ED Biochimie n 1

propriétés d'ionisation AA et peptides.

étude générale de l'ionisation des AA.

ex 1 : Gly.

en sol aq, sous forme bipolaire par transfert d'H^+ sur la ^ molécule.

$NH_3^+ - CH_2 - COO^-$

en milieu ac. (HCl)

→ forme cationiq par fixaθ H^+ sur COO^-

$NH_3^+ - CH_2 - COOH$.

en milieu alcalin → libéraθ H^+ → $NH_2 - CH_2 - COO^-$

forme anioniq.

$NH_3^+ - CH_2 - COOH$, propriétés d'un diacide. (ajout NaOH)

$NaOH \rightleftarrows H^+ + NH_3^+ - CH_2 - COO^-$

$NaOH \rightleftarrows H^+ + NH_2 - CH_2 - COO^-$

état réversible entre réacθ.

répartiθ formes ionisées en foncθ de pH. de la concentraθ

loi d'acθ de masse, K

$2\,Eq \rightarrow 2K : K_1 = \dfrac{(\text{dipole})(H^+)}{(\text{forme ac})}$

$K_2 = \dfrac{(\text{forme basiq})(H^+)}{(\text{dipole})}$

qd rapport (dipole) = (forme ac)

K_1 ou K_2 dépend de $(H^+) \Leftrightarrow pH$.

$\Rightarrow pK_1$ et pK_2 pour concentrations égales.

$K_1 = 5.10^{-3}\ M \Leftrightarrow pK_1 = 2,3$ $\log 2 = 0,3$

$K_2 = 2.10^{10}\ M \Leftrightarrow pK_2 = 9,7$

pH=0 $\frac{\text{dipolaire}}{\text{cation}} = \frac{K_1}{H^+} = \frac{5.10^{-3}}{1} = 0,5\%$ de forme dipolaire
33,5% de forme cationique

pH = 1 $\frac{5.10^{-3}}{10^{-1}} = 5\%$ forme dipolaire
55% " cation.

pH = 2 $\frac{K_1}{|H^+|} = 0,5$ 33,3% dipolaire.
66,6% cation

pH = 3 5 → 5 fois plus de dipolaire que cation.
pH = 5 500 → 500 " " "
pH = 6 5000 " " "

$\frac{K_2}{|H^+|}$ pH = 6 $\frac{2.10^{-10}}{10^{-6}} \rightarrow 2.10^{-4}$ fois + de cation que de dipolaire.

pH = 7 $\frac{K_2}{H^+} = 2.10^{-3}$ fois + de forme anionique que forme dipolaire.

pH = 9 $\frac{K_2}{H^+} = 0,2 \rightarrow$ 5 x + de dipolaire qu'anions.

pH = 10 $\frac{K_2}{H^+} = 2 \rightarrow$ 2 fois + anions que dipôle

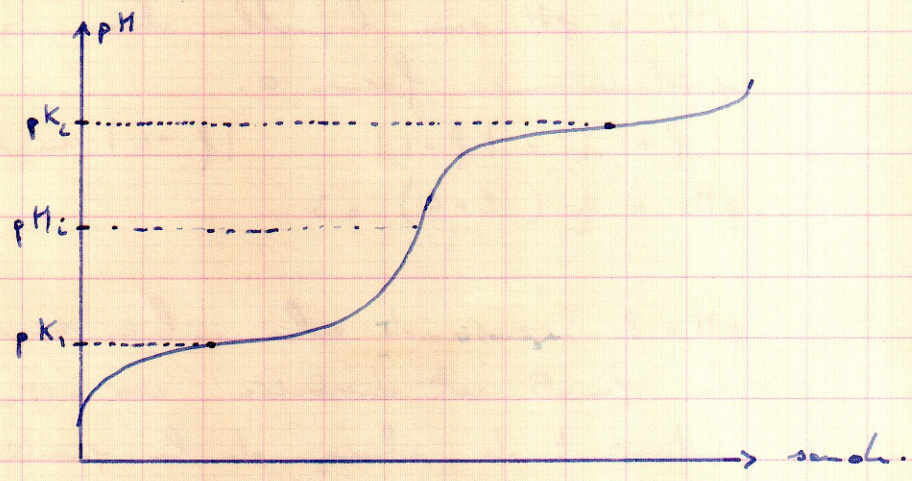
pH = 11 $\frac{K_2}{H^+} = 20$.

⇒ 3 régions 1 → 4 8 → 11 pour le pH
valeurs de pK où forme un zwitterion.
4 → 8 : la Δ de pH produit des formes de proportions ioniques faibles.
prédominance forme dipolaire.
entre les 2 pK, prédominance forme dipolaire.
charge globale nulle = prédominance forme dipolaire
& |f. cat| = |f anionique|.

