الجمهوريـــة الجزائـــريـــة الديمقراطيـــة الشعبيـــة
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليـــم العـــالي و البحـــث العلمـــي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعـــة الجيلالـــي بونعامـــة خميـــس مليـانـــة
Universitaire Djilali Bounaama de Khemis Miliana
كليـــة علـــوم الطبيعـــة والحيـــاة وعلـــوم الأرض
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
المجلس العلمي للكلية
Le Conseil Scientifique de la Faculté

N°.32.../UDBKM/FSNVST/PGRS/ 2021 Khemis Miliana le 03/03/2021

EXTRAIT DU P.V DU CONSEIL SCIENTIFIQUE

DU 03/03/2021

OBJET : Expertise polycopié.

Suite à l'expertise d'un polycopié de cours de Monsieur AMROUCHE Zoheir intitulé « **Biochimie Structurale** » par les experts cités dans le tableau ci-dessous :

Noms et Prénoms	Grade	Université	Expertise
BOUSALHIH Brahim	MCA	UDBKM	Avis favorable
BERBER Ali	Prof	Université de Blida	Avis favorable

Le CSF donne un avis favorable.

Le Président du Conseil Scientifique

جامعة خميس مليانة
المجلس العلمي
كلية علوم الطبيعة و الحياة و علوم الأرض

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعامة - خميس مليانة-
Université Djilali Bounaama – Khemis Miliana

كلية العلوم الطبيعة والحياة و علوم الأرض
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre

قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Polycopié de cours de Biochimie

«1er partie du programme : Biochimie Structurale »

1. Les liaisons chimiques
2. Structure et propriétés physico-chimiques des glucides
3. Structure et propriétés physico-chimiques des lipides
4. Structure et propriétés physico-chimiques des acides aminés, peptides et protéines
5. Notions d'enzymologie

Destiné aux étudiants de la 2eme année SNV : Hydrobiologie Marine & continentale

Présenté par
Dr AMROUCHE Zoheir

2019/2020

Ce polycopié de cours de Biochimie est destiné aux étudiants de la 2eme année SNV filière ***Hydrobiologie Marine & continentale,*** Présentant la 1ere partie du programme du module de biochimie par 5 chapitres :

6. **Les liaisons chimiques**
7. **Structure et propriétés physico-chimiques des glucides**
8. **Structure et propriétés physico-chimiques des lipides**
9. **Structure et propriétés physico-chimiques des acides aminés, peptides et protéines**
10. **Notions d'enzymologie**

Ces 5 chapitres représentent la Biochimie Structurale, qui est nécessaire et obligatoire dans le cursus des étudiants en 2 années SNV.

SOMMAIRE

1er partie du programme : Biochimie Structurale

Page

Introduction ……... 1

Chapitre 1 : Les liaisons chimiques

1. Liaisons fortes …… 2

1.1. Liaison ionique …….. 2

1.2. Liaison covalente et de coordinence ……. 2

1.2.1. Liaison covalente …… 2

1.2.2. Liaison de coordinance …… 3

1.3. Liaison métallique ……. 3

1.4. Polarité des liaisons ……..… 3

2. Liaisons faibles …… 3

2.1. Liaison hydrogène …….… 4

2.2. Liaison de VAN DER WAALS …… 4

2.3. Liaisons hydrophobes …… 4

Chapitre 2 : Structure et propriétés physico-chimiques des glucides

1. Définition …… 5
2. Importance en Biologie ……..... 5
3. Classification des glucides …… 5
4. **Les Oses** …… 6

4.1. Structure linéaire des oses (Modèle de Fischer) …….. 6

4.1.1. Structure du Glycéraldéhyde ……... 7
4.1.2. Série D et L des oses ……. 7
4.1.3. Rappels sur le Carbone asymétrique …….. 8
4.1.4. Filiation chimique des oses selon Fischer …….. 8
4.1.5. Diversité des oses, Isomérie …… 10
4.1.5.1. Les stéréo-isomères ……. 10
4.1.5.2. Les énantiomères ……..... 10
4.1.5.3. Les diastéréo-isomères …… 10
4.1.5.4. Les épimères …… 11
4.1.5.5. Les isomères de fonctions …… 11

4.2. Objections à la structure linéaire des oses ……. 12
4.2.1. Formation d'Acétal …….. 12
4.2.2. Mutarotation (anomères) …….. 12
4.2.3. Pouvoir rotatoire ou activité optique …… 12

4.3. Structure cyclique des oses : structure de Haworth …….. 13
4.3.1. Exemples de structures cycliques osidiques ……. 14
4.3.2. Conformation des structures cycliques …… 15

4.4. Principales propriétés des oses ……. 16

4.4.1. Propriétés physiques des oses …….. 16
4.4.2. Propriétés chimiques des oses …… 17
4.4.2.1. Réduction ……. 17
4.4.2.2. Oxydation ……. 17
4.4.2.3. Déshydratation à chaud en milieu acide …….. 19
4.4.2.4. Méthylation des oses …… 19
4.4.2.5. Estérification …… 20

4.4.3. Dérivés d'oses biologiques …….. 20
4.4.3.1. Les Osamines …….. 20
4.4.3.2. Acide ascorbique (vitamine C) ……. 21
4.4.3.3. Acide sialique [Acide N-acétylneuraminique (NANA)]…… 21

5. Les Osides …….. 21

5.1. Holosides …… 21

5.1.1. La liaison osidique ou glycosidique ……. 21
5.1.2. Les diholosides …….. 22
5.1.2.1. Diholoside réducteur……. 22
5.1.2.2. Diholoside non réducteur…….. 23

5.1.3. Polyosides ……. 24
5.1.3.1. L'Amidon ……... 24
5.1.3.2. Le Glycogène …… 25
5.1.3.3. La cellulose …… 26

5.2. Hétérosides …….. 26

5.2.1. Les glycoprotéine …….. 26
5.2.2. Les protéoglycannes …….. 27
5.2.3. Les peptidoglycannes …….. 27
5.2.4. Les Glycolipides …….. 27

Chapitre 3 : Structure et propriétés physico-chimiques des lipides

1. Définition 28

2. Les acides gras ……. 28

2.1. Les acides gras saturés …….. 28
2.2. Les acides gras insaturés ……. 29
2.2.1. Les acides gras monoinsaturés …… 29
2.2.2. Les acides gras polyinsaturés …….. 30

3. Propriétés des acides gras …… 31

3.1. Propriétés physiques ……. 31
3.1.1. Solubilité …….. 31
3.1.2. Point de fusion et point d'ébullition …… 31

3.2. Propriétés chimiques ……. 31
3.2.1. Oxydation …….. 31
3.2.2. Estérification ……. 32
3.2.3. Saponification …… 32
3.2.4. Réaction d'addition (Fixation d'halogènes) …….. 33
3.2.5. Réduction (hydrogénation) ……. 33

4. Classification des lipides …… 33

4.1. Lipides simples ou ternaires ……. 33

4.1.1. Les glycérides ……... 33
4.1.1.1. Propriétés physico-chimiques ……... 34
4.1.1.2. Propriétés biologiques ……... 34

4.1.2. Les Cérides …….. 35
4.1.3. Les stérides ……... 35

4.2. Lipides complexes …… 35
4.2.1. Les glycérophospholipides ……... 35
4.2.1.1. Propriétés des Glycérophospholipides …….. 37
4.2.1.2. Hydrolyse des phospholipides par les phospholipases ……. 37

4.2.2. Glycéroglycolipides …….. 37

4.2.3. Les sphingolipides …… 38
4.2.3.1. Les céramides ou Acylsphingosine …….. 38
4.2.3.2. Les sphingomyélines …… 38
4.2.3.3. Les glycosphingolipides …… 39

Chapitre 4 : Structure et propriétés physico-chimiques des acides aminés, peptides et protéines

I- Les acides aminés…… 40

1. Définition ……. 40

2. Classification des acides aminés …… 40

3. Propriétés spécifique des acides aminés …… 41
3.1. Acides aminés apolaire …… 41
3.2. Acides aminés polaires neutres ……. 41
3.3. Acides aminés polaires ionisables …… 42

4. Propriétés ioniques des acides aminés …… 43

5. Propriétés physiques des acides aminés ……. 44

6. Propriétés chimiques des acides aminés ……. 44

6.1. Propriétés liées à la fonction COOH …….. 44
6.2. Propriétés liées à la fonction NH_2 …… 45
6.3. Propriétés liées à la présence simultanée de COOH et NH_2 …… 47
6.4. Propriétés liées aux chaines latérales (radical R) ……. 47

7. Techniques de séparation des acides aminés …….. 48

7.1. Electrophorèse …… 48
7.2. Chromatographie ……. 48
7.2.1. Chromatographie sur papier …… 48
7.2.2. Chromatographie sur couche mince des acides aminés (CCM) …... 49
7.2.3. Chromatographie ioniques sur colonne des acides aminés …….. 49

II. Les peptides …….. 51

1. Détermination de la structure d'un peptide …… 51

1.1. Hydrolyse de la liaison peptidique ……. 51
1.1.1. Hydrolyse chimique complète …… 51
1.1.2. Hydrolyse chimique spécifique …… 51
1.1.3. Hydrolyse enzymatique……. 52

2. Quelques peptides ayant une importance biologique ……. 53

2.1. Peptides hormonaux ……. 53
2.2. Glutathion …….. 54
2.3. Peptides antibiotiques …… 54
2.4. Peptides d'intérêt alimentaire …… 55

III. Les protéines ……. 56

1. Fonctions des protéines ……. 56
2. Structure des protéines ……. 57
2.1. Structure primaire ……. 57
2.2. Structure secondaire ……. 57
2.3. Structure tertiaire ……. 59
2.4. Structure quaternaire …… 59

3. Propriétés des protéines ……. 60
3.1. Solubilité …….. 60
3.2. Dénaturation …… 60
3.3. Propriétés optiques …….. 60
3.4. Propriétés ioniques …….. 61
3.5. Propriétés chimiques ……. 61
3.6. Propriétés antigéniques ……..... 61

4. Séparation des protéines …….. 61
4.1. Charge globale d'une protéine et point isoélectrique …….. 61
4.2. Méthode chromatographique …….. 61

Chapitre 5 : Notions d'enzymologie

1. Généralités ……. 63
2. Nomenclature et classification ……. 63
3. Cinétique enzymatique ……. 64

3.1. Equation de Michaelis-Menten …… 64
3.1.1. Constante de Michaelis & Menten ……. 64

3.1.2. Hyperbole de Michaelis & Menten ……... 64

3.2. Diagramme de Lineweaver et Burk …… 65
3.3. Effecteurs enzymatiques …… 65

3.3.1. Inhibiteur compétitive…… 65
3.3.2. Inhibiteur non compétitive …… 66

3.3.3. Inhibiteurs incompétitive ……. 67

4. **Phénomène d'allostérie** ……. 68
4.1.Régulation allostérique …….. 68
4.2. L'effet allostérique …… 68
4.3. Les effecteurs allostériques …… 68
4.4. La transition allostérique …… 68
4.5. La coopérativité …… 69

Bibliographie

LISTE DES FIGURES

Page

Figure 1 : Molécule d'eau……. 3
Figure 2 : l'organisation des dipôles de l'eau…….… 4
Figure 3 : Classification des glucides …… . 6
Figure 4: Modèle d'oses selon Fisher…… 7
Figure 5: Structure du Glycéraldéhyde……. 7
Figure 6: Synthèse cyanhydrique de Killiani-Fisher (HCN)…… 8
Figure 7 : Filiation des D aldoses et D cétoses selon Fischer…….. 9
Figure 8 : Enantiomère des oses…… 10
Figure 9 : Diastéréoisomère des oses…… 10
Figure 10 : les épimères des oses…….. 11
Figure 11 : isomère de fonction……. 11
Figure 12 : Forme cyclique furane et pyrane……... 13
Figure 13 : différente conformation des structures cycliques…….. 16
Figure 14 : Réduction de fructose par $NaBH_4$……... 17
Figure 15 : Oxydation douce du glucose …….. 17
Figure 16 : Oxydation du glucose par HNO_3 ……...…… 18
Figure 17 : méthylation ménagée du glucose…… 19
Figure 18 : méthylation complète du glucose ……..…... 20
Figure 19 : Phosphorylation du glucose ……... 20
Figure 20 : Acide ascorbique (vitamine C) …….. 21
Figure 21 : Maltose …….. 22
Figure 22 : Lactose …….. 23
Figure 23 : Cellobiose ……. 23
Figure 24 : Saccharose ……. 24
Figure 25 : L'Amidon …….. 24
Figure 26 : L'amylose …….. 25
Figure 27 : L'amylopectine ……. 25
Figure 28 : Structure du glycogène …….. 25
Figure 29 : Structure de la cellulose ……. 26
Figure 30 : Structure de la glycoprotéine ……. 26
Figure 31 : Structure d'un acide gras ……... 28
Figure 32 : Structure de l'acide oléique ……... 29
Figure 33 : Structure de l'acide linoléique ……... 30
Figure 34 : Structure de l'acide arachidonique …… 30
Figure 35 : Structure de l'acide linolénique ……. 30
Figure 36 : Oxydation d'acide gras par $KMnO_4$ ……... 31
Figure 37 : Estérification de l'acide gras par le glycérol ……. 32
Figure 38 : Réaction de saponification et formation de micelles ……. 32
Figure 39 : Réaction d'addition d'iode …… 33
Figure 40 : Hydrogénation de l'acide oléique …….. 33
Figure 41 : Réaction de formation d'un monoglycéride …….. 33
Figure 42 : Réaction de formation d'un diglycéride …… 34
Figure 43 : Réaction de formation de triglycéride…… 34
Figure 44 : Structure du cholestérol …… 35
Figure 45 : Les stérides …….. 35
Figure 46 : Les différentes classes de glycérophospholipides ……..…….. 36
Figure 47 : Action des phospholipases ……. 37

Figure 48 : Structure de sphingosine …… 38
Figure 49 : Structure de Céramide ……..……. 38
Figure 50 : Structure de sphingomyéline ……..…... 38
Figure 51 : Structure de Cérébrogalactosides ……..……... 39
Figure 52 : Structure de Cérébroglucides ……..……. 39
Figure 53: Structure de l'acide N-acetylneuraminique……..…….. 39
Figure 54 : Structure d'un ganglioside ……..…….. 39
Figure 55 : Formule générale d'un acide aminé ……... 40
Figure 56 : Titration d'un acide aminé ……. 43
Figure 57 : dispositif de l'électrophorèse ……. 48
Figure 58 : chambre de migration de la CCM …….. 49
Figure 59 : chromatogramme d'élution des acides aminés …….. 50
Figure 60 : Liaison peptidique entre deux aminoacides ……... 51
Figure 61 : Structure peptidique de l'angiotensine II …….. 53
Figure 62 : Structure de glucagon …… 53
Figure 63 : Structure de l'insuline …… 53
Figure 64 : Structure de gramicidine S ……. 54
Figure 65 : Structure de bacitracine A …….. 54
Figure 66 : Structure de la pénicilline …….. 54
Figure 67 : Structure de l'aspartame ……..... 55
Figure 68 : Structure primaire de la protéine …… 57
Figure 69 : conformation α de la structure II aire des protéines …….. 58
Figure 70 : Feuillets plissés β de la structure II aire des protéines ……. 58
Figure 71 : Structure tertiaire de et interactions impliquées …… 59
Figure 72 : Structure quaternaire des protéines……. 59
Figure 73 : Différent type de chromatographie……. 62
Figure 74 : Variation de la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat… 64
Figure 75. Représentation de Lineweaver et Burk et détermination des constantes Cinétiques …… 65
Figure 76 **:** Influence d'un inhibiteur compétitive sur l'activité enzymatique…….. 65
Figure 77 : Effet de l'inhibiteur compétitive …… 66
Figure 78 : Fixation d'un inhibiteur non compétitive …….. 66
Figure 79 : Effet de l'inhibiteur non compétitive ……. 67
Figure 80 : Influence d'un inhibiteur incompétitive sur l'activité enzymatique …….. 67
Figure 81 : Modification de la conformation du SA et de l'activité de l'enzyme……. 68
Figure 82 : La transition allostérique de l'enzyme…… 69
Figure 83 : la Cinétique michaélienne et allostérique ……. 69
Figure 84 : Cinétique d'une enzyme allostérique en absence d'effecteur et en présence d'activateur ……. 70
Figure 85 : Courbe sigmoïde d'une enzyme allostérique ……. 70

LISTE DES TABLEAUX

Page

Tableau 1 : Les acides gras saturées les plus courants ……. 29
Tableau 2 : Les acides gras insaturées les plus courants …….. 31
Tableau 3 : Abréviation des acides aminés …….. 41

Introduction

La biochimie peut être définie comme la science des bases chimiques de la vie (en grec bios = vie). La cellule est l'unité structurale des systèmes vivants. On peut donc définir la biochimie comme étant la science qui étudie les constituants chimiques des cellules.

La biochimie, ou chimie du vivant, a toujours eu et aura toujours une place essentielle dans le cursus de l'étudiant de biologie, car elle est une base essentielle à la compréhension des mécanismes de la vie au niveau moléculaire.

La biochimie est la discipline scientifique qui étudie les réactions chimiques ayant lieu au sein des cellules. Chimie des molécules du vivant ; étude de la structure et de la conformation des molécules du vivant ainsi que de leurs transformations lors de réactions chimiques in vivo. Etude des processus et composés chimiques dans les organismes vivants [1].

Elles s'agencent en molécules biologiques simples à partir des quelles sont formées les molécules organiques complexes, regroupées dans trois classes principales : les glucides, les protéines et les lipides [10] [13].

Les structures des molécules : glucides, lipides, acides aminés, peptides, protéines et enzymes sont abordées en chapitres, ce qui devrait permettre d'intégrer de façon plus aisée la diversité des molécules du vivant.

Chapitre 1 : Les liaisons chimiques

Les diverses molécules qui constituent pondéralement l'essentiel de la matière vivante résultent de l'assemblage de plus de deux atomes, des éléments précédemment invoqués, liés entre eux par des liaisons chimiques dites interatomiques. Les molécules ainsi formées se lient ensuite entre elles toujours par des liaisons chimiques dites intermoléculaires [13].

La liaison chimique est définie comme une interaction électromagnétique des électrons de valence des atomes en présence, assurant ainsi une cohésion entre les molécules qui constituent la matière.

Il est habituel de considérer deux types de liaisons chimiques [5] :

- la liaison chimique forte
- la liaison chimique faible.

1. Liaisons fortes

La construction des liaisons fortes est une conséquence d'un principe de stabilité de la matière connu sous le nom de principe de l'octet. Au cours de ses combinaisons chimiques, les atomes tendent à obtenir au niveau de leurs couches électroniques les plus externes (couche de valence), une saturation électrique égale à celle du gaz rare qui précède ou qui suit chaque élément dans la classification de MENDELEEV. Pour se faire, ils doivent soit mettre en commun des électrons de valence soit les transférer complètement.

1.2. Liaison ionique

Une liaison ionique est créée lorsque des électrons passent d'un atome à l'autre ce qui conduit à l'apparition de deux ions de charges opposées. Etant donné que les charges opposées s'attirent, ces ions tendent à rester voisins. Exemple de liaisons ioniques, le chlorure de sodium (NaCl).

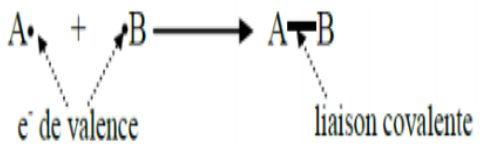
1.2. Liaison covalente et de coordinence

C'est une liaison par mise en commun d'électron, un transfert complet d'électrons n'est pas toujours nécessaire pour que les atomes atteignent un état stable. Chaque atome peut également compléter sa couche de valence au moins une partie du temps en partageant des électrons. Ce partage d'électrons entre les atomes peut être soit bilatéral, unilatéral ou bien anarchique.

1.2.1. Liaison covalente

Liaison de covalence Les électrons de valence sont mis en commun de manière équilibrée entre les atomes. Les molécules ainsi formés sont équilibrées électriquement et on les appelle molécules non polaire.

Exemple : la molécule d'hydrogène (H_2)



1.2.2. Liaison de coordinance

Encore appelée liaison de coordination qui correspond à une mise en commun unilatérale des électrons : l'un des atomes fournit des électrons, alors que l'autre offre une orbitale vide, il y a donc un donneur et un receveur. La répartition des paires d'électrons n'est donc pas équilibrée puisque ceux-ci passent plus de temps au voisinage de l'atome récepteur qui est la plus électronégative. Ce qui conduit à l'apparition de deux pôles et on dit que c'est une molécule polaire.

Exemple : la molécule d'eau (H_2O).

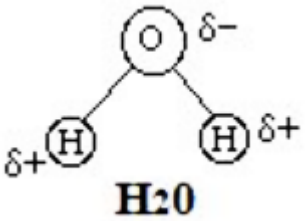


Figure 1 : Molécule d'eau

1.3. Liaison métallique

Liaison par mise en commun d'électron anarchique. Cette liaison est caractéristique de la structure des métaux et ne présente aucun intérêt particulier dans la chimie organique [1].

1.4. Polarité des liaisons

La polarisation d'une liaison est étroitement liée à la différence d'électronégativité des atomes liés entre eux. Plus la différence est importante, plus la liaison est polarisée.

- Une liaison est polaire, si la différence des électronégativités des atomes formant la liaison n'est pas nulle, créant ainsi une dissymétrie du nuage électronique. En effet, l'atome le plus électronégatif attire vers lui le doublet de la liaison, acquérant un excédent de charge négative noté - δ, tandis que l'autre atome, le moins électronégatif, se retrouve avec un déficit de charge noté + δ, bien entendu l'ensemble reste électriquement neutre. Exemple : H–O ; C–F ; N–O.

- Une liaison est apolaire, si la différence des électronégativités des atomes formant la liaison est nulle, créant ainsi une symétrie du nuage électronique. Cette liaison est purement covalente. Exemple : H–H ; Cl–Cl ; C–I ; N–Cl [1] [13].

2. Liaisons faibles

Les liaisons chimiques faibles jouent un rôle important dans les organismes. Se sont toutes les liaisons qui se forment entre les molécules : intermoléculaires et celles qui se forment entre différentes régions d'une même molécule pour donner le statut tridimensionnelle qui la caractérise.

2.1. Liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une liaison faible (4 à 8 Kcal/mol) qui apparait entre un atome d'hydrogène, déjà engagé dans une liaison covalente et porteur d'une charge positive et un atome accepteur, déjà engagé dans une liaison covalente et porteur d'une charge négative [5].

Exemple : liaison hydrogène dans l'organisation des dipôles de l'eau.

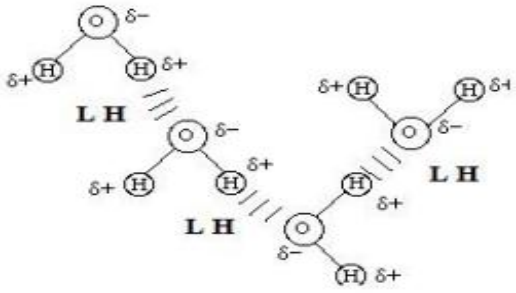


Figure 2 : l'organisation des dipôles de l'eau

2.2. Liaison de VAN DER WAALS

Même une molécule ayant des liaisons covalente non polaires peut présenter des régions chargées négativement et d'autres positivement étant donné que les électrons ne sont pas répartis de façon symétrique dans la molécule et ils peuvent à tout moment se retrouver rassemblée par hasard dans l'une ou l'autre de ses parties. Les liaisons de VAN DER WAALS n'apparaissent que lorsque les atomes sont très proches. Elles résultent de l'attraction de ces dipôles transitoire générée par le mouvement rapides des électrons autour de leur noyau chargé positivement. Ces forces représentent donc l'attraction électrostatique entre le noyau d'un atome et les électrons d'un autre atome [5].

2.3. Liaisons hydrophobes

Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène sont dénommées substances hydrophobes. Les liaisons hydrophobes ne sont pas, à proprement parler des liaisons chimiques, dans le sens où il n'existe pas d'interaction spécifique et directe entre deux atomes. Elles se réfèrent à l'auto-association des groupements non polaires dans un milieu aqueux. Elles résultent de la nécessité de minimiser leurs interactions défavorables du point de vue énergétique avec l'eau [4] [5].

Chapitre 2 : Structure et propriétés physico-chimiques des glucides

1. Définition

Les glucides sont des composés essentiels pour tous les organismes vivants, et sont les molécules biologiques les plus abondantes. Ce sont des molécules organiques dont les carbones sont porteurs :

- ✓ de fonctions alcools (alcool secondaire, alcool primaire)
- ✓ d'une fonction aldéhyde ou cétonique (fonction carbonylique)
- ✓ parfois d'une fonction acide ou aminée.

Au total, il s'agit d'aldéhyde ou de cétone polyhydroxylées car un carbone est porteur soit d'un aldéhyde soit d'une cétone, tous les autres étant porteurs de fonctions alcools [3] [11].

2. Importance en Biologie

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).

Rôle structural

Les glucides interviennent comme :

- ✓ Eléments de soutien (cellulose), de protection et de reconnaissance dans la cellule.
- ✓ Eléments de réserve des végétaux et animaux (glycogène, amidon).
- ✓ Constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines.
- ✓ Ils représentent un fort pourcentage de la biomasse car la plus grande partie de la matière organique sur la Terre est glucidique.

La place du glucose

Principal carburant des tissus :

- ✓ Seul carburant du fœtus,
- ✓ Rôle fondamental car tous les glucides alimentaires sont absorbés sons forme de glucose ou convertis en glucose dans le foie.
- ✓ Tous les glucides sont synthétisés à partir du glucose dans l'organisme

3. Classification des glucides

On distingue les oses et les osides.

Les Oses sont des sucre simple ou encore monosaccharides non hydrolysables. Les critères de classification des oses font appel au nombre d'atomes de carbone de l'ose et à la nature du carboxyle.

- ✓ Le nombre d'atomes de carbone : 3C (triose) ; 6C (hexose)
- ✓ La nature du carbonyle : Aldéhyde → Aldose ; Cétone → Cétose

- ✓ La combinaison de ces 2 critères caractérise l'ose : Aldopentose, Aldohexose, Cétopentose, Cétohexose.

