

UNIVERSITÉS CONSTANTINE 3

FACULTÉ DE MÉDECINE

PREMIERE ANNÉE MÉDECINE

MODULE DE BIOCHIMIE

## **LES ACIDES AMINES**

### **PLAN DU COURS (2 Séances)**

- I. **DEFINITION /STRUCTURE /ORIGINE**
- II. **IMPORTANCE BIOLOGIQUE**
- III. **CLASSIFICATION**
- IV. **NOMENCLATURE DES ACIDES AMINES**
  - A. **LES ACIDES AMINES STANDARDS**
  - B. **AUTRES ACIDES AMINES**
- V. **PROPRIETES DES ACIDES AMINES**
  - A. **PROPRIETES PHYSIQUES**
  - B. **PROPRIETES CHIMIQUES**
- VI. **METHODES D'ETUDE DES ACIDES AMINES**

### **OBJECTIFS PEDAGOGIQUES**

- **Connaitre la structure des acides aminés standards**
- **Décrire les principales propriétés physico-chimiques**
- **Connaitre les méthodes d'étude d'acides aminés**



❖ **I. DEFINITION :** Les Acides aminés sont les constituants fondamentaux des protéines, Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés. On distingue :

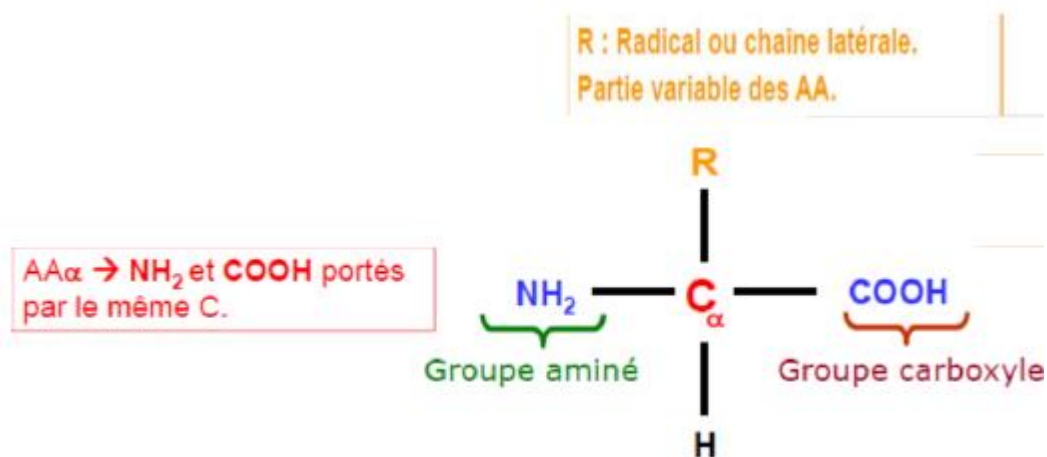
**A- Les acides aminés standards ou acides aminés naturels :** 20 différents acides aminés protéinogènes, constitutifs des protéines et des peptides.

**B- Les acides aminés non standards :** ce sont soit

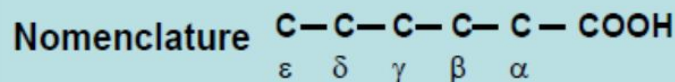
- **Les acides aminés non protéinogènes ou Aa modifiés :** acides aminés d'une protéine modifiés après la traduction. **Exemples :** hydroxyproline, hydroxylysine, phosphosérine.
- Des **intermédiaires du métabolisme**, des **éléments de construction** d'autres molécules (lipides, coenzymes) ou encore des **molécules actives**. **Exemples :** ornithine et la citrulline intermédiaires du cycle de l'urée

✚ **STRUCTURE :** Les acides aminés ou acides  $\alpha$ -aminés sont des molécules de qui ont un motif structural commun :

- Une fonction acide : carboxylique COOH.
- Une fonction basique : amine primaire NH<sub>2</sub>.
- Une chaîne latérale ou « Radical » R variable d'un acide aminé à l'autre.
- Un Carbone  $\alpha$  « alpha ».



- C'est la nature du radical R qui différencie les acides aminés.
- Par convention les carbones des acides organiques sont désignés par une lettre grecque à partir du carbone porteur de la fonction carboxylique



- l'acide aminé possède un squelette hydrocarboné avec deux groupements fonctionnels

✚ **ORIGINE DES ACIDES AMINES :** est double

- **Exogène ou Alimentaire :** protéines animales et végétale.
- **Endogène :** synthétiser par l'organisme ou par dégradation des protéines endogènes

## II. Importance biologique : le rôle des acides aminés est multiple

- **Structurale** : monomères des protéines.
- **Métabolique** : précurseurs de molécules d'intérêt biologique ou intermédiaires métabolique.
- **Rôle énergétique** : substrats énergétiques.
- **Neurotransmetteurs cérébraux.**
- **Maintien de la balance azoté.**

**III. Classification des acides aminés standards** : les acides aminés peuvent être classés selon plusieurs critères :

#### 1. Selon la structure de la chaîne latérale R

##### ❖ Acides aminés aliphatiques

- **Acides aminés linéaires** : Glycine, Alanine.
- **Acides aminés hydroxylés** : Sérine, Thréonine.
- **Acides aminés ramifiés** : Valine, Leucine, Isoleucine.
- **Acides aminés soufrés** : Cystéine, Méthionine.
- **Acides aminés à fonction acide Dicarboxylique** : Acide glutamique, Acide Aspartique.
- **Acides aminés à fonction amide** : Glutamate, Asparagine.
- **Acides aminés à fonction basique diamine** : Lysine, Arginine, Histidine.

