

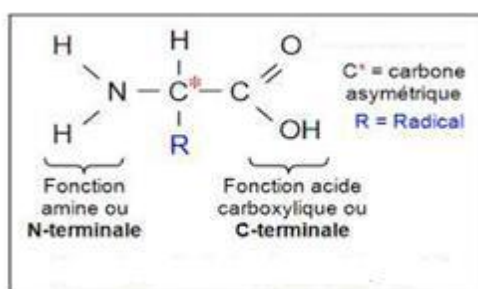
Les Peptides

Les peptides sont des composés naturels ou de synthèse qui résultent de l'enchaînement par une liaison peptidique d'un nombre limité d'acides aminés (2 à 50).

1. les acides aminés

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

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



Une exception: la proline est un acide α aminé sa fonction amine secondaire est incluse dans un cycle.

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

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

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

1.1. Structures des acides aminés

Glycine (Gly, G)	Alanine (Ala, A)	Valine (Val, V)	Leucine (Leu, L)	Isoleucine (Ile, I)
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Sérine (Ser, S)	Thréonine (Thr, T)	Cystéine (Cys, C)	Méthionine (Met, M)	Phénylalanine (Phe, F)
Tyrosine (Tyr, Y)	Tryptophane (Trp, W)	Proline (Pro ; P)	Acide aspartique (Asp, D)	Acide glutamique (Glu, E)
Asparagine (Asn, N)	Glutamine (Gln, Q)	Lysine (Lys, K)	Arginine (Arg, R)	Histidine (His, H)

2. La nomenclature des peptides

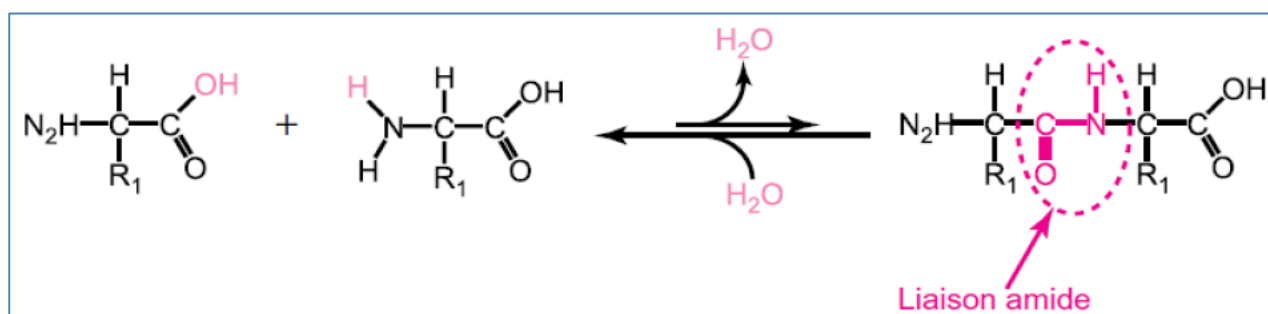
Il existe une nomenclature internationale des peptides, certains d'entre eux possédant cependant un nom propre. Le nom du peptide commence par la **racine du nom** de l'acide aminé dont le groupement **NH₂ libre** est additionné du suffixe **yl**. Suivent ensuite dans l'ordre la racine du nom additionnée de **yl** des autres acides aminés qualifiés de **résidus**. Le dernier résidu dont la fonction

COOH est libre garde son nom. Exemple : Valyl - glycy - tyrosine. L'écriture d'un peptide se fait généralement dans le sens -CO-NH-.

La nomenclature des peptides est possible à partir de leur code 3 lettres, le groupement NH₂ terminal étant symbolisé par H et le groupement COOH par OH. Exemple: H-VAL-GLY-TYR-OH.

3. La liaison peptidique

Les peptides et les protéines sont le résultat de l'enchaînement d'acides aminés reliés entre eux par une liaison covalente qui est en fait une **liaison amide** formée par déshydratation entre le groupement amine d'un acide aminé et le groupement carboxyle d'un autre acide aminé. Cette liaison est également appelée **liaison peptidique**, d'où le nom de **polypeptides** également donné aux protéines.