Les osides sont des molécules dont l'hydrolyse fournit 2 ou plusieurs molécules d'oses. Ces oses sont identiques ou différents. On en distingue 2 grands groupes : ***Holosides*** et ***Hétérosides***. [11]

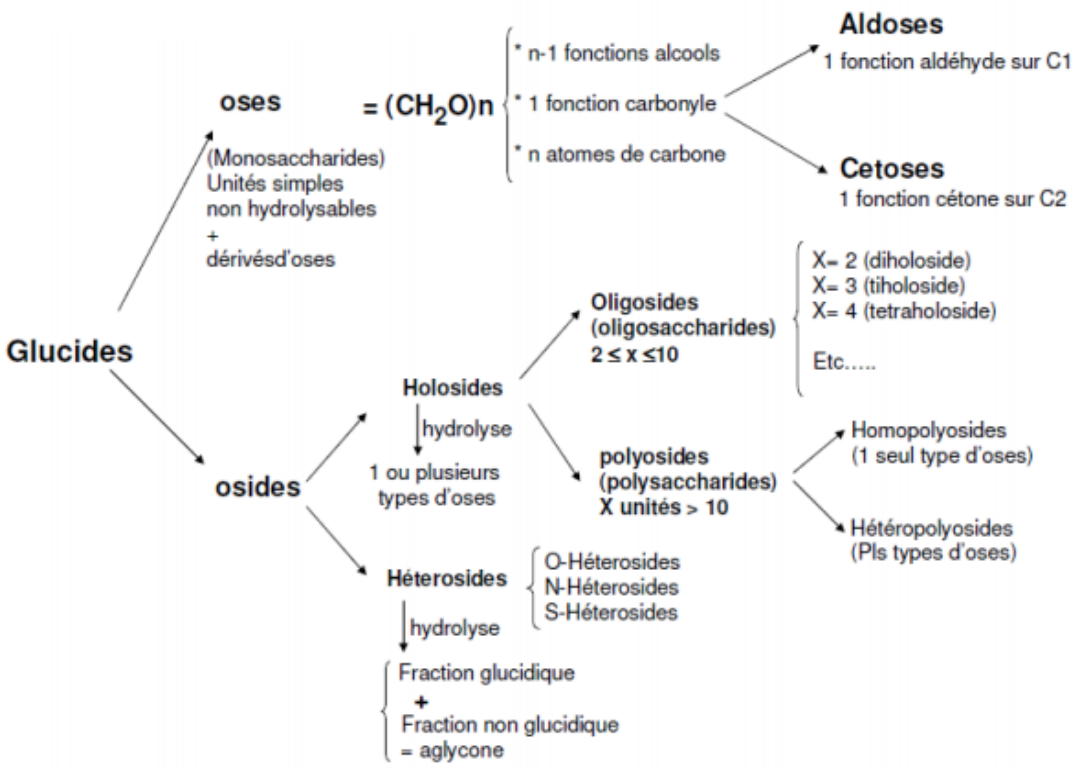


Figure 3 : Classification des glucides [11]

4. Les Oses

4.1. Structure linéaire des oses (Modèle de Fischer)

Les oses simples sont des molécules constituées d'une chaîne carbonée, de 3 à 9 éléments carbones (les monoses). Les oses principalement impliqués dans les voies métaboliques sont des oses constitués de 3 à 6 éléments carbones. Chaque molécule à n éléments carbone contient un (1) groupement carbonyle et (n-1) groupements hydroxyles. Suivant l'emplacement du groupement carbonyle sur la chaîne carbonée, on observera une fonction aldéhyde ou une fonction cétone. Dans le premier cas les molécules seront appelées des aldoses, dans le second cas, des cétoses. Le carbone portant le groupement carbonyle a

toujours le numéro le plus petit, à savoir : (numéro1 pour les Aldose et numéro 2 pour les cétoses). Les atomes de carbone d'un ose sont numérotés à partir du carbone le plus oxydé [2].

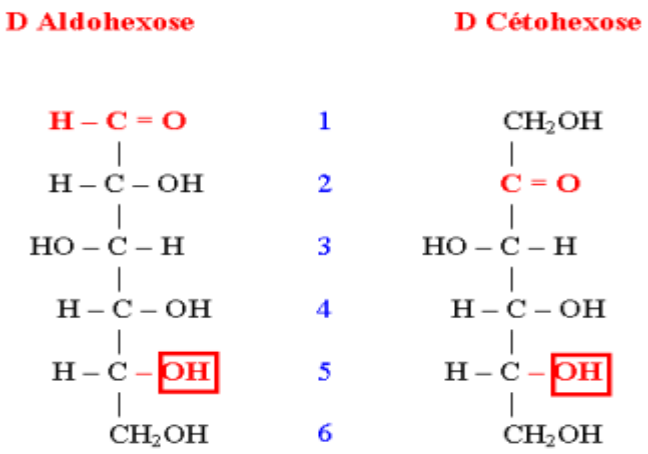


Figure 4: Modèle d'oses selon Fisher.

4.1.1. Structure du Glycéraldéhyde

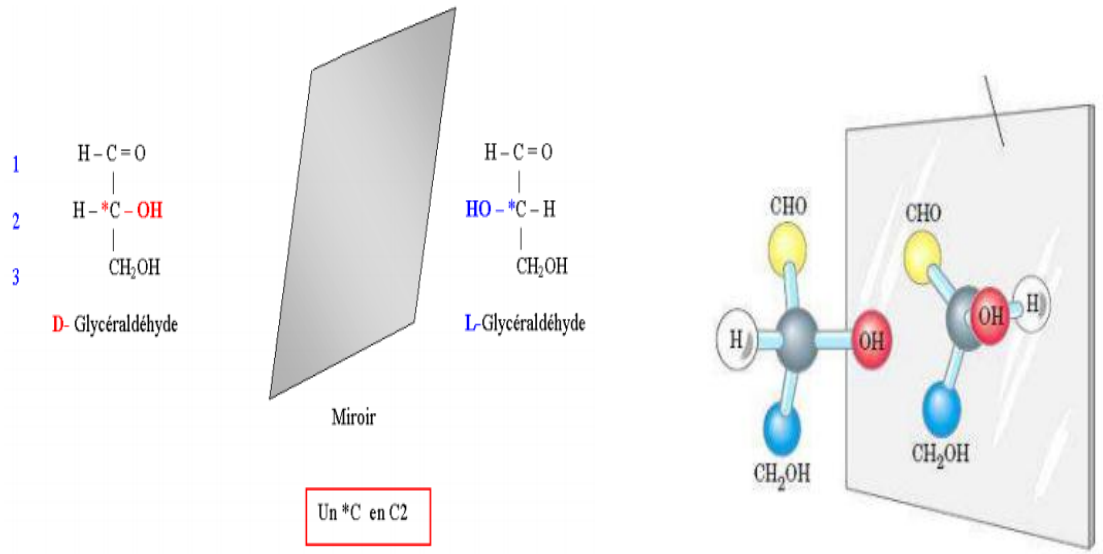


Figure 5: Structure du Glycéraldéhyde

4.1.2. Série D et L des oses

L'appartenance à la série D ou L pour un ose à n C est déterminé par la configuration du Cn-1

- Série D ⟶ OH du C_{n-1} est à droite
- Série L ⟶ OH du C_{n-1} est à gauche

Les glucides naturels sont de la série D

4.1.3. Rappels sur le Carbone asymétrique

- Il est porteur de 4 radicaux différents (exemple : C2 du glycéraldéhyde)
- Isomères optiques ou énantiomères
  - Isomère dextrogyre (+)
  - Isomère lévogyre (-)
  - Mélange équimoléculaire des 2 isomères : Racémique (DL) inactif sur la lumière polarisée.

- Une molécule chirale est une molécule optiquement active :
  - Elle renferme au moins 1 C asymétrique
  - Elle n'a pas de plan de symétrie.

- Configuration stéréochimique et pouvoir rotatoire d'un ose
  En dehors du glycéraldéhyde, il n'y a aucune relation entre configuration stéréochimique de l'ose et son pouvoir rotatoire [2] [11].

4.1.4. Filiation chimique des oses selon Fischer

Formation à partir du D-Glycéraldéhyde (par addition de C successifs) : Triose → Tétrose → Pentose → Hexose

L'acide cyanhydrique s'additionne sur la fonction aldéhyde pour former un nitrile alcool ou cyanhydrine. Par hydrolyse, il est possible de passer à l'amide, puis à l'acide et de là par réduction à l'aldéhyde, c'est- à-dire à un nouvel aldose possédant un atome de carbone de plus, on obtient 2 stéréoisomère épimère en C2. Quand on passe d'un ose à l'ose supérieur, un groupe H-C-OH est ajouté après le carbone de la fonction carbonyle [15].

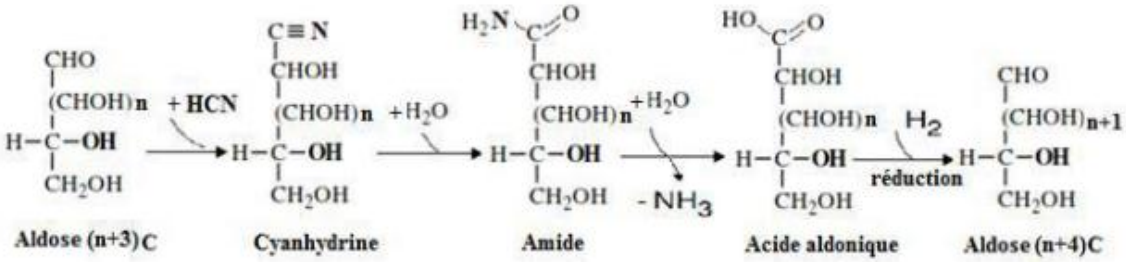


Figure 6: Synthèse cyanhydrique de Killiani-Fisher (HCN)

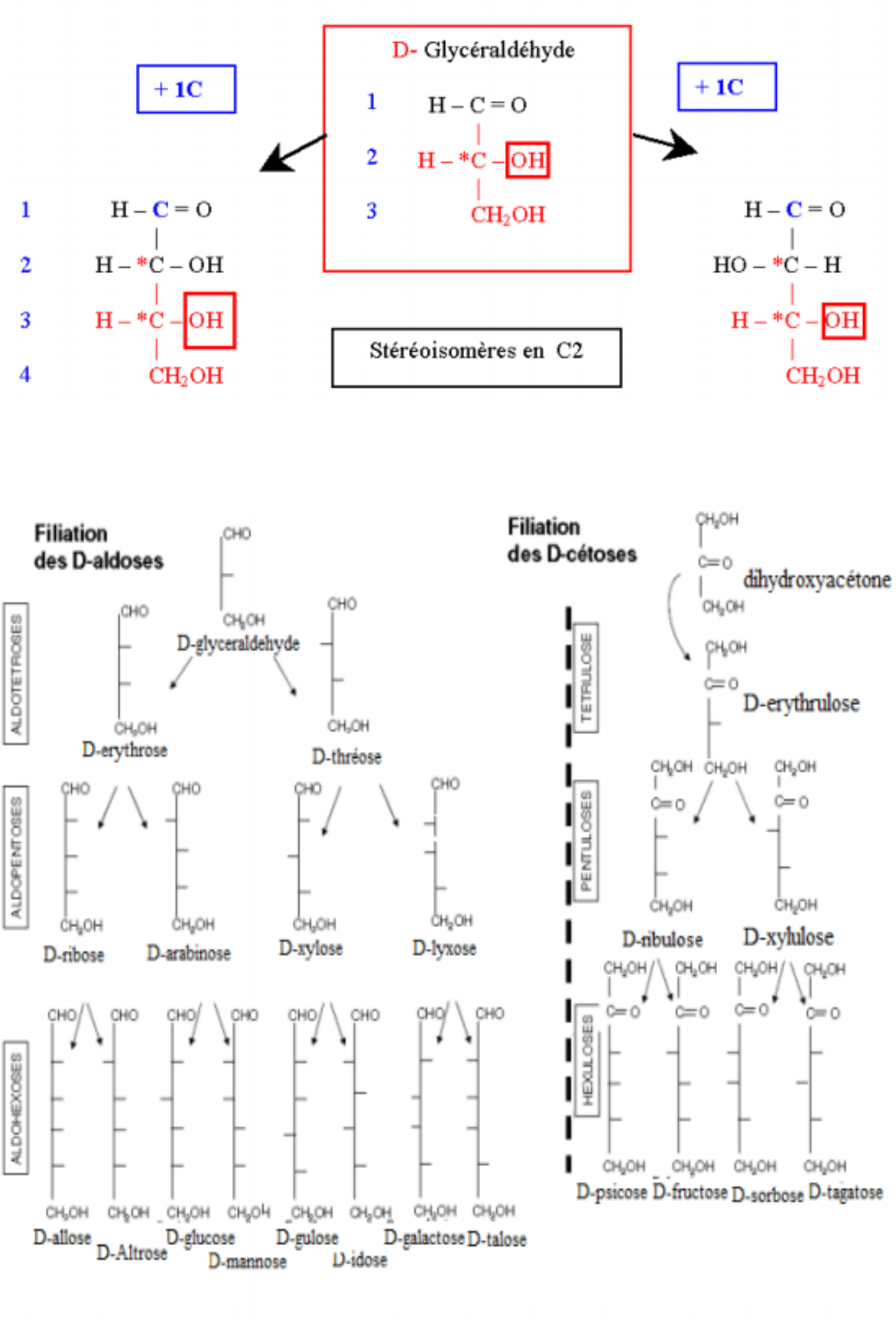


Figure 7 : Filiation des D aldoses et D cétoses selon Fischer [15].

4.1.5. Diversité des oses, Isomérie [2] [15]

4.1.5.1. Les stéréo-isomères

Sont des composés ayant la même formule brute et développée mais diffèrent par l'arrangement spatial des groupements OH.
D'une façon générale pour n C* (Asymétrique)on a $\mathbf{2^n}$ stéréo-isomères.

4.1.5.2. Les énantiomères

On appel deux oses énantiomère, quand l'un est l'image d'un autre dans le miroir. Deux isomères qui différant par la configuration absolue de tous leurs carbones asymétriques et sont images l'un de l'autre dans un miroir.

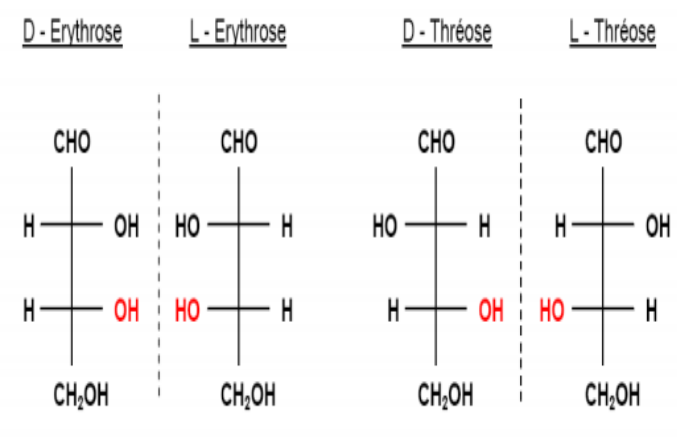


Figure 8 : Enantiomère des oses

4.1.5.3. Les diastéréo-isomères

Le cas des isomères qui ont au moins 2 carbones asymétriques différents.
Ex : le D glucose et le D gulose sont diastéréoisomère car il diffèrent par la configuration de de 2 sur 4 de leurs C*.

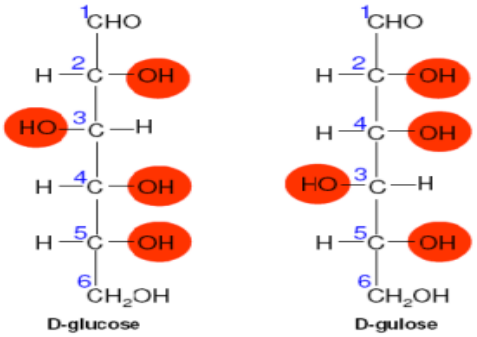


Figure 9 : Diastéréoisomère des oses

4.1.5.4. Les épimères

Deux composés sont épimères loresqu'ils contiennent plusieurs carbones asymétriques et que leurs formule diffèrent uniquement par la configuration d'un seul de ces carbonnes asymétrique.

Deux oses sont épimères lorsque leurs formules ne diffèrent que par l'orientation de l'hydroxyle d'un seul carbone asymétrique. L'épimérisation se fait par voie chimique ou enzymatique (épimérase).

Ex : Le Glucose et le Galactose des épimère en C_4
Le Mannose épimère en C_2 avec le Glucose (c'est un épimère chimique= épimère vrai)

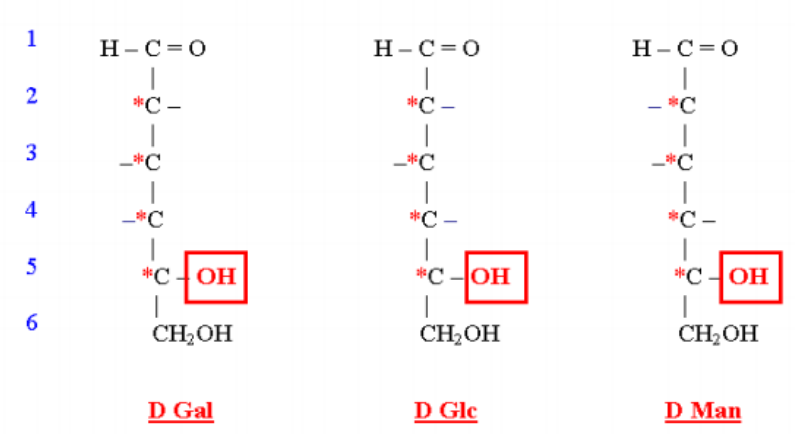


Figure 10 : les épimères des oses

4.1.5.5. Les isomères de fonctions

Les isomères de fonction, on la même configuration, même nombre d'atomes de C, ils différent par la fonction carbonyle. Ce sont des oses qui diffèrent qu'avec la fonction chimique

Ex : le D-Glucose et le D-fructose ont la même formule $C_6H_{12}O_6$ mais pas la même formule développée, car ils diffèrent par leur fonction aldéhyde et cétone respectivement.

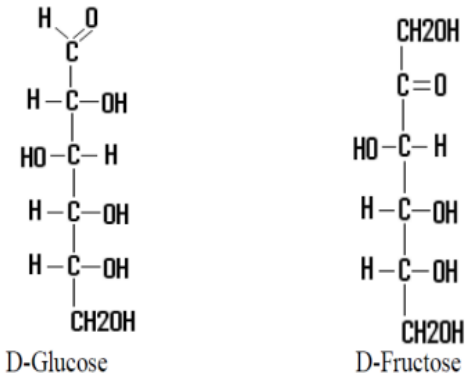


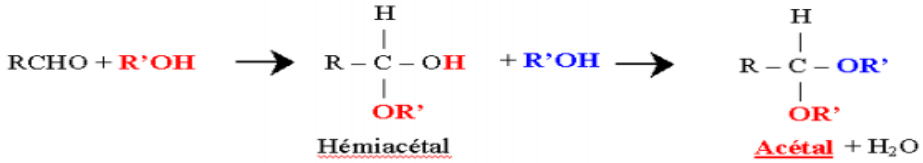
Figure 11 : isomère de fonction

4.2. Objections à la structure linéaire des oses [11] [14] [15]

En solution dans l'eau, les oses existent sous forme cyclique. Nous citerons deux objections à la structure linéaire. Ces objections permettent de montrer qu'en solution les oses existent non pas sous forme linéaire mais sous forme cyclique.

4.2.1. Formation d'Acétal

Un aldose ou une cétone vrais fixe deux molécules d'alcool.



Un aldose ou un cétose ne fixent qu'une seule molécule d'alcool

Aldose ou Cétose + R'OH ⟶ Hémiacétal uniquement

4.2.2. Mutarotation (anomères)

Ce phénomène correspond à une variation du pouvoir rotatoire observée lors de la préparation d'une solution aqueuse. La valeur du pouvoir rotatoire d'un ose (mesurée au polarimètre) n'est pas fixée immédiatement ; elle le devient au bout d'un certain temps. Ce phénomène est lié à l'existence de 2 formes isomériques, l'anomère α ou β à l'origine de la mutarotation. Ces 2 anomères différent par la position dans l'espace du OH hémiacétalique.

αD Glucose + 112°
βD Glucose + 18°7
⟶ + 52°7

4.2.3. 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 α permet de définir le pouvoir rotatoire spécifique, caractéristique d'une substance optiquement active, à une température donnée (t) et pour une longueur d'onde donnée (λ).

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{t}\, CL$$

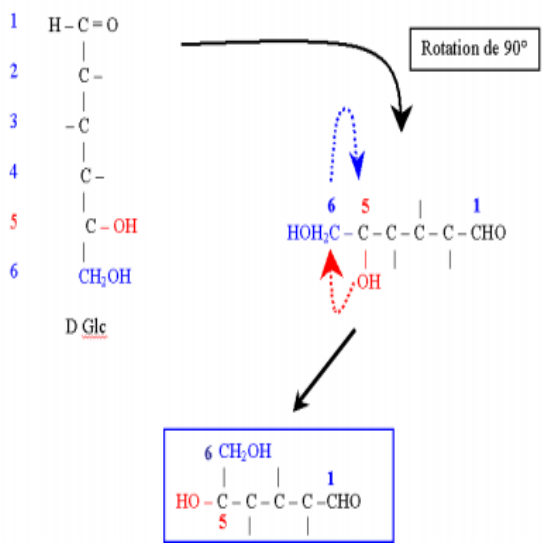
[α] : le pouvoir rotatoire spécifique de la substance étudiée,
L: la longueur de la cuve polarimétrique en dm
C : la concentration de la solution étudiée en g/ ml
α : l'angle de rotation

N.B.

- 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 D(+) glucose est bien dextrogyre (= +52°), mais le D(-) fructose, lui, est fortement lévogyre (= -92,4°).

4.3. Structure cyclique des oses : structure de Haworth

Les oses ne sont pas des structures rigides et rectilignes. La forme linéaire des oses est une représentation simple mais incomplète, elle ne permet pas d'expliquer les propriétés des oses. Le cycle est formé par une liaison dans la molécule d'ose entre la fonction carbonylique (aldéhyde ou cétone) et un OH alcoolique = liaison hémiacétalique [15].



La structure est convexe vers l'observateur. Par cette convexité les C1 et C6 sont proches dans l'espace. La rotation des valences autour du C5 permet de mettre sur un même plan les atomes participant à la cyclisation.

Les aldoses soit : le C1, le C5 et l'Oxygène du C5. Le cycle à 6 sommets qui en résulte est appelé pyranique car il est issu du **pyrane**.

Les cétoses soit : le C2, le C5 et l'Oxygène du C5. Le cycle à 5 sommets qui en résulte est appelé furanique car il est issu du **furane**.

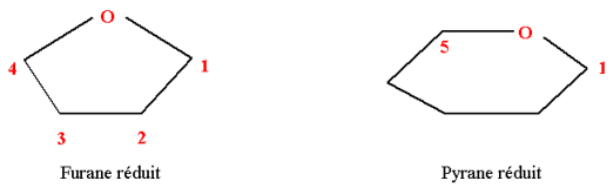
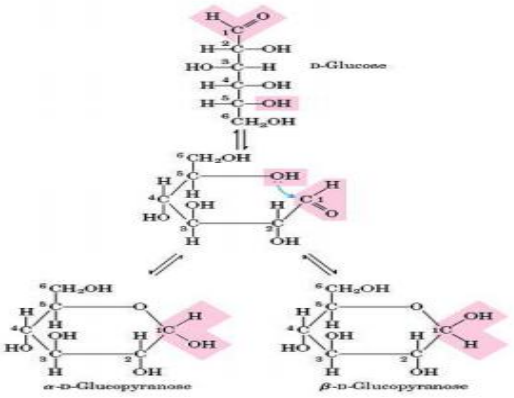
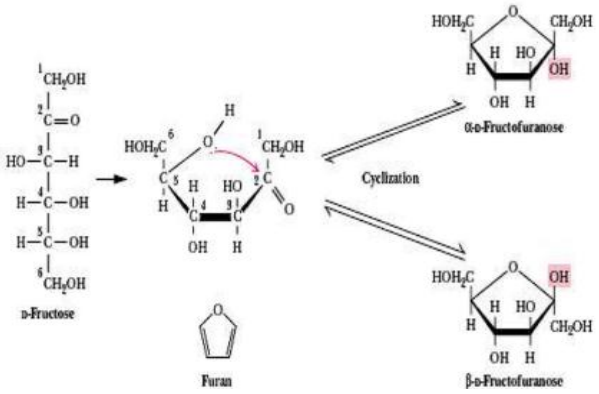


Figure 12 : Forme cyclique furane et pyrane

Cyclisation pyranique (Hémi-acétélisation)
(cas du D glucose)



Cyclisation furanique
(cas du D fructose)

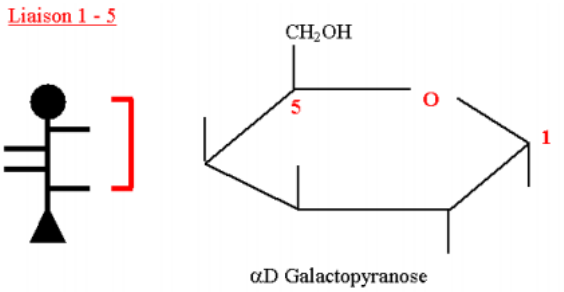


Dans les deux cas y a eu **α** et **β** anomères cela est dû à l'apparition d'un autre centre asymétrique suite à la cyclisation [11] [15].

4.3.1. Exemples de structures cycliques osidiques

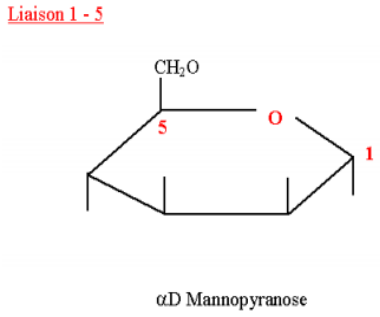
- **D-Galactopyranose**

Il intervient dans la composition de lactose = D Gal + D Glc. Son pouvoir rotatoire est dextrogyre. C'est un cérébrogalactosides du cerveau Certains glycolipides et glycoprotéines.