##### ❖ Acides aminés cycliques :

- **Acides aminés aromatiques** : Phénylalanine, Tryptophane, Tyrosine.
- **Acide  $\alpha$  iminé** : Proline.

#### 2. Selon la polarité de la chaîne latérale R ou la charge

- A. Acides aminés hydrophobes ou Acides aminés non polaires ou Acides aminés apolaires** : Glycine, Alanine, Valine, Leucine, Isoleucine, Méthionine, Phénylalanine, Tryptophane, Proline.
- B. Acides aminés Hydrophiles ou Acides aminés polaires** : 3 types

- **Non chargés** : Sérine, Thréonine, Asparagine, Glutamine, Tyrosine, Cystéine.
- **Positivement chargés** : Lysine, Arginine, Histidine.
- **Négativement chargés** : Acide glutamique, Acide aspartique.

#### 3. Selon l'essentialité des acides aminés :

- ❖ **Acides aminés essentiels** : ne sont pas synthétisés par l'organisme, sont source alimentaire et au nombre de 8 chez l'homme : Leucine, isoleucine, méthionine, thréonine, lysine, valine, tryptophane, phénylalanine.
- ❖ **Acides aminés non essentiels** : ils peuvent être synthétisés par l'organisme : glycine, alanine, cystéine, sérine, Acide glutamique, Acide aspartique, arginine, histidine, tyrosine, proline, asparagine, glutamine.
- ❖ **Acides aminés Semi-essentiels** : dans certaines conditions les acides aminés non essentiels peuvent devenir indispensables c'est le cas de :
  - L'histidine et arginine sont des acides aminés essentiels chez l'enfant (croissance) et chez la femme gestante.
  - L'arginine est essentielle chez le nourrisson.

#### 4. Selon qu'ils soient glucoformateurs ou cétoènes : 3 types

- **Acide aminé glucoformateur strict :**
  - Est dégradé en pyruvate ou intermédiaires du cycle de Krebs.
  - Susceptible d'être converti en glucose (néoglucogenèse).
- **Acide aminé cétoène strict :**
  - Est dégradé en acétyl-CoA ou Acétoacétyl-CoA
  - Susceptible d'être converti en acides gras ou corps cétoniques.
- **Acide aminé glucoformateur et cétoène.**

Aa glucoformateurs stricts	Glycine, Alanine, Isoleucine, Phénylalanine, Tryptophane, Arginine, Glutamine, Asparagine, Thréonine, Aspartique, Glutamique, Cystéine, Histidine, Proline.
Aa cétoènes stricts	Lysine, Leucine
Aa glucoformateurs et cétoènes	Sérine, Méthionine, Tyrosine, Valine

#### IV. Nomenclature des acides aminés :

❖ **Nomenclature des Aa standards :** Il existe deux types de nomenclature :

- Abréviation en trois lettres (première lettre majuscule)
- Symbole en une lettre (majuscule) : plus compact, utilisé pour comparer la séquence en acides aminés de protéines semblables.

N° Aa	Nom d'acide aminé	Code à trois lettres	Code à une lettre	N° Aa	Nom d'acide aminé	Code à trois lettres	Code à une lettre
1	Alanine	Ala	A	12	Valine	Val	v
2	Arginine	Arg	R	13	Lysine	Lys	K
3	Asparagine	Asn	N	14	Méthionine	Met	M
4	Acide aspartique	Asp	D	15	Phénylalanine	Phe	F
5	Acide glutamique	Glu	E	16	Proline	Pro	P
6	Cystéine	Cys	C	17	Sérine	Ser	S
7	Glycine	Gly	G	18	Thréonine	Thr	T
8	Glutamine	Gln	Q	19	Tryptophane	Trp	W
9	Histidine	His	H	20	Tyrosine	Tyr	Y
10	Isoleucine	Ile	I	21	Sélenocystéine	Sec	U
11	Leucine	Leu	L				