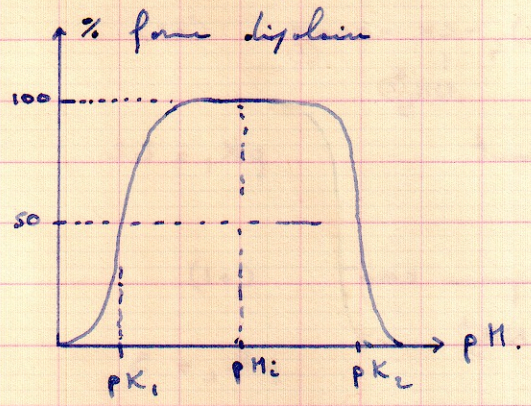
$K_1 . K_2 = |H^+|^2$ $|H^+| = \sqrt{K_1 K_2}$

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

courbe de titraθ Gly.
ajout HCl obtenir Gly ss forme cat.
rajout soude, 1 ml puis mesurer et recommencer

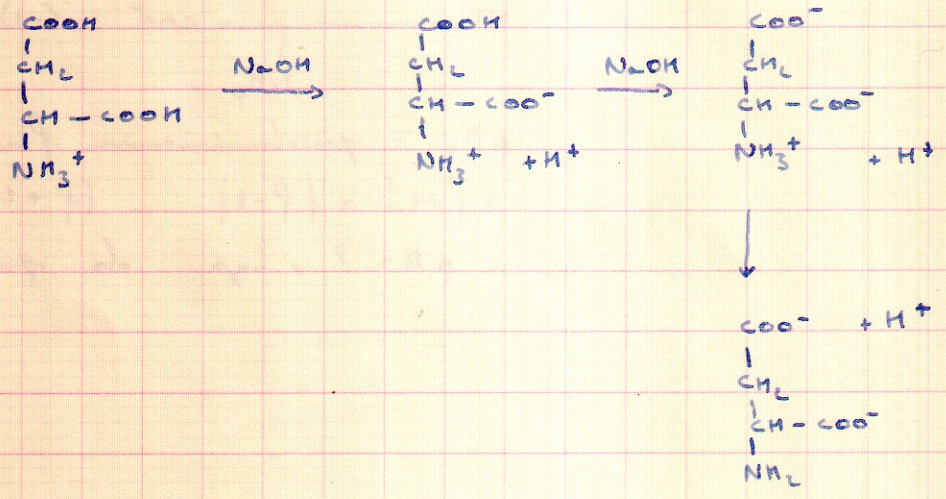


soluθ tampon. autour pK1 et pK2



exc2 : Asp.
4 formes d'ionisaθ.

pHac :



$+1 \xrightarrow{pK_1 = 2} 0 \xrightarrow{pK_2 = 4} -1 \xrightarrow{pK_3 = 10} -2$

valeur pK correspondant.

pHi = pH pour laquelle charge globale nulle.
prédominance forme 0.
$|f+1| = |f-1|$ $|f-2|$ négligeable.
$pHi = \frac{1}{2}(2+4) = 3$

pH = 7, voisin de celui milieu vivants.
la fonct° est dissociée COO^- - CH_2 -
intervient ds charge de la protéine.

ex 3 : lys

NH_3^+ ③ - $(CH_2)_4$ - CH - COOH ① (+2)
| NH_3^+ ②

pH ↑, ajout $pK_1 = 2,2$
↓
NH_3^+ —— | —— COO^- (+1)
NH_3^+
↓ $pK_2 = 9$
NH_3^+ —— | —— COO^- (0)
NH_2
↓ $pK_3 = 10,4$
NH_2 —— | —— COO^- (-1)
NH_2

pHi : prédominance forme neutre
$|f+1| = |f-1|$ $|f+2|$ négligeable.
à pH = 7, lys ds protéines chargée ④.

applicaθ analytiques de la dissociaθ.
pour séparer AA ds mélange.
. chromatographie d'échange d'ions.
. électrophorèse.
sol de Gly , Lys , Asp pH = 6
f dipolaire f cation f anion.
reste en place vers pole ⊖ vers pole ⊕ à électrophorèse

. chromatographie d'échange d'ion.
séparaθ de subst ds une sol, plus ou - retenue sur support sur laquelle passe une phase liq.
dépend forces physico chimique et propriétés molécule.
nec : échange d'ion.
support : échangeur d'ion = polymère insoluble porteur d'une charge + ou -

fixaθ réversible des ions.
affinité plus forte.
résines échangeurs de cations porteur : $-COO^-$ $-SO_3H^-$
" " anions " NH_3^+
AA : I ayant une charge nette 0 pas retenue par échangeur.
IAA ayant charge ⊕ retenue par échangeur porteur ⊖
. pH bas : Hs AA ss forme positive, Hs retenues par échangeur de cations ds une colonne.
on fait arriver une sol dont pH ↗ progressivement.
les acides A vont être détachés en fonctθ du pHi
qd AA a charge nulle → n'est plus accroché.
. pH = 4 , Asp sous forme ch. globale nulle , Gly ⊖
Lys ⊕
Asp sort colonne sur échangeur de cation.

