

Chapitre II: les acides aminés

II.1. Définition

Les acides aminés (ou amino-acides) sont des molécules qui possèdent une **fonction carboxylique** et une **fonction amine primaire** portée par un même atome de carbone, l'atome du carbone α : ce sont des **acides α -aminés**. Ils diffèrent par la nature de la **chaîne latérale** ou le **radical R** (figure 1).

Les acides aminés les plus répandus chez l'homme sont définie par la formule suivante :

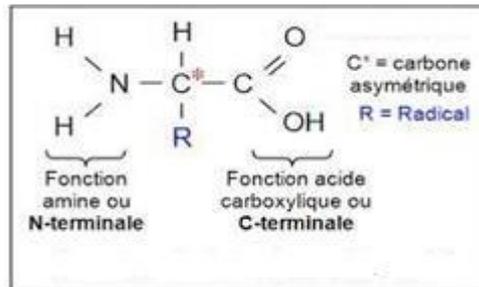


Figure 1. Formule générale d'un acide

aminé Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés. On distingue :

- Les 20 acides aminés constitutifs des protéines naturelles ou acides aminés standards. Ils sont codés dans l'ADN et incorporés dans la chaîne peptidique lors de la traduction de l'ARNm.
- Et les autres, que l'on trouve soit à l'état libre, soit dans des peptides synthétisés par des microorganismes ou des végétaux.

II.2. Classification

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.

On a l'habitude d'utiliser des abréviations à trois lettres ou à une lettre pour cette série de vingt aminoacides. (**tableau1**).

Tableau 1 : Classification des 20 AA selon la polarité et la capacité de groupement de prendre une charge électrique

Polarité	Charge Électrique	Nom	Symbole	Structure
AA Non polaires = Hydrophobes	Non Chargés	Glycine/ Glycocolle	Gly [G]	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$
		Alanine	Ala [A]	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
		Valine	Val [V]	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$
		Leucine	Leu [L]	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$
		Isoleucine	Ile [I]	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
		Phénylalanine	Phe [F]	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$

AA Non polaires = Hydrophobes		Tryptophane	Trp /Try [W]	
		Méthionine	Met [M]	
		Proline	Pro [P]	 amine secondaire
AA Polaires = Hydrophiles	Neutres (non chargés)	Serine	Ser [S]	
		Thréonine	Thr [T]	
		Cystéine	Cys [C]	
		Tyrosine	Tyr [Y]	
		Asparagine	Asn [N]	

		Glutamine	Gln [G]	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{O} \end{array} $ <p>Amide</p>
Acides Chargés Négativement	Acide Aspartique	Asp [D]	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array} $	
	Acide Glutamique	Glu [E]	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array} $	
Bases Chargés Positivement	Lysine	Lys [K]	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ ^+\text{NH}_3 \end{array} $	
	Arginine	Arg [R]	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C} = \text{NH}_2^+ \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $ <p>Group guanidine</p>	
	Histidine	His [H]	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} - \text{NH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H} \quad \text{N} \\ \backslash \quad / \\ \text{C} - \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array} $ <p>Group imidazole</p>	

carbone asymétrique.

Il se trouve que tous les acides aminés naturels trouvés dans les molécules du vivant sont de la série L.

II.4.4. Absorption dans l'ultraviolet

Les aminoacides présentent une absorption importante aux longueurs d'onde inférieures à 230 nm; en outre, certains d'entre eux absorbent entre 250 et 300nm en raison de la présence -dans leur chaîne R- de chromophores tels que le noyau phényle (Tyr) ou le noyau indole (Trp) permettant ainsi le dosage spectrophotométrique des protéines (**figure 2**).