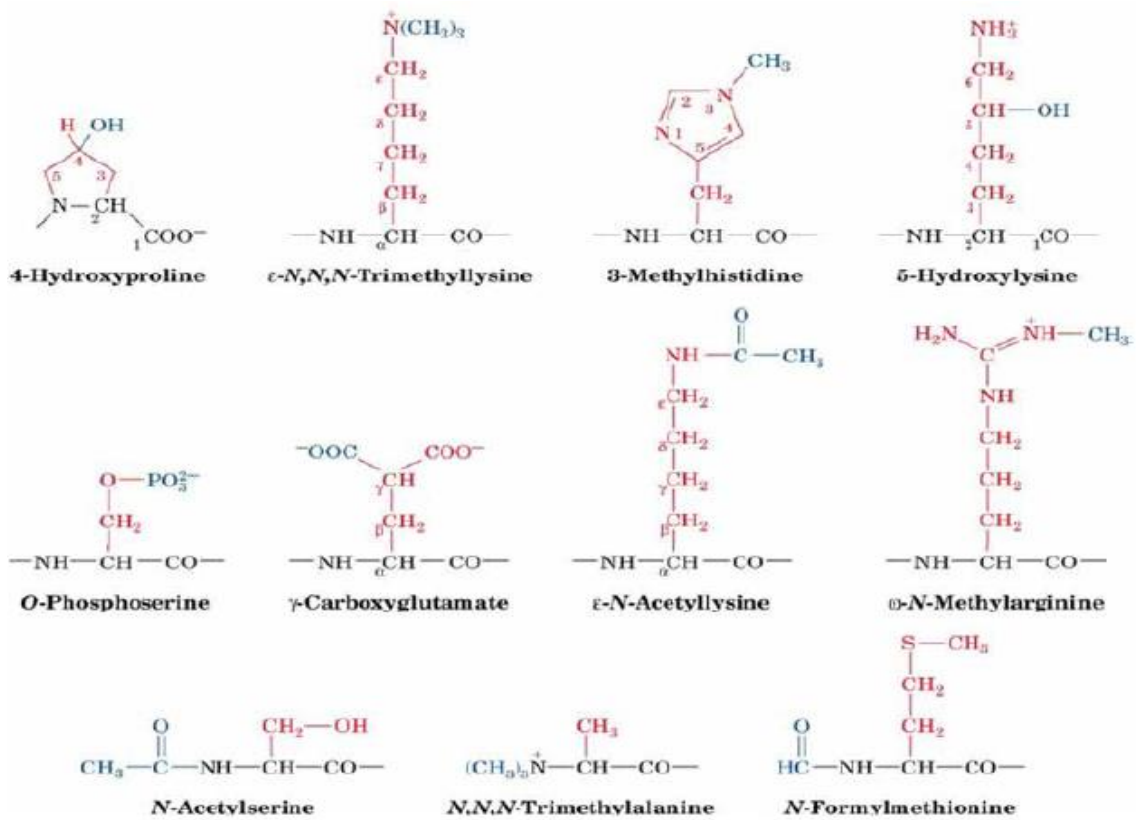
✓ Autres acides aminés standards :

- Sélénocystéine : découvert en 1999
  - Structure semblable à cystéine, mais avec un atome de sélénium remplace l'habituel soufre
  - Présent chez tous les mammifères (y compris l'homme) et chez les bactéries.
  - Exp : enzyme peroxydases de glutathion.

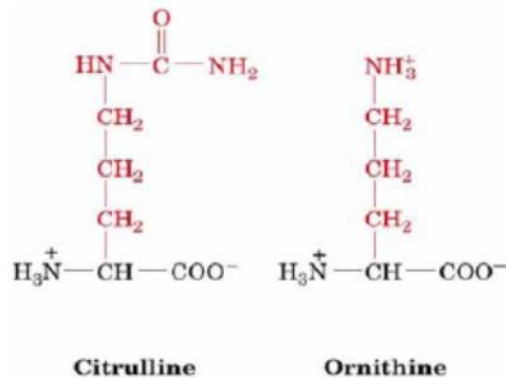


❖ **Les acides aminés non standards :**

- Aa non protéinogènes ou modifiés



- Acides aminés entrant dans des métabolismes



## V. PROPRIETES DES ACIDES AMINES

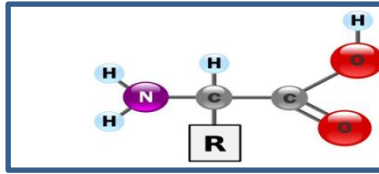
### A-PROPRIETES PHYSIQUES :

#### 1/ Solubilité :

- Les acides aminés sont solubles dans eau.
  - o La solubilité dans l'eau dépend de leur chaîne latérale, Elle augmente :
    - Avec la diminution du nombre de carbone du radical R.
    - Si R est porteur de fonction polaire : COOH., NH<sub>2</sub> ou fonction hydrophile : (OH).
- Les acides aminés sont faiblement solubles dans l'alcool.

**2/Configuration stéréochimique :**

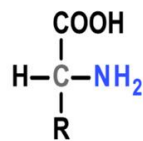
- Tous les acides aminés ont au moins un ou deux carbones asymétriques (carbone lié à quatre substituants différents) : ce sont des molécules chirales. À l'exception de la glycine ou glycolle qui ne comporte pas de carbone asymétrique (le carbone est lié à deux molécules d'hydrogènes).