→ pH = 7 Gly s'enlève, Lys reste.

AA neutres pHi très proches les 1 des autres.
séparation pas simple.
≠ pH fines. on joue sur Δ concentrations ioniques.

électrophorèse
migration particules chargées de champ $\vec{E}$.
charge globale nulle → reste sur place.
à pK, un AA ne migre pas.
pH < pK → forme cationique → ⊖
pH > pK " " ⊕
pH proche pK, ∃ formes ≠ pour ≃ AA.
30% forme dip, 10% forme cat.
ne se déplace que vers pôle ⊖ que 10%.
→ loi ac⊖ masse. 30% → 81% f. dip
↳ 3% f. cat.
qui se déplacent.

⇒ déplacement en traînée.

ionisation protéine.
COO^- et NH_3^- bloquées, sauf celles de bout de chaîne.
↓
gr ionisables des gr chaîne.
pour grosse protéine, gr chaînes latérales.
gr ac → COO^-
gr bas → NH_3^+
charge globale = résultante.
considérer rapports. AA ac & AA bas, AA ionisés & AA non ionisés
→ pHi, pour lequel il n'y a charge globale nulle
si prédominance AA bas, pHi élevé.
caractère amphotère des protéines.
à m̂ pH, ⊕ieurs formes pour la protéine.
ex: pH où 90% molécules basiques.
9 gr sur 10 ds état f basique.
9 gr sur 10 a forme ⊕. 9/10.
du pt vue charge totale, 1 seule sorte.
migration : effet de traînée sans relation avec charge électrique.
pour électrophorèse:
pH autour de 8,5 - 9. Ttes protéines ont charge globale ⊖.
ds glycoprotéines. autre gr ionisable: celui de l'ac sialique → pHi très bas.
à pH = 9, se déplace plus vite si charge + forte
limite ⊖: taille molécule: frottement avec support
1 molécule petite se déplace + vite que une grosse.

propriétés
solubilité des sol aq.
pression oncotique des protéines.

solubilité : ionisation importante, soluble qd interaction solvant-soluté + forte que solvant-solvant et soluté-soluté
H_2O → dipole.
présence d'électrolyte, à présence faible, effet favorable, se fixe à proximité des gr ionisés diminuant interaction entre molécules protéique.
en milieu aq pur : insolubles. gr se retiennent.
milieu très conc : insolubilisation protéine ions attirent à ceux les molécules d'eau → ↘ possibilité interaction eau-protéine.
"effet de relarguage". insolubilisation avec sels minéraux en forte conc.
ions gêne formation milieu aq polarisé à côté protéines.
effet le + important au niveau du pHi.

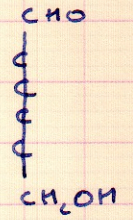
pression oncotique. type particulier de osmotique.
cas d'une mb ½ perméable, un sol de protéine de autre côté ion difusible.
protéine ne peut passer à travers mb.



Na^+ Cl^- passent ds sac
protéine ne pas passe.
Eq de dialyse : + de Na^+Cl^- à int, retenue par ions difusibles. où il y a protéines.

Ed Biochimie. n 2.

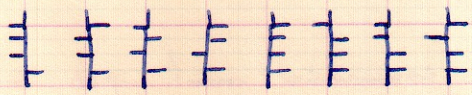
glucides :
aldéhydes ou cétoniq, structural ou E
possibilité isomères.
. position → aldoses ou cétoses.



nb isomère 2^4 → 16 isomères. stéréo
→ 8 forme D, 8 formes L.

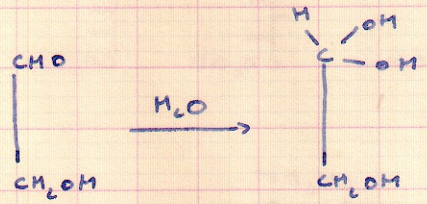
glucose.

 forme D,  forme L H inversé.

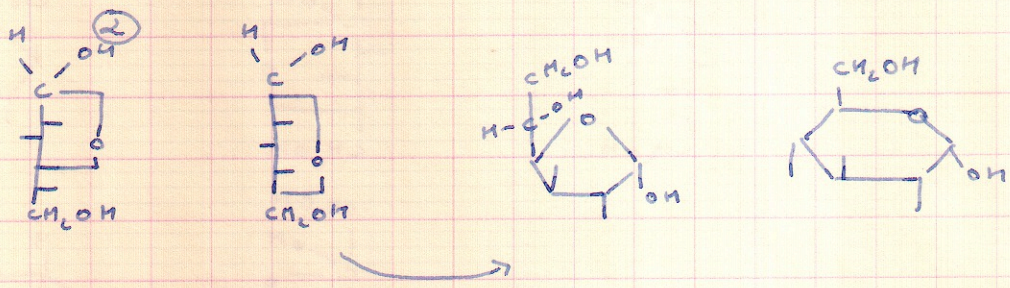


gal

glucose et mannose sont épimères.