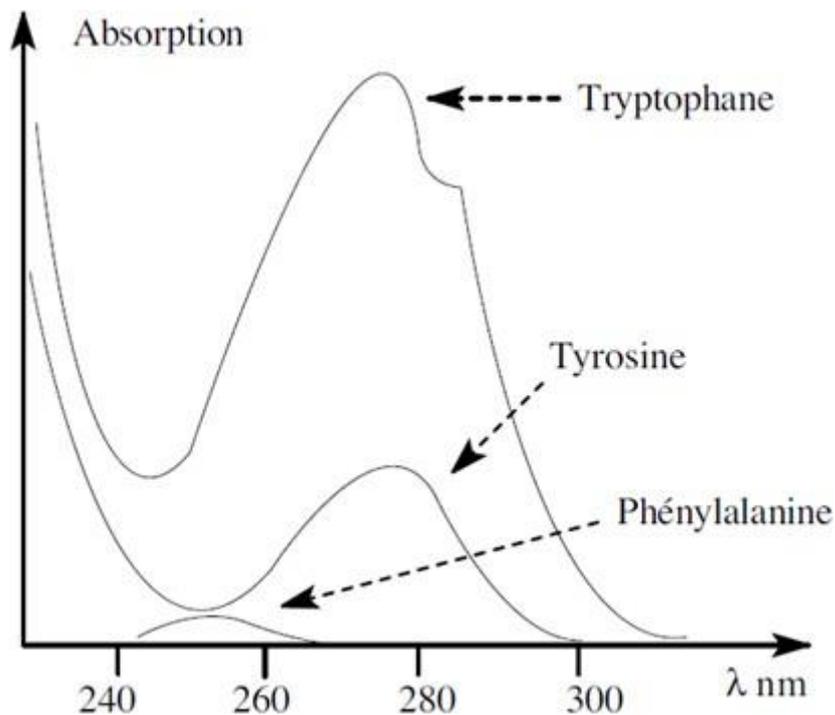


Figure 2. Spectre d'absorption des aminoacides aromatiques dans l'ultra-violet.

II.4.5. Propriétés optiques ou pouvoir rotatoire

En solution, les formes **énantiomères** d'une molécule portant un C* présentent des propriétés optiques différentes. On parle du **pouvoir rotatoire**. C'est la capacité des

énantiomères de dévier la lumière polarisée. Si le faisceau de la lumière est dévié dans le **sens des aiguilles** de la montre (**à droite**), l'énantiomère est alors dit **Dextrogyre** noté (+).

Si, au contraire, il dévie la lumière dans un sens **inverse des aiguilles** de la montre (**à gauche**), il est **Lévogyre** noté (-). Tous les acides aminés, sauf la **glycine** ont un pouvoir rotatoire (**Figure3**).

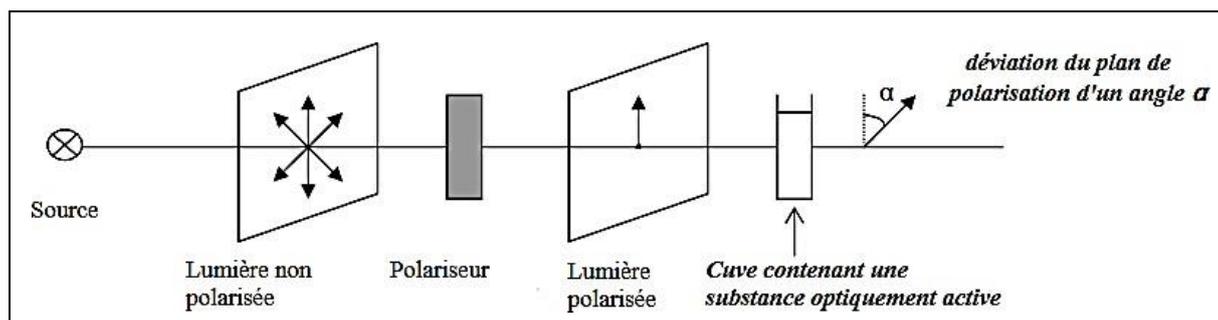


Figure3 : mesure du pouvoir rotatoire

L'activité optique des composés organiques est mesurée au moyen d'un polarimètre et selon la loi de **Biot** :

$$[\alpha]_{20}^D = \frac{\alpha}{C * L}$$

où :

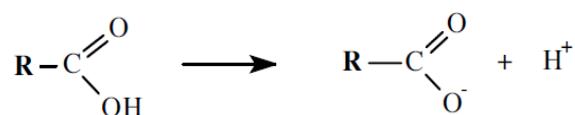
- $[\alpha]_{20}^D$: Pouvoir rotatoire spécifique de la substance optiquement active. C'est une **constante** caractéristique de la substance optiquement active et qui dépend, en plus de la nature du soluté, de la nature du solvant, de la température et de la longueur d'onde à laquelle est réalisée la mesure. **D** pour la λ de la raie jaune du sodium à 589.3nm et **20** pour 20°C.
- α : Pouvoir rotatoire mesuré avec le polarimètre.
- L : Longueur de tube contenant la solution (dm).
- C : Concentration de la substance (g/ml).