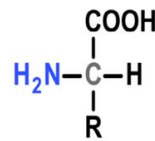
- L'atome de carbone asymétrique est appelé centre de la chiralité.

❖ Notion de série D, L : En fonction du groupement NH<sub>2</sub> porté par le C<sub>α</sub> on définit deux séries :

- Série L : NH<sub>2</sub> à gauche
- Série D : NH<sub>2</sub> à droite

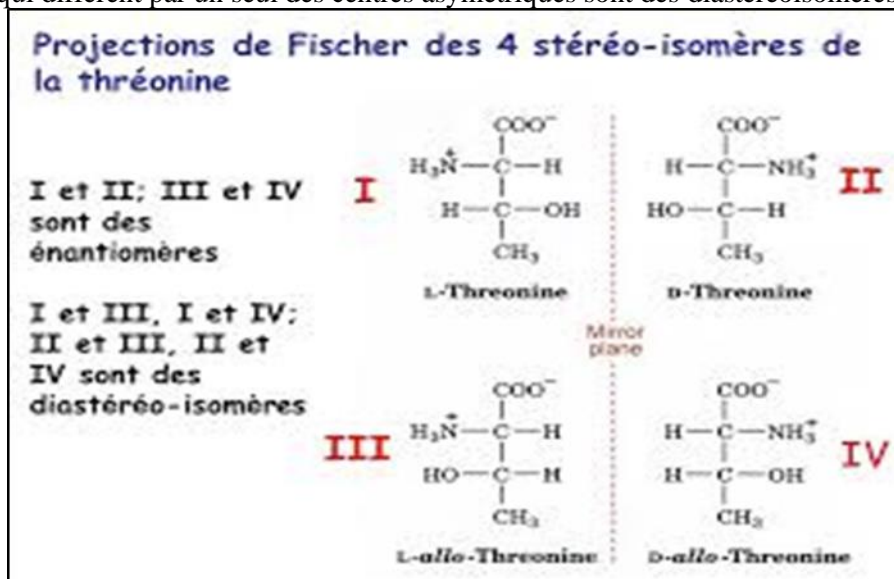


D-Acide aminé



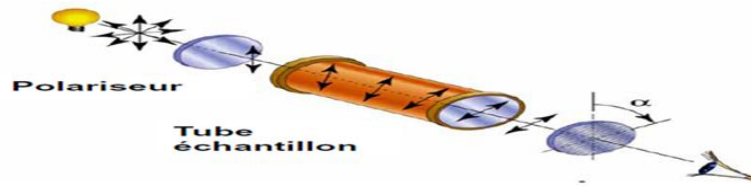
L-Acide aminé

- Les acides aminés série L représentent la majorité des acides aminés constituant les protéines.
- Les acides aminés série D se rencontrent dans certaines protéines produites par des organismes exotiques (mollusques), peptidoglycane de la paroi bactérienne, neurotransmetteurs de cerveau (D-sérine)
- Cas d'acides aminés ayant un deuxième centre chiral Exp: Thréonine, isoleucine.
- 2<sup>n</sup> structures isomériques (n = nombre de centres chiraux)
- Cela correspond à 2 paires d'énantiomères (image l'un de l'autre dans un miroir).
- Des isomères qui diffèrent par un seul des centres asymétriques sont des diastéréoisomères ou épimères.



**3/ Pouvoir rotatoire :** les énantiomères possèdent une **activité optique** : c'est la propriété de dévier la lumière polarisée. Placés dans le faisceau d'une lumière polarisée plane, ils provoquent la rotation du plan de polarisation.

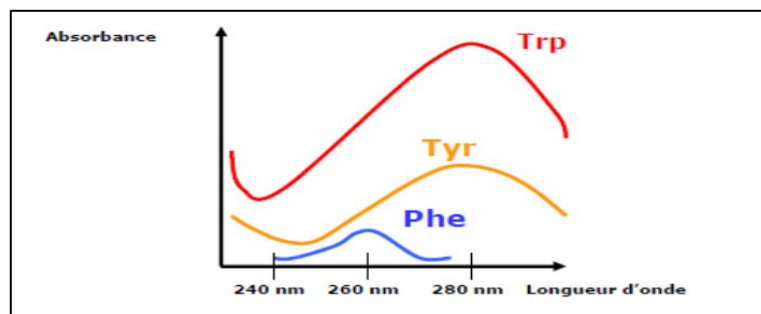
- Si la rotation s'effectue dans le sens des aiguilles d'une montre, on dit que la molécule est dextrogyre (d) (+)
- Si la rotation s'effectue dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, on dit que la molécule est lévogyre (l) (-)



- **Cependant, il y'a pas de corrélation directe entre le sens de rotation du plan de polarisation ou le pouvoir rotatoire et la configuration de l'acide aminé**