1-4 → furane
1-5 → pyrane.



Hs OH à droite en bas sur cycle.
à gauche : en haut, Hes parties à l'ext
en haut lorsque à droite.

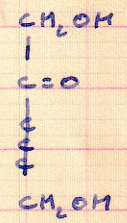
1 exception : le fructose.
formes bateau ou chaise. pas OH soit axiale (⊥ plan) soit équatoriale.
16 isomères : 8D + 8L

8α 8β 8α 8β.

8p 8f 8p 8f.

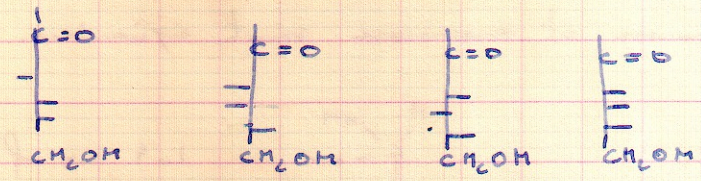
8ch. 8bat

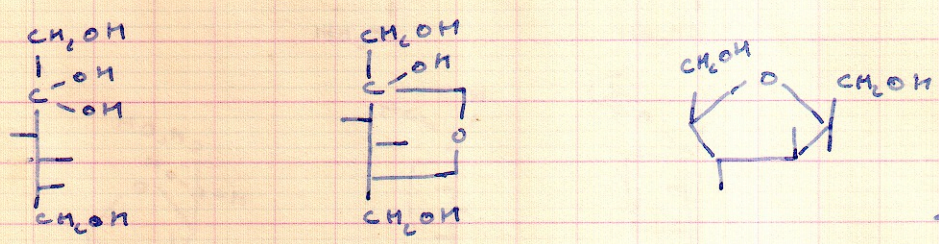
à f. cétone.



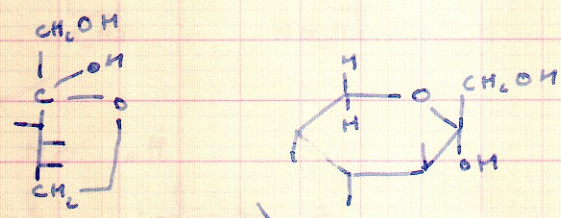
pas isomérie mais pas C=O

3 C* : 8 → 4D + 4L

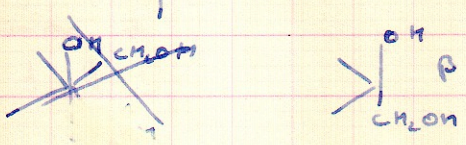




α



si β : OH en haut



formes pyramiq : chaise ou bateau.
nb isomère 168. (aldohexose + cétohexoses).

méthodes d'identificat°. + dosages.
recherche glucose ds urine : examens, diabétiq
dosage ds sang : biologie, alimentaire.
globales (à tts sucres) ou spécifiq.
prop. physiq : solubilité ds sucres, chromatographie de partage.
- pouvoir réducteur, cyclisat° en milieu conc (furfural)
• réducteur : f. aldhéyde cétone.
si libre : réduit, si engagé ds l'oxidiq : non.
sucre capable réduire sels Cu en milieu alcalin à chaud : principe liq Fehling.

sucre + Cu^{2+} → $2Cu^{+}$ + sucre oxidé
↓ NaOH
2CuOH
↓
Cu_2O rouge brique.

<u>cps réactifs</u> + urine
↳ contient Cu, soude, sel Na et K (couple effervescent)
soude → chaleur.
cps climitests. répondre avant.
• donnent cycles : furfural, perdent 3OH

furfural + α naphtol → pour voir H sucres.
f + α O Tolukydine.
↳ aldohexose : dosage glucose.
f + HCl + résorcine : cétohexose.

sol x de conc inconnue.
nec sol à côté avec conc connue : étalon. ex 1g/l.
on fait coloraθ. → spectrophotométrie.
nec tube témoin : sur de l'eau. + réactifs qui
ont servi à colorer. SANS sucre. on élimine
col des réactif.
on mesure divers tubes.

Δ Q ≠ concentration.

méthode Enz, spécifiq.
pouvoir obtenir produit dt déterminaθ plus facile
à doser que le produit de départ lui-m̂.

glucose $\xrightarrow[\text{glucose oxydase}]{O_2\ H_2O}$ H_2O_2 + ac glycérique

↓ peroxydase.
O_2
produit chromogène
↓
produit coloré

dont coloraθ = k [c] de départ
principe des bandelettes pour urine.
m̂ chose pour galactose.
pour saccharose, hydrolyse ac ou disaccharidase
→ glucose + fructose. → Q glucose connue

lipides.

méthodes d'extraction.

