

CPL-SM, ▶ LA FORMULE MAGIQUE QUI REVOLUTIONNE L'ANALYSE DES ACIDES AMINES



Spectromètre de masse (SM).

Les chimistes analytiques de l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA) (UMR 6005 CNRS / Université d'Orléans) d'Orléans développent actuellement une nouvelle méthode d'analyse permettant le dosage d'acides aminés présents à l'état de traces dans des mélanges complexes d'origine diverse. En limitant le nombre d'étapes de préparation des échantillons à analyser, cette technique est non seulement rapide, mais aussi fiable, spécifique et sensible.

Quelle que soit leur origine, les acides aminés sont parmi les premières molécules organiques indispensables à la vie, à être apparu sur terre. Ils forment sans aucun doute l'une des plus importantes classes de molécules d'intérêt biologique. Très tôt dans l'évolution, une vingtaine d'entre eux ont été " sélectionnés " pour entrer dans la composition des protéines. A côté de ces acides aminés dit constitutifs, on trouve de nombreux autres amino-acides, soit à l'état libre où ils jouent alors un rôle métabolique important soit, dans des peptides de petite taille (enchaînement de moins de 20 acides aminés) synthétisés par des micro-organismes ou des plantes. L'importance de ces biomolécules est telle que leur analyse est un sujet d'étude permanent et que tout nouvel avancement dans le domaine des techniques séparatives est très rapidement appliqué à leur analyse. Par ailleurs, la classe des acides aminés a toujours cons-

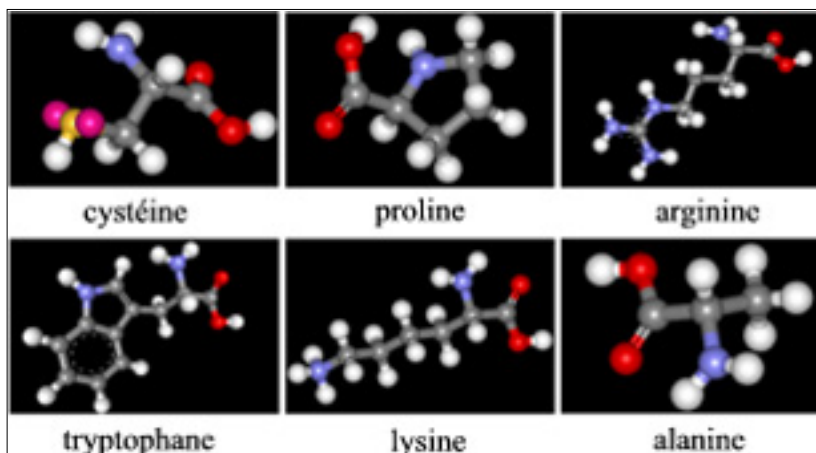
titué un challenge analytique en termes de préparation d'échantillon, de séparation et de détection. Ce sont en effet des molécules présentant une très grande diversité de structures chimiques au niveau de leur chaîne latérale et pour la plupart ne renfermant pas de groupement chromophore permettant leur détection directe par absorption ultra-violet (UV).

Malgré une amélioration constante des outils de séparation, les méthodes classiques de chromatographie actuellement proposées pour l'analyse de mélanges complexes ont en commun l'inconvénient de nécessiter la modification chimique préalable des acides aminés pour les rendre volatiles ou détectable. Cette étape incontournable augmente le nombre de manipulations nécessaires à la préparation de l'échantillon conduisant souvent à des temps d'analyse très longs. C'est incontestablement le développement ces

dernières années du détecteur évaporatif à diffusion de la lumière (DEDL) mis au point à l'ICOA, ainsi que celui de la spectrométrie de masse (SM) qui a relancé l'intérêt pour l'analyse des acides aminés natifs. La spectrométrie de masse est un mode de détection universel et sensible qui permet l'identification d'un composé après son ionisation. Cependant la spectrométrie de masse n'étant pas une méthode séparative, cette technique seule ne permettra pas l'analyse de mélanges complexes d'acides aminés. Une séparation préalable par chromatographie liquide (CPL) de ces solutés reste nécessaire avant leur détection.

A ce stade, le détecteur évaporatif à diffusion de la lumière (DEDL) constitue pour l'analyste un outil de choix qui facilite à moindre coût, l'étape cruciale et délicate de développement de méthodes séparatives compatibles avec les exigences de la détection par spectrométrie de masse. Le couplage CPL-SM permet une simplification extrême de la méthode séparative. Nous pouvons maintenant réaliser une analyse de 80 acides aminés différents, simultanément, en moins de vingt minutes (ce qui est sans égal aujourd'hui) et une analyse chirale de seize paires d'acides aminés différents et non dérivés, en une seule injection et en moins de vingt-cinq minutes.

Les méthodologies proposées ont été appliquées avec succès à l'analyse directe d'acides aminés présents dans des matrices



Acides aminés : Quelques exemples de structures d'acides aminés.

complexes d'origine très diverse :

- dosage direct d'acides aminés dans les fluides biologiques (urine, plasma) de patients atteints de maladies héréditaires caractérisées par des erreurs métaboliques du métabolisme des acides aminés ;
- mise en évidence dans la noix du Brésil de la présence d'acides aminés sélénés en faible teneur potentiellement bénéfiques comme agent antiradicalaire ou anticancéreux. Valorisation potentielle comme aliment (aliment + médicament) ;
- dosage des acides aminés présents dans le vin pour un suivi de la maturation et une caractérisation du terroir d'origine ;
- dosage chez des invertébrés marins vivant à proximité de dorsales océaniques, d'acides aminés soufrés indispensables à la vie dans ces milieux extrême excluant toute possibilité de photosynthèse ;
- analyse chirale d'acides aminés présents à l'état de traces dans une météoro-

rite dans le cadre d'étude sur l'origine de la vie (exobiologie).

La détection par SM tandem des aminoacides non dérivés souffre uniquement d'un manque de sensibilité comparée à d'autres modes de détection (fluorescence laser) utilisée pour les acides aminés dérivés. Cependant les avancées technologiques en spectrométrie de masse sont telles qu'il est déjà possible à ce jour d'améliorer d'un facteur 10 à 100 les sensibilités de détection atteintes. En conclusion, nous pensons que la dérivation des acides aminés fait partie maintenant du passé puisque désormais 95% des besoins analytiques pourront être satisfaits par la méthodologie que nous proposons. ■

Contact : M. Lafosse (responsable de l'équipe chimie analytique), C. Elfakir (responsable projet)



ICOA

La vocation première de l'Institut de Chimie Organique et Analytique réside dans la conception, la synthèse, l'analyse et l'isolement de molécules bioactives. Une grande partie des chercheurs de l'ICOA travaillent à l'élaboration de nouvelles stratégies et méthodes dirigées vers la découverte de médicaments. Les cibles pharmacologiques sont diverses : traitement de différentes affections cardio-vasculaires (hypertension, athérosclérose, thrombose), de

maladies du système nerveux central (anxiété, dépression), et mise au point d'antitumoraux de structures chimiques variées. L'ICOA développe également des antiviraux nucléosiques et des glycomimétiques (mimes de sucre) à fort potentiel thérapeutique. ■

Détecteur évaporatif à diffusion de la lumière (DEDL).