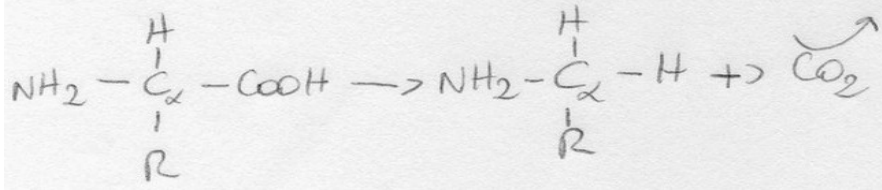
C'est une réaction pour séparer les AA des mélanges car les esters obtenus sont volatiles et

peuvent être alors distillés.

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

Réaction de Décarboxylation

AA => Amine + CO₂



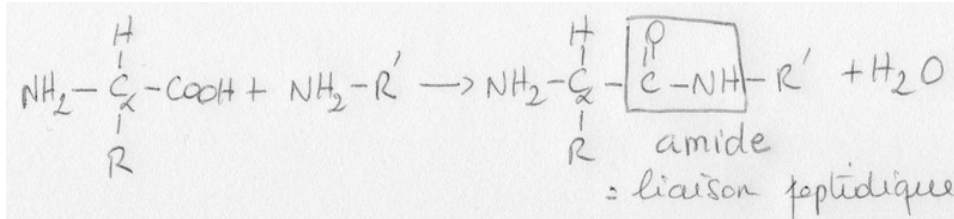
Exemple: Lysine décarboxylase = enzyme.

Les amines formées peuvent être toxiques.

Lysine => cadavérine (lors de la putréfaction)

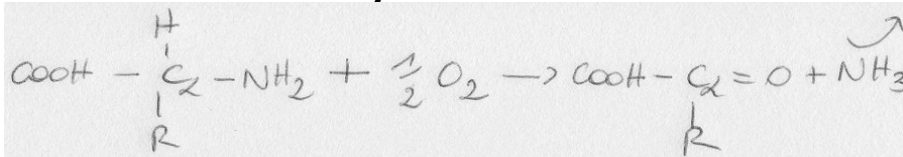
Amidification

AA + Amine => Amide + Eau



- Dues à la fonction -NH₂

Désamination oxydative

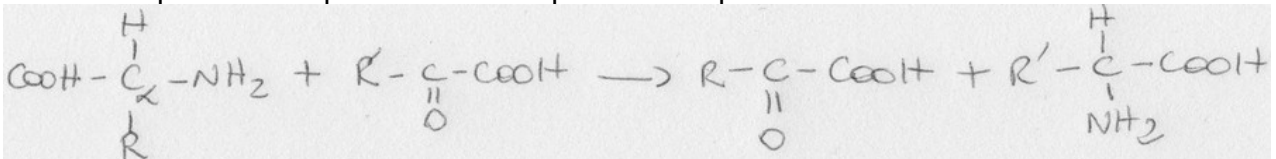


Ex: TDA (Thryptohane Désaminase)

Transamination

C'est le transfert directe du groupe NH₂ sur un acide alpha-cétonique sous l'action d'aminotransférase / de transaminase.

AA + Acide alpha-cétonique => Acide alpha-cétonique + AA



- Dues au Radical

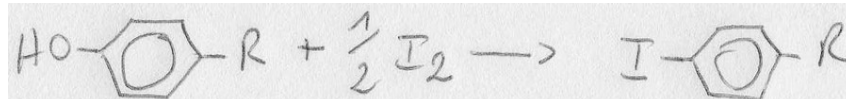
Fonction Alcool

Il s'agit d'une estérification comme précédemment mais l'AA est l'alcool et on lui ajoute un acide.

Ex: synthèse du Phosphate.

Noyau phénol

Cycle benzénique + OH.



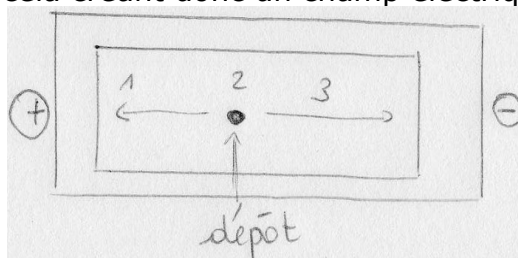
6. Méthodes de fractionnement / séparation des AA

Ces méthodes ont pour but de séparer les AA d'un mélange. Les deux méthodes les plus utilisées sont: l'électrophorèse et la chromatographie.

• Électrophorèse

Il s'agit d'une technique basée sur la séparation des AA selon la charge en fonction d'un pH donné.

Sur un support on effectue un dépôt du mélange. On place ce support dans une cuve contenant une solution tampon à un pH donné. On applique à chacune des bornes de la cuve, une charge différente cela créant donc un champ électrique.



+: pH < pHi
neutre: pH = pHi
- : pH > pHi

Les AA migrent sur le support, sous l'effet du champ électrique. Suivant leur pHi et le pH de la solution tampon, ils migreront vers l'anode ou la cathode ou ne migreront pas du tout. Après migration on peut effectuer une révélation à la ninhydrine. Le résultat est une « électrophorégramme ».

La migration est d'autant plus rapide que la différence entre le pH de la solution et le pHi des AA est forte.

• Chromatographie

Il s'agit d'une technique de séparation utilisant deux phases: une phase fixe (= stationnaire) et une phase mobile.

La phase mobile peut-être liquide ou gazeuse; la phase fixe peut-être liquide ou solide.

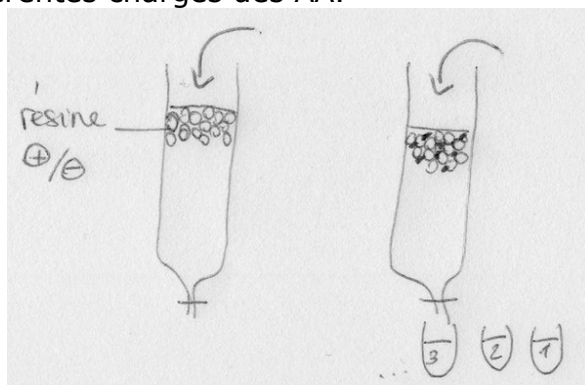
Des interactions physico-chimiques s'établissent entre la phase fixe et les molécules à séparer. Ces réactions dépendent de la nature des AA.

Lors de la chromatographie, chaque molécule sera soumise à une force de rétention vis-à-vis de la phase fixe, et d'une force d'entraînement vis-à-vis de la phase mobile.

La résultante de ces deux forces varie d'un AA à l'autre. Chacun migrera donc à une vitesse qui lui est propre. On parle de « migration différentielle ».

Chromatographie « Echangeuse d'ions »:

Elle tient compte des différentes charges des AA.



On remplit la colonne avec la résine chargée. Le mélange d'AA est placé à la surface de la résine. Ce mélange est caractérisé par un pH donné. A ce pH, les AA du mélange peuvent-être, selon leur pHi, chargés + ou - ou neutre.