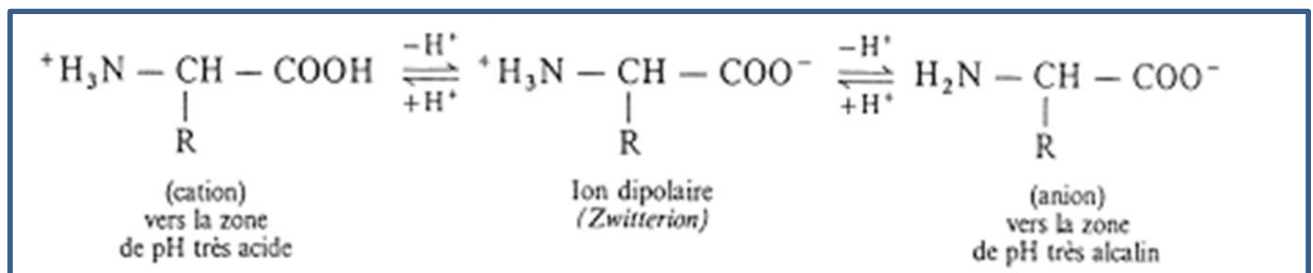
**4/Absorption dans l'ultra-violet :** Les solutions d'acides aminés sont incolores, mais sont visible en l'ultra-violet (UV) :  $\lambda < 230$  nm.

- Les acides aminés aromatiques absorbent les rayonnements UV entre 260 -280 nm.
  - o La phénylalanine absorbe à 260 nm
  - o La tyrosine et tryptophane ont un maximum d'absorption dans l'UV à 280 nm du fait de la présence du noyau aromatique
- Le dimère de cystéine (protéine) absorbe à 260 nm



**5/ Ionisation :** Les acides aminés sont des molécules amphotères : Ils peuvent agir comme des acides et comme des bases, car tous les acides aminés possèdent au moins deux groupements ionisables :

- Un groupement carboxyle COOH
- Un groupement amine NH<sub>2</sub>



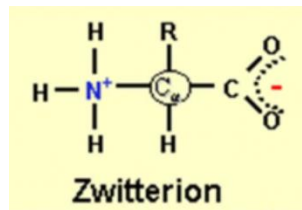
- **À pH acide (riche en protons H<sup>+</sup>) :** le groupe carboxyle -COOH neutre et la fonction amine capte un proton et s'ionise sous forme de cation -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> chargé positivement, l'ensemble ayant une charge électrique globale +1

- **À un Ph proche du Phi** : le groupe carboxylate  $-\text{COO}^-$  chargé négativement et un groupe ammonium  $-\text{NH}_3^+$  chargé positivement, l'ensemble étant globalement neutre : ion dipolaire ou Zwitterion charge nette est nulle = 0
- **À pH basique (pauvre en protons  $\text{H}^+$ )** : le groupe carboxylate s'ionise en  $-\text{COO}^-$  chargé négativement en libérant un proton et un groupe amine  $\text{NH}_2$  neutre, l'ensemble ayant une charge électrique globale  $-1$ .

**Le pHi** : pH isoélectrique ou point isoélectrique : c'est le pH pour lequel on a un ion dipolaire ou zwitterion de charge nulle, ne migrant pas dans un champ électrique.

**Le zwitterion** : possède autant de charges positives que de charges négatives, par

- Le groupement carboxylique chargé négativement
- Le groupement aminé, chargé positivement
- Les groupements ionisables de leurs chaînes latérales.

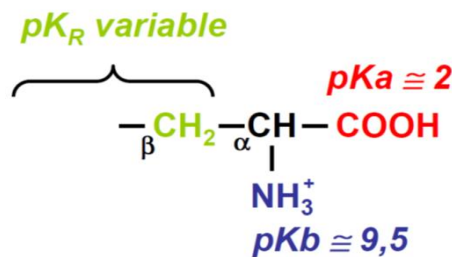


- Le pHi pour les acides aminés neutres va de 4,8 à 6,3.
- Pour les acides aminés basiques, le pHi s'étend de 7,8 à 10,8
- Pour les acides aminés acides, le pHi va de 2,7 à 3,2.

Le pHi se calcule en faisant la moyenne des pKa autour de la forme zwitterion

$$\text{pHi} = \frac{\text{pKa} + \text{pKb}}{2} \text{ ou } \text{pHi} = \frac{\text{pK1} + \text{pK2}}{2}$$