On distingue, en générale:

- les oligopeptides: dipeptides (formés par l'union de 2 aminoacides), tripeptides (3 aminoacides).
- les polypeptides: à partir des tétrapeptides.
- les protéines sont des polypeptides, mais nous verrons un peu plus loin qu'en plus des liaisons peptidiques unissant les aminoacides, d'autres types d'interactions interviennent pour conférer à la protéine une structure tridimensionnelle.

4. Synthèse peptidique en PHASE SOLIDE

La synthèse des peptides est beaucoup plus compliqué que de former des liaisons amide simplement en mélangeant le acides aminés souhaitée ensemble dans un tube à essai. Avec vingt acides aminés naturels et un certain nombre d'entre eux non naturels sont mis en jeu, les combinaisons possibles sont nombreuses. Cette complexité rend la synthèse de peptides à la fois fascinante et stimulante.

Si deux solutions contenant des acides aminés sont mélangées ensemble, quatre dipeptides différents (ainsi que d'autres peptides plus longs) sera formé . (par exemple, pour un mélange de glycine et d'alanine quatre dipeptides seraient **glygly**, **glyala**, **alagly**, **alaala**. Dans cette représentation, le groupe amino libre ou groupe N-terminal se trouve sur la gauche de l'acide

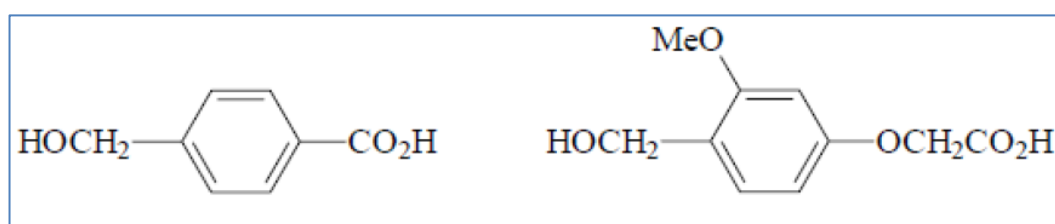
aminé et le groupe acide carboxylique libre ou C-terminal est à l'extrémité de droite.). Afin de s'assurer que seul le dipeptide désiré est formé le groupe de base d'un acide aminé et le groupe acide de l'autre doit à la fois être incapable à réagir. Cette « désactivation » est appelé protection de groupes réactifs, et un groupe qui est incapable de réagir est appelé groupe protégé.

Dans la synthèse organique classique, les acides sont protégés, puis mis à réagir et déprotégé , puis une extrémité du dipeptide est protégé et mis à réagir avec un nouvel acide protégé et ainsi de suite .

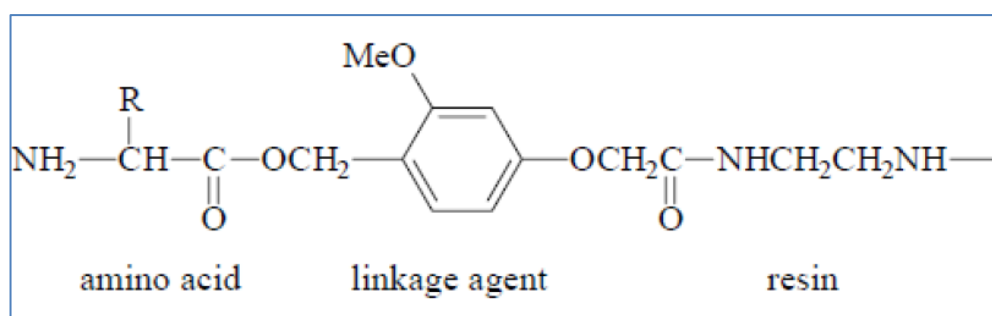
Dans SPSS l'acide aminé qui sera à une extrémité du peptide est attaché à un polymère insoluble dans l'eau et restera protégé tout au long de la synthèse du peptide, ce qui signifie à la fois que moins d'étapes de protection / déprotection sont nécessaires et que les réactifs peuvent facilement être rincés sans perdre du peptide.