2 sortes : utilisation solvant, extraction par solubilité différentielle, chromatographie sur colonne de SiO_2

nec méthanol (sépare lipo-protéines) + $HCCl_3$

↳ extrait sec.

+ HCl

↳ extrait seulement lipides. (peser extrait → dosage lip).

+ acétone

↳ partie en sol + une partie qui précipite.

glycérides

cérides stérides

AG libre cholest.

↓ KOH (saponification)

soluble + insaponifiable

glycérol | alcool gras

savons | stérol, Vit grasses

↓ + éther

solution + précipité

glycérophospholip | sphingolip.

↓ alcool

soluble + insoluble.

lécithine | inositol

glycérol P

↓ Acacétiq

soluble | insoluble.

sphingosine | cérébrosides

de éther pétrole. fait absorbé sur colonne silice.
esters cholestérols sont élués par
cholestérol libre.
AG libres
tri - di - monoG.
ac phosphatidiq
divers.
puis phosphatidyl choline et autres qui ne
sont chargés.

α saponificaθ potasse.
on pèse 4,03 g d'un trg homogène qui renferme le ≙ AG, saponificaθ potasse.
utilise 50 ml KOH 0,4 M.
12,5 ml de HCl pour neutraliser KOH, 0,4 N.

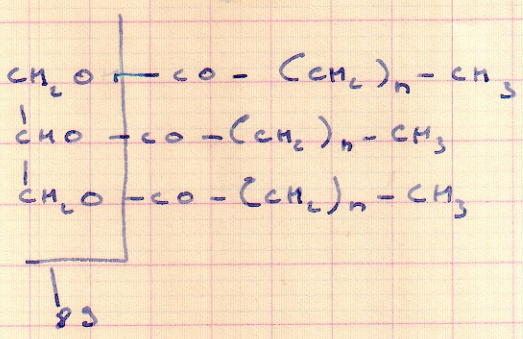
50 ml KOH à 0,4 M → 50 . 0,4 = 20 mcq
12,5 " " 0,4 M → 12,5 . 0,4 = 5 mcq.

⇒ KOH utilisée = 20 − 5 = 15 mcq. pour saponificaθ.

triG → 3AG
si monoG : 15 KOH → 15 mcq monoG
triG : " $\frac{15}{3}$ mcq = 5 mcq de triG.

4,03 g triG ≙ 5 mcq.
1000 mcq pèse X g.
$X = \frac{4,03 . 1000}{5} = 806$ g.

$CH_2O - CO - (CH_2)_n - CH_3$
$CHO - CO - (CH_2)_n - CH_3$
$CH_2O - CO - (CH_2)_n - CH_3$



89

AG = 806 − 89 = 717 g.
717/3 − 43 (poid $CO + CH_3$) = 196

$(CH_2)_n = 196$
$12n + 2n = 196$
$14n = 196$ $n = 14$ → ac palmitiq.

m mol et m eq. dépend valence.

si divalent → $m_{eq} = 2 \times m_{mol}$.

C.C.M. 1992 - PHARMACIE

EPREUVE DE BIOCHIMIE

NOM : TONTHAT Pierre gr E NOTE : 17,75 - 20

Sauf changement, le concours comporte vingt questions (ou leur équivalent) à traiter en 60 minutes.

Question n°1:

- Quels sont les traceurs permettant de mesurer l'eau intracellulaire :

on mesure l'eau totale, et on retranche l'eau extra cellulaire

mesurée avec : ^2H_2O, ^3H_2O, ou ~~pyridine~~

- Quels sont les traceurs qui permettent de mesurer le volume plasmatique :

iode radioactive, bleu Evans, bleu Chicago

0,25

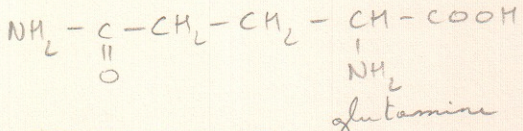
- Un sérum sanguin contient respectivement 3,25 g/litre de Na et 58,5 g/litre de protéines. Quelles sont les valeurs correspondantes exprimées en milliéquivalents

(M.A. de Na = 23)

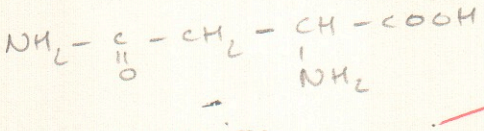
Na : 3,25 g/l $\Rightarrow \frac{3,25}{23} = 0,14$ mol/l = 140 mEq.