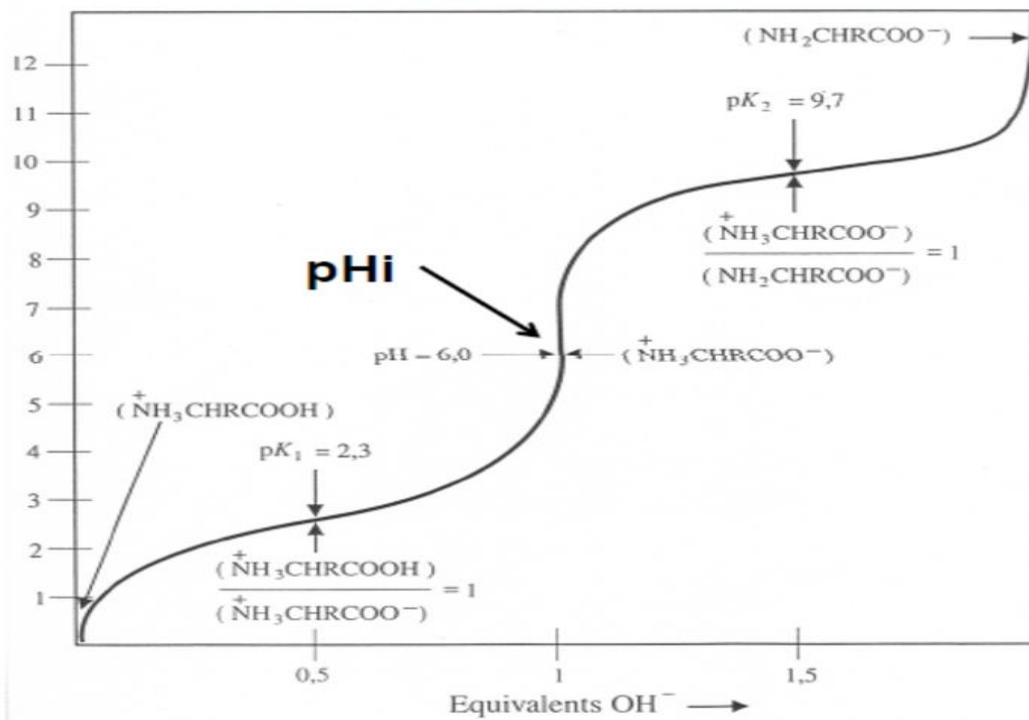
**Le pK** : de part et d'autre du Phi on définit Les pK qui sont les pH pour laquelle 50% des molécules ont un groupement dissocié et 50% ont un groupement non dissocié (50% d'une fonction d'un couple est sous forme acide et 50% sous forme basique).



- pka du groupement  $\alpha$ -COOH, pk1 est proche de 2 pour tous les AA
- pKb du groupement  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>, pk2 est proche de 9-10 pour tous les AA
- pkr de la chaîne latérale pkr pour les 7 acides aminés à R ionisable (Asp, Glu, His, Lys, Arg, Cys, Tyr).

❖ **Courbe de titration d'un acide aminé neutre**

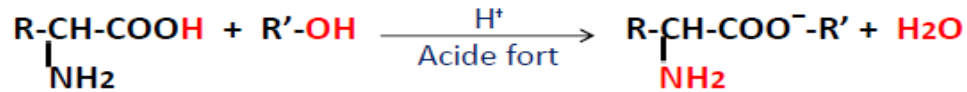




- Si  $\text{pH} < \text{pHi}$  → AA chargé +
- Si  $\text{pH} > \text{pHi}$  → AA chargé -
- Si  $\text{pH} = \text{pHi}$  → AA chargé 0

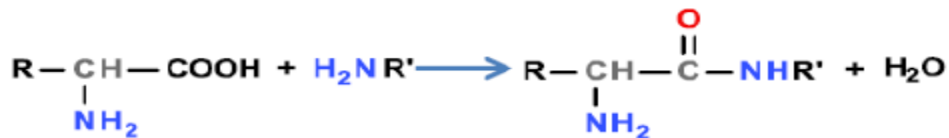
**B-Propriétés chimiques :****B1-Propriétés dues au groupement carboxylique COOH**

1. **Estérification par un alcool** : en présence d'un acide fort

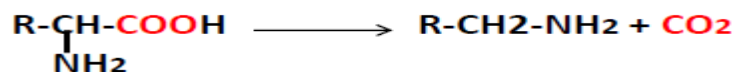


-Réaction utilisée pour la séparation des acides aminés en phase gazeuse et liquide, en produisant des dérivés esters butyliques.

2. **Amidification (liaison peptidique)** : réaction du groupement carboxylique d'un aminoacide avec  $\text{NH}_3$  conduit à un amide.



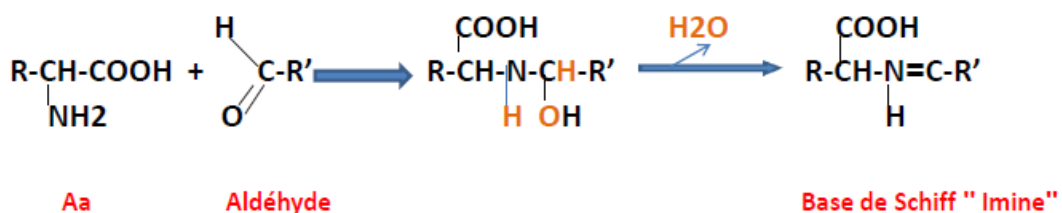
3. **Décarboxylation** : elle est possible par deux voies **chimique** ou **enzymatique**.



