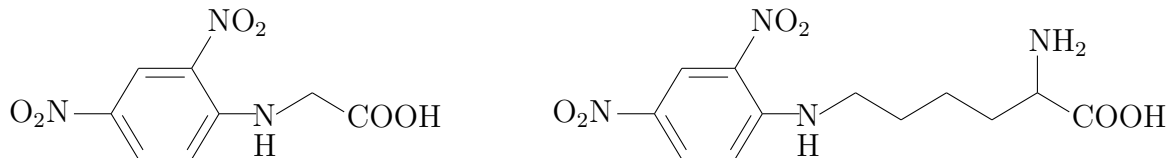


TD 1 : Protéines

Exercice 1 : Pentapeptide

L'hydrolyse acide totale d'un pentapeptide **A** a montré qu'il est composé de : glycine, aspartate, alanine, lysine, phénylalanine.

- Après traitement de **A** par le dinitrofluorobenzène (réactif de Sanger), puis hydrolyse acide, on isole les composés suivants :



- Après traitement de **A** par la *chymotrypsine*, on obtient un dipeptide et un tripeptide, dont les points isoélectriques sont proches de la neutralité.

- Après traitement de **A** par la *trypsin*, on isole un térapeptide dont le point isoélectrique est proche de la neutralité.

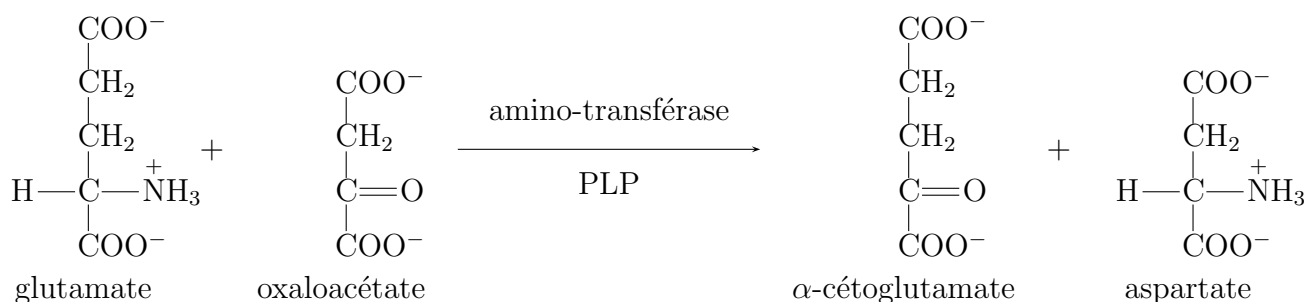
Quelle est la séquence du pentapeptide ?

Rappels :

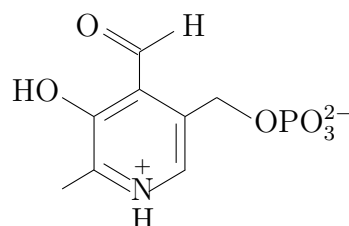
La *chymotrypsine* et la *trypsin* hydrolysent les liaisons peptidiques respectivement au niveau du carboxyle des aminoacides aromatiques et des aminoacides basiques.

Exercice 2 : Biosynthèse de l'aspartate

La biosynthèse de l'aspartate est réalisée au départ de glutamate et d'oxaloacétate. Cette réaction, qui consiste en une transamination, est catalysée par une amino-transférase associée à un cofacteur, le phosphate de pyridoxal (PLP). Proposez un mécanisme pour la biosynthèse de l'aspartate.



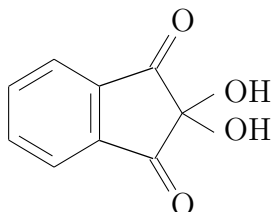
Phosphate de pyridoxal (PLP) :



Exercice 3 : Réaction avec la ninhydrine

Les acides aminés réagissent avec la ninhydrine pour donner un composé de couleur bleu-violet, appelé « pourpre de Ruhemann ». Ce composé absorbe la lumière à 570 nm, ce qui permet de détecter ou de doser les acides aminés. Proposez un mécanisme de réaction.

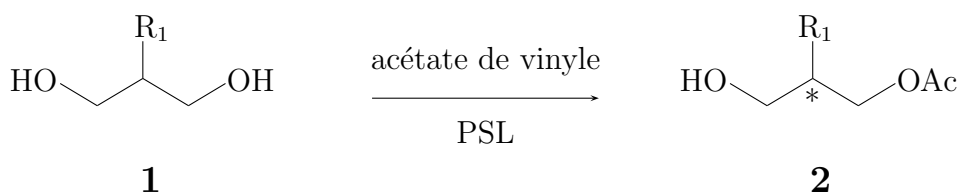
Ninhydrine :



Exercice 4 : Lipases

A. Les lipases sont des enzymes dont le rôle biologique est d'hydrolyser les chaînes d'acides gras des lipides. Leur intérêt en chimie organique vient du fait qu'elles sont capables de réaliser des hydrolyses régio-, stéréo- et énantiosélectives de substrats variés. Ces enzymes supportent bien les solvants organiques dans lesquels elles permettent de catalyser des réactions de transestérification.