Question n°2 : Indiquez le nom et écrire la formule complète des acides aminés qui comportent dans leur structure :

- Une fonction amide (les deux plus fréquents):

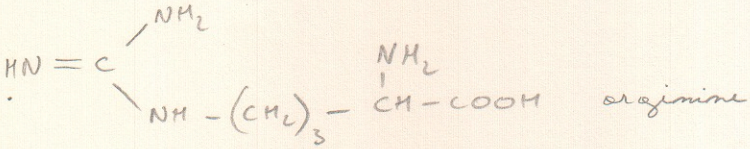


glutamine



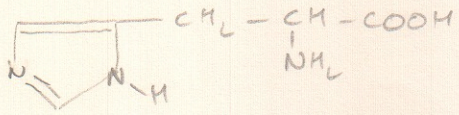
asparagine

- Une fonction imine



arginine

- Une fonction aromatique non phénolique



(1)

Question n°3 :

Donnez les noms et abréviations à trois lettres de ce peptide : V-A-C-H-E-S

V : Valine (Val) A : Alanine (Ala) C : Cystéine (Cys)

H : Histidine (His) E : acide glutamique (GLU) S : Sérine (Ser)

Parmi les acides aminés précédents, quels sont ceux qui sont indispensables (s'il y en a): Histidine (mais pas chez l'adulte)
Valine

(1)

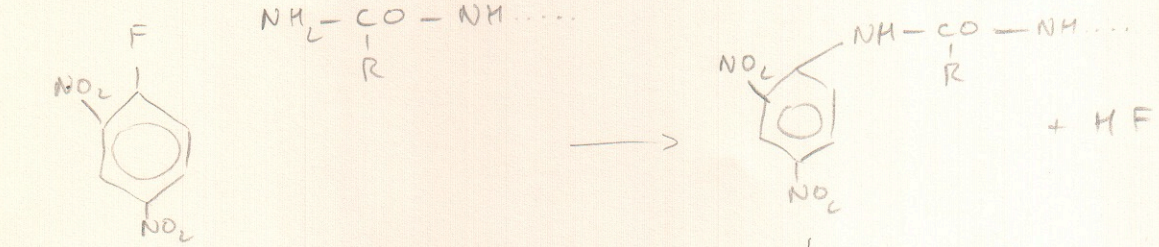
Parmi les acides aminés précédents, quels sont ceux qui sont remplaçables et s'il y en a, par quel autre acide aminé :

Cystéine remplaçable par Méthionine

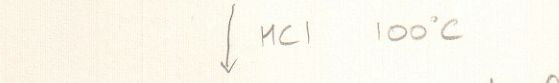
Question n°4 : Quel est le principe de la méthode de Sanger? A quoi sert-elle? Utilisée directement sur le peptide de la question n°3, quels seront les acides aminés identifiés.

Elle sert à identifier l'acide aminé qui commence la chaine peptidique.

méthode :



dinitro fluoro benzène

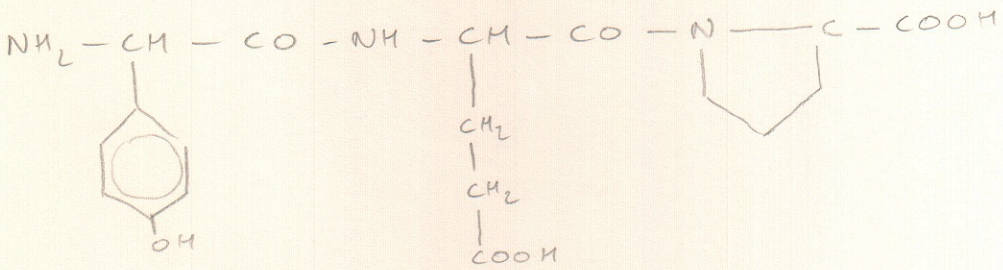


on identifie seulement la Valine

le reste du peptide est dissocié.

1

Question n°5 : Donnez la structure développée de ce tripeptide : Y E P



1

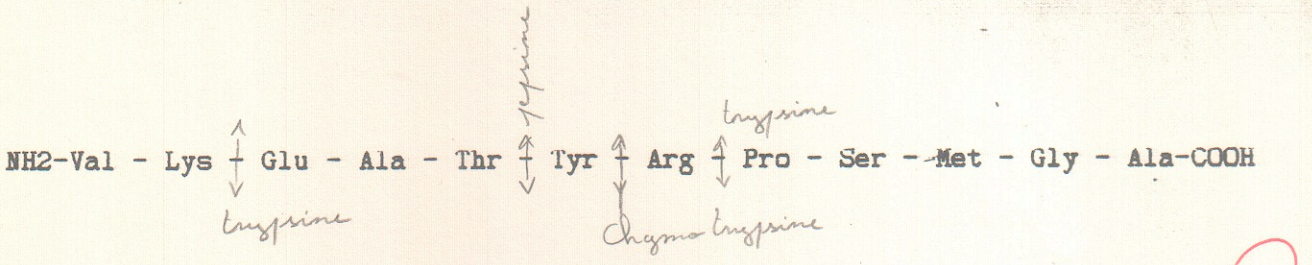
Question n°6 : Soit le glycopeptide suivant :

4

NH2-Val - Lys - Glu - Ala - Thr - Tyr - Arg - Pro - Ser - Met - Gly - Ala-COOH

Entourez d'un cercle les acides aminés indispensables et soulignez d'un trait les acides aminés glucoformateurs.