- ✓ Permet la formation de corps à propriétés particulières (formation d'amine par décarboxylation) :
  - La sérine donne l'éthanolamine (précurseur de la choline)
  - L'histidine donne l'histamine (vasodilatateur de la réaction allergique ou inflammatoire).
  - L'acide glutamique donne l'acide gamma-aminobutyrique "GABA" (neurotransmetteur).

**B2-Propriétés dues au groupement amine  $\text{NH}_2$  :**

1. **Formation d'imine** : « **base de Schiff** » : réaction avec aldéhyde par addition de carbonyle.

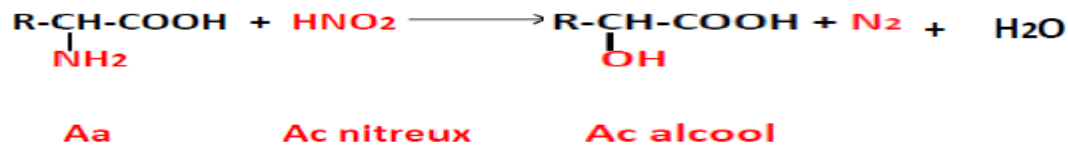


- La proline dotée d'une fonction amine secondaire ne réagit pas.



- La réaction avec l'acide aminé N-terminal d'une protéine (n Aa) libère un PTH-aminoacide et une protéine amputée de son Aa N-terminal (n-1 Aa)
- En répétant le processus, on peut déterminer la structure primaire de la protéine (dégradation récurrente d'Edman).

#### 6. Désamination : en présence de de l'acide nitreux

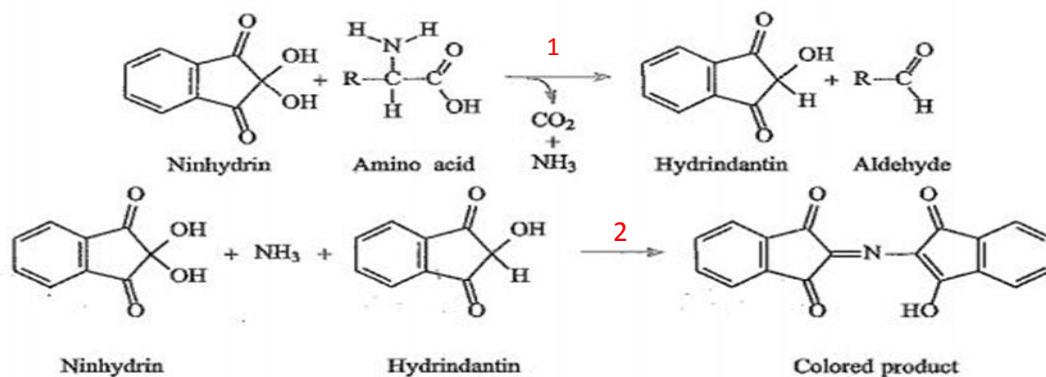


-L'azote dégagé est mesuré par l'appareil gazométrie permet le dosage des acides aminés c'est la méthode de Van Slyke.

### C-Propriétés dues à la présence simultanée du groupement carboxylique COOH et amine NH<sub>2</sub>

#### 1. Décarboxylation et désamination oxydative ou réaction avec la ninhydrine

- **Etape 1:** la ninhydrine conduit par désamination oxydative des acides aminés à l'aldéhyde correspondant avec libération d'ammoniac et de CO<sub>2</sub> et la formation de la ninhydrine réduite (hydrindantine).
- **Etape 2:** l'ammoniac réagit avec l'hydrindantine et une autre molécule de ninhydrine pour donner un composé bleu violacé ou pourpre de Rhueman (avec un amine primaire) à 570 nm.
- Et un composé jaune (avec un amine secondaire) exemple: la proline à 400 nm.

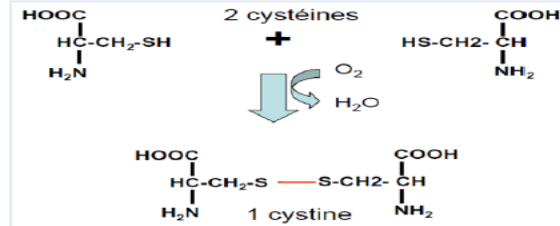


**D-Propriétés liées à la chaîne latérale :** ces propriétés sont celles des fonctions portées par la chaîne latérale.

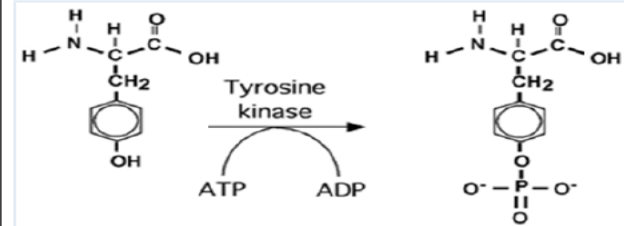
- **Groupement thiols :** Oxydation des groupement SH et formation de ponts disulfures
  - La cystéine peut être oxydée en cystine.
- **Fonctions alcool de la sérine et la thréonine, la fonction phénol de la tyrosine aussi**
  - Phosphorylation par l'acide phosphorique : formation d'un ester phosphate
  - O-Glycosylation