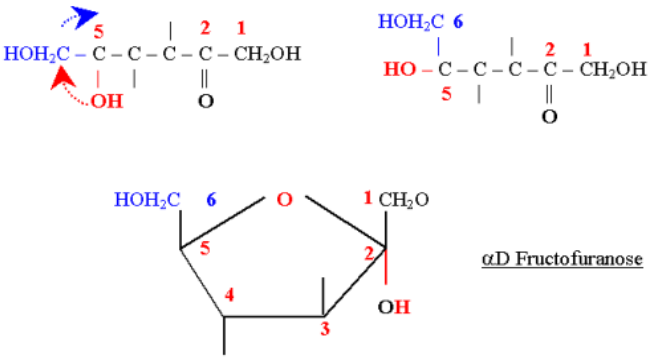
- D-Mannopyranose

Il est présent surtout dans les végétaux. • C'est un constituant des glycoprotéines chez l'homme. Son pouvoir rotatoire est dextrogyre.



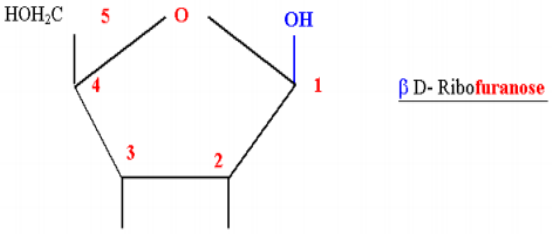
- D-Fructofuranose

On le trouve surtout dans les fruits d'où son nom. Son pouvoir rotatoire est lévogyre d'où son nom de Lévulose. Il est présent dans le liquide spermatique chez l'homme où il participe au mouvement des spermatozoïdes. • Il est présent sous forme furanique dans le saccharose. La cyclisation se fait entre le C2 (cétone) et le C5



- D Ribofuranose

La forme furanique est la forme habituelle des pentoses combinés dans les acides nucléiques (ARN). Le β D Ribofuranose est lié aux bases puriques et pyrimidiques par une liaison N-osidique (nucléosides, nucléotides). • Il intervient dans la structure des coenzymes : NAD, NADP, ATP. La forme biologique est la forme furanique (1 - 4). Dans le Désoxyribose le OH en 2 est remplacé par H (ADN).



4.3.2. Conformation des structures cycliques

La conformation des hétérocycles de 5 ou 6 atomes ne sont pas planaire. Les formes tridimensionnelle d'un cycle hexagonale non planes sont interchangeable sans rupture de liaison covalente par de simples rotations des liaisons.

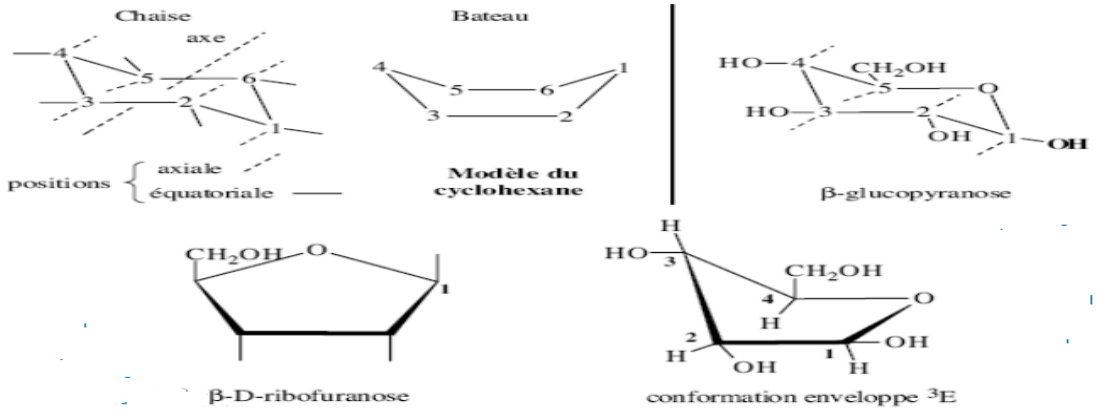
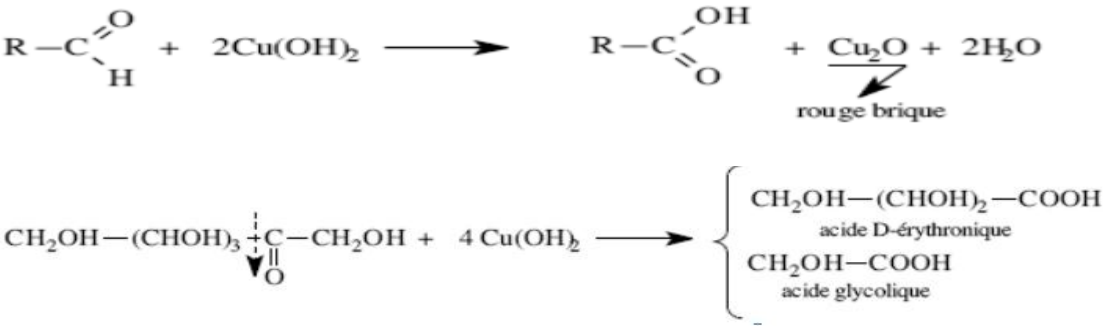


Figure 13 : différente conformation des structures cycliques

4.4. Principales propriétés des oses

Certains oses (fructose) ou osides (saccharose) ont un goût sucré. Les oses sont très hydrosolubles en raison de leurs nombreuses fonctions alcooliques. Les aldoses sont réducteurs par leur fonction hémiacétalique (pseudoaldéhydique). Les cétoses sont très peu réducteurs. Le pouvoir réducteur mis en evidence par la liqueur de Fehling [2 $Cu(OH)_2$]. [2]



4.4.1. Propriétés physiques des oses

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 ex: l'éther mais solubles dans le méthanol.

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.

Spectre d'absorption

Les glucides absorbent peu dans le visible et l'ultraviolet. Ils possèdent par contre un spectre Infra-Rouge caractéristique.

4.4.2. Propriétés chimiques des oses

4.4.2.1. Réduction

Les aldoses et les cétoses sont irréversiblement réduits en alditols par addition des agents alcalins : borohydrures alcalins (NaBH4, LiBH4) 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) et le D-mannose donne le Dmannitol, …etc. cette réaction est possible par voie enzymatique sous l'action de déshydrogénase.

La réduction du D-fructose par NaBH4 donne un mélange équimoléculaire de D-glucitol et de D-mannitol, alditols épimères en C2. [2] [12]

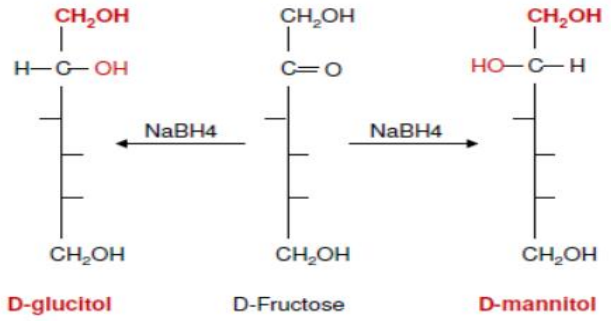


Figure 14 : Réduction de fructose par $NaBH_4$

4.4.2.2. Oxydation

a) Oxydation douce en milieu alcalin

Les oxydants doux, comme le brome ou l'iode (Br_2, I_2) en milieu alcalin, l'acide nitrique très dilué, oxydent la fonction aldéhydique des aldoses en groupement caboxylique, conduisant à la formation d'un **acide aldonique** (R-COOH). Le D-glucose donne ainsi l'acide D-gluconique. Les cétoses ne sont pas oxydable dans ces condition. [2] [12] [15]

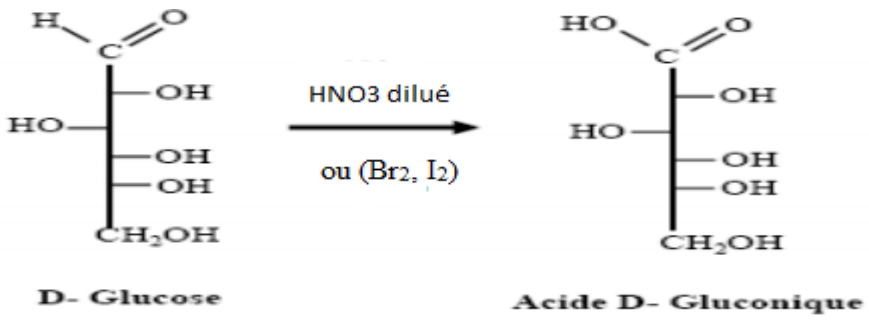
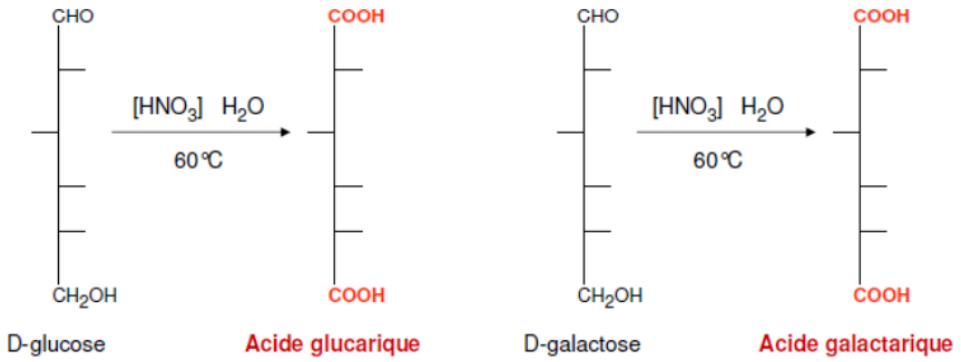


Figure 15 : Oxydation douce du glucose

b) 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**.



La même réaction d'oxydation provoque la coupure oxydante du squelette carboné des cétoses.

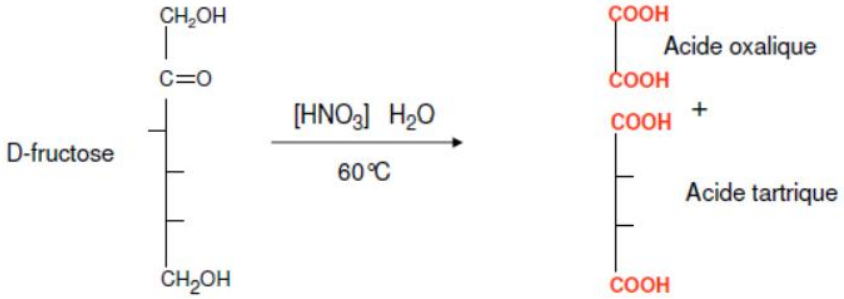
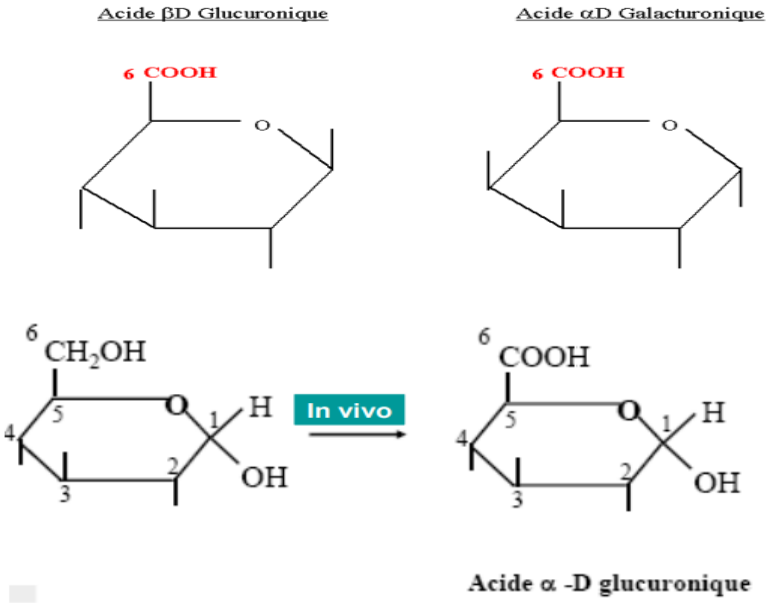


Figure 16 : Oxydation du glucose par HNO_3

c) Oxydation du carbone C_n

Un aldose constitué de n éléments de carbone peut être oxydé sélectivement au niveau du carbone n. ce carbone prend la forme du groupement carboxyle. Les molécules obtenues sont des acides uroniques. On les obtient par oxydation de la fonction alcool primaire sur le C_6 pour les héxose.

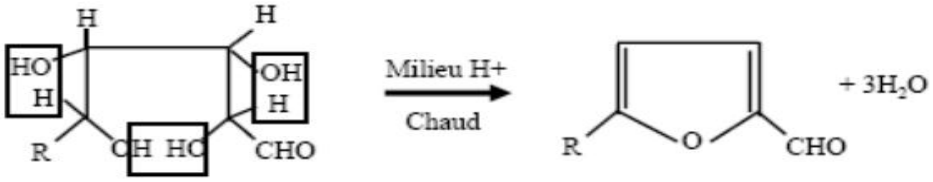


L'acide glucuronique intervient dans les métabolismes de détoxification. Leur rôle biologique est essentiel dans la détoxification hépatique. Ce sont des constituants des Glycosaminoglycanes

4.4.2.3. Déshydratation à chaud en milieu acide

A partir d'ose simple, cette réaction avec l'acide sulfurique l'action d'un acide concentré et à chaud, les aldoses et les cétoses donnent naissance au furfural (dans le cas des pentoses), ou un dérivé hydroxyméthylé du furfural (dans le cas des hexoses).

Il est donc possible de doser certain composés osidiques simple en utilisant des réactions de ce type. [2] [15]



Exemples des dosages furfuraliques

Nom de la réaction	Réactif	Spécificité
Sélivanoff	Résorcinol	Cétose (fructose)
Bial	Orcinol	Ribose (ARN)
Dische	Diphénylamine	2-désoxyribose (ADN)

4.4.2.4. Méthylation des oses

La méthylation des oses permet de fixer un groupement méthyle sur les groupements hydroxyles :

- Dans le cas d'une réaction ménagée, seul le groupement hydroxyle hémiacétale est méthylé.
- Dans le cas d'une réaction complète tous les groupements hydroxylés sont méthylés.

La méthylation permet de fixer un - CH3 sur un OH pour donner des éthers (R-O-CH3). La méthylation des oses se fait par des agents méthylants tels que l'iodure de méthyle (I-CH3) avec l'oxyde d'argent (Ag_2O) ou bien avec du sulfate de diméthyle $(CH3)_2SO_4$ en milieu alcalin (NaOH). [11] [15]

Exemple 1: méthylation ménagée du glucose

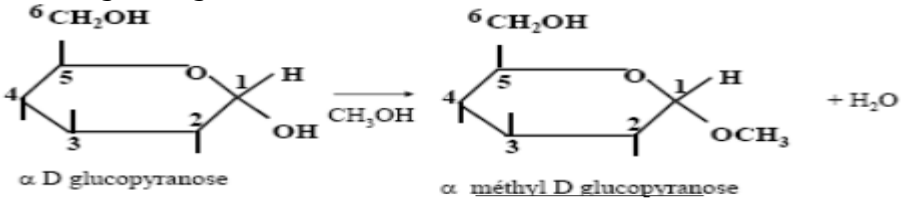


Figure 17 : méthylation ménagée du glucose

Exemple 2: méthylation complète du glucose

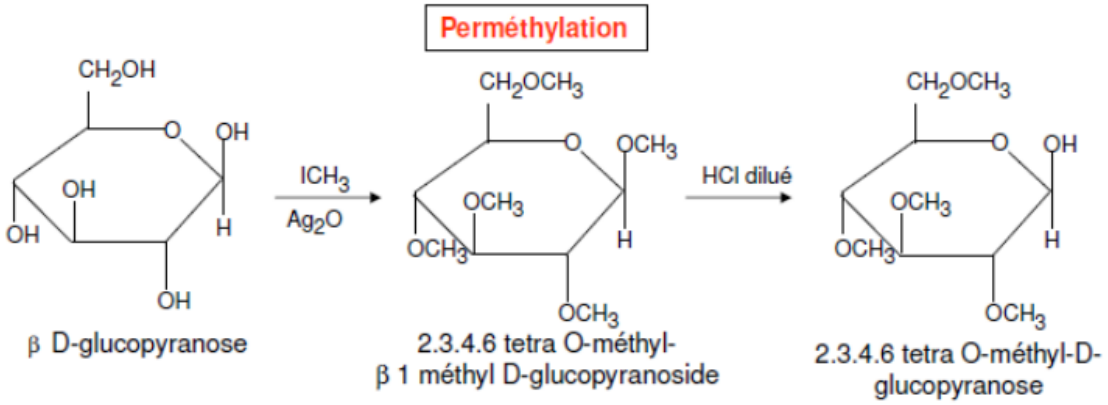


Figure 18 : méthylation complète du glucose

4.4.2.5. Estérification

Les acides estérifiés les fonctions alcool. 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. [12] [15]

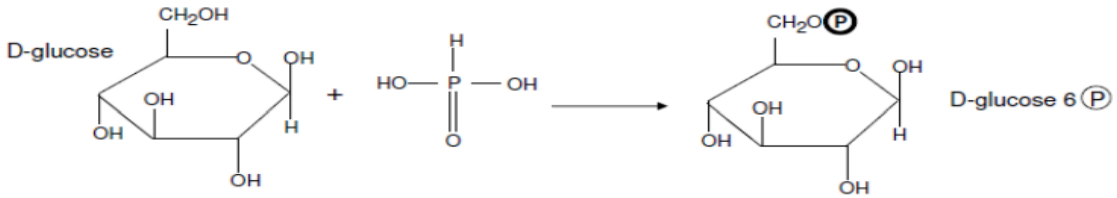
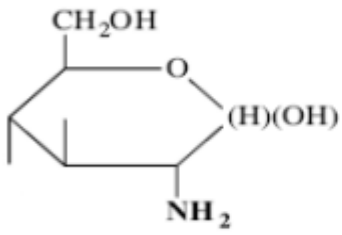


Figure 19 : Phosphorylation du glucose

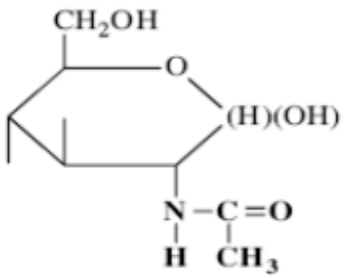
4.4.3. Dérivés d'oses biologiques

4.4.3.1. Les Osamines

Ils ont les même propriétés des oses (propriété réductrice forme cyclique …etc) et les propriétés amine (basique). Deux osamines ont un intérêt biologique : la Glucosamine et la Galactosamine [-OH en 2 remplacé par -NH2]. Le -NH2 est souvent acétylé pour donner une N-acétylglucosamine ou une N-acétylgalactosamine. Les osamines sont des constituants des glycolipides, des glycosaminoglycanes et des glycoprotéines [9] [11].



D-glucosamine (Glc-NH_2)



N-acétyl-D-glucosamine (Glc-Nac)

4.4.3.2. Acide ascorbique (vitamine C)

Les vitamines ne sont pas synthétisées par l'organisme et sont nécessaires en faible quantité. La vitamine C est indispensable car elle n'est pas synthétisée par l'organisme chez l'homme. Sa carence conduit au scorbut. C'est une vitamine hydrosoluble. Seule la forme L est active. C'est un monoacide car elle a un seul H mobile. Sa fonction ène-diol est caractéristique. Elle possède un pouvoir très réducteur. Elle est donc facilement oxydable en acide déhydroascorbique qui est aussi biologiquement actif.

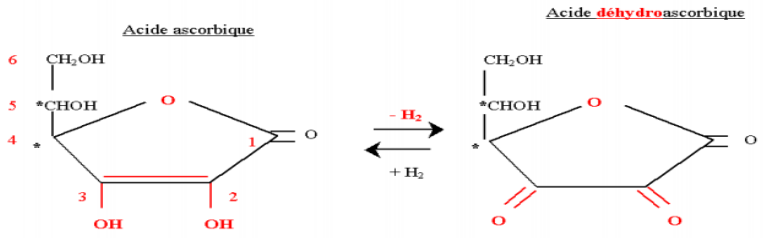
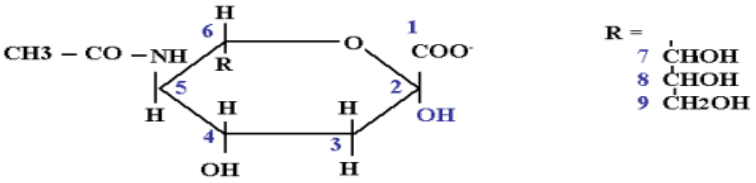


Figure 20 : Acide ascorbique (vitamine C)

Rôle biologique : c'est le coenzyme de la prolylhydroxylase qui intervient dans la synthèse d'hydroxyproline. Elle intervient aussi dans la synthèse des stéroïdes. Sa carence entraîne des anomalies de la synthèse du collagène, la fragilité des parois vasculaires [9] [13].

4.4.3.3. Acide sialique [Acide N-acétylneuraminique (NANA)]

L'acide neuraminique est le produit de condensation de : Acide pyruvique + D mannosamine. Ce sont des constituants des glycoprotéines et glycolipides de la paroi des cellules eucaryotes. L'acide sialique est l'acide N-acétylneuraminique (NANA) [11].



5. Les Osides

Les osides sont des molécules qui donnent par hydrolyse 2 ou plusieurs molécules d'oses. Ces oses peuvent être identiques ou différents.

Les osides sont des polymères 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 les oses et parmi eux ci les oligosides (2-10 unité) et les polyosides (> 10 unité) [12] [15].

5.1. Holosides

5.1.1. La liaison osidique ou glycosidique

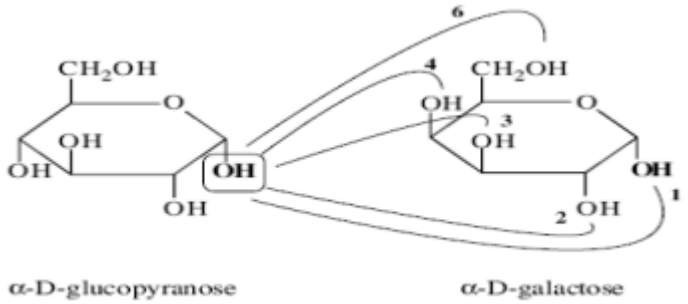
Une liaison osidique ou glycosidique ce fait entre l'hydroxyle réducteur porté par le carbone anomérique (C_1 pour aldoses et C_2 pour cétoses), en position α ou β, avec un hydroxyle d'un autre ose.

$$R\text{-}OH + R'\text{-}OH \longrightarrow R\text{-}O\text{-}R' + H_2O$$

Trois type de liaisons peuvent se former :

- OH semi-acétalique + OH alcool primaire (diholoside réducteur, 1 OH semi acétalique libre)
- OH semi-acétalique + OH alcool secondaire (diholoside réducteur)
- OH semi-acétalique + OH semi-acétalique (diholoside non réducteur pas de OH semi acétalique libre)

Ex : D Glucose et D Galactose



5.1.2. Les diholosides

Deux oses sont unis entre eux par une liaison osidique (ou glycosidique) pour donner un diholoside. Trois diholosides existent à l'état libre, les autres proviennent de l'hydrolyse de polyosides. Résultant de la condensation avec élimination d'eau de 2 hexoses, leur formule brute est $C_{12}H_{22}O_{11}$, il s'agit du lactose, du saccharose, maltose…etc. Selon le mode de liaison des 2 oses le diholoside est non réducteur ou réducteur [11] [14] [15].

5.1.2.1. Diholoside réducteur

Il y a condensation d'une fonction hémiacétalique d'un ose avec une fonction alcoolique d'un second ose par une liaison **osido-ose**. Il reste donc dans le diholoside un -OH hémiacétalique libre responsable du pouvoir réducteur de la molécule.

Les diholosides réducteurs lactose, cellobiose et le maltose, test positif avec Fehling.

a) Le Maltose

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

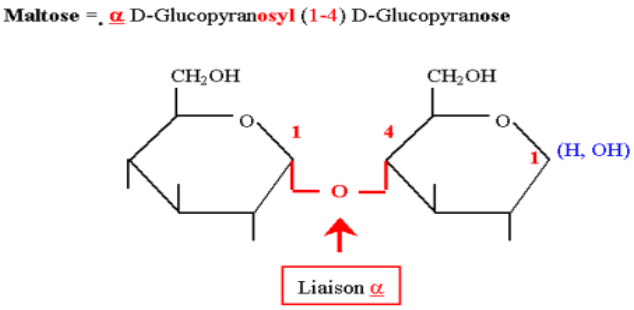


Figure 21 : Maltose

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 β (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.

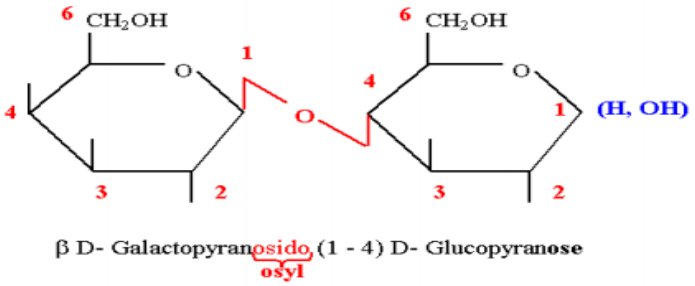


Figure 22 : Lactose

c) Le Cellobiose

- Unité de base de la cellulose, présente une liaison osidique β (1-4).
- Son nom systématique est le β-D-glucopyranosido 1-4 D-glucopyranose.

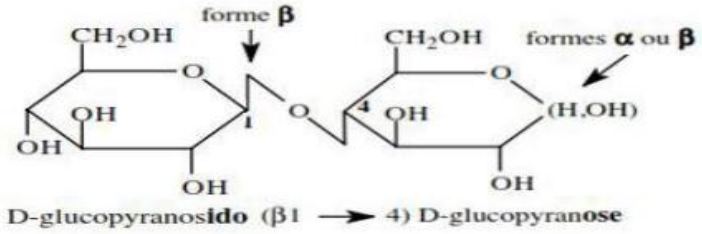


Figure 23 : Cellobiose

5.1.2.2. Diholoside non réducteur

Il y a condensation de la fonction hémiacétalique de chaque ose par une liaison **osido-oside**
Les diholosides non réducteurs saccharose, trehalose, test négative avec Fehling.

Le Saccharose : C'est un diholoside non réducteur, très répandu dans les végétaux. C'est le sucre de table. Il est formé par l'union de 2 molécules (glucose + fructose) unies en β (1-2). C'est un oside non réducteur. Le saccharose est hydrolysable par voie enzymatique avec une α glucosidase ou une β fructosidase.