Question n°7 : Sur le même glycopeptide, indiquez les points d'action (uniquement majeurs) des ENDOPEPTIDASES digestives que vous connaissez:



(1)

Questiojn n°8 : Formule permettant de déterminer le pHi d'un amino-acide. Si le pHi d'un amino-acide est égal à 6,5 et son pKa égal à 4, quel sera son pKb ?

$$pH_i = \frac{1}{2}(pK_A + pK_B)$$

$$pK_B = 2pH_i - pK_A = 13 - 4 = 9$$

(1)

Question n°9 : L'acide glyoxylique en milieu sulfurique est utilisé pour le dosage coloré de certains acides aminés.

a) quels sont ces acides aminés?

le Tryptophane

(1)

b) Quelle est la couleur obtenue?

la couleur est violette

c) comment s'appelle cette réaction?

c'est la réaction d' Adamkiewicz - Hopkins

Question n°10 : Les aminopeptidases sont des enzymes :

(0,75)

a) de quel groupe :

exopeptidases (sur $-NH_2$)

b) Quelle est leur spécifité :

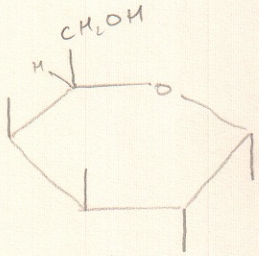
leucine, mais elles hydrolysent pour tous les AA N. Leimkuhler

=

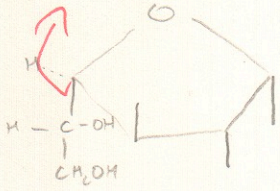
c) Où sont-elles préférentiellement secrétées? dans le duodénum

Question n°11 : Ecrire la formule cyclique (HAWORTH) de l'alpha-D-galactose sous forme pyranique (pyranose) et sous forme furanique (furanose).

forme pyranique



forme furanique



0.5

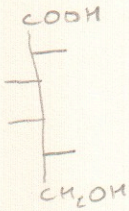
par prudence, mettez peut-être les OH

Question n°12 : Quel produit sera obtenu par oxydation légère par l'iode uniquement de la fonction aldéhydique de l'alpha-D-galactopyranose.

a) son nom : [redacted]

on obtient l'acide D galactonique

b) sa representation selon Fischer?

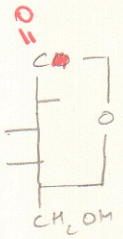


1

c) si vous croyez que c'est possible, une representation sous forme cyclique :

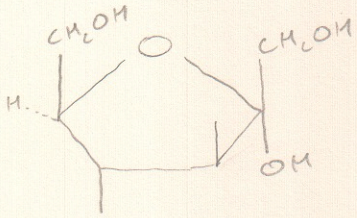
forme cyclisée : D galactolactone

mais c'est un produit de déshydratation : qui n'a plus les mêmes propriétés.



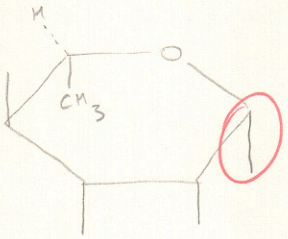
Question n°13 : Représentez selon Haworth, les deux composés suivants. Indiquez pour chacun la particularité qui les distingue d'un aldohexose et leur localisation biologique préférentielle

alpha-D-fructofuranose



on le trouve dans le sucre ordinaire : le saccharose.
(en fait c'est le β-D)

alpha-L-Rhamnose



0,5

comparé que l'on trouve dans les végétaux. la fonction OH primaire n'existe plus.
forme L : peu répandue.

Question n°14 : Indiquer la formule brute, la dénomination scientifique et le nom usuel des acides gras saturés suivants :

C6 : acide hexanoïque = acide caproïque

C14 : acide tétradécanoïque = acide myristique

C20 : acide décosanoïque = acide arachidique

1

Question n°15 : Donnez la formule brute, la formule développée et la dénomination scientifique de l'acide undécylénique :

$CH_2 = CH - (CH_2)_8 - COOH$

$C_{11} H_{20} O_2$

0,5

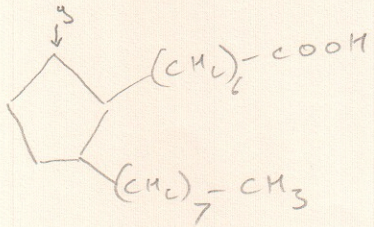
acide 10 undécaénoïque

Indiquez le nombre de carbones des composés suivants :

acide N-acétylmuramique 18 — acide margarique 17

acide cérébronique — acide ~~glycarique~~ saccharique ou glucarique 6 (0.25)

Question 16 : Donner la formule développée de l'acide prostanoique. Quel est son rôle biologique?



précurseur dans la synthèse des hormones (prostaglandines) avec oxydation du carbone 9 en alcool ou cétone.