La lipase de *Pseudomonas sp.* (PSL) permet d'effectuer l'acylation énantiosélective de propane-1,3-diols prochiraux **1** en utilisant l'acétate de vinyle comme donneur d'acyle.



Le tableau ci-dessous résume quelques résultats expérimentaux :

| R ₁ | config. majoritaire | ee (%) |
|----------------|---------------------|--------|
| Me | <i>S</i> | >98 |
| OBn | <i>S</i> | 90 |

1. Quelle est la relation de topicité entre les deux groupements hydroxyyles des différents propane-1,3-diols ? Quelle est la sélectivité de l'enzyme pour R₁ = Me ou OBn ?

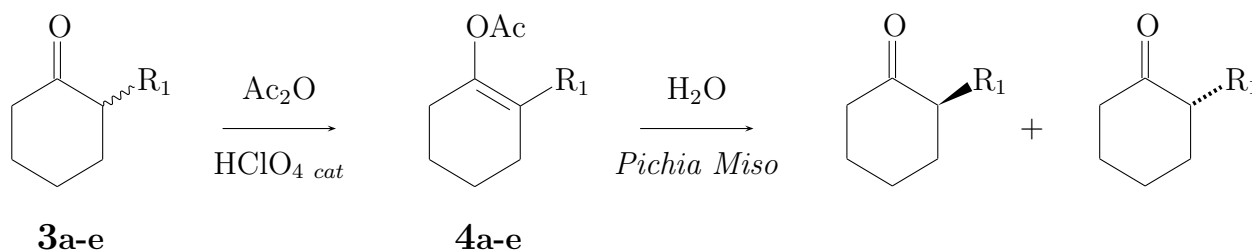
2. En écrivant les différents équilibres qui peuvent être catalysés par la PSL, expliquer pourquoi :

- la réaction de transestérification est favorisée par l'utilisation de l'acétate de vinyle comme donneur d'acyle ?

- l'utilisation d'un solvant organique présente un avantage par rapport à une réaction en solution aqueuse ?

3. Les lipases, comme certaines protéases, possèdent souvent un résidu sérine ou cystéine dans leur site actif. En prenant comme exemple le cas d'une lipase à sérine, proposer un mécanisme pour la réaction de transestérification (on ne tiendra pas compte de la stéréochimie de la réaction).

B. Les cétones α -substituées optiquement actives sont des synthons très utilisés dans la synthèse de produits naturels. Il est possible de les préparer par hydrolyse d'ester d'énol catalysée par une lipase contenue dans des cellules de *Pichia miao*.



1. Après purification des produits de la réaction, la pureté énantiomérique du mélange de cétones obtenu est déterminée par mesure de son pouvoir rotatoire. Au cours d'études préliminaires menées sur l'ester d'énol **4a** ($R_1 = \text{Me}$), un pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D = +2,3^\circ$ (MeOH) a été mesuré pour la 2-méthylcyclohexanone. Sachant que l'énantiomère *S* de cette cétone a un pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D = +12,2^\circ$ (MeOH), déterminer :

- l'énantiomère majoritaire
- l'excès énantiomérique obtenu

Après optimisation, les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus :

| substrat | R_1 | rendement (%) | ee (%) | config. majoritaire |
|-----------|-------------------------------------|---------------|--------|---------------------|
| 4a | Me | 78 | 90 | <i>S</i> |
| 4b | Pr | 80 | 82 | <i>S</i> |
| 4c | nC7H15 | 77 | 87 | <i>S</i> |
| 4d | CH ₂ -CH=CH ₂ | 49 | 70 | <i>R</i> |
| 4e | CH ₂ Ph | 71 | 84 | <i>R</i> |

2. Afin d'expliquer l'énantiosélectivité de cette réaction, on peut proposer un modèle de site actif de type protéase à sérine et contenant un groupement acide.

- un mécanisme passant par une forme énol rapidement libérée du site actif est-il compatible avec les résultats expérimentaux ?
- quelle face de l'ester d'énol doit être sélectivement protonée pour rendre compte de l'énantiosélectivité observée ?
- proposer un mécanisme concerté qui permette d'expliquer les résultats obtenus.