- **Étape 1 - fixation d'un acide aminé au polymère**

Les chaînes peptidiques ont deux extrémités, connus respectivement comme le N-terminal et C-terminal (L'extrémité N-terminale est l'extrémité qui a un NH₂ libre et le groupe C-terminale est l'extrémité qui a un groupe carboxyle libre) et pour savoir laquelle des extrémités est fixée au polymère cela dépend du polymère utilisé. Cet article suppose que les billes de polyamide sont utilisées et par conséquent que le C-terminal du peptide est attaché au polymère. La fixation est réalisée en faisant réagir l'acide aminé avec un agent de liaison et puis en faisant réagir l'autre extrémité de l'agent de liaison avec le polymère. Cela signifie qu'une liaison polyamide peut être formée et elle ne sera pas hydrolysée pendant les réactions ultérieures de formation du peptide. Des agents de liaison communs sont des benzènes di- et tri -substitués tels que ceux indiqué ci-dessous :

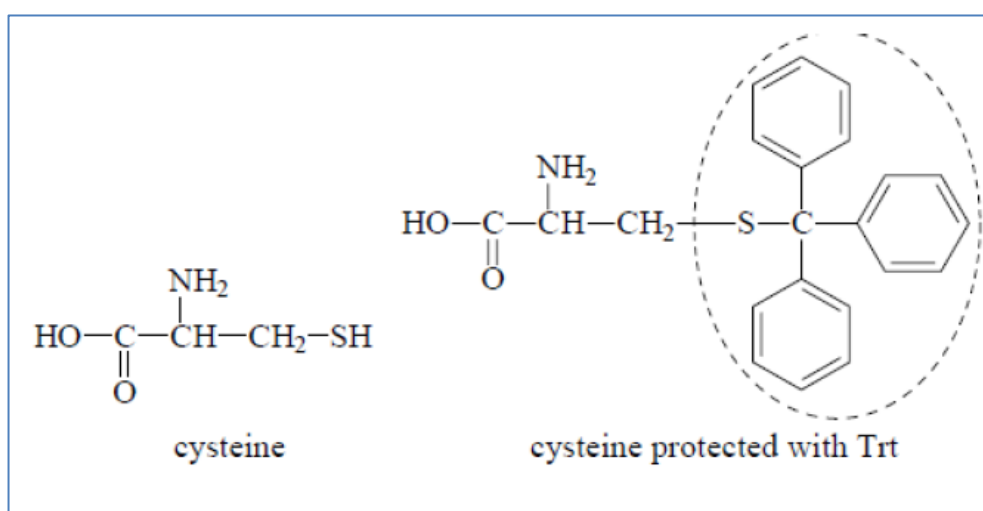
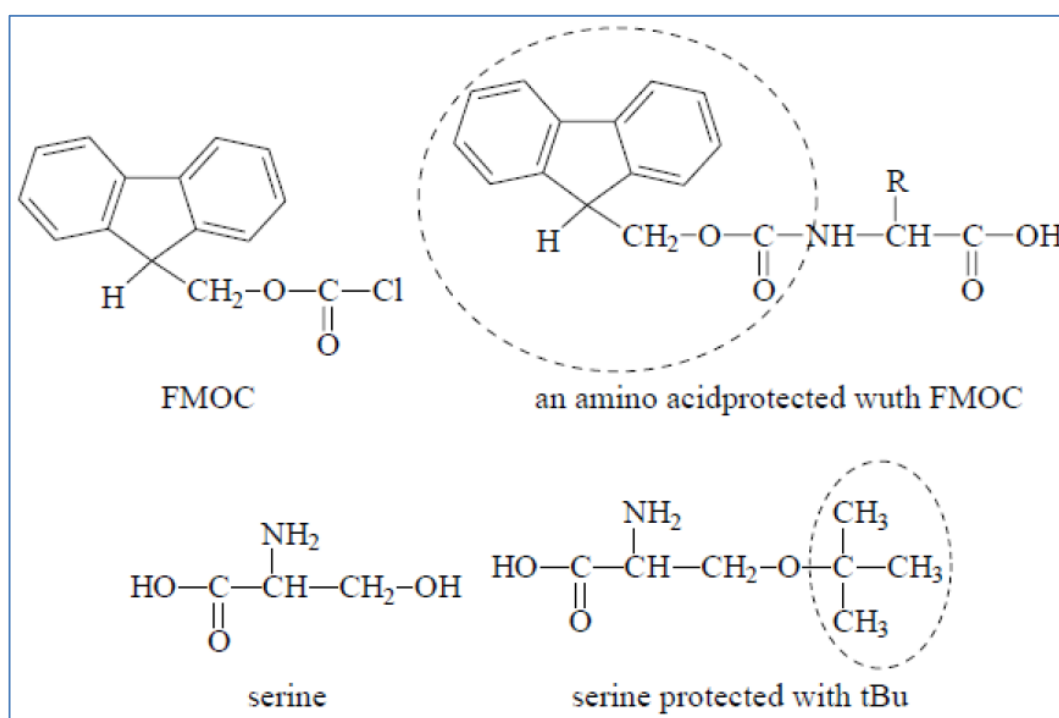