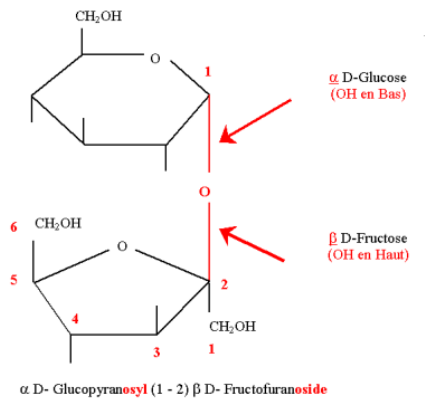


Figure 24 : Saccharose

5.1.3. Polyosides

La plupart des glucides se présentent à l'état naturel sous forme de plyosides de haut poids moléculaire. Les polyosides homogènes sont constitués d'un seul type d'ose. Ce sont soit des polyosides de réserve (amidon, glycogène) soit des polyosides de structure (cellulose). 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 [13].

5.1.3.1. L'Amidon

L'amidon est haut polymère insoluble dans l'eau froid, bien qu'hydrophile. C'est le polyoside végétal le plus abondant (réserve glucidique), qui a un rôle nutritionnel important chez l'homme et l'animal. Il est synthétisé dans les grains d'amyloplastes des cellules végétales. Son poids moléculaire est variable selon l'espèce végétale et peut atteindre plusieurs millions.

Il est constitué d'une chaîne principale faite de glucoses unis en α (1-4) et de ramifications (ou branchements) faites de glucoses unis en α (1-6). Deux fractions homogènes puissent en être extraites [11]

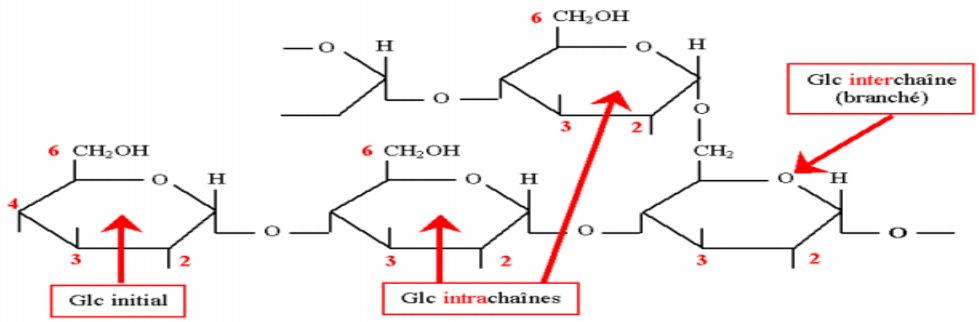
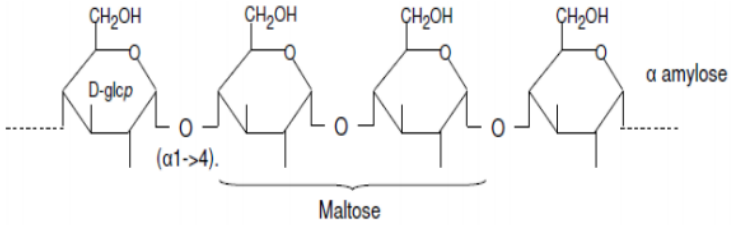


Figure 25 : L'Amidon [13].

a) **L'amylose**

Représente 5 à 30 % de l'amidon est soluble dans l'eau tiède et cristallise par refroidissement. c'est un polymère à chaîne linéaire résultant de la condensation d'unités de D-glucose par des liaisons osidiques α(1-4). Le nombre de résidus de D-glucose est compris entre 200 et 3000 par molécules. De structure linéaire en hélice gauche autour de la liaison glucosidique. [10]

La structure en hélice et maintenu par les liaisons hydrogènes.



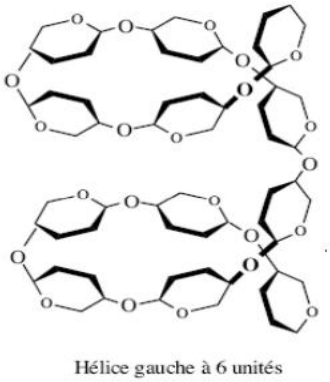


Figure 26 : L'amylose [13]

b) **L'amylopectine**

L'amylopctine se distingue par un nombre de glucose supérieur mais surtout par une structure ramifié tous les 20 à 30 résidus. Elles est constituée de chaînes de D-glucose unis par des liaisons α(1-4), ces chaînes étant elles-mêmes ramifiées par des liaisons α(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.

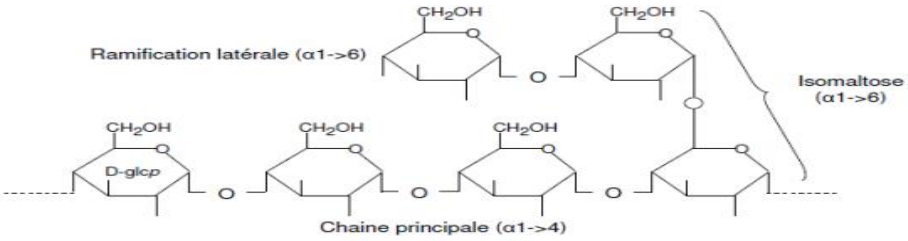


Figure 27 : L'amylopectine [13]

5.1.3.2. Le Glycogène

C'est la forme de stockage du glucose dans le foie et les muscles. C'est un polyhoside plus ramifié que l'amidon car ses branchements sont plus nombreux (liaisons α1-6) et plus rapprochés. 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. [15]

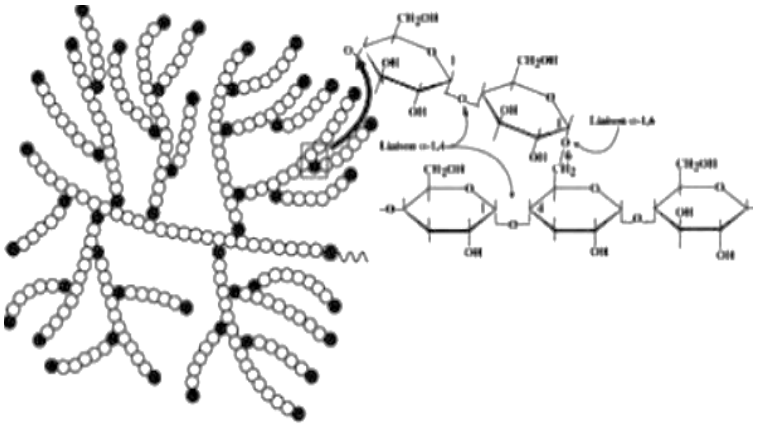


Figure 28 : Structure du glycogène [11]

5.1.3.3. 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 β(1-4). La cellulose est un composant végétal fondamental, mais elle ne peut être attaquée par les sucs digestifs de l'homme qui ne contiennent pas les systèmes enzymatiques nécessaires à l'hydrolyse des liaisons β-osidiques.

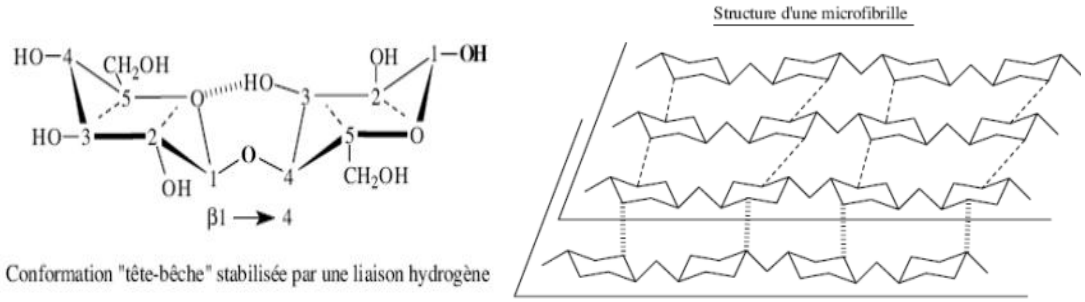


Figure 29 : Structure de la cellulose [11] [15]

Ces polymères s'organisent en feuilles toujours par l'intermédiaire de liaisons hydrogène entre les différentes chaines qui se collent latéralement pour constituer des microfibres. Structure stabilisée par liaison hydrogène. Ces microfibres sont de certaine solidité mécanique et résistance à toute dégradation.

5.2. Hétérosides

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

5.2.1. Les glycoprotéine

Les osides sont fixés sur les protéines par deux type de liaisons formé par condensation : liaison N-osidique et O-osidique.

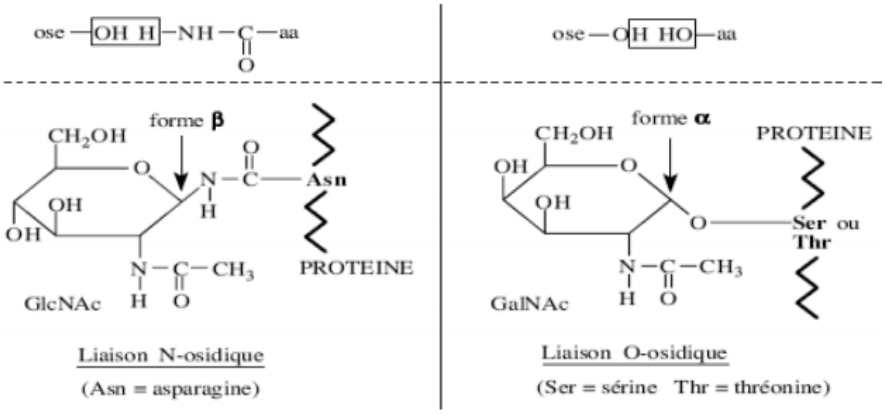


Figure 30 : Structure de la glycoprotéine

- la liaison N-osidique qui s'établit en général entre le dérivé N-acétyl-glucosamine et la fonction amide de l'asparagine (acide aminé).
- la liaison O-osidique est plus diverse. Elle s'établit par le dérivé N-acétyl-galactosamine et la fonction alcool de la sérine ou de la thréonine.

Les principales glycoprotéines :

- ✓ Les hormones hypophysaires : LH et FSH.
- ✓ Les glycoprotéines du plasma : Orosomucoïdes, haptoglobine.
- ✓ Les glycoprotéines du blanc d'œuf : ovalbumine.
- ✓ Les glycoprotéines végétales ou lectines, sont des réactifs utilisés pour leurs propriétés d'agglutination des globules rouges, leurs propriétés mitogènes, etc [2] [11].

5.2.2. Les protéoglycannes

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 [2] [11].

5.2.3. Les peptidoglycannes

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

5.2.4. Les Glycolipides

C'est des lipides de membranes des cellules animales ou bactérienne portent des chaines oligo ou poly-osidique. Polyosides liés à des lipides.

Chapitre 3 : Structure et propriétés physico-chimiques des lipides

1. Définition

Ce sont des molécules organiques insolubles dans l'eau (lipos) et solubles dans les solvants organiques apolaires comme benzène, chloroforme, éther, … etc. Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou chaîne grasse. Sont rattachés aux lipides, en raison de leur insolubilité dans l'eau, le cholestérol, les stéroïdes, la vitamine D, qui sont des dérivés polyisopréniques.

Les lipides 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. [2]

2. Les acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras). Ils sont monoacides, linéaires, à nombre pair de carbone, soit saturés, soit insaturés [2].

2.1. Les acides gras saturés

Constituée d'une chaine hydrocarbonée de caractère hydrophobe pouvant servir dans la classification des AG et une fonction acide à caractère hydrophile. Ils ont la formule générale suivant :

[CH3 -$(CH2)_n$ - COOH] tel que $n \geq 1$ $C_nH_{2n}O_2$ le premier c'est le carboxyle [13].

Figure 31 : Structure d'un acide gras

On peut classer ces AG en fonction du nombre de C dans la chaine carbonée présenté dans le tableau N°1.

Tableau 1 : Les acides gras saturées les plus courants [2]

longueur relative	nC	nom systématique	nom courant de l'acide	
chaîne courte	4	n-butanoique	butyrique	*beurre*
	6	n-hexanoique	caproique	*lait de chèvre*
	8	n-octanoique	caprylique	…
	10	n-décanoique	caprique	…
chaîne moyenne	12	n-dodécanoique	laurique (laurier)	*huile, graisses animales et végétales*
	14	n-tétradécanoique	myristique (muscade)	
	16	n-hexadécanoique	palmitique (palmier)	
	18	n-octadécanoique	stéarique (suif)	
chaîne longue	20	n-icosanoique	arachidique	*graines*
	22	n-docosanoique	béhénique	
	24	n-tétracosanoique	lignocérique	
	26	n-hexacosanoique	cérotique	*cires des plantes bactéries insectes*
	28	n-octacosanoique	montanique	
	30	n-triacontanoique	mélissique	
	32	n-dotriacontanoique	lacéroique	

2.2. 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 [13].

2.2.1. Les acides gras monoinsaturés

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 Δ^9, Δ^{12}, Δ^{15}…etc.
- ✓ Les doubles liaisons sont de configuration cis.

Dans les acides gras insaturés, la position de la première double liaison peut s'exprimer :

- ✓ soit en partant du carboxyle (1er carbone) ; le symbole est Δ
- ✓ soit en partant du méthyl (dernier carbone) ; le symbole est oméga ω.

En médecine clinique et en biologie, la désignation des acides gras insaturés la plus courante est celle qui fait appel au symbole oméga (ω). [7] [14].

Exemple : L'acide oléique C_{18} : 1 ω_9 L'acide oléique possède 18C, une double liaison en oméga 9 (ω_9) ce qui s'écrit C_{18} :1 ω_9.

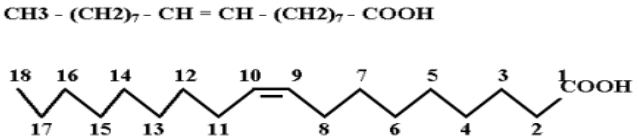


Figure 32 : Structure de l'acide oléique

2.2.2. Les acides gras polyinsaturés

a) **Famille linoléique (ω_6)**

- **Acide linoléique C_{18} : 2 ω_6**
  L'acide linoléique est acide gras essentiel, c'est également le précurseur de la famille des oméga-6. L'acide linoléique est un acide gras indispensable (besoins quotidiens : 3-4 g). C'est un acide gras en C18 avec 2 doubles liaisons ($\omega_{6,\,9}$). S'écrit C_{18}:2 $\Delta^{9,12}$ ou C_{18}:2 $\omega_{6,\,9}$

$$CH_3 - (CH_2)_4 - CH = CH - CH_2 - CH = CH - (CH_2)_7 - COOH$$

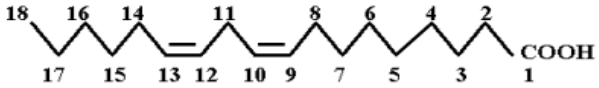


Figure 33 : Structure de l'acide linoléique

Il conduit par voie enzymatique à l'acide arachidonique dans l'organisme

- **Acide arachidonique C_{20} : 4 ω_6**
  La structure de l'acide arachidonique mérite d'être retenue car ce composé est le précurseur des eicosanoïdes. Il possède 4 doubles liaisons en $\omega_{6,\,9,\,12,\,15}$. L'acide linoléique donne naissance dans l'organisme à l'acide arachidonique à 20 C et 4 doubles liaisons. En l'absence d'acide linoléique dans l'alimentation, l'acide arachidonique devient indispensable.
  C'est un C_{20}:4 $\Delta^{5,8,11,14}$ ou C_{20}:4 $\omega_{6,\,9,\,12,\,15}$.

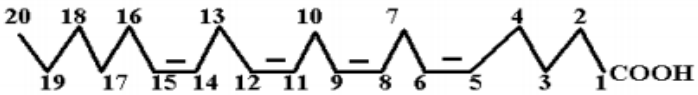


Figure 34 : Structure de l'acide arachidonique

b) **Famille linolénique (ω_3)**

- **Acide alpha linolénique C18 : 3 ω_3**
  L'acide α-linolénique est un acide gras essentiel, c'est le principal acide gras du groupe des oméga-3.
  Il possède 3 doubles liaisons, s'écrit C18:3 $\Delta^{9,12,15}$ ou C18:3 $\omega_{3,\,6,\,9}$

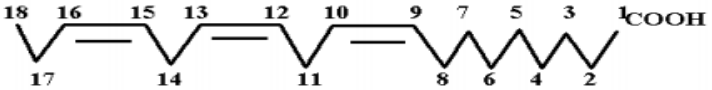


Figure 35 : Structure de l'acide linolénique

La classification des AG insaturé en fonction du nombre de C et nombre de double liaison dans la chaine carbonée présenté dans le tableau N°2.

Tableau 2 : Les acides gras insaturées les plus courants [2]

nC	nom systématique	nom courant	symbole	série	
16	cis-9-hexadécénoique	palmitoléique	C16: 1(9)	ω7	*très répandu*
18	cis-9-octadécénoique	oléique	C18: 1(9)	ω9	*très répandu*
	cis-11- octadécénoique	vaccénique	C18: 1(11)	ω7	*bactéries*
	cis, cis-9-12 octadécadiénoique	linoléique	C18: 2(9, 12)	ω6	*graines*
	tout cis-9-12-15 octadécatriénoique	linolénique	C18: 3(9, 12, 15)	ω3	*graines*
20	tout cis-5-8-11-14 icosatétraénoique	arachidonique	C20: 4(5, 8, 11, 14)	ω6	*animaux*
	tout cis-5-8-11-14-17 icosapentaénoique	EPA*	C20: 5(5, 8, 11, 14, 17)	ω3	*huiles de poissons*
24	cis-15-tétracosénoique	nervonique	C24: 1(15)	ω9	*cerveau*

*EPA : abréviation pour Acide EicosaPentaénoique

3. Propriétés des acides gras [7] [14]

3.1. Propriétés physiques

3.1.1. Solubilité

Les acides gras à courte chaine sont solubles dans l'eau, et a partir de 10 C l'AG devient insoluble dans l'eau. Ils sont solubles dans les solvants organiques comme le benzène, l'éther ou le chloroforme.

3.1.2. 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, car il augmente avec le nombre de carbone, et diminue quand le nombre de doubles liaisons augmente. Ils sont liquides à 20° C si n <10 C solides si n ≥ 10 C
La présence de doubles liaisons dans un acide gras abaisse son point de fusion par rapport à celui de l'acide gras saturé correspondant.

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

3.2. Propriétés chimiques

3.2.1. Oxydation

L'oxydation énergique par l'oxygène de l'air conduit au rancissement de graisses. Un acide gras insaturé traité par un oxydant puissant tel qu'une solution concentrée de $KMnO_4$ conduit à la formation de deux acides par coupure de la double liaison.

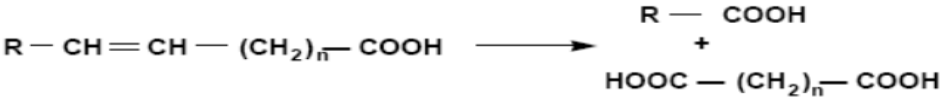
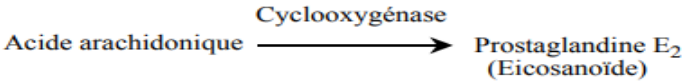


Figure 36 : Oxydation d'acide gras par $KMnO_4$

L'oxydation enzymatique intracellulaire de l'acide arachidonique par la cyclooxygénase donne les prostaglandines :

- Responsable de la contraction des muscles lisses
- La régulation métabolique.
- L'agrégation plaquettaire. L'inhibition de la cyclooxygénase des plaquettes par l'aspirine est utile en thérapeutique (antiagrégant plaquettaire).



3.2.2. Estérification

La présence du carboxyle permet l'estérification des AG par les alcools.

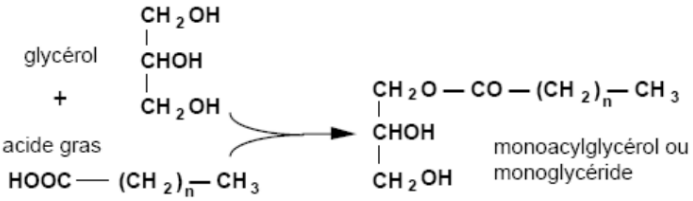


Figure 37 : Estérification de l'acide gras par le glycérol

3.2.3. Saponification

C'est la formation de sels de sodium ou potassium. Ce sont des savons à propriétés moussantes, mouillantes et émulsionnantes. Dans l'eau les savons se dissocient en Na^+ + R-COO^-. Ces molécules appelées amphiphiles ou amphipathiques, sont tensioactives : elles abaissent la tension superficielle de l'eau d'où leurs propriétés.

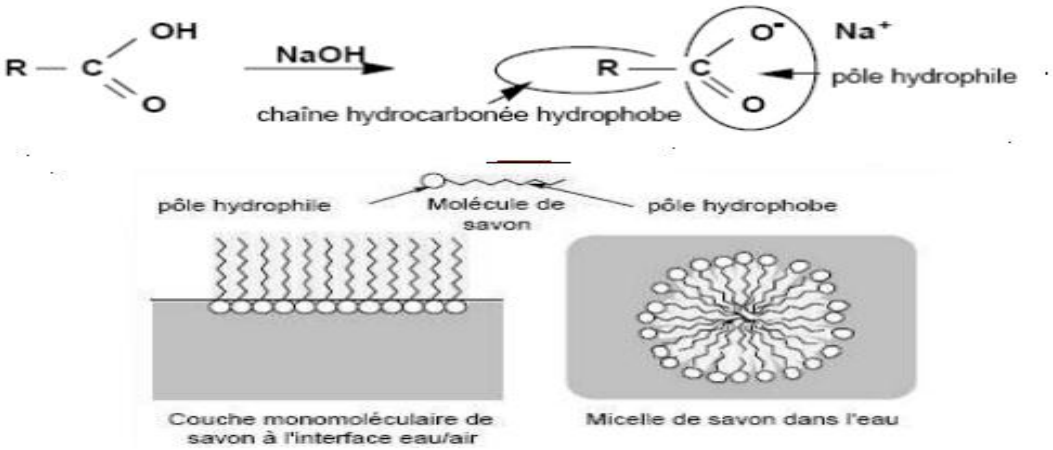


Figure 38 : Réaction de saponification et formation de micelles

Le traitement d'un acide gras par un hydroxide métallique (NaOH ou KOH) donne naissance à un sel alcalin d'acide gras: ce sont les savons. Ils sont solubles dans l'eau, et possèdent alors des propriétés moussantes. Il est possible d'utiliser cette propriété pour calculer l'indice de saponification « Is ». Is correspond à la masse (en mg) d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour saponifier 1g de lipide (AG).

3.2.4. Réaction d'addition (Fixation d'halogènes)

Lorsqu'un acide gras mono-insaturé est traité par un halogène (Br ou I_2) on obtient par addition un dérivé dihalogène qui représente par la détermination de l'indice d'iode « I_i ». L'indice d'iode (I_i) est la quantité d'iode fixée par 100 g de lipides.

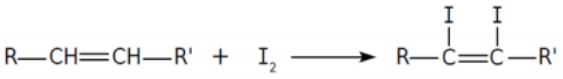


Figure 39 : Réaction d'addition d'iode

3.2.5. Réduction (hydrogénation)

La fixation d'hydrogène sur la double liaison transforme l'acide gras insaturé en acide gras saturé. Cette réaction se fait en présence d'un catalyseur métallique (platine, palladium...etc). L'hydrogénation des huiles est importante dans l'industrie agro-alimentaire car elle permet la transformation des huiles végétales ou animales en graisses solides (margarine ou substitut de lard…) et évite l'oxydation pendant leur utilisation (odeurs, produits toxiques...).

Figure 40 : Hydrogénation de l'acide oléique

4. Classification des lipides

On distingue différentes classes de lipides :

- Les lipides simples : Glycérides et Stérides
- Les lipides complexes : Glycérophospholipides et Sphingolipides

4.1. Lipides simples ou ternaires

Ce sont des dérivés des acides gras ne contenant dans leur molécule que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène. Ils comprennent :

- Les glycérides : l'alcool estérifiant les acides gras est le glycérol.
- Les cérides dans lesquelles l'alcool est une chaine aliphatique à nombre élevé d'atomes de carbone.
- Les stérides dans lesquelles l'alcool est un stérol [3].

4.1.1. Les glycérides

Ce sont des esters d'Acides Gras et de Glycérol. Selon le nombre d'acides gras combinés au glycérol, on distingue les monoglycérides, les diglycérides et les triglycérides.

- **Monoglycérides :** c'est une estérification d'un AG par le glycérol.

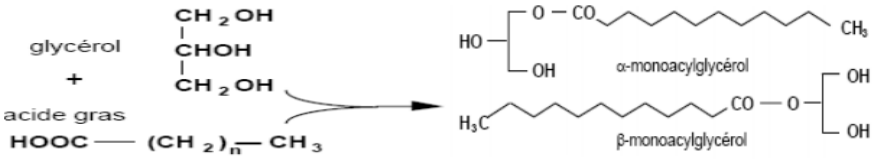


Figure 41 : Réaction de formation d'un monoglycéride

- **Diglycérides :** estérification 2 AG par le glycérol

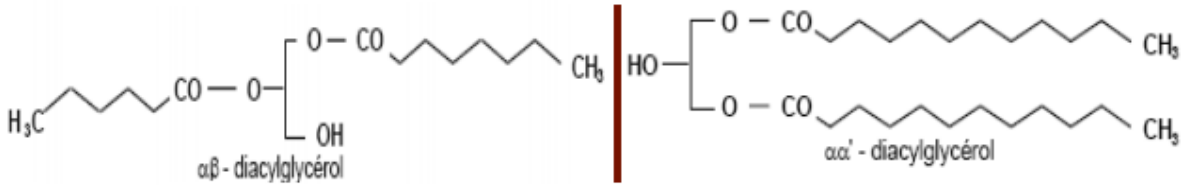


Figure 42 : Réaction de formation d'un diglycéride

- **Triglycérides :** estérification de 3 AG par le glycerol. Si les 3 AG sont identiques, le triglycéride est homogène ; s'ils sont différents, il est hétérogène. Les AG insaturé estérifiées en position β.