II.5. Propriétés acido-basique

II.5.1. Ionisation

Tous les aminoacides possèdent au moins deux groupes ionisables. Le

carboxyle et l'amine ; ils sont amphotères : le *groupement carboxyle* d'un aminoacide peut céder un proton et il apparaît un anion:



Le *groupement aminé* peut fixer un proton et former un cation:



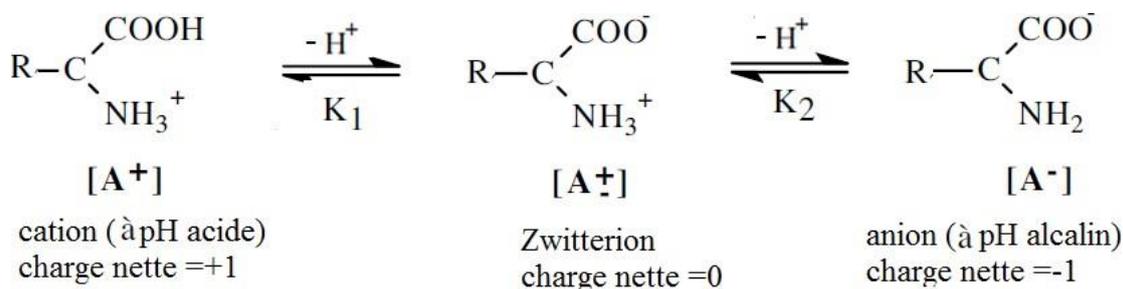
Ces deux réactions de dissolutions correspondent à des équilibres auxquels s'applique la loi d'action de masse, de sorte que les proportions d'aminoacides ionisé et non ionisé existant en solution vont dépendre de la concentration en ions H^+ . On peut donc écrire les deux constantes de dissociation K_1 et K_2 , correspondant aux deux équilibres, de la manière suivante:

$$K_1 = [\text{R}-\text{COO}^-] [\text{H}^+] / [\text{R}-\text{COOH}]$$

$$K_2 = [\text{R}-\text{NH}_2] [\text{H}^+] / [\text{R}-\text{NH}_3^+]$$

II.5.2. Point isoélectrique

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



On veut qu'on passe par un pH où les molécules d'aminoacide sont sous la forme dipolaire (zwitterion) et où la charge nette de la molécule est nulle, c'est le *point isoionique* ou *isoélectrique* de l'aminoacide. À ce pH, sa solubilité est minimale et il ne migre pas si on le place dans un champ électrique (contrairement au cation et à l'anion).

pH isoélectrique: défini par $[A^+] = [A^-]$.

II.5.3. Titration d'un acide aminé

On peut aisément étudier la dissociation des différentes fonctions polaires d'un aminoacide, en ajoutant à la solution HCl ou NaOH et en mesurant le pH après chaque addition. On peut ainsi tracer des *courbes de titration*, dont l'aspect sera différent selon qu'il s'agit d'un aminoacide neutre, acide ou basique.

Pour calculer le pKa (ou les concentrations en espèces ioniques à un pH déterminé) on utilise l'équation de HENDERSON-HASSEBACH:

$$pK_a = pH + \log \frac{[\text{Accepteur de protons}]}{[\text{Donneur de protons}]}$$

Connaissant les valeurs des pKa, pHi, il est possible de tracer la courbe de neutralisation d'un acide aminé.

Exemple : courbe de titration de l'alanine (figure 4).

Elle comporte deux étapes distinctes, chacune correspondant à l'élimination d'un proton de l'alanine :

→ **Au début: (en bas et à gauche du graphique) :**

- L'alanine a ses 2 fonctions acido-basique protonée et se trouvent sous une forme cationique avec une charge positive ($\text{NH}_3^+\text{-CH}_2\text{-COOH}$),
- Lorsque l'on ajoute de la soude une partie des molécules subissent une dissociation Jusqu'à arriver à un point où il y a autant de molécules chargées positivement que de molécules neutres, à ce point le pH est égal au 1^{er} pK ($\text{Pk}_1=2,3$ pour Ala).

pH=Pk1 → 50% sous forme de



50% sous forme de



- **La partie plate autour de ce pK**, correspond à une zone tampon, si on continue à ajouter de la soude, un point d'inflexion est atteint, ce pH correspond au pH isoélectrique ou pHi (pHi=6 pour Ala), toute l'Ala est sous une forme dipolaire avec 2 charges, une (+) et une (-) avec une charge globale nulle.