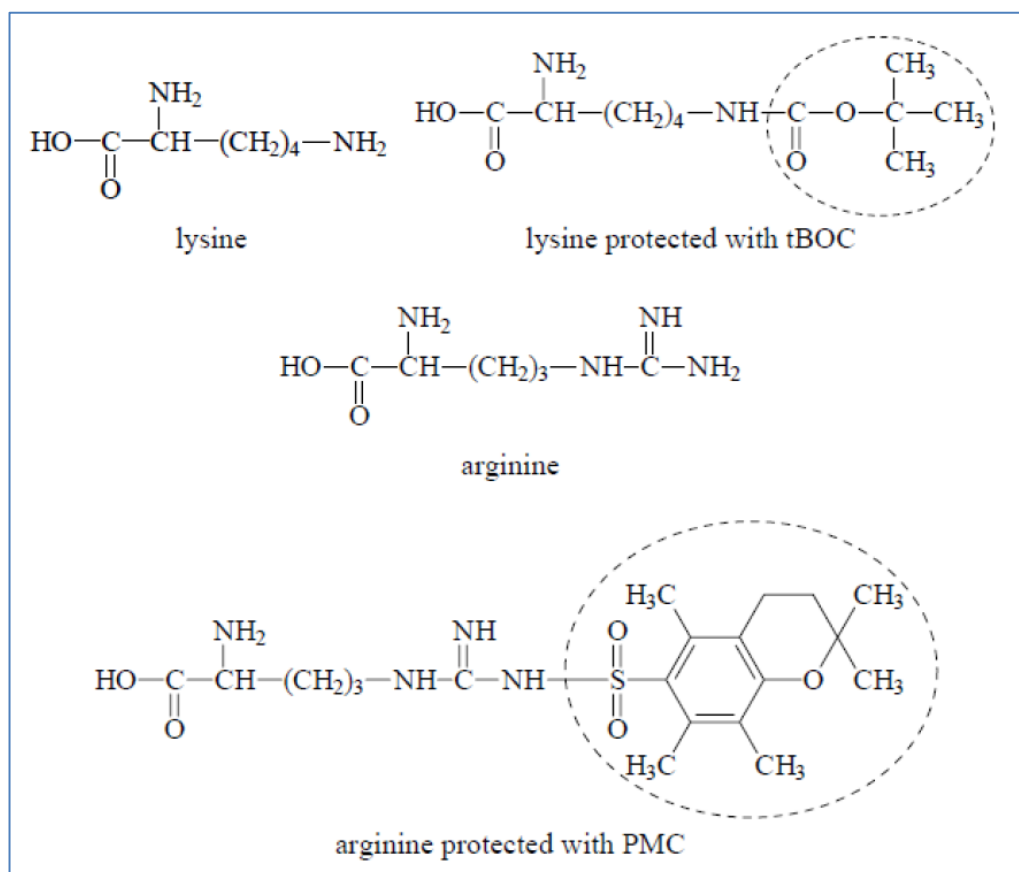
Ces agents lient alors l'acide aminé C -terminale et la résine de la façon suivante :