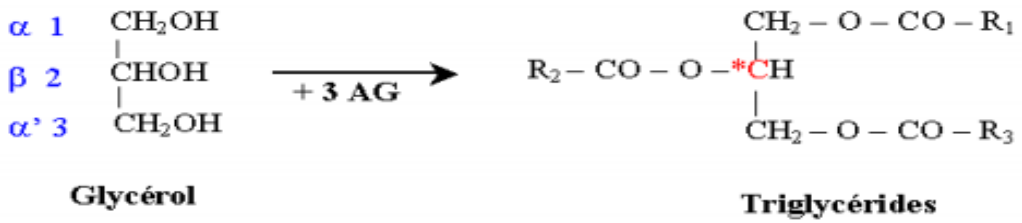


Figure 43 : Réaction de formation de triglycéride

4.1.1.1. Propriétés physico-chimiques

- **Solubilité :** ils sont soluble dans l'acétone ce qui les différenciés des phospholipides (ils sont très apolaire).
- **Saponification :** la soude et le potasse permette la saponification des glycérides en donnant le sel du savon.
- **Oxydation :** à l'air libre les doubles liaisons sont oxydées en aldéhydes, acide et peroxydes, ainsi qu'n présences des oxydants tel que le permanganate de potassium en solution alcaline concentrée [14].

4.1.1.2. Propriétés biologiques

- Ce sont des lipides naturels les plus nombreux, présents dans le tissu adipeux (graisse de réserve) et dans de nombreuses huiles végétales. Ils présentent une réserve énergétique chez l'homme.

- La lipase, enzyme de suc pancréatique, hydrolyse les triglycérides alimentaire en monoglycéride+ 2 acides gras.

- Dans le tissu adipeux, l'hydrolyse est complète car elle fait intervenir la lipase hormonosensible, puis une mono-glycéride lipase pour donner glycérol + 3 acides gras [7].

4.1.2. Les Cérides

Ce sont des esters d'AG avec alcool aliphatique outre que le glycérol.Ces substances solides, incolores, très forte insolubles dans l'eau (très apolaires), elles sont seulement solubles à chaud dans les solvants organiques, sont chimiquement inertes. Ces esters sont des constituants des **Cires** [3].

4.1.3. Les stérides

Ce sont des esters du cholestérol. Le cholestérol est une structure composée de 3 cycles hexagonaux+un cycle pentagonal correspondant au cyclopentanoperhydro-phénanthène. Il possède une fonction alcool secondaire en C3 et une double liaison en Δ5.

- Le stéride est formé par estérification d'un AG sur la fonction alcool en 3 du cholestérol.
- Le cholestérol est apporté dans l'alimentation et synthétisé par le foie ; il est transporté dans le sang dans les lipoprotéines [7] [14].

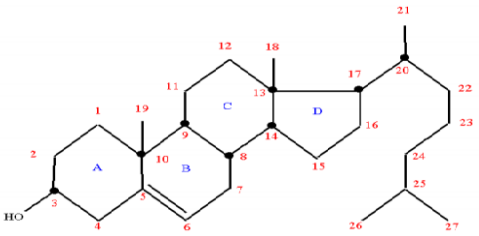


Figure 44 : Structure du cholestérol

Le cholestérol sert dans l'organisme à la synthèse de 3 groupes de molécules : Les hormones stéroïdes (cortisol, testostérone…), la vitamine D_3 et les acides biliaires.

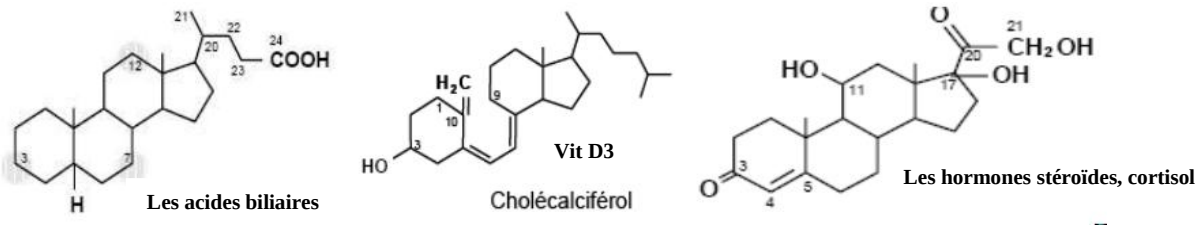


Figure 45 : Les stérides

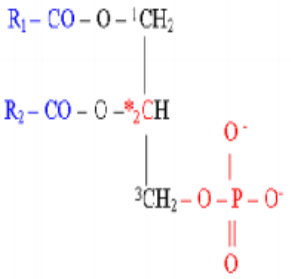
4.2. Lipides complexes

Ils sont constitués des même éléments que les lipides simples, mais ils contiennent en plus dans leur molécule de l'azote, ou du phosphore, ou du soufre, ou des oses.

4.2.1. Les glycérophospholipides

Ils sont constitués d'une molécule de glycérol sur laquelle sont estérifiés deux acides gras. La troisième fonction alcool est estérifiée par une molécule d'acide phosphorique. Ils sont constitués d'acide phosphatidique + alcool.

Les deux acides gras ont une chaîne longue (≥ 14C), l'acide gras en position 2 est souvent insaturé.
• L'acidité de la molécule provient des 2 H mobiles libres de l'acide phosphorique.
• Au pH sanguin (7,35 - 7,45) les 2 fonctions acides sont ionisées.
• L'acide phosphatidique est un second messager intracellulaire.



Les différentes classes de glycérophospholipides. Le lipide se forme par fixation d'un alcool sur l'acide phosphatidique. Selon l'alcool, on obtient des classes différentes de lipides :

- **Phosphatidylsérines**
  Le lipide se forme par fixation d'une serine (alcool) sur l'acide phosphatidique.
  Phosphatidylsérines = Acides Phosphatidiques + Sérine

- **Phosphatidyléthanolamines**
  C'est la céphaline, dans ce cas l'alcool est l'éthalonamine.
  Phosphatidyléthanolamines = Acides Phosphatidiques + Ethanolamine

- **Phosphatidylcholines (Lécithines)**
  L'acool est une choline, on le trouve dans le cerveau, le foie, le jaune d'œuf.
  Phosphatidylcholines = Acides Phosphatidiques + Choline

- **Phosphatidylinositols**
  L'inositol est un hexaalcool cyclique qui a 9 isomères. Le myoinositol est le plus frequent dans les lipides.
  Phosphatidylinositols = Acides Phosphatidiques + Inositol

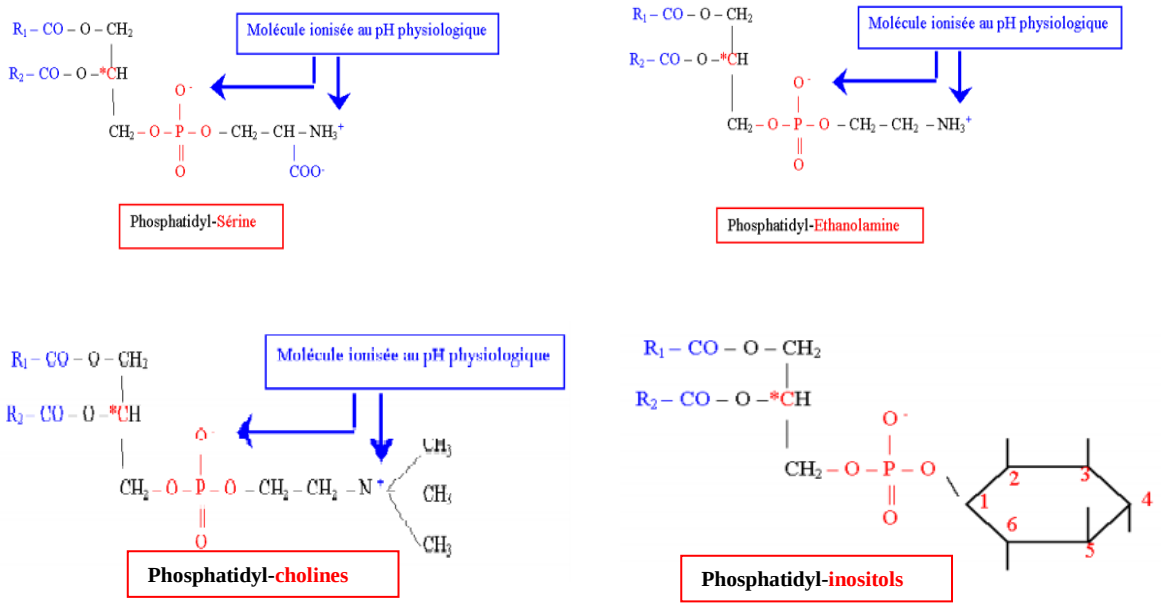


Figure 46 : Les différentes classes de glycérophospholipides [3]

4.2.1.1. Propriétés des Glycérophospholipides

- Ce sont des molécules amphipathiques (ou amphiphiles) car elles présentent 2 pôles :
  - l'un hydrophobe dû aux AG ;
  - l'autre hydrophile dû à l'ester phosphorique.
- Elles ont donc des propriétés identiques à celles des savons (émulsionnants, …).
- Ce sont des molécules amphotères car elles possèdent à la fois :
  - une fonction acide apportée par H_3PO_4
  - une fonction basique apportée par l'AA alcool (sérine, éthalonamine) ou par la choline [7] .

4.2.1.2. Hydrolyse des phospholipides par les phospholipases

Il existe 4 phospholipases spécifiques A_1, A_2, C et D

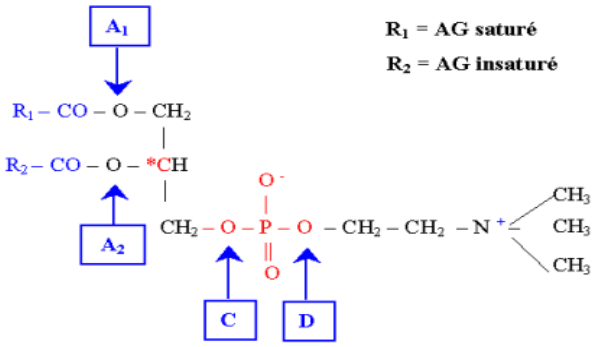


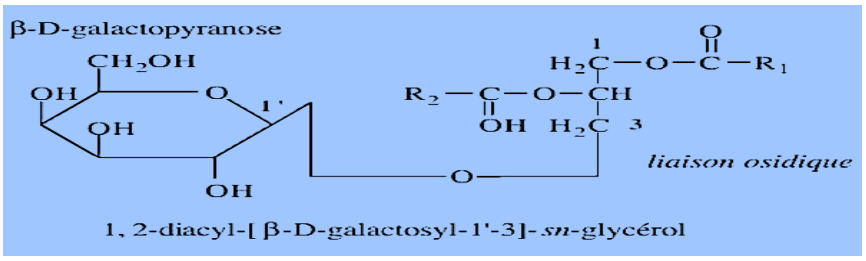
Figure 47 : Action des phospholipases

- L'hydrolyse par la phospholipase A1 : AG saturé + Lyso 1 phospholipide (lysolécithine)
- L'hydrolyse par la phospholipase A2 : AG insaturé + Lyso 2 phospholipide
- L'hydrolyse par la phospholipase C : Phosphorylcholine + Diacylglycérol
- L'hydrolyse par la phospholipase D : Acide phosphatidique + Choline

4.2.2. Glycéroglycolipides

Les carbones C1 et C2 du glycérol sont estérifiés par des acides gras. L'alcool du carbone C3 à la différence des acylglycérols n'est pas estérifié mais lié à un ose par une liaison osidique.

Ces lipides sont très rares dans le monde animal mais sont beaucoup plus nombreux dans le monde végétal. Ils sont également présents chez certaines bactéries [3].



4.2.3. Les sphingolipides

Ce sont des amides de la sphingosine qui se forment par liaison du carboxyle de l'AG sur le -NH2 de la sphingosine :

L'acide gras est uni à la sphingosine par une liaison amide et non par une liaison ester. Les sphingolipides sont particulièrement abondants dans le tissu nerveux, certains d'entre eux s'accumulant au cours de diverses maladies [14].

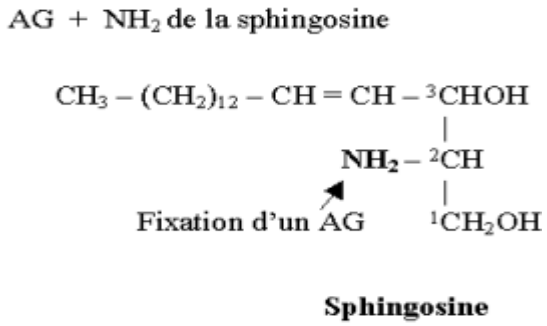


Figure 48 : Structure de sphingosine

4.2.3.1. Les céramides ou Acylsphingosine

Le plus simple des sphingolipides est le céramide ou acylsphingosine. L'acide gras est saturé et à longue chaîne.

Cette molécule est le précurseur de tous les sphingolipides.

Le Céramide est un second messager intracellulaire [14].

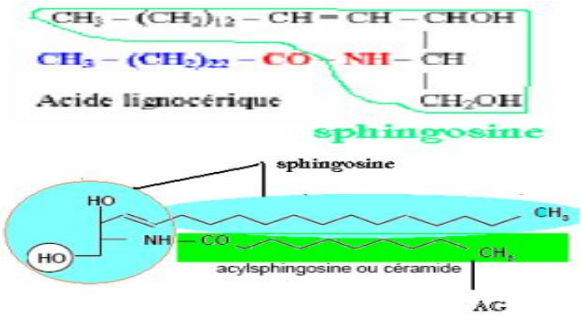


Figure 49 : Structure de Céramide [14].

4.2.3.2. Les sphingomyélines

Elles sont constituées de l'association Sphingosine + AG + Phosphorylcholine

- L'acide gras le plus fréquent est l'acide lignocérique (C24:O).
- Au pH du sang, la molécule est ionisée.
- On les trouve dans le tissu nerveux (graines de myéline) et dans les membranes.
- La déficience en sphingomyélinase entraîne leur accumulation dans le cerveau, la rate et le foie [7] [14].

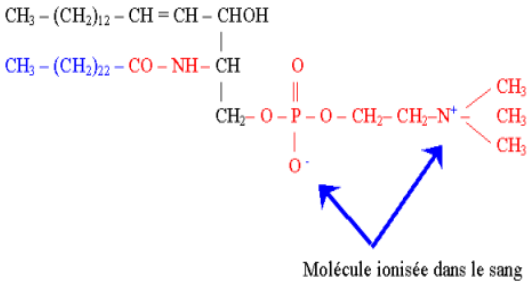


Figure 50 : Structure de sphingomyéline

4.2.3.3. Les glycosphingolipides

a) Cérébrogalactosides ou Galactosylcéramides

Ils sont constitués de : Sphingosine + AG + βD Galactose (Fig.)
Le galactose est uni à l'alcool primaire de la sphingosine par une liaison β osidique

b) Les Cérébroglucides ou Glucosylcéramides

Ils sont constitués de: Sphingosine + AG + βD Glucose. La liaison est β osidique.

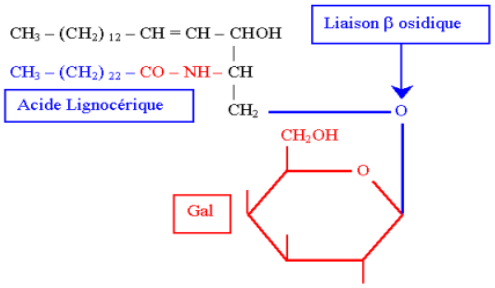


Figure 51 : Structure de Cérébrogalactosides

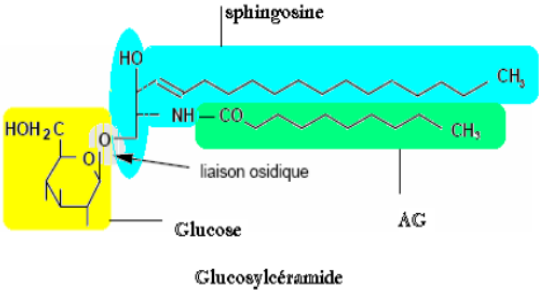


Figure 52 : Structure de Cérébroglucides

c) Les Gangliosides ou Oligosylcéramides

Ils sont constitués de : Sphingosine + AG + chaîne de plusieurs oses et dérivés d'oses (NANA) (= oligoside) Ils sont abondants dans les ganglions d'où leur nom.

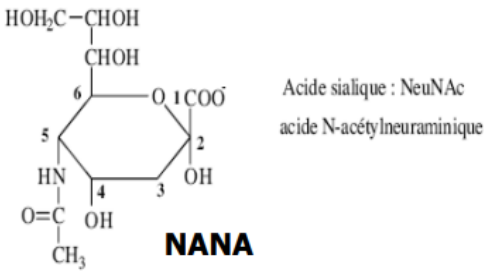


Figure 53: Structure de l'acide N-acetylneuraminique

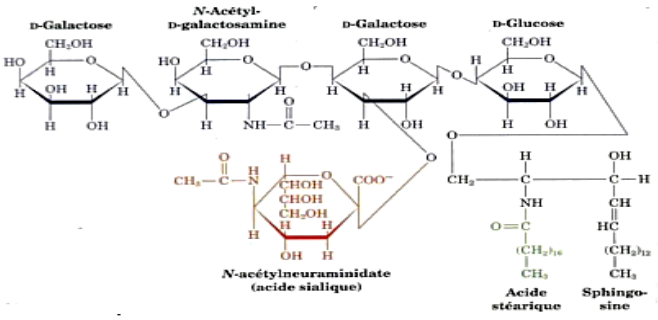


Figure 54 : Structure d'un ganglioside

Ces oligosides sont présents sur la face externe de la membrane plasmique. Ils sont spécifiques, donc reconnus par des protéines (toxines bactériennes, lectines) [3] [7] [14].

Exemple : antigènes des groupes sanguins.

Chapitre 4 : Structure et propriétés physico-chimiques des acides aminés, peptides et protéines

I. Les acides aminés

1. Définition

Les acides aminés (amino-acides) sont des molécules qui possèdent une fonction carboxylique (-COOH) et une fonction amine (-NH_2) primaire portée par un même atome de carbone, l'atome du carbone α : ce sont des acides α-aminés, à l'exception de la proline qui a une amine secondaire c'est une fonction imine. Ils diffèrent par la nature de la chaine latérale ou le radical R [2].

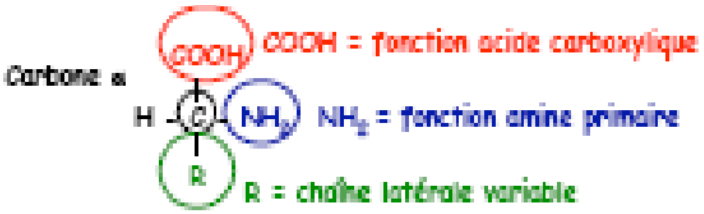


Figure 55 : Formule générale d'un acide aminé

2. Classification des acides aminés

Il existe 20 acides aminés naturels entrant dans la composition des protéines, dont 8 sont indispensables chez l'adulte et 9 chez l'enfant, ce sont : histidine (enfant), leucine, isoleucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane, valine

On peut répartir les acides aminés selon la nature de leur chaine latérale en 3 classes : [2]

acides aminés apolaires	à chaîne aliphatique : glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, méthionine, proline à chaîne aromatique : phénylalanine, tryptophane
acides aminés polaires neutres	à fonction alcool : sérine, thréonine, tyrosine à fonction soufrée : cystéine à fonction amide : glutamine, asparagine
acides aminés polaires ionisables	à fonction acide : acide glutamique, acide aspartique à fonction basique : histidine, lysine, arginine

Acide aminé essentiel = non synthétisé par l'homme

Les 20 acides aminés constitutifs des protéines naturelles ou acides aminés standards (tableau 3). Ils sont codés dans l'ADN et incorporés dans la chaîne peptidique lors de la traduction de l'ARNm (tableau 3).

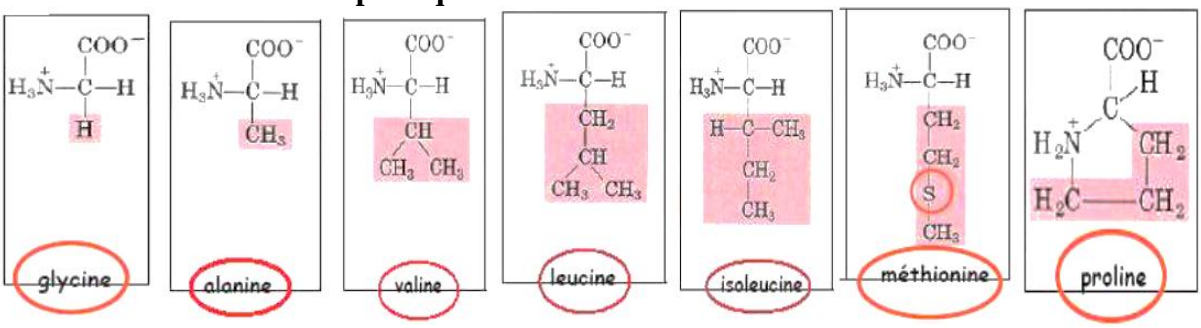
Tableau 3 : Abréviation des acides aminés [3]

Nom	Abréviations		Nom	Abréviations	
alanine	Ala	A	leucine	Leu	L
arginine	Arg	R	lysine	Lys	K
asparagine	Asn	N	méthionine	Met	M
acide aspartique	Asp	D	phénylalanine	Phe	F
cystéine	Cys	C	proline	Pro	P
acide glutamique	Glu	E	sérine	Ser	S
glutamine	Gln	Q	thréonine	Thr	T
glycine	Gly	G	tryptophane	Trp	W
histidine	His	H	tyrosine	Tyr	Y
isoleucine	Ile	I	valine	Val	V
Asp ou Asn	Asx	B			
Glu ou Gln	Glx	Z			
inconnu		X			

3. Propriétés spécifique des acides aminés

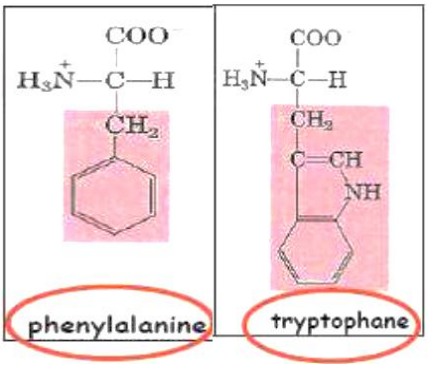
3.1. Acides aminés apolaire

- **Chaine aliphatique**



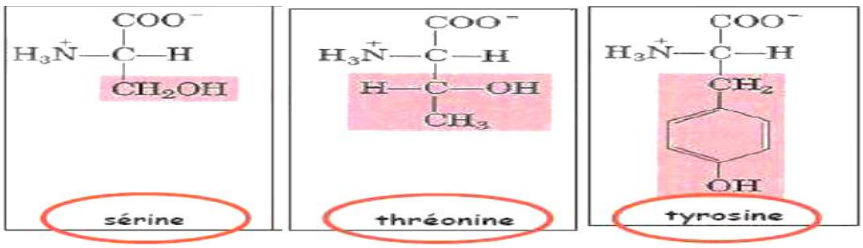
- **Chaine aromatique**

La glycine n'a pas de C asymétrique.
La proline possède une chaine latérale liée à la fois au C et à l'azote.

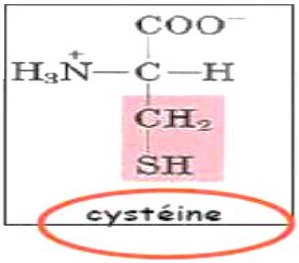


3.2. Acides aminés polaires neutres

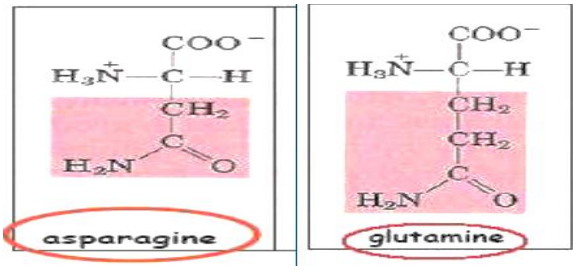
- **Fonction alcool**



- **Fonction soufrée**

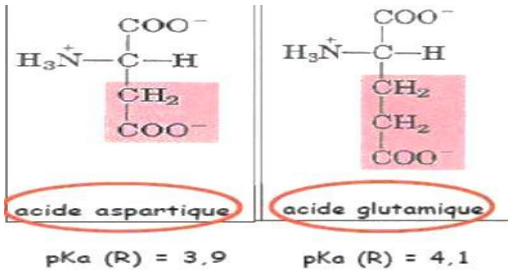


- **Fonction amide**

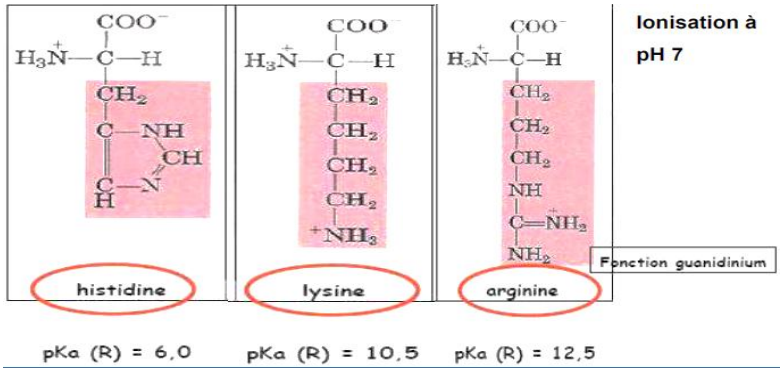


3.3. Acides aminés polaires ionisables

- **Fonction acide**

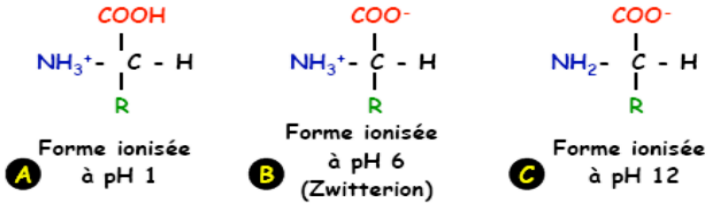


- **Fonction basique**



4. Propriétés ioniques des acides aminés

En solution aqueuse, les acides aminés sont ionisés. L'état dépond du pH environnant.



- **La titration d'un acide aminé**
  On peut titrer un acide aminé et déterminer les pk des fonction carboxylique et amine.