- **pH= pHi** → 100 % sous forme $\text{NH}_3^+\text{-CH}_2\text{-COO}^-$ (ion Zwitterion)
 → L'ajout de soude provoque une nouvelle dissociation avec perte du proton de l'amine, à égalité de concentration des 2 espèces, le pH correspond au 2^{ème} pK ($\text{pK}_2=9,7$ pour Ala).

- **pH= pK_2** → 50% sous forme de $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$
 50% sous forme de $\text{NH}_3^+\text{-CH}_2\text{-COO}^-$

- La partie de la courbe relativement plate autour de ce pK correspond à une nouvelle zone tampon, un dernier ajout de soude va totalement déprotoner l'acide aminé qui va se retrouver sous une forme chargée négativement $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$.

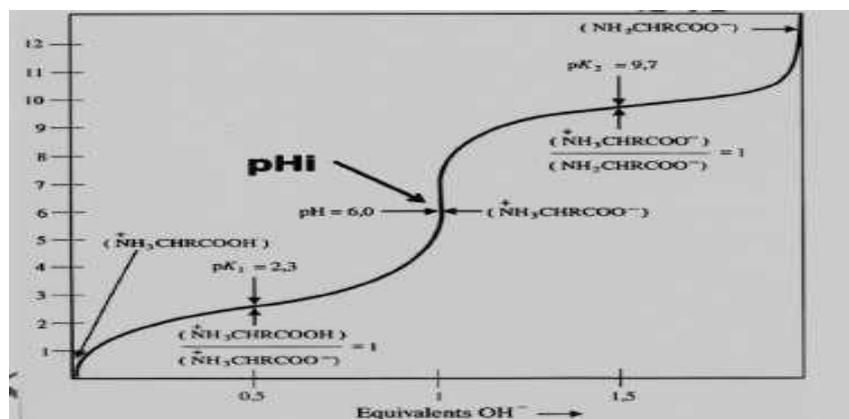
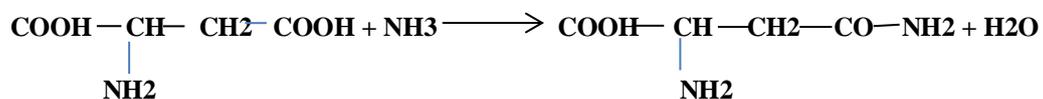


Figure 4: courbe de titration de l'acide aminé Ala

II.6.Principales propriétés chimiques des acides amines

a. Amidation : L'action de l'ammoniac sur les acides aminés acides (Asp et Glu), produit des amides exemple (Asn et Gln).

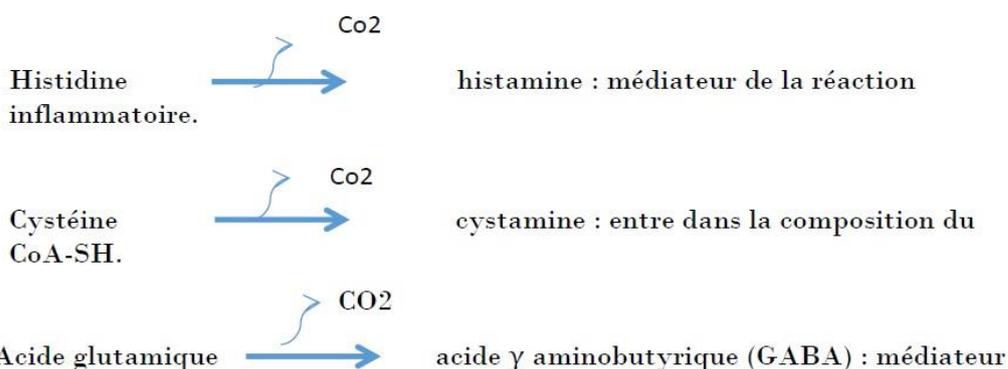


b .Décarboxylation:

La fonction carboxylique (du carbone α) peut faire l'objet d'une réaction de décarboxylation conduisant à la formation d'amine, que l'on qualifie de biogène lorsqu'elle a un rôle biologique.