• Étape 2 – Protection

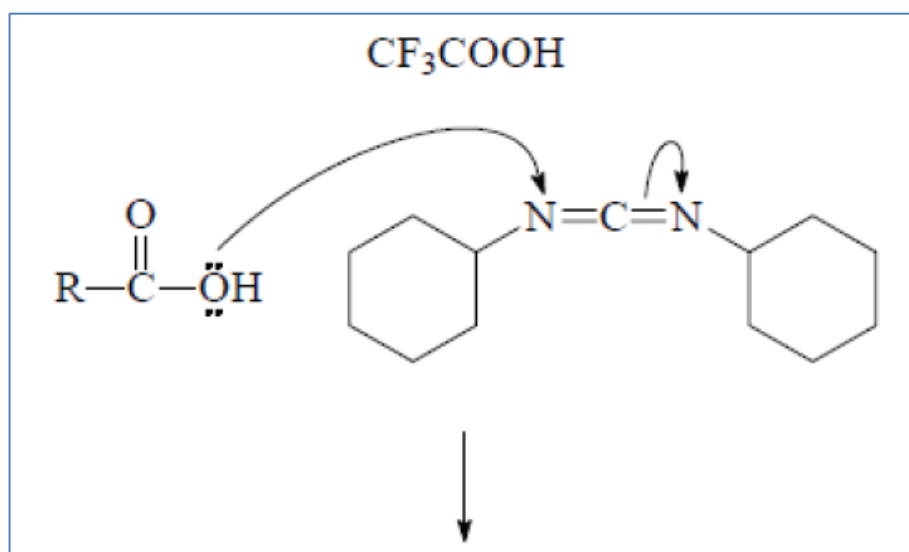
L'acide aminé suivant doit aussi avoir son groupe amino protégé pour éviter les acides ne réagissent les uns avec les autres. Ceci est réalisé en la protégeant avec FMOC (9 - fluorenylmethoxy- carbonyl). En outre, tout groupe latéral des acides aminés qui sont aromatiques, acides, basiques ou fortement polaires sont susceptibles d'être réactif (voir Tableau des AA). Ceux-ci doivent également être protégés pour éviter aux chaînes ramifiées indésirables de se former. Il existe quatre principaux groupes utilisés de cette manière : tBu (un groupe tertibutyle), Trt (groupe triphenylmethyl), tBOC (groupe tertibutyloxycarbonyle) et PMC (groupe 2,2,5,7,8 - pentaméthylchroman -6- sulfonyle). Des exemples de groupe carboxyle protégé par FMOC et des exemples des différents types de protection de la chaîne latérale sont donné ci-dessous.