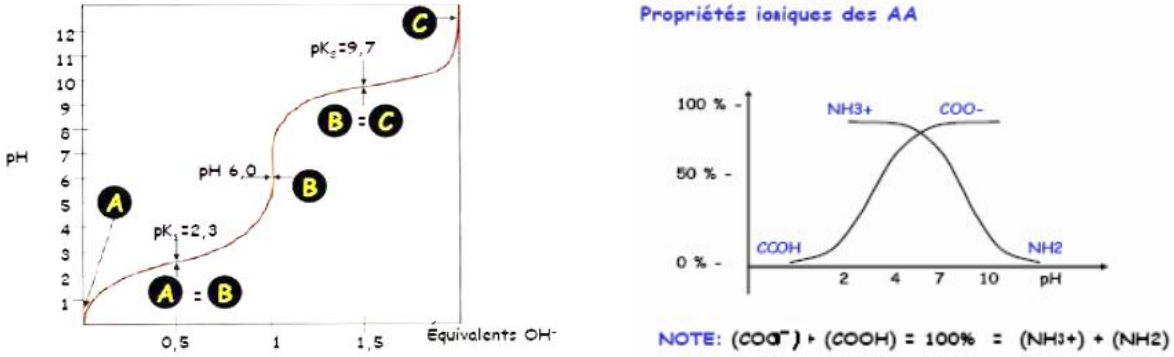


Figure 56 : Titration d'un acide aminé [9]

- **Equation Henderson-Hassebach :** Les acides aminés sont caractérisés par la présence dans la même molécule de deux groupements fonctionnels, l'un acide : -COOH, l'autre basique : $-NH_2$. Ce sont des molécules amphotères.

$$\mathbf{AH} \longrightarrow \mathbf{A^-} + \mathbf{H^+} \quad \text{tel que } K_a = [A^-][H^+]/[AH]$$

$$[H^+] = K_a [AH] / [A^-]$$

$$\text{Log } [H^+] = \text{Log } K_a + \text{Log } [AH] / [A^-]$$

$$\text{Or que pH} = \text{Log } 1/[H^+] \quad ; \quad pk_a = \text{Log } 1/K_a$$

$$pH = pk_a + \text{Log } [A^-] / [AH] \quad \text{equation Henderson-Hassebach}$$

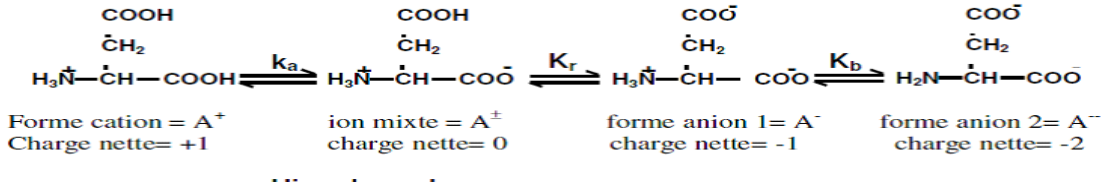
- **Le pH isoéléctrique d'un acide aminé :** Le passage d'un milieu très acide à un milieu très basique par augmentation progressive du pH provoque le passage de la forme cationique à la forme d'amphion (Zwitteriom) puis à la forme anionique.
  Il existe donc, pour chaque acide α aminé, une valeur du pH pour laquelle la charge nette globale de l'acide aminé est nulle. Ce pH, compris entre pK_a et pK_b, est appelé point isoélectrique (pH_i) [9].

$$pHi = \frac{pk_a + pk_b}{2}$$

  - pH< pH_i l'aminoacide a une charge totale nette moyenne positive
  - pH> pH_i l'aminoacide a une charge totale nette moyenne négative

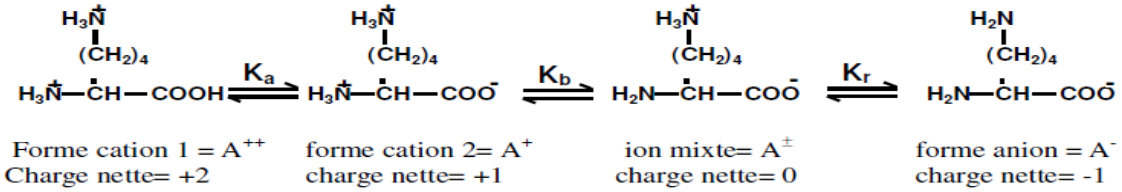
pK_a et pK_b correspondent respectivement à l'ionisation des groupes α-carboxylate et α-aminé; pK_r correspond aux groupes de chaînes latérales ayant des propriétés acido-basiques.

✓ Cas des acides aminés acides: Asp, Glu



$$pHi = \frac{pk_a + pk_r}{2}$$

✓ Cas des acides aminés basiques: Lys, Arg, Hist



$$pHi = \frac{pk_b + pk_r}{2}$$

5. Propriétés physiques des acides aminés

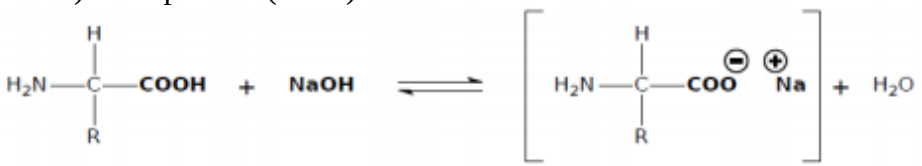
- **Solubilité :** dépend du radical R et du pH du milieu. En général, tous les acides aminés sont solubles dans l'ammoniac (NH_3) et l'eau et peu solubles dans les solvants organiques, variable en fonction de la nature de l'acide aminé.
- **Pouvoir rotatoire** : Tous les acides aminés sauf la glycine (le glycocolle) possèdent au moins un carbone asymétrique C*, qui est le carbone α, donc doués d'un pouvoir rotatoire spécifique. D'autre part, les acides aminés naturels sont de la série L.

- **Propriétés spectrales :** Les acides aminés sont incolores donc n'absorbent pas dans le visible, ils absorbent dans l'UV. [2]

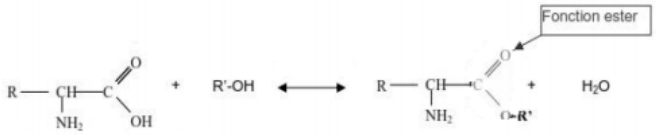
6. Propriétés chimiques des acides aminés

6.1. Propriétés liées à la fonction COOH

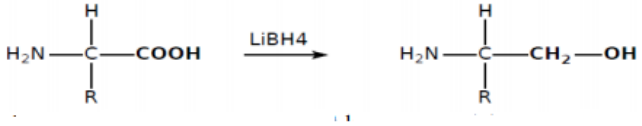
- Formation de sels: la formation de sels se fait généralement avec la soude (NaOH) ou la potasse (KOH)



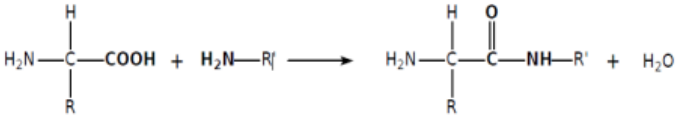
- Estérification: l'estérification se fait grâce à un alcool. On utilise souvent l'alcool n-butylique (Butan-1-ol) et on obtient des ester n-butyliques. Cette propriété est utilisée lors de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse car ces esters sont volatils. Selon l'ester obtenu, on pourra connaître l'acide aminé présent dans le mélange.



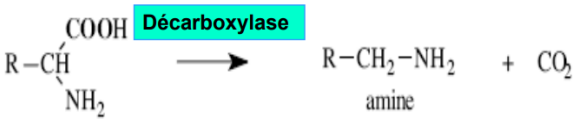
- Formation d'un alcool aminé : elle se fait par réduction de la fonction carboxylique en utilisant le borohydrure de sodium NaBH4 ou le borohydrure de lithium LiBH4, elle aboutit à la formation d'un alcool α-aminé.



- Formation d'amide : cette formation est à la base de la liaison peptidique.



- 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. [2] [5]

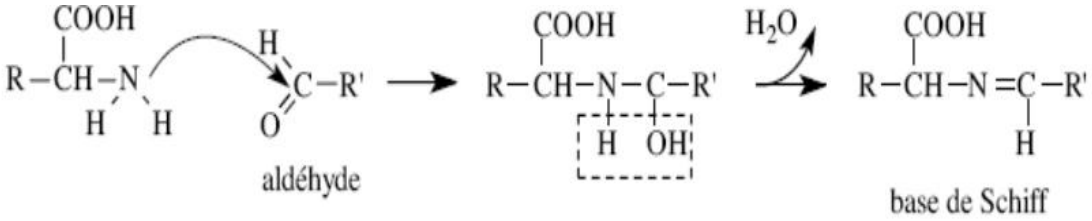


6.2. Propriétés liées à la fonction NH_2

- **Addition de carbonyle**

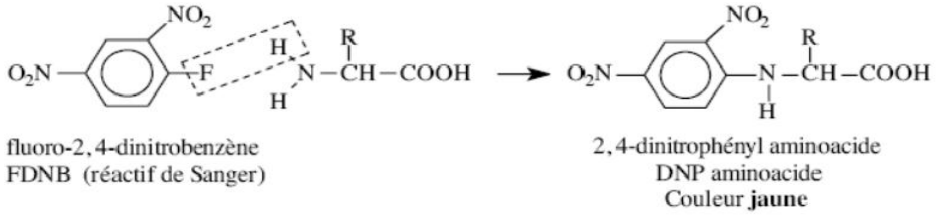
  Les fonctions α aminés des aminoacides réagissent réversiblement avec les aldéhydes pour donner des bases de Schiff qui sont relativement labiles, sauf la proline qui n'a pas α amine primaire.

  Un des moyens très sensible de détection des aminoacides utilise cette réaction : l'aldéhyde utilisé est le 1-2 dialdéhyde benzénique. Le produit d'addition est très fluorescent. [3] [5]



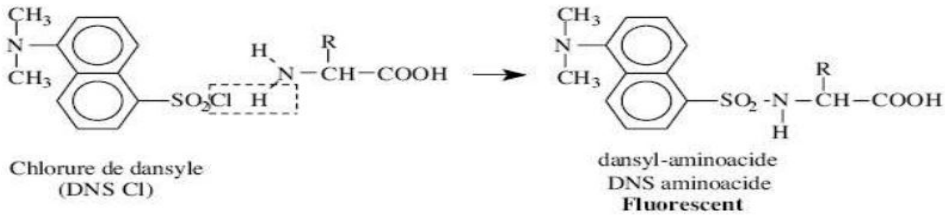
- **Arylation (méthode de Sanger)**

Cette réaction à l'aide d'un dérivé aromatique activé a permis à Frederik SANGER (1953) d'établir la première structure primaire d'une protéine : l'insuline [9].



- **Acylation**

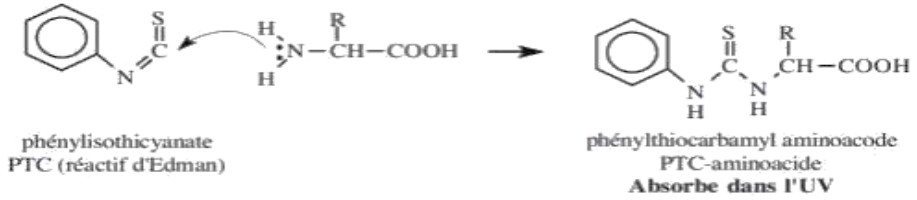
Le réactif de Sanger a été supplanté par un réactif donnant un produit plus stable et fluorescent permettant une plus grande sensibilité dans la détection : c'est le chlorure de dansyle (1- diméthyl-amino-naphtalène-5-sulfonyle) [9].



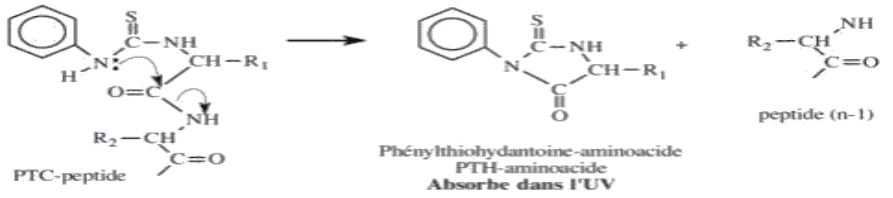
- **Carbamylation (méthode d'Edman)**

La carbamylation avec le phénylisothiocyanate (PTC), à un pH basique de 9, donne des dérivés qui absorbent dans l'ultraviolet et facilement séparable par chromatographie.

La réaction avec l'acide aminé terminal d'une protéine libère le dérivé d'addition et une protéine amputée de son aminoacide N-terminal : en itérant le processus, la détermination de la structure primaire de la protéine sera possible (dégradation récurrente d'Edman) [9].

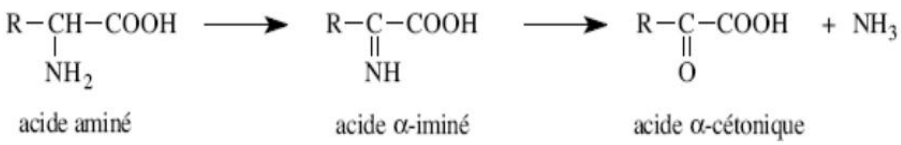


Dans le cas d'un peptide de n aminoacides, le PTC-peptide va subir une cyclisation et une coupure à un pH légèrement acide, libérant un phénylthiohydantoine-aminoacide identifiable (PTH-aminoacide), qui absorbe dans l'UV, et un peptide de (n-1) aminoacides.



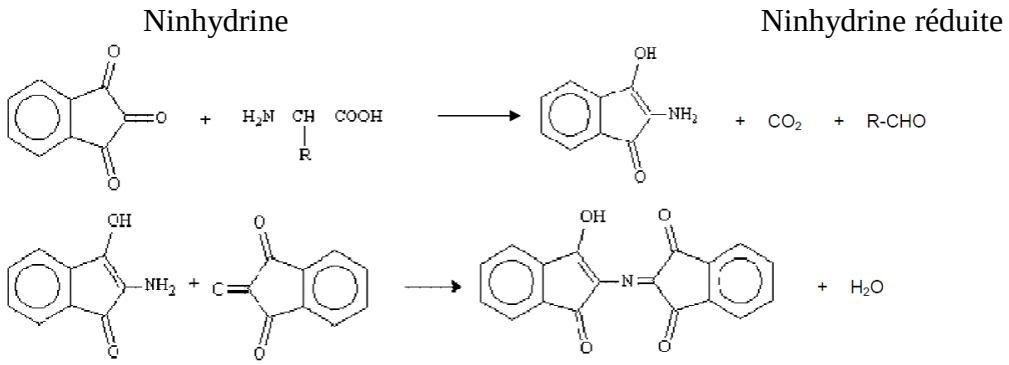
- **Désamination**

  Les acides aminés subissent une désaminations avec oxydation qui produit un acides α cétoniques.



6.3. Propriétés liées à la présence simultanée de COOH et NH_2

Action de la ninhydrine : La ninhydrine, en excès et à chaud, réagit avec les acides aminés en développant une coloration violette. Sa spécificité n'est pas absolue puisque certains composés possédant une fonction amine primaire réagissent également ; d'autre part, la proline est colorées en jaune [9].



6.4. Propriétés liées aux chaines latérales (radical R)

- Réaction de Folin : L'acide phosphotungstomolybdique est réduit par la tyrosine et le tryptophane et forme différents composés colorés en bleu violacé.
- Réaction xanthoprotéique : Les noyaux aromatiques forment des dérivés nitrés jaunes avec l'acide nitrique.
- Acides aminés soufrés : Ils réagissent avec l'acétate de plomb en milieu alcalin pour former du sulfure de plomb noir.
- Cystéine : Les groupements thiol de la cystéine s'oxydent facilement en créant un pont disulfure formant la cystine.
- Tyrosine : Les groupements phénoliques substitués réagissent avec le mercure en donnant une coloration rouge (Réaction de Millon).
- Tryptophane : Les aldéhydes réagissent avec le noyau indole du tryptophane pour former des composés violets. (Réaction d'Adamkiéwich-Hopkins).
- Arginine : L'α-naphtol en présence d'hybobromite et en milieu basique réagit avec le groupement guanidine ($NH{=}C{-}NH_2$) pour former un composé rouge (Réaction de Sakaguchi).
- Proline : Donne une coloration particulière avec la ninhydrine
  Réagit avec l'isatine pour former un composé bleu intense [9] [10].

7. Techniques de séparation des acides aminés

7.1. Electrophorèse

Les acides aminés se déplacent lorsqu'ils sont soumis à un champ électrique selon leur charge nette à un pH donné. Le mélange d'acides aminés est placé au milieu d'une feuille de papier. On place la feuille dont les extrémités trempent dans la solution tampon. On établit le courant. Les acides aminés chargés positivement (+) migrent vers la cathode et les acides aminés chargés négativement (-) migrent vers l'anode. Pour établir leur localisation caractéristique, des échantillons d'acides aminés témoins sont traités dans les mêmes conditions. Après plusieurs heures, le papier filtre est séché et les acides aminés sont révélés à la ninhydrine [6].

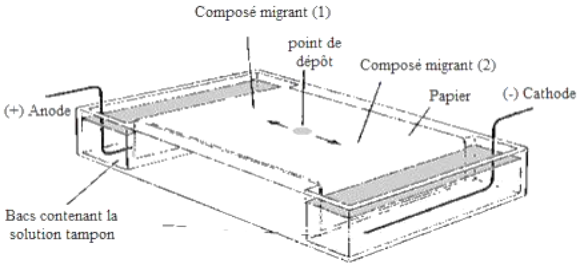


Figure 57: dispositif de l'électrophorèse

7.2. Chromatographie

7.2.1. Chromatographie sur papier

Le principe de cette méthode est le suivant : une phase mobile (solvant) se déplace par capillarité dans une cuve hermétique et saturée de solvant (phase stationnaire). Le mélange à analyser (quelques µl) est déposé sur une ligne de départ situé le plus près de l'extrémité de la feuille qui plonge dans le solvant mobile. 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 selon la formule suivante :

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par le composé (AA)}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Le R_f est une caractéristique d'un composé dans un système donnée pour des conditions opératoires définies. Les AA inconnus sont identifiés par comparaison de leurs R_f avec les R_f des témoins.

La Chromatographie sur papier peut être bidimensionnelle : le dépôt du mélange à analyser se fait dans un angle, sans témoin, la migration dans la 1ère dimension se fait avec un premier solvant organique puis le papier est tourné d'un ¼ de tour et une nouvelle migration se fait avec un autre solvant organique de polarité différente. [6] [12]

7.2.2. Chromatographie sur couche mince des acides aminés (CCM)

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 plastique) et une phase mobile qui est un solvant organique moins polaire.

Les acides aminés à séparer sont chromatographiés en présence de témoins. Après migration et coloration le R_f de chaque acides aminés inconnu ou témoin est calculée. Les acides aminés inconnus sont identifiés par comparaison de leurs R_f avec les R_f des témoins. La Chromatographie sur couche mince peut être également bidimensionnelle [12].

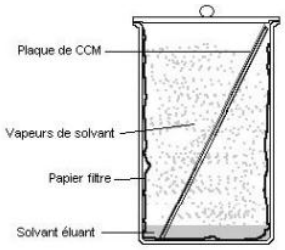


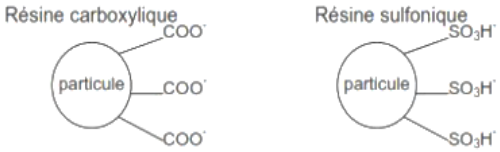
Figure 58: chambre de migration de la CCM

7.2.3. Chromatographie ioniques sur colonne des acides aminés

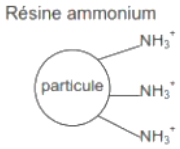
C'est le procédé le plus utilisé pour séparer, identifier et quantifier chaque acide aminé (AA) dans un mélange. Elle est basée sur les différences de comportement acido-basique des AA. Une colonne en verre (un long tube) rempli d'une résine synthétique sur laquelle sont fixés des groupements chargés :

- Une résine avec des groupements anioniques est un échangeur de cations.
- Une résine avec des groupements cationiques est un échangeur d'anions.

Les groupements anioniques sont en général :



Les groupements cationiques sont en général :

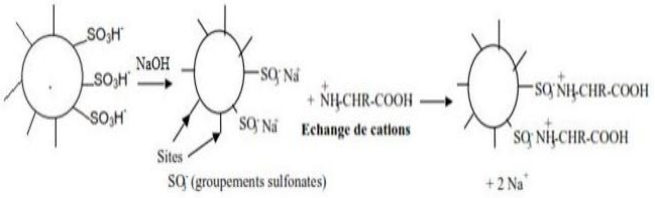


Pour la séparation des AA, une résine échangeuse de cations est généralement utilisée. Dans le cas de la résine sulfonique, l'équilibrage de la résine (neutralisation) se fait par de la soude (NaOH). Ce qui permet d'avoir tous les SO_3^{--} occupés par Na^+. Elle se fait en deux temps :

- ***Premier temps*** : filtration du mélange à analyser à travers la résine

  Consiste à placer un mélange d'AA au sommet de la colonne au pH acide (pH = 3). A ce pH acide par rapport au pH_i, tous les AA se trouvent sous la forme cationique (mais diffèrent par leur degré d'ionisation) et se lient au groupement SO_3^{--}. Plus ils sont basiques et plus ils sont liés fortement (car plusieurs charges +).

  Exemple : les AA (His, Lys, Arg) déplacent en premier les Na+ et seront solidement fixés alors que les AA (Glu, Asp) seront les moins fixés



- ***Deuxième temps*** : élution des AA

  Par augmentation du pH des solutions tampon d'élution les charges positives (+) des AA sont neutralisés (deviennent soit des zwiterion ou des anions) et les liaisons sulfoniques sont rompues. Les AA sont élués de la colonne en fonction de leur acidité et ils se retrouvent bien séparés dans l'effluent. Dans cette chromatographie échangeuse de cations, l'ordre d'élution ou de sortie dans l'effluent des AA est le suivant : AA acides (les moins fixés), AA neutres (moyennement fixés) puis les AA basiques (les fortement fixés).

  Après addition de ninhydrine en proportion constante à l'effluent de la colonne, le mélange circule dans un bain-marie bouillant et la réaction colorée se développe. Ils passent ensuite dans un colorimètre qui mesure la densité optique (DO) à 440 nm pour les immino acides et à 570 nm pour les autres AA. Les mesures sont inscrites sur un enregistreur sous la forme de pics sur un chrommatogramme.

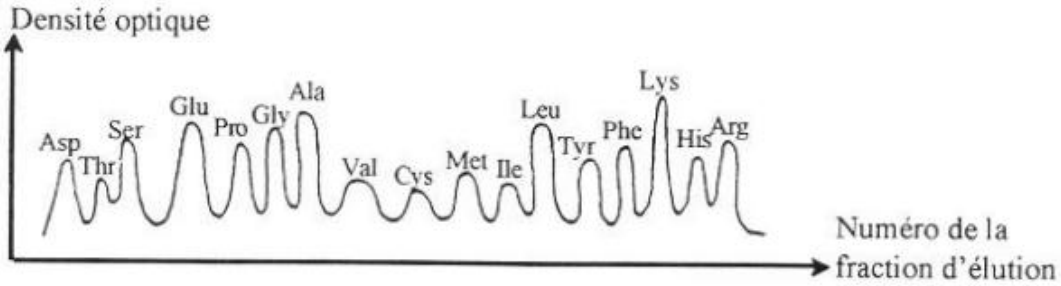


Figure 59 : chromatogramme d'élution des acides aminés

Les AA sont identifiés par leur pic respectif comparativement à une solution connu d'AA représentant le même temps de rétention et leur quantité est donnée par la surface du pic [6] [9] [12].

II- Les peptides

Les peptides sont de petits polymères d'acides aminés, liés entre eux par des liaisons peptidiques. Cette liaison résulte de la réaction entre la fonction -COOH du 1er AA et la fonction $-NH_2$ du 2ème AA avec élimination d'eau **(Barrett et Elmore, 2004)**. Les peptides diffèrent par le nombre, la nature et l'ordre des aminoacides.
Un peptide est une molécule résultant de la condensation d'acides aminés inférieur à 50 (AA<50) [2].

- Lorsque le nombre d'AA < 10 on parle d'oligopeptides,
- Lorsque le nombre d'AA > 10 on parle de polypeptides.

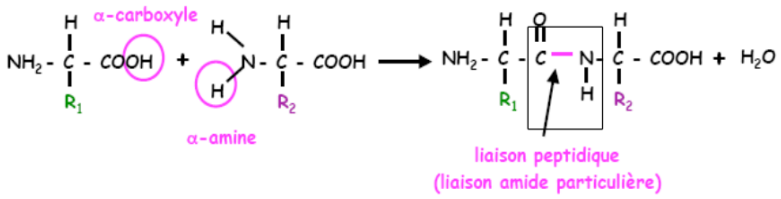


Figure 60 : Liaison peptidique entre deux aminoacides

N.B.

L'acide aminé portant le groupement NH_2 est dit N-terminal
L'acide aminé portant le groupe COOH est C-terminal
Par convention on met le N-terminal à gauche et le C-terminal à droite

Ex: NH_2-Leu- Val- Ala- Thr-COO "Leucyl-valyl-alanyl- threonine"

1. Détermination de la structure d'un peptide

La détermination de la structure primaire d'un peptide est conduite en 2 étapes :

- ✓ Détermination de la composition en aminoacides.
- ✓ Détermination de l'ordre des enchainements des résidus.

Ces deux étapes ont comme point commun l'hydrolyse de la liaison péptidique. [4] [9]

1.1. Hydrolyse de la liaison peptidique

La liaison peptidique est très stable, son hydrolyse spontanée est quasiment nulle.

1.1.1. Hydrolyse chimique complète

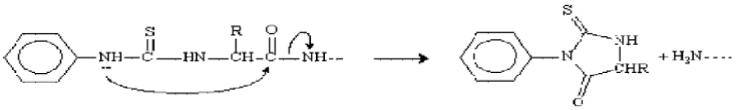
L'action de l'acide chlorhydrique (HCl) 6 M sur un peptide à ébullition au bout au moins 24 heures, aboutit à un hydrolysat contenant des aminoacides.

- ✓ Le tryptophane est entièrement détruit avec cette hydrolyse acide
- ✓ Les amides (Asn, Gln) sont hydrolysée en ammoniac et acides corespondant (Asp, Glu).
- ✓ Certains aminoacides (Ser, ,Tyr, Thr) peuvent être partiellement détruits

1.1.2. Hydrolyse chimique spécifique

Certains réactifs hydrolysent une liaison peptidique avec une spécificité sur un des aminoacides participant à la liaison :

- ✓ Le bromure de cyanogène (**BrCN**) hydrolyse la liaison peptidique de la méthionine, cette dernière deviens alors un résidu du C terminal transformé en résidu **homosérine lactone.**
- ✓ Le dinitro-5-thiocyanobenzoate (**NTCB**) hydrolyse de la liaison peptidique du coté amine de la cyteine.
- ✓ La dégradation de Sanger utilise le 1-Fluoro-2,4dinitrobenzène (DNFB) comme réactif. Ce composé favorise une substitution sur le groupement $-NH_2$ de l'AA.
- ✓ La dégradation récurrente d'Edman fait appel au phénylisothiocyanate (PITC).