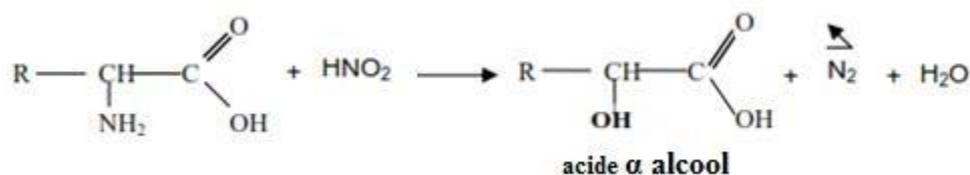


Certaines de ces amines sont douées d'activité physiologique ou pharmacodynamique :



c. Désamination

C'est une réaction importante d'un point de vue analytique (titration des AA). L'acide nitreux réagit sur les acides aminés en libérant du diazote qui peut être dosé. C'est la méthode gazométrique de VANSLYKE. L'azote dégagé provient à volume égal de l'AA et de l'acide nitreux.



II.7. Analyse des acides aminés

L'analyse des acides aminés se fait par 3 méthodes :

II.7.1 : Colorimétrie :

Méthode spécifique utilisant les propriétés caractéristiques de la chaîne carbonée ce qui permet le dosage d'un acide aminé dans un mélange d'échantillon

II.7.2 : La méthode de Sørensen :

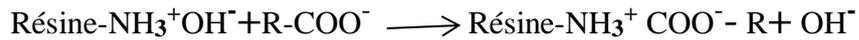
Permet de doser rapidement les groupements amine primaire des acides aminés neutres. En présence d'un grand excès de formaldéhyde, il est possible de titrer un acide aminé neutre par la soude en présence de phénolphthaléine.

II.7.3 : Chromatographie

➤ Chromatographie par échange d'ions

Permet de séparer les acides aminés en trois groupes.

- **Les acides aminés acides** ; retenues par des résines échangeuses d'anions qui sont souvent polyaminés



- **Les acides aminés basiques** : retenus par des résines échangeuses de cations qui sont souvent polysulfonés



- **Les acides aminés neutres** : ne sont retenus par aucune résine

➤ **Chromatographie phase gazeuse (CPG)**

Après méthylation des acides aminés, le mélange à éluer est injecté à l'aide d'une seringue. Une fois vaporisés par l'injecteur, les composés sont entraînés dans la colonne par le gaz vecteur (le plus souvent He ou N₂). Suivant l'affinité avec la phase stationnaire, les composés sont séparés avant d'être détectés en sortie de colonne. Les appareils de CPG sont fréquemment couplés avec un spectromètre de masse pour l'identification des composés au fur et à mesure de leur élution.

➤ **Chromatographie phase liquide (HPLC)**

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus (via un détecteur à UV ¹ (les protéines absorbent à 275-280nm) relié à un système d'intégration et de calcul) sont plus étroits donc la résolution est améliorée (les pics sont bien séparés, on peut donc bien les différencier), le seuil de détection est également plus bas (des pics étroits et hauts sont plus faciles à isoler du bruit de fond que des pics larges et bas). La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance ».

Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible (acétonitrile, méthanol).

II.8. Enantiomère et activité optique

Deux énantiomères purs font dévier le plan de la lumière polarisée d'une valeur égale mais en sens opposé : dextrogyre (sens des aiguilles d'une montre) ou lévogyre (sens inverse des aiguilles d'une montre).

- **Optiquement actif** : lorsque l'un des énantiomères est en excès par rapport à l'autre, l'échantillon présente un pouvoir rotatoire net. Il est dit optiquement actif.
- **Optiquement pur** : un échantillon contenant un seul énantiomère est dit optiquement pur.
- **Mélange racémique** : un échantillon contenant les deux énantiomères en quantité équimolaire, à un pouvoir rotatoire nul, il est dit mélange racémique
- **Diastérisomères** ; lorsqu'une molécule possède plusieurs atomes de carbone asymétrique, il existe un très grand nombre d'isomères pouvant porter la configuration Lou D, les propriétés physiques et chimiques des diastérisomères sont différentes.