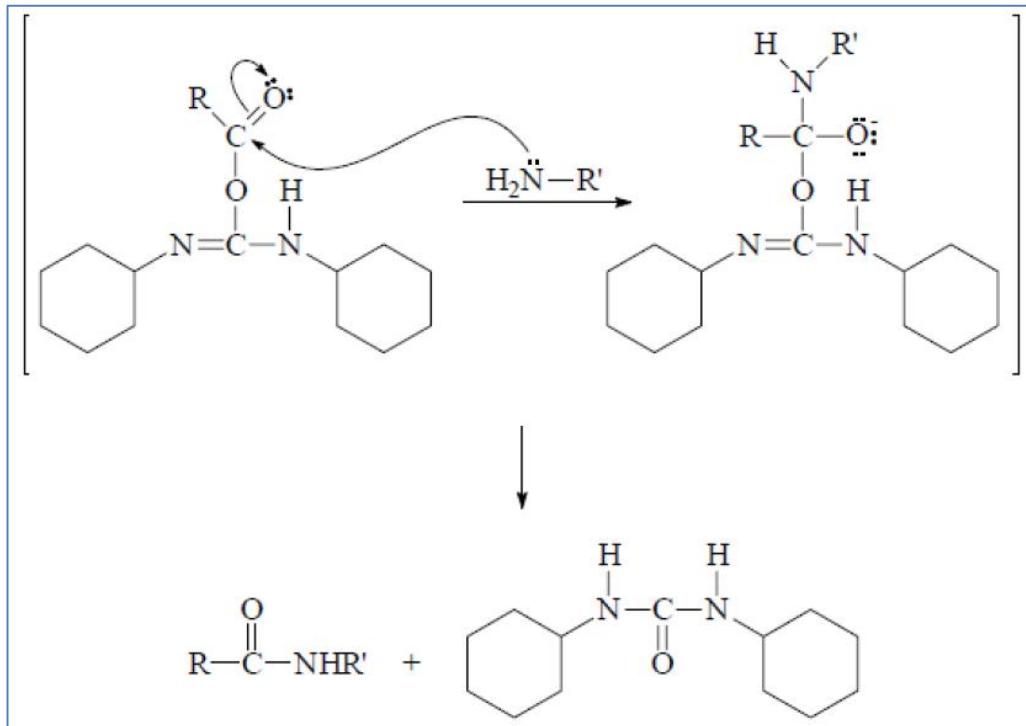




• Étape 3 – Couplage

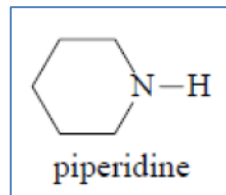
L'acide aminé protégé par le groupe FMOC est ensuite mis à réagir avec le dernier acide aminé attaché au polyamide. La réaction est catalysée par le DCC (1,3 dicyclohexylcarbodiimide), qui est lui-même réduit en 1,3- dicyclohexylurée (produit final solide après élimination). On forme de manière intermédiaire l'O-acylurée, plus réactive que l'acide carboxylique. (RCOOH représente l'acide protégé par FMOC et H₂NR représente l'extrémité réactive de la chaîne peptidique).





- **Étape 4 - Déprotection**

L'excès de DCC est éliminé par lavage le polymère insoluble dans l'eau, puis le groupe Fmoc éliminé avec de la piperidine (une amine secondaire cyclique). Il s'agit d'une réaction d'amidification.



Les étapes 2 à 4 sont répétées à mesure que chaque acide aminé est ajouté sur la chaîne jusqu'à ce que le désiré peptide a été formé.

- **Étape 5 - retrait du polymère**

Une fois que le peptide est complet, il doit être retiré du polyamide. Pour ce faire, le clivage du polyamide est réalisé avec une solution d'acide trifluoroacétique (TFA) à 95 %.

Les groupes protecteurs des chaînes latérales sont également retirés à ce stade.

5. AVANTAGES du SPPS

Le principal avantage de SPPS est son rendement élevé. Comme les peptides sont constitués de nombreux acides aminés, si le rendement de chaque addition d'acides aminés est bien inférieur à 100 %, les rendements globaux des synthèses peptidiques sont négligeables. Par exemple, si chaque addition d'acides aminés a un rendement de 90 %, le rendement global d'un peptide de 50

acides aminés n'est que de 0,5%. Les techniques les plus modernes de SPPS pousse les rendements à plus de 99,99 %, donnant un rendement global de plus de 99 %, pour un peptide comportant 50 acides-aminés.

La SPPS est également beaucoup plus rapide que la synthèse classique, étape par étape en solution. Avec SPPS, un 20 peptide d'acides aminés peuvent être synthétisés en une période de 24 heures et des chaînes plus longues en moins d'une semaine. Avec l'avènement des synthétiseurs automatisés et sophistiqué d'analyse et du matériel de purification, le chimiste peut maintenant faire des peptides d'une longueur de 20 à 50 acides aminés et en quantités non négligeable de 20 à 100 milligrammes. C'est souvent plus qu'assez pour les biochimistes et les biologistes pour mener de vastes études pilotes. Si de très grandes quantités de peptide sont nécessaires (par exemple pour la production industrielle de médicaments peptidiques), cette vitesse est sacrifiée à la pureté. Toutefois, les taux de production sont encore élevés, et des centaines de grammes de peptide peuvent être produit sur un kg de polymère par an. Comme souvent seulement milligrammes de polymère sont nécessaires à chaque fois, ce qui représente des centaines de milliers de doses.

REFERENCE

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

Elisabeth HEBERT. Biochimie. Edition Atlani 1994, 320p.

Jacques-Henry WEIL. Biochimie générale. Edition Dunod (Paris) 2005, 726p.

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

Olivier MASSON. Biochimie, bases biochimiques de la diététique. Edition Lavoisier (Paris). 2007. 330p.