Donnez la dénomination scientifique et la formule développée de l'acide arachidonique.

$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_3-COOH$

acide 5,8,11,14 eicosatétraénoïque (1)

$C_n H_{2n-8} O_2$ $n=20$

↳ $M = 12.20 + 40-8 + 32$

Question n°17 : Quel est l'indice d'iode de l'acide arachidonique, c'est-à-dire la masse d'iode qui peut théoriquement se fixer sur 100 g d'acide arachidonique? (indiquez le calcul) (masse atomique de l'iode = 127)

indice d'iode : 4 mole de I_2 réagissent pour 1 mole de AG.

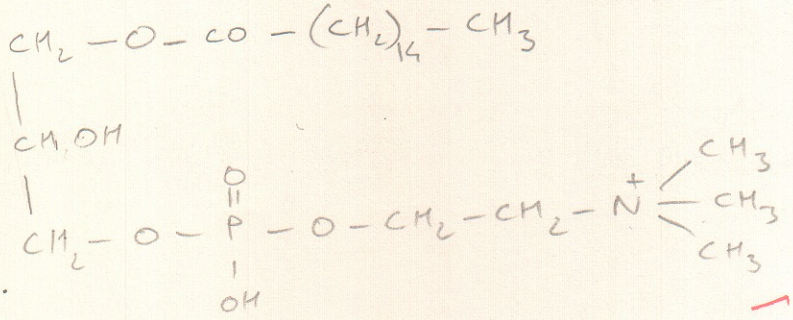
$n_{AG} = \frac{100}{304} = 0,32$ mole

$n_{I_2} = 4\, n_{AG} = 1,315$ mole

$m_{I_2} = 2M_I \cdot 4 \cdot n_{AG} = 334,2$ g (1)

Question n°18 : Donnez la formule développée du composé suivant :

1-palmityl 3-phosphocholine glycérol. Quel sera son nom usuel? Sera-t-il préférentiellement hydrolysé par la phospholipase A1 ou A2.



lysolécithine — 0,75

hydrolysé par phospholipase A2 et A1
formé par coupure sur le 2°C avec lipase A_2

Question n°19 : Quel est le nom de l'acide gras monoinsaturé à chaine linéaire dont la masse molaire est 254

$C_n H_{2n-2} O_2$ $\quad 12n + 2n - 2 + 32 = 254$

$14n = 254 - 30 \quad \Rightarrow n = 16$

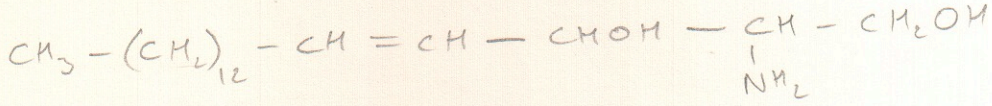
acide ~~oléique~~

- Calculer le nombre de milliéquivalents de soude nécessaires pour transformer en savon 5,08 g de cet acide

$\frac{5,08}{254} = 0,02$ mole d'AG

↳ 0,02 mole de base pourra réagir $\hat{=}$ 20 mEq. — 0,75

Question n° 20 : Donner la formule de la sphingosine.



1

Quels sont les constituants d'un cérébroside? Combien de carbones comportera un galactocérébroside dont l'un des constituants sera l'acide nervonique.

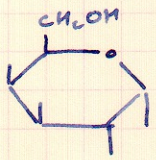
sphingosine (18C) + acide gras (24C) + glucide (en C_6) (6C) $\Rightarrow$ 48C

correction :

- Na : $\frac{3,25}{23} \cdot 1 \cdot 10^4 = 141$ mEq/l.

  72 g/l ⟺ 16 mEq/l. d'anion.

  58,5 g/l ⟺ X X = 13 mEq

- His pas de aromatiq.
- Sanger : absorbe à 360 nm
- ac glycoxylique CHO – COOH
- 

- ester cyclique : lactone.
- fructose des fruits. α

  pour β → saccharose.
- Rhamose des glycosides végétaux.

  fucose chez animaux, Sb gr sanguin, glycoprotéine du lait.
- écosanoïque : arachidique.
- Nacétyl neuraminique 11C

  des parois bactérien

  ≠ ac Nacétyl neuraminiq. des gangliosides et glycoprotéines.

- cérébroniq : — C – COOH 21C.
  OH

- sphing — ose — ose — ose ⇒ ganglioside.
  AG Ac neuraminiq