Le schéma ci-dessous précise les relations d'énantiomère, symbolisées par E et de diastéréo-isomérisie, symbolisées par D (**Figure 5**).

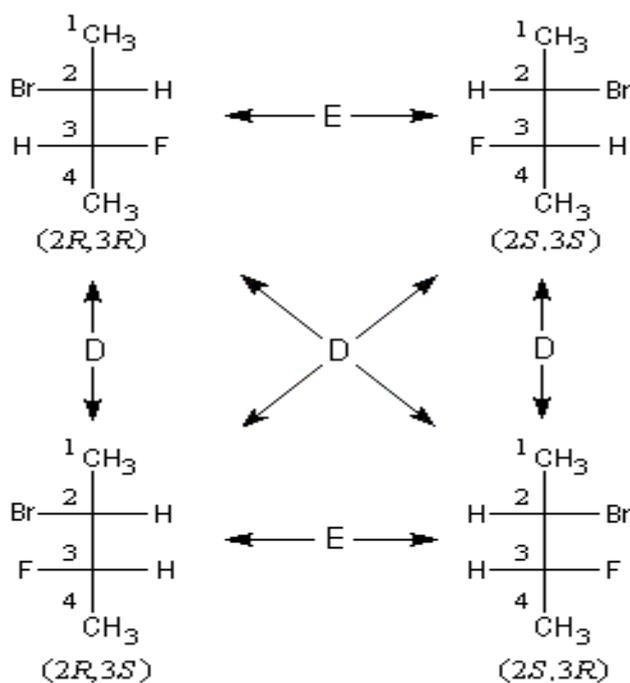


Figure 5 : Diastérisomères

- Séparation des diastérisomères ; le mélange d'énantiomère réagit avec un réactif énantiomériquement pur appelé agent de dédoublement pour conduire à de deux diastérisomères séparables par différentes techniques, tel que la distillation, cristallisation fractionnée et par chromatographie (l'agent de dédoublement est souvent un produit naturel) (**Figure 6**)

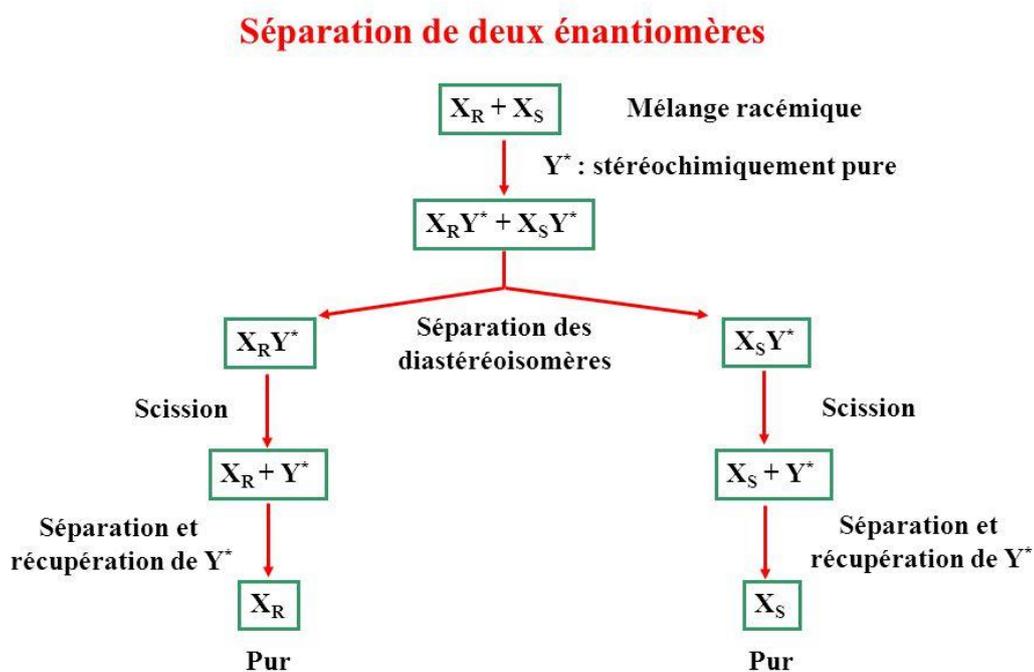


Figure 6 : Séparation des diastérisomères