Le composé formé se cyclise spontanément en un cycle à 5 éléments, cela entraîne la rupture d'une seule liaison peptidique et permet de réitérer l'opération sur la partie restante. Ce procédé a pu être automatisé et autorise en routine des séquençages de 50 acides aminés.

1.1.3. Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse des liaisons peptidiques peut être réalisée par des enzymes protéolytiques, protéases, on les classe en 2 groupes [2] [4]:

- **Exopeptidase :** l'enzyme n'hydrolyse que la première liaison peptidique (aminopeptidase) ou la dernière liaison peptidique (carboxypeptidase) libérant l'aminoacide terminal.

- **Endopeptidase** : l'enzyme hydrolyse des liaison peptidique interneentre 2 aminoacides. Il peut etre spécifique du résidu en position. L'hydrolyse d'un peptide par une endopeptidase donnera plusieurs fragments peptidiques ; si on a n coupures (n liaisons peptidique hydrolysées), le peptide sera dégradé en n1 fragments peptidiques.

Exemple d'endopeptidase avec leurs spécificités :

- ✓ La trypsine : coupe les liaisons peptidiques des acides aminés basiques (coupe après Lys et Arg).
- ✓ L'α-chymotrypsine : coupe les liaisons peptidiques des acides aminés aromatiques (coupe après Tyr, Trp, Phe).

2. Quelques peptides ayant une importance biologique

2.1. Peptides hormonaux

De nombreuses hormones synthétisées par diverses glandes sont de nature peptidique, voici quelques exemples :

- **La Vasopressine** : synthétisée par l'hypophyse, est une hormone diurétique, dont l'extrémité se termine par une fonction amide -CO-NH2 sur la glycine et non par un acide libre –COOH.
- **L'angiotensine II** : une hormone du sang d'origine hépatique qui régule la pression sanguine : Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe. [6]

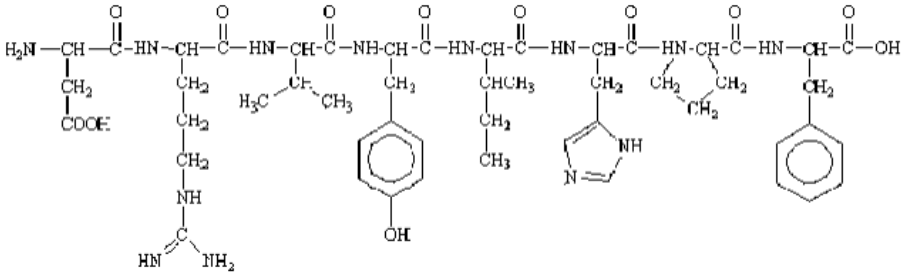


Figure 61 : Structure peptidique de l'angiotensine II [4].

- **Le glucagon** : une hormone pancréatique hyperglycémiante comportant 29 AA.

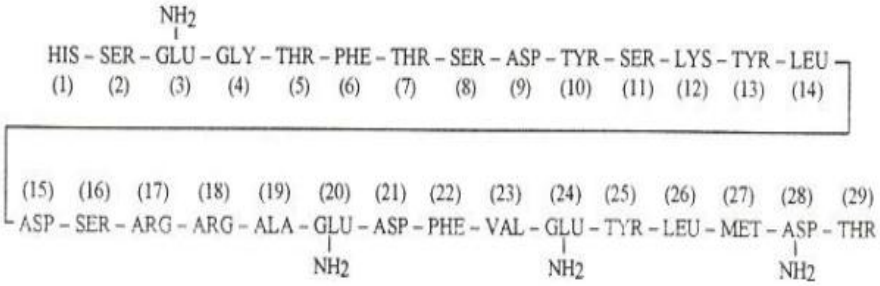


Figure 62 : Structure de glucagon [6]

- **L'insuline** : une hormone pancréatique hypoglycémiante comportant 51 AA en deux chaînes unies par deux ponts disulfures (5A-5B et 20A-19B). [4]

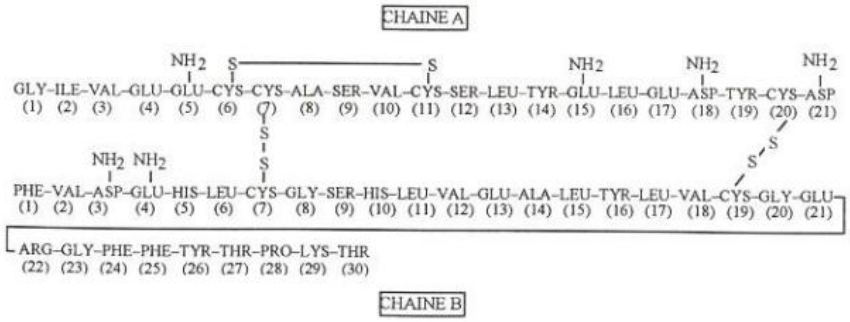


Figure 63 : Structure de l'insuline [6]

2.2. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide comprenant trois AA : acide glutamique, cystéine et glycocolle. La cystéine et le glycocolle sont liés par une liaison peptidique. La liaison entre l'acide glutamique et la cystéine est une liaison amide entre la fonction acide du radical de glutamique et la fonction amine de la cystéine. En somme le glutathion est le γ-glutamyl-cystéinyl-glycocolle. Par la fonction thiol du radical de la cystéine, le glutathion peut exister sous une forme réduite (représentée ici) ou sous une forme oxydée dans laquelle deux molécules de glutathion sont liées par un pont disulfure [5].

2.3. Peptides antibiotiques

- **La gramicidine S** : un peptide cyclique formé de dix acides aminés, dont la structure est la suivante :

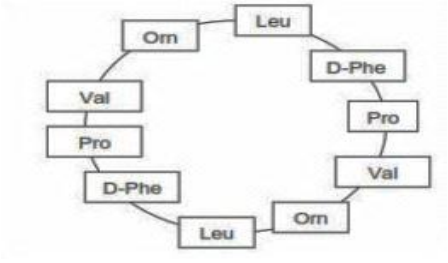


Figure 64 : Structure de gramicidine S [4]

- **La bacitracine A** : C'est un peptide partiellement cyclique formé 12 aminoacides dont trois appartiennent à la série D (Glu, Asn, Phe) et dont un est un dérivé, l'ornithine.

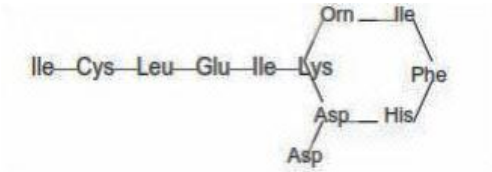


Figure 65 : Structure de bacitracine A [5]

- **La tyrocidine** : est également un peptide cyclique formé de dix acides aminés.
- **Les peptides fongiques** : La moisissure dont *Penicillium* produit la pénicilline qui est un dipeptide de deux dérivés d'aminoacides, Pénicilline R dépend de la souche de Penicillium

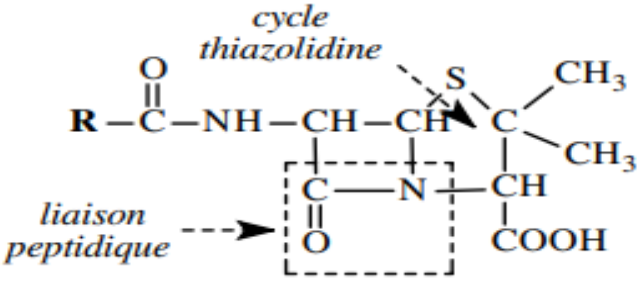


Figure 66 : Structure de la pénicilline [2]

2.4. Peptides d'intérêt alimentaire

Les édulcorants de synthèse à haut pouvoir sucrant sont souvent de nature peptidique.

Exemple : structure de l'aspartame qui est un dipeptide méthylé : l'aspartyl-phénylalanine méthyl. [10]

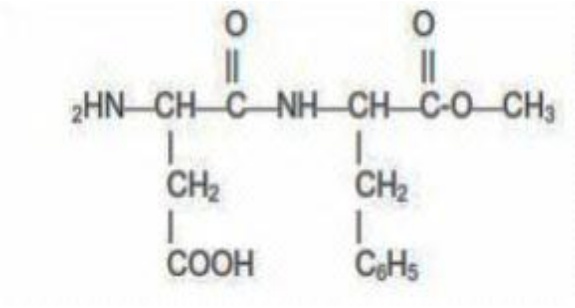


Figure 67 : Structure de l'aspartame [10]

III- Les protéines

Les protéines sont des constituants fondamentaux des organismes vivants, ce sont des polymères d'acides aminés (nombre d'AA > 50), de haut poids moléculaire pouvant atteindre 1000 000 D [2].

Selon leur composition, on distingue :

- **Les holoprotéines** : composées uniquement d'acides aminés,
- **Les hétéroprotéines :** composées d'acides aminés + un groupement prosthétique. Il peut être constitué par un enchaînement glucidique, des lipides, un ion métallique, un acide nucléique, un coenzyme…etc.

Selon leur forme, on distingue:

- **Les scléroprotéines** (protéines fibreuses), de forme allongée, peu solubles, très résistantes, ce sont des molécules de structure.
- **Les sphéroprotéines** (protéines globulaires), de forme compacte, solubles, fragiles, ce sont des molécules possédant une fonction biologique active.

1. Fonctions des protéines

Les protéines ont des fonctions très diverses :

- ***Enzymes*** : Ce sont les catalyseurs des réactions biologiques, de la plus simple à la plus compliquée, de se produire à 37°C. Citons la chymotrypsine enzyme pancréatique constituée par une séquence de 246 AA.

- ***Protéines de structure***: Elles constituent la charpente des tissus vivants : peau, cheveux, muscles ; citons : les collagènes, les kératines et la myosine.

- ***Protéines de défense***: Citons les immunoglobulines, protéines de la coagulation (fibrinogène, thrombine).

- ***Protéines régulatrices***: Certaines hormones telles que l'insuline, l'ocytocine. L'insuline, hormone du pancréas, avec une séquence de 51 AA, qui régule le taux de sucre dans le sang.

- ***Protéines de transport***: Protéines du plasma fixant et transportant des molécules ou des ions d'un organe à un autre, comme par exemple l'hémoglobine des érythrocytes, le sérumalbumine... etc.

- ***Protéines contractiles ou motrices***: actine et myosine dans les fibres musculaires, dont elles peuvent se contracter et modifier leur forme.

- ***Protéines de stockage*** : L'ovalbumine principale protéine du blanc d'œuf, caséines, principales protéines du lait, et des protéines existant dans les graines de nombreux végétaux (blé, maïs, riz) [4] [6] [10].

2. Structure des protéines

2.1. Structure primaire

Elle est définie par la composition et l'enchainement des acides aminés dans une seule chaine monocaténaire.

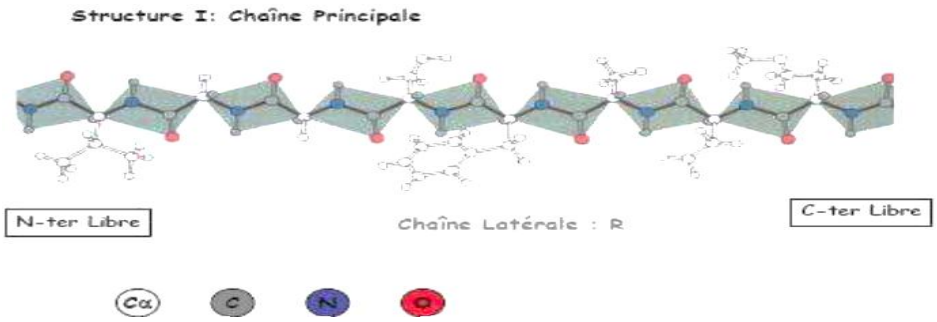


Figure 68 : Structure primaire de la protéine

2.2. Structure secondaire

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 (feuillets plissés β) et l'état hélicoïdal (hélice α) [8].

repliement local des acides aminés en hélices, en feuillets, ou en d'autres formes similaires.

- **Caractéristique d'une hélice α**
  - Structure répétitive et compacte
  - Stabilise par des liaisons hydrogène de l'atome d'oxygène
  - Les radicaux sont à l'extérieur de l'hélice, ce qui minimise les encombrements stérique.
  - La liaison hydrogène C=O·····N-H d'une longueur de 0.286 nm est presque parallèle à l'hélice.
  - Certains résidus déstabilisent l'hélice par la présence de charge dans leur chaine latérale (Asp, Glu, Arg, Lys).
  - La proline est un point de rupture pour 2 raison :
    - Il n'existe pas de NH pour une liaison d'hydrogène
    - Le cycle rigide pyrrolidone engagé dans la liaison peptidique block la rotation, détruisant la continuité de l'hélice

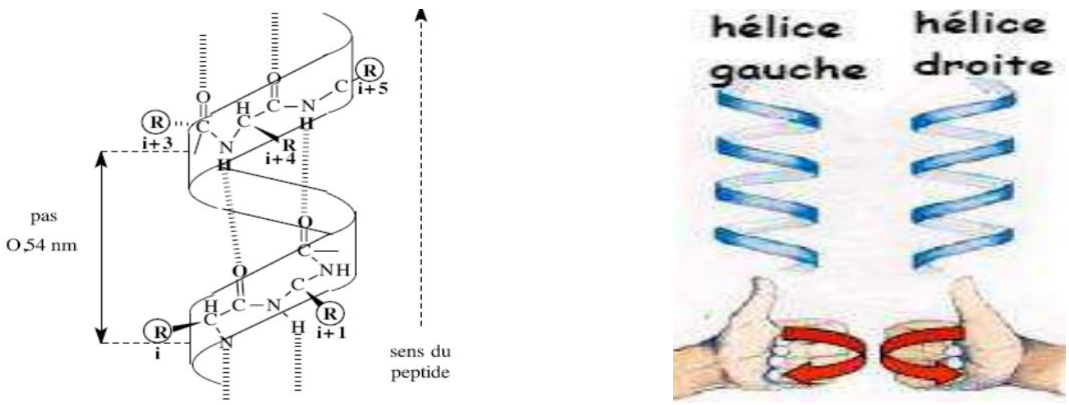


Figure 69 : Conformation α de la structure II aire des protéines [8]

- **Feuillets plissés β**

Les liaisons d'hydrogène des atomes d'oxygènes (C=O) et hydrogène (N-H) d'une liaison peptidique se répètent non plus sur une portion continue de la chaine peptidique mais entre les segments diffèrent qui peuvent appartenir à la même chaine ou des chaines différentes. Cela implique que d'avoir une structure en feuillet plissés β

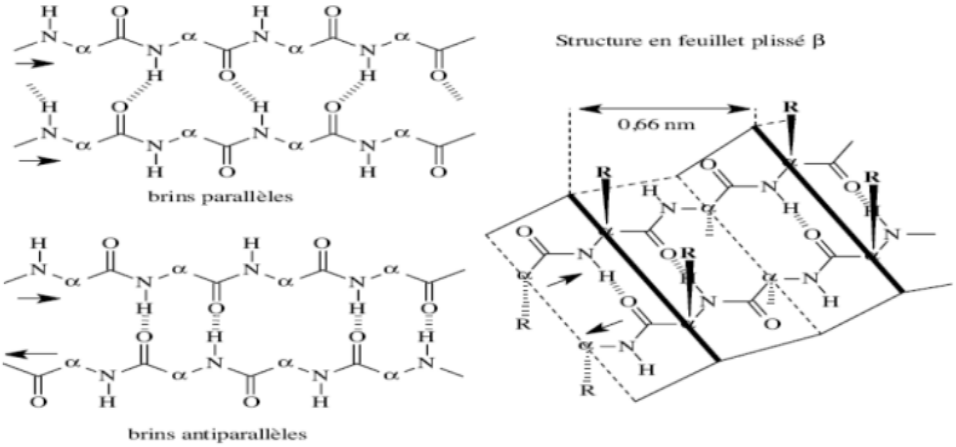


Figure 70 : Feuillets plissés β de la structure II aire des protéines [5]

- **Le coude**

Certaines régions protéiques ne sont pas structurées dans des conformations périodiques. Toutefois leurs structures sont semblable par le faite qu'elles imposent un changement brusque de la direction de 180 ° : on l'appelle coude ou tour β.

La configuration de la proline est-elle qu'elle provoque le changement de direction et peut donc être presque à elle seul un coude [8].

- **La pelote statistique**

Certaines régions protéiques ne sont pas structurées dans des conformations périodiques comme l'hélice α feuillet plissés β.

2.3. Structure tertiaire

C'est l'arrangement spatial de la structure secondaire locales aboutit à une forme globale spécifique de la protéine maintenue par des interactions qui peuvent être de nature différentes :

- Liaison covalente : pont disulfure
- Liaison ionique entre groupements chargés de signe opposé (pont salin) et entre dipôles faisant une liaison d'hydrogène.
- Attraction hydrophobe (force de Van der Waals entre groupe apolaire).
- Interaction des chaines latérales des résidus avec le solvant : dans l'eau les chaines latérales polaires pourront être exposées au solvant, alors que les chaines latérales apolaires ont tendance de s'enfouir dans des poches hydrophobe de la protéine [2] [5].

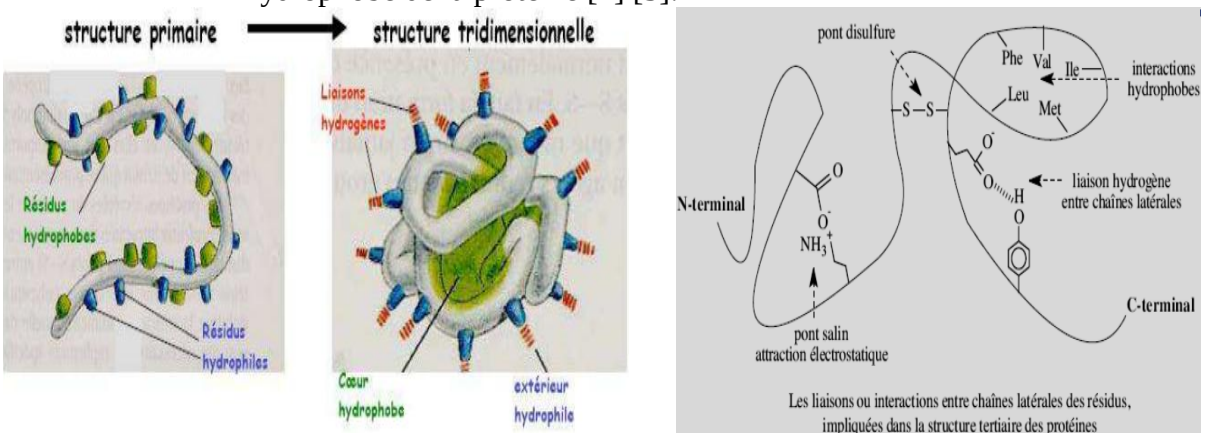


Figure 71 : Structure tertiaire de et interactions impliquées [5].

La conformation native de la protéine est la structure tertiaire qui correspond à celle qui exprime la fonction biologique dans les conditions physiologiques. Le traitement détruisant cette structure qui a pour conséquent de supprimé sa fonction est appelé dénaturation : elle aboutit à un état désorganisé de la molécule.

Il existe deux grands types de protéine sur le plan structural :

- Protéine fibreuse : kératine (torsade de dimère en hélice α) et feuillet plissés β.
- Protéine globulaires: elle comprend les motifs de structure hélice α et feuillet plissés β

2.4. Structure quaternaire

Lorsque deux ou plusieurs chaînes de structure tertiaire s'associent pour former une molécule de grande taille, la protéine a une structure quaternaire. C'est l'association de plusieurs chaînes polypeptidiques stabilisées par des liaisons de faible énergie (liaisons électrostatique, hydrogène ou hydrophobes) ou plus rarement des liaisons covalentes (ponts disulfures).

Exemple : la protéine est l'hémoglobine. C'est un tétramère hétérogène (2 chaines identiques α et 2 chaines identiques ß : α2 ß2). α est formée de 141 AA et ß de 146 AA. Chaque chaine est associée à un groupement prosthétique appelé HEME [13].

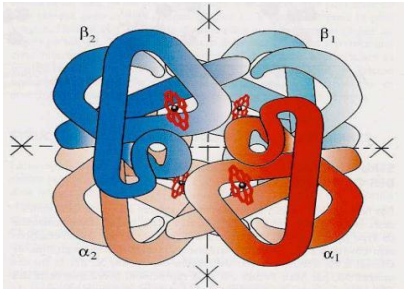


Figure 72 : Structure quaternaire des protéines [13]

3. Propriétés des protéines

3.1. Solubilité

Les protéines fibrillaires sont généralement peu solubles dans l'eau alors que les protéines globulaires sont solubles. Cette solubilité est fonction de la composition du milieu en particulier du pH et de la force ionique :

- influence du pH: la solubilité d'une protéine est minimale au voisinage de son pH_i.
- influence de la force ionique: les sels neutres interviennent sur la solubilité des protéines en fonction de la concentration et de la charge en ions c'est à dire la force ionique μ. L'augmentation de la force ionique provoque dans un premier temps un effet dissolvant (salting in) puis au-delà d'une limite variable selon la protéine un effet inverse qui fait précipiter la protéine (relargage ou salting out) [14].

3.2. Dénaturation

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 de ses propriétés. Cet état constitue la dénaturation. Cette dénaturation entraîne souvent la précipitation des protéines, elle peut être réversible ou irréversible. Les principaux agents dénaturants sont [7] :

- **La chaleur** : les températures élevées détruisent les liaisons hydrogènes et hydrophobes ;
- **Les acides et les bases** : qui agissent sur les liaisons électrostatiques en introduisant des charges nouvelles ;
- **Les solvants organiques** : qui détruisent les liaisons hydrophobes ;
- **Les détergents anioniques** : qui forment des liaisons électrostatiques avec les groupements $-NH3^+$ et des liaisons hydrophobes avec les chaînes latérales non polaires ;
- **L'urée** : qui forme de nombreuses liaisons hydrogènes avec les liaisons peptidiques ;
- **Les agents réducteurs ou oxydants** : qui provoquent la rupture des ponts disulfure ;
- **Les sels de métaux lourds** ;
- **Les rayons UV** ;
- **Les ultrasons**.

3.3. Propriétés optiques

- Les protéines absorbent dans l'UV lointain (190 nm) à cause des liaisons peptidiques et à 280 nm si elles contiennent des AA aromatiques en particulier du tryptophane.
- Les protéines sont douées de pouvoir rotatoire.
- Les protéines diffusent la lumière, ainsi leurs solutions sont souvent troubles.

3.4. Propriétés ioniques

Les protéines, comme les peptides possèdent de nombreux groupements ionisables libres (extrémités N et C terminales, groupements ionisables des groupements latéraux R), qui leur confèrent un caractère amphotère. Lorsque le nombre de groupement chargés positivement est égal au nombre de ceux chargés négativement la protéine est au point isoionique ; ce point isoionique est voisin du point isoélectrique où la charge totale de la protéine est nulle (= 0) en tenant compte des autres ions en solution [5] [7].

3.5. Propriétés chimiques

Les protéines possèdent les propriétés des liaisons peptidiques et des chaînes latérales des résidus d'acides aminés.

3.6. Propriétés antigéniques

Les protéines animales, végétales, bactériennes ou virales possèdent des propriétés antigéniques, c'est à dire que lorsqu'elles sont injectées à un organisme étranger, elles provoquent chez cet organisme la fabrication d'anticorps. Les protéines étant de grosses molécules, elles possèdent plusieurs épitopes ou sites antigéniques capable chacun d'induire la fabrication d'un type d'anticorps. Il est à noter que les anticorps sont eux-mêmes de nature protéique [13].

4. Séparation des protéines

4.1. Charge globale d'une protéine et point isoélectrique

Une protéine porte des charges positives et négatives au niveau des chaines latérales des résidus d'acides aminés. Les charges dépendent du pH de la solution et leur somme algébrique définit la charge globale de la protéine.

Il existe toujours un pH pour lequel le nombre de charges positives porté par une protéine et égale au nombre de charge négatives : la charge globale est alors nulle. Ce pH s'appelle le point isoélectrique de la protéine (pH_i) c'est la base de la séparation des protéines [5] [13].

4.2. Méthode chromatographique

Séparer les protéines par chromatographie grâce à leur migration différentielles à travers un système composé de deux phases, une phase fixe et une phase mobile.

On peut ainsi séparer les protéines en utilisant leurs différences :

- De taille (chromatographie par filtration)
- De charges (chromatographie par échange d'ions)
- D'adsorption spécifique (chromatographie d'affinité)

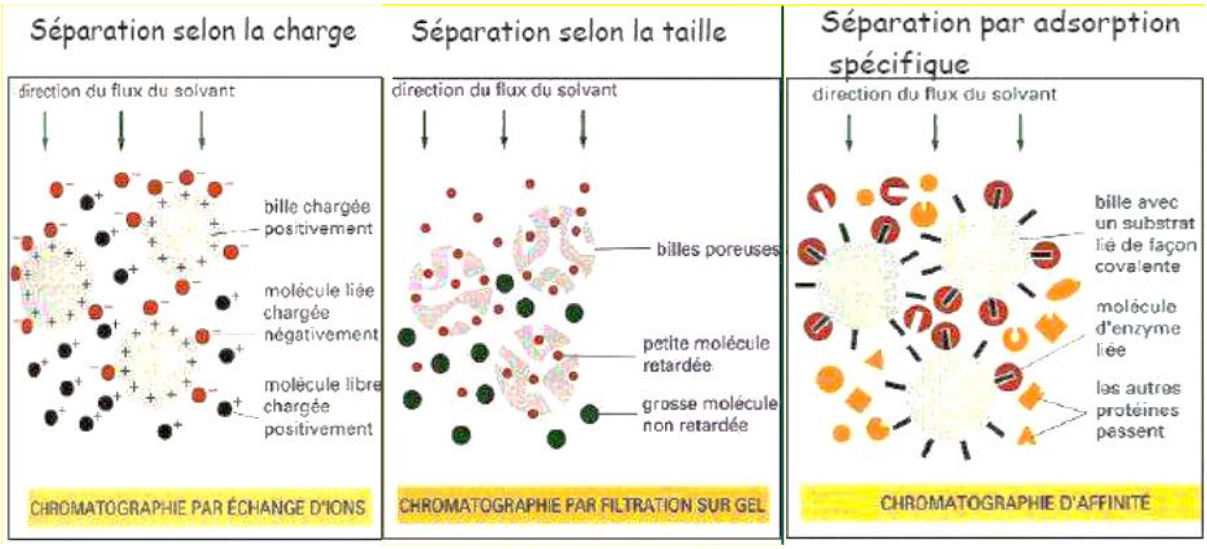


Figure 73 : Différent type de chromatographie [13]

Chapitre 5 : Notions d'enzymologie

1. Généralités

Les enzymes sont des protéines capables d'accélérer considérablement la vitesse d'une réaction chimique. Les enzymes (molécules protéiques) sont des catalyseurs, c'est-à-dire qu'en agissant à des concentrations très petites, elles augmentent la vitesse des réactions chimiques, sans en modifier le résultat. A la fin de la réaction la structure de l'enzyme se retrouve inchangée.