- Fonctions amide
  - N-Glycosylation

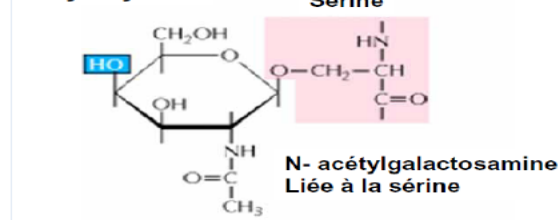
#### Formation de pont disulfure



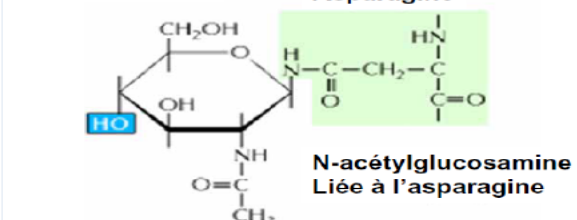
#### Phosphorylation de la tyrosine



#### O-Glycosylation



#### N-Glycosylation



## VI. Méthodes d'étude :

### 1. Electrophorèse :

- **Principe** : séparation des acides aminés par différence de mobilité dans un support sous influence de champs électrique et dans un milieu tamponné.
- La vitesse de chaque espèce (Aa) migrante dépend :
  - Du pH de la solution tampon.
  - De la charge de l'Aa qui dépend du point isoélectrique de l'acide aminé pHi.
- La Migration des acides aminés :
  - Si pH > pHi : Aa chargé (-) : migre vers l'anode (électrode positive).
  - Si pH = pHi : Aa sous forme zwitterion : ne migre pas.
  - Si pH < pHi : Aa chargé (+) : migre vers la cathode (électrode négative).

### ❖ Electrofocalisation (IEF -IsoElectric Focussing) :

- On utilise des tubes étroits contenant un gel.
- Le gradient de pH est généré par des ampholytes, molécules amphotères de synthèse introduites dans le gel au moment de sa fabrication.
- La migration est effectuée dans un gradient de pH ; chaque Aa migre jusqu'à l'endroit où le pH est égal à son pHi où leur charge devient nulle.

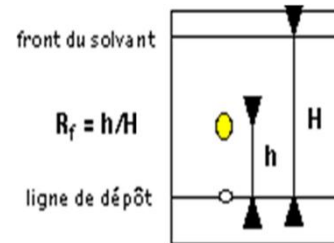
### 2. Chromatographie : elle permet la séparation des mélanges par suite à un équilibre entre une phase mobile (liquide ou gaz) et une phase stationnaire généralement solide (colonne, papier, gel).

#### A. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) : c'est une chromatographie de partage entre une phase stationnaire qui est une couche mince uniforme de gel (hydrophile) et la phase mobile qui est le solvant (hydrophobe).

Elle s'effectue en plusieurs étapes :

- Déposition de l'échantillon (composition inconnue) et des standards (composition connue) à l'extrémité de la plaque.
- La plaque est disposée dans une enceinte fermée.
- Migration des Aa par capillarité : Les Aa hydrophobes migrent le plus.
- Révélation des taches de l'échantillon (par la ninhydrine).
- Calcul des R<sub>f</sub> (rapport frontal) et interprétation des résultats.

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le composé}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$



- R<sub>f</sub> varie entre 0 et 1.
  - Si soluté soluble dans la phase stationnaire = R<sub>f</sub> faible.
  - Si soluté soluble dans la phase mobile = R<sub>f</sub> vers 1.

**B. Chromatographie sur Papier** : c'est une chromatographie de partage entre une phase stationnaire qui est l'eau dans la feuille de papier (hydrophile) et la phase mobile : solvant (hydrophobe).

-Elle s'effectue en plusieurs étapes (mêmes étapes que la chromatographie sur couche mince)

**C. Chromatographie sur colonne** : La phase stationnaire est placée dans une colonne, parcourue par la phase mobile. Les deux phases sont en contact intime.

- Les principales chromatographies sur colonne sont :
  - **La chromatographie en phase gazeuse (CPG)** : le partage se fait entre une phase mobile qui est un gaz chimiquement inerte et une phase stationnaire représentée par la colonne.
  - **La chromatographie d'échange d'ions** : elle sépare les acides aminés en fonction de leur pHi ou en fonction de la force ionique (compétition).
    - La phase stationnaire est une colonne contenant des billes de résine :
      - Soit une résine échangeuse de cations (à charges négatives).
      - Soit une résine échangeuse d'anions (à charges positives).
    - La phase mobile : Eluant (une solution) versée en haut de la colonne.
  - **La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)** : La phase mobile est poussée par une pression élevée (grâce à des pompes à haute pression).