Une enzyme donnée est spécifique d'une réaction, c'est-à-dire qu'elle catalyse toujours la même transformation, se produisant sur les mêmes corps chimiques initiaux. La réaction se produit au niveau d'une zone priviligiée de l'enzyme appelée "*site actif*" ou *"site catalytique"* [16].

2. Nomenclature et classification

L'enzyme est désignée par un numéro de code selon la codification internationale (Enzyme Commission ou EC). La nomenclature officielle comporte 6 classes : toutes les enzymes répertoriées sous un numéro portant 4 nombres séparés par des points et précédés de EC soit (EC $_{x1.x2.x3.x4}$) [17].

x_1 : indique le type de réaction (classe)
x_2 : désigne la sous-classe (le type de fonction du substrat métabolisé)
x_3 : désigne le type de l'accepteur
x_4 : Le numéro d'ordre (dans la sous-sous-classe).

Les classes 6 d'enzymes sont :

- **Oxydoréductases** : interviennent dans les réactions d'oxydoréduction
- **Transférases** : catalysent le transfert d'un groupement carboné, phosphoré, azoté, etc. d'une molécule à une autre.
- **Hydrolases** : coupent des liaisons avec fixation de radicaux H et OH issus de l'eau.
- **Lyases** : catalysent les réactions d'addition sur les doubles liaisons.
- **Isomérases** : catalysent les réactions d'isomérisation.
- **Ligases** : création d'une liaison entre 2 molécules en utilisant l'énergie de l'ATP.

Ex : Enzyme Créatine kinase (EC $_{2.7.3.2}$)

$$\text{Créatine} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Créatine kinase}} \text{ADP} + \text{P créatine}$$

EC $_{2.7.3.2}$ 2 : transférase
7 : groupement phosphate qui est transféré
3 : accepteur (groupement sur la créatine)
2 : numéro d'ordre

3. Cinétique enzymatique

Elle consiste en l'étude de la vitesse enzymatique d'une réaction et les facteurs qui l'influence pour la modifie (pH, inhibiteurs,...etc),

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k[S]$$

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. Soit :

$$\boxed{E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P}$$

où « E » est l'enzyme, S le substrat, P le produit de réaction et les k_1 et k_2 sont des constantes de vitesse des réactions élémentaires.

3.1. Equation de Michaelis-Menten

3.1.1. Constante de Michaelis & Menten [16] [17]

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} EP$$

$$E_{total} = E + ES + EP$$

$$EP \approx 0$$

Equation de la conservation de l'enzyme

$$\boxed{[E_{total}] = [E] + [ES]}$$

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} EP$$

formation de ES = dissociation de ES

$$k_1 [E][S] = (k_{-1}+k_2)[ES]$$

$$[E] = [E_{total}] - [ES]$$

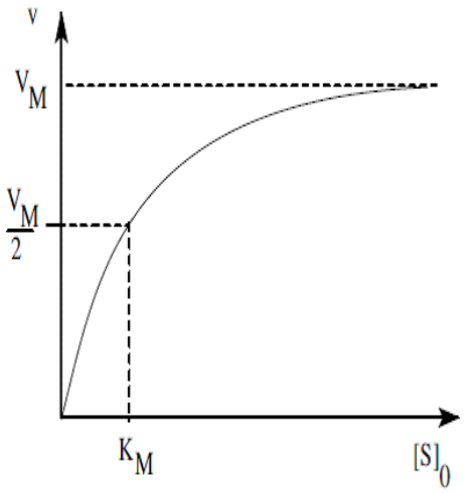
$$k_1([E_{total}]-[ES])[S] = (k_{-1}+k_2)[ES]$$

$$\boxed{\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{([E_{total}]-[ES])[S]}{[ES]} = \frac{(k_{-1}+k_2)}{k_1} = Km}$$

K_m : constante de dissociation du complexe enzyme-complexe

1/Km : affinité de E pour S

3.1.2. Hyperbole de Michaelis & Menten [16]



$$\boxed{v = \frac{V_{MAX}[S]}{K_M + [S]}}$$

- *V*max : est une vitesse initiale que la réaction aurait si la concentration du substrat était infinie.
- *K*m : est la concentration du substrat pour laquelle on observe une vitesse égale à la

Figure 74 : Variation de la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat

3.2. Diagramme de Lineweaver et Burk [16]

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{MAX}} + \frac{K_M}{V_{MAX}[S]}$$

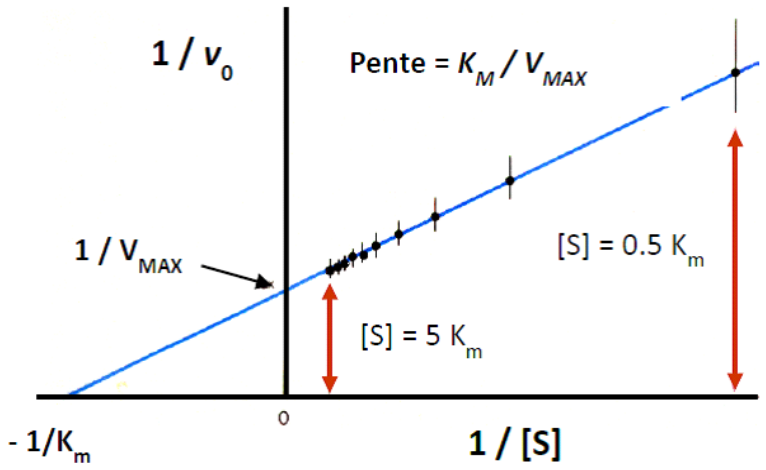


Figure 75. Représentation de Lineweaver et Burk et détermination des constantes cinétiques

3.3. Effecteurs enzymatiques

De nombreux composés organiques peuvent affecter l'activité enzymatique en l'inhibant ou en l'activant.

- **Les activateurs :** on distingue les activateurs vrais ex : mg^{2+} (kinases), Zn^{2+} (phosphorylases)
- **Les agents protecteurs :** c'est le cas des groupements thiol (SH) site actif
- **Les activateurs de proenzymes** (zymogènes), trypsinogène (inactif), trypsine (active) *coupure protéolytique*
- **Les inhibiteurs** : on distingue 3 types d'inhibitions réversibles, inhibiteur compétitive, inhibiteur non compétitive et inhibiteur incompétitive [16].

3.3.1. Inhibiteur compétitive

Ces composés moléculaires présentent une analogie structurale avec le substrat et le site actif de l'enzyme. La présence simultanée de l'inhibiteur et du substrat entraîne une compétition pour occuper le site actif de l'enzyme.

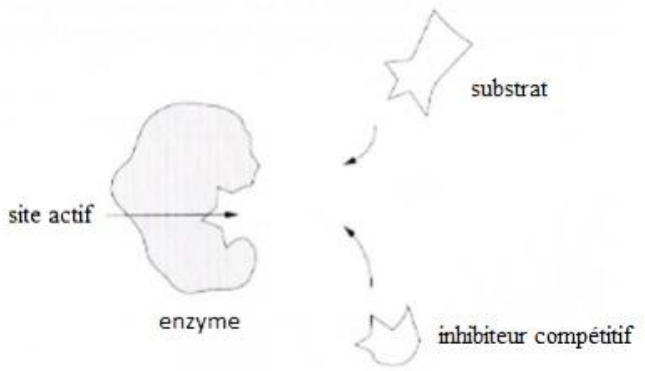


Figure 76 **:** Influence d'un inhibiteur compétitive sur l'activité enzymatique.

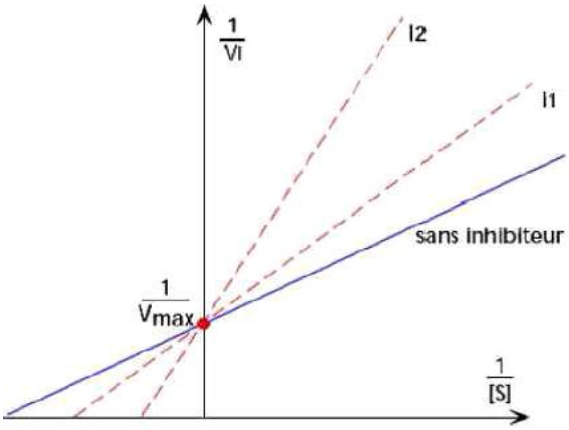


Figure 77 : Effet de l'inhibiteur compétitive

***Inhibition compétitive* :** l'inhibiteur et le substrat sont en compétition pour le site actif de l'enzyme. Deux possibilités s'offrent donc à l'enzyme ES et EI, selon les équilibres suivants :

V_{max} ne change pas
K_m change

La présence de l'inhibiteur ne change pas Vmax mais augmente Km. En d'autre termes, dans l'équation de Michaelis-Menten, Km est remplacé par un Km`.

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

Vmax' = Vmax

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

3.3.2. Inhibiteur non compétitive

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. 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, K_m ne change pas et le V_{max} diminue [16].

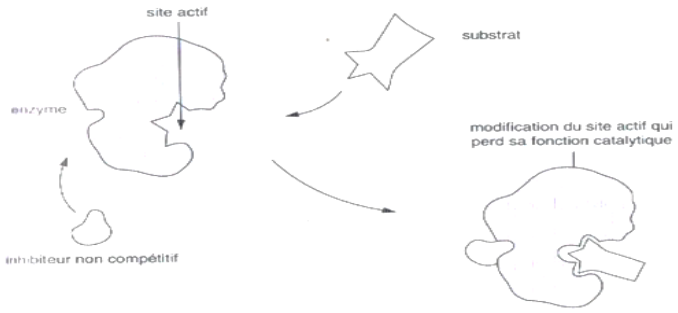


Figure 78 : Fixation d'un inhibiteur non compétitive.

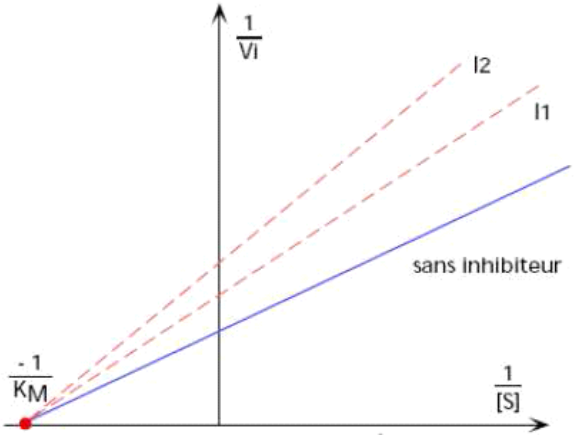
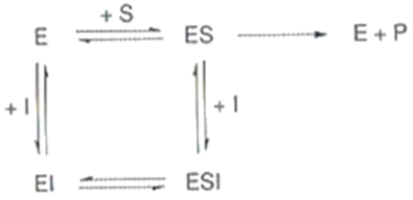


Figure 79 : Effet de l'inhibiteur non compétitive

Inhibition non compétitive **:** l'inhibiteur ne se combine pas avec l'enzyme (E) mais se fixe avec le complexe ES pour donner un complexe ESI qui ne se décompose plus pour donner P.



V_{max} change
K_m ne change pas

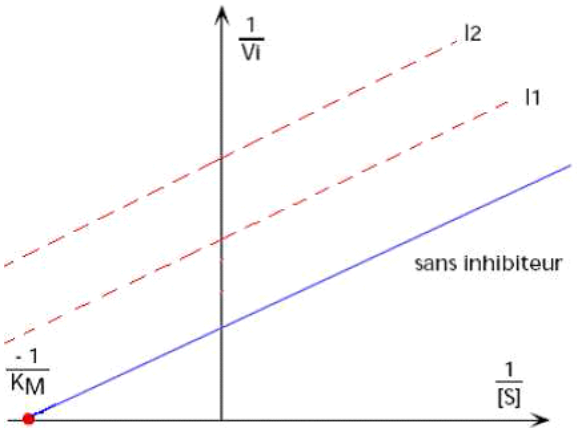
$$V'_{max} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$$

Km' = Km

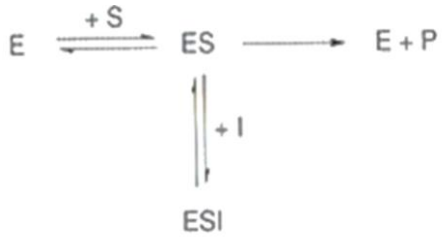
$\frac{1}{V'_{max}} = \frac{\frac{1 + K_m}{[S]}\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}{V_{max}}$	Equation de Lineweaver-Burk en présence d'inhibiteur
$V'_{max} = \frac{V_{max}\,[S]}{[S] + K_m} \times \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$	Equation de Michaelis-Menten en présence d'inhibiteur

3.3.3. Inhibiteurs incompétitive

L'inhibiteur ne se combine pas avec l'enzyme libre et n'affecte pas la réaction de celui-ci avec son substrat, mais il se fixe sur le complexe enzyme-substrat pour donner un complexe enzyme-substrat-inhibiteur inactif qui ne peut plus fournir le produit normal de la réaction [16].



Inhibition incompététive (mixte)



V_{max} change
K_m change

Figure 80 : Influence d'un inhibiteur incompétitive sur l'activité enzymatique

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

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

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

4. Phénomène d'allostérie [16] [17] [18]

Propriété de certaines protéines actives, qui peuvent changer de conformation, lorsqu'elles se lient à un effecteur allostérique en un site différent du site actif. Cette liaison se traduit par une modification de l'activité.

4.1. Régulation allostérique

Mécanisme de modulation de l'activité de certaines enzymes, employé par la cellule pour contrôler le flux global d'une voie métabolique L'enzyme allostérique sont des oligomères, formés par plusieurs sous unités appelées Protomères, ils contiennent :

- Plusieurs sites actifs identiques
- Plusieurs sites allostériques identiques

4.2. L'effet allostérique

Dans un système multi-enzymatique, l'enzyme clé (catalysant l'étape d'engagement d'une voie métabolique) est inhibé par le produit final de cette voie : Rétro-contrôle. Les effets allostériques sont les interactions indirectes entre sites de fixation distincts.

4.3. Les effecteurs allostériques

Sont des ligands dont le site de fixation est différent du site de fixation du substrat

- Si le ligand est la molécule de substrat: ***Effet allostérique homotrope***
- Si le ligand est une molécule différente: ***Effet allostérique hétérotrope***

4.4. La transition allostérique

Enzyme allostérique: structure protéique avec au moins 2 sites fonctionnels

- Site actif: Substrat
- Site allostérique: Effecteur allostérique

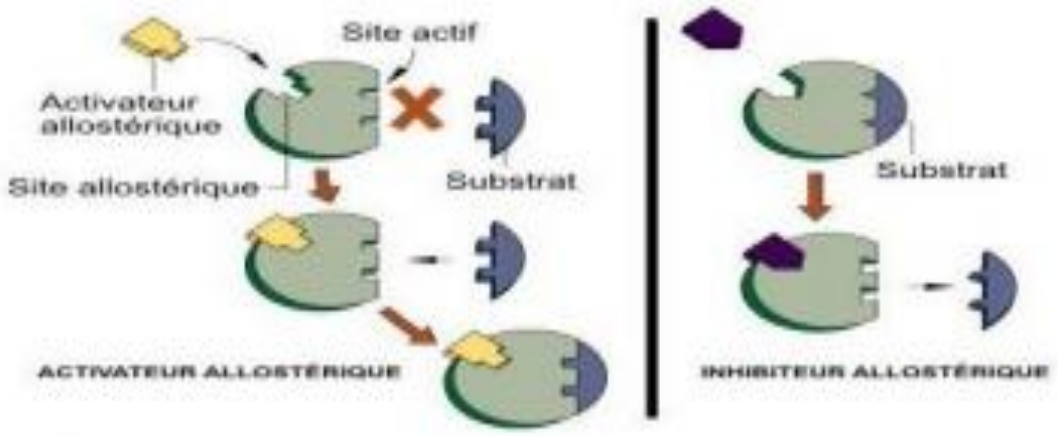
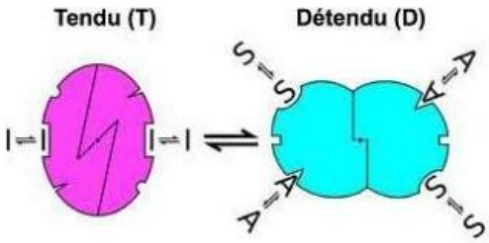


Figure 81 : Modification de la conformation du SA et de l'activité de l'enzyme [18].

Lorsque l'effecteur allostérique se combine: Modification structurale discrète réversible au niveau de l'enzyme: Transition allostérique.

La transition allostérique modifie les forces de liaisons qui associent les sous unités entre elles, mais sans aller jusqu'a leur dissociation La molécule apparait soit dans un état Tendu ou relâché, qui diffère par leur affinité au substrat



T: Faible affinité pour S
R: Forte affinité pour S

Figure 82 : La transition allostérique de l'enzyme [16].

4.5. La coopérativité

L'enzyme allostérique contient:

- Plusieurs sites actifs identiques,
- Plusieurs sites allostériques identiques ,
- Ces sites n'agissent pas de façon indépendante l'un par rapport à l'autre, mais au contraire ils montrent une coopérativité,
- La coopérativité traduit que la fixation sur l'enzyme d'un effecteur allostérique, influe sur la fixation du substrat [16] [17].

Cinétique des enzymes allostériques

Cinétique selon une représentation de Hill

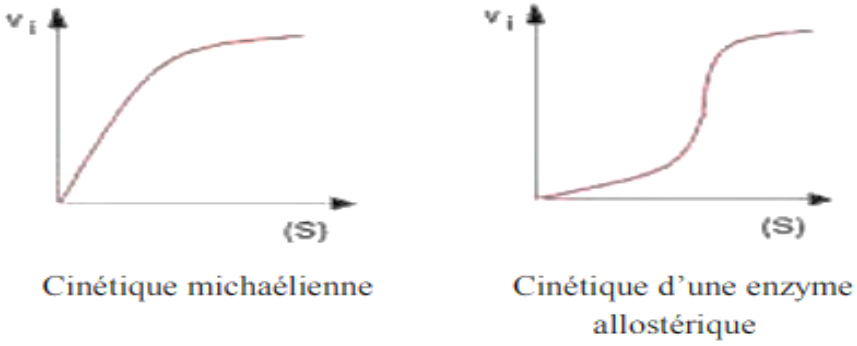


Figure 83 : la Cinétique michaélienne et allostérique

Courbe sigmoïde

$$V = \frac{Vm.\,[S]^n}{K_{1/2} + [S]^n}$$

$V = Vmax/2$ $\quad$ $K_{1/2} = [S]$

n: nombre de site de liaison de substrat

Les systèmes K et V

Le système K: ce sont les enzymes pour lesquelles l'effecteur ne modifie que l'affinité apparente (K_m) pour le substrat. Ce sont des enzymes où le substrat et l'effecteur présentent des affinités différentes pour les formes R et T de l'enzyme. Il en résulte une fixation toujours sigmoïde. Les formes R et T ont une même vitesse maximale.
L'affinité pour le substrat (S) diminue en présence d'un inhibiteur allostérique (I). Elle augmente en présence d'un activateur allostérique (A).

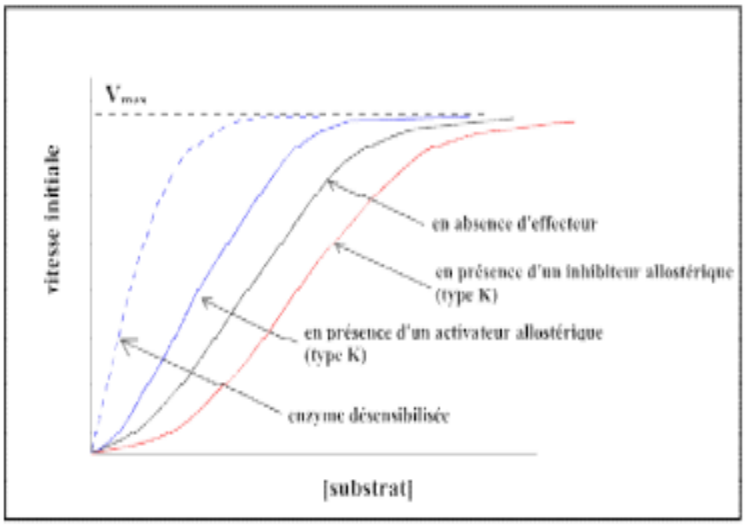


Figure 84 : Cinétique d'une enzyme allostérique en absence d'effecteur et en présence d'activateur.

Le système V: ce sont les enzymes pour lesquelles l'effecteur ne modifie que la Vmax de la réaction. Les enzymes allostériques du système V sont caractérisés par le fait que le substrat (S) a la même affinité pour les deux formes d'enzyme R et T. Tout se passe comme s'il n'y avait qu'une seule forme d'enzyme. Il en résulte une fixation hyperbolique de S. La coopérativité semble absente. Activateur (A) et inhibiteur (I) modifient la vitesse sans modifier l'affinité

Systèmes K et V ont des rôles biologiques différents : Les enzymes à système K sont adaptés aux conditions dans laquelle la concentration du substrat est limitante, ce qui est souvent le cas in vivo, $[S] = K_{1/2}$. Parcontre lorsque les conditions physiologiques sont telles que [S] est saturante pour l'enzyme de régulation en question, l'enzyme se conforme au système V, ce qui permet une régulation efficace. Notion de $K_{1/2}$; pour que l'on puisse trouver sur la courbe sigmoïdale de saturation une [S] pour laquelle V_0 est égale à la ½ de V_{max}, il n'est pas possible de l'appeler Km parce que l'enzyme ne suit pas la relation hyperbolique de Mickaelis Menten et dans ce cas-là, elle est appelée $K_{1/2}$.

Les enzymes allostériques sont caractérisés par une courbe sigmoïde (coopérativité) et la modulation de l'activité par des effecteurs. Tous les enzymes allostériques sont construit par plusieurs sous unités autour des axes de symétrie. Plusieurs lignes d'évidence montrent que le modèle symétrique est capable d'expliquer simplement les propriétés de ces enzymes [16]. [17] [18].

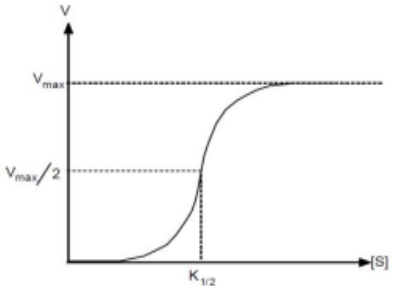


Figure 85 : Courbe sigmoïde d'une enzyme allostérique

Bibliographie

[1]. American Institute for Medical and Biological Engineering Glossary , traduit par GreenFacts. www.greenfacts.org/fr/ogm/glossaire-ogm.htm

[2]. Barrett G. C., et Elmore D. T.. Amino Acids and Peptides. 1998 - 224 pages. Cambridge University Press. Donald Trevor Elmor.

[3]. Charles ALAIS, Guy LINDEN et Laurent MICLO. Biochimie alimentaire. Dunod (Paris) 2003, 2008, 6e édition, 260 p.

[4]. Claude AUDIGIE et François ZONSZAIN. Biochimie structurale. Collection Biosciences et Techniques. Edition Doin (Paris)1991, 7e tirage Wolters Kluwer (France) 2009, 263 p.

[5]. Claude AUDIGIE et François ZONSZAIN. Biochimie structurale. Edition Doin (Paris) 2007, 263 p.

[6]. Elisabeth HEBERT. Biochimie. Edition Atlani 1994, 320p. Jacques-Henry WEIL. Biochimie générale. Edition Dunod (Paris) 2005, 726p.

[7]. Françoise QUENTIN, Paul-françois GALLET, Michel GUILLOTON et Bernadette QUINTARD. Biochimie en 84 fiches. Edition Dunod (Paris) 2015, 215p.

[8]. Garret et Grisham. Biochimie. 2eme édition Américaine. De Boek. 2000, pp 14-18.

[9]. Gérard BOISSONNET, Bernadette BOISSONNET, Marie-Jeanne HAMMOUD, Claude ROUCH. Biochimie structurale. Edition SMER (Rabat) 1987, 326p.

[10]. Gilles OLIVE. Biochimie, Tome 2 – Biochimie. Ecole Industrielle et Commerciale de NAMUR, 2008, 294 p.

[11]. Kouadri BOUDJELTIA Abderrahmane. Cours de biochimie, glucide : structure et métabolisme. OPU (Alger) 2003, 47 p.

[12]. Murray KENNELLY, Bender RODWELL et Botham WEIL. Biochimie de HARPER. De Boeck 2011, 693 p.

[13]. Pierre LOUISOT. Biochimie générale et médicale, structure, métabolisme, sémiologie. Edition SIMEP 1983, 1008 p.

[14]. Pierre LOUISOT. Biochimie générale et médicale. Edition SIMEP 1989, 488 p.

[15]. Raoui Mounir MAAROUFI. Cours de biochimie structurale (glucides). Université de Monastir. Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir 2015, 36p.

[16]. Sine jean- pierre. Enzymologie et applications ,2010, 462 pages.

[17]. Yon-Kahn Jeannine et Hervé De Guy, Enzymology - EDP Sciences 2005, 192 pages. .

[18]. Yon-Kahn Jeannine et Hervé De Guy , Enzymologie moléculaire et cellulaire, 2005 Volume 2 *Collection Grenoble sciences*, ISSN 0767-371X.