

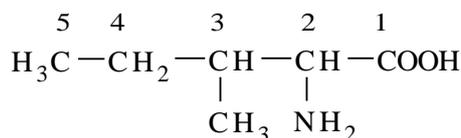
## ЛЕКЦИЯ № 26

## АМИНОКИСЛОТЫ

Аминокислотами называют бифункциональные производные углеводов, которые содержат карбоксильную группу  $-\text{COOH}$  и аминогруппу  $-\text{NH}_2$ .

## Номенклатура

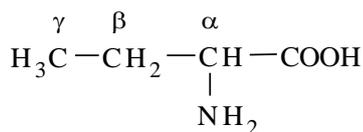
По систематической номенклатуре аминокислоты называют, по соответствующей карбоновой кислоте добавляя приставку *амино-*. Положение аминогруппы в углеродной цепи указывают цифрой:



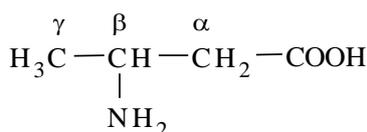
2-амино-3-метилпентановая  
кислота

Подробнее номенклатурные правила для названий аминокислот изложены в пособии Левина И.Ю., Берлянд А.С. «Номенклатура, классификация и электронное строение химических связей в органических соединениях», раздел 4.3.

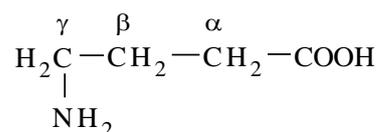
В зависимости от положения аминогруппы по отношению к карбоксильной группе различают  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и так далее аминокислоты:



$\alpha$ -аминомасляная  
кислота

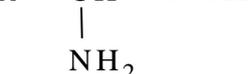


$\beta$ -аминомасляная  
кислота



$\gamma$ -аминомасляная  
кислота

Все природные аминокислоты содержат аминогруппу только в  $\alpha$ -положении и имеют общую формулу:



Помимо систематической, для природных аминокислот широко распространена тривиальная номенклатура (аланин, валин, лизин и т.д.). Иногда запись аминокислот осуществляют, используя трёх-буквенные сокращения (Ala, Val, Lys и др.).

## Классификация аминокислот

В настоящее время единой классификации аминокислот не существует.

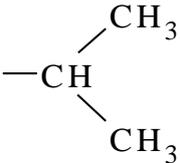
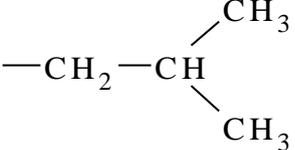
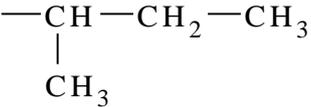
Аминокислоты делят на природные (содержатся в растительных и животных организмах) и синтетические – получены искусственным путем.

Организм синтезирует аминокислоты главным образом из пищевых белков. Но есть целая группа аминокислот, которых организм сам синтезировать не может. Эти аминокислоты называют **незаменимыми**. К ним относятся (**валин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, метионин, фенилаланин и триптофан**) Такие аминокислоты должны поступать в организм извне.

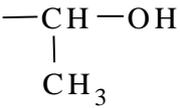
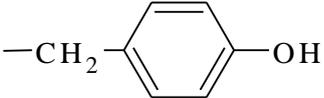
В настоящее время известно свыше 150 аминокислот, но только 20 из них входят в состав белков.

По природе радикала аминокислоты делят на:

### 1. Моноаминомонокарбоновые.

Строение радикала кислоты -R	Название		Условное обозначение
	Тривиальное	Систематическое	
-H	Глицин	аминоэтановая	Гли Gly
-CH <sub>3</sub>	Аланин	2-аминопропановая	Ала Ala
	Валин	2-амино-3-метил- бутановая	Вал Val
	Лейцин	2-амино-4-метил- пентановая	Лей Leu
	Изолейцин	2-амино-3-метил- пентановая	Иле Ile

### 2. Гидроксилсодержащие:

Строение радикала кислоты -R	Название		Условное обозначение
	Тривиальное	Систематическое	
-CH <sub>2</sub> -OH	Серин	2-амино-3-гидрокси- пропановая	Сер Ser
	Треонин	2-амино-3-гидрокси- бутановая	Тре Thr
	Тирозин	2-амино-3-(4-гидро- ксифенил)пропановая	Тир Tyr

### 3. Серусодержащие:

Строение радикала кислоты -R	Название		Условное обозначение
	Тривиальное	Систематическое	
$-\text{CH}_2-\text{SH}$	Цистеин	2-амино-3-мер- каптопропановая	Цис Cys
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$	Метионин	2-амино-4-метил- тиобутановая	Мет Met

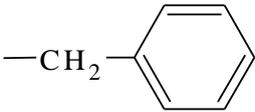
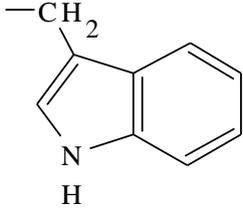
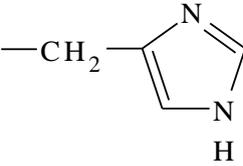
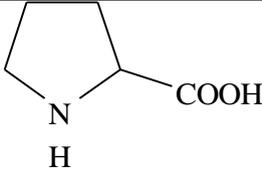
### 4. Аминокислоты, содержащие в радикале дополнительную аминогруппу или гуанидильный остаток.

Строение радикала кислоты -R	Название		Условное обозначение
	Тривиальное	Систематическое	
$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	Лизин	2,6-диамино- гексановая	Лиз Lys
$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\underset{\text{NH}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{NH}_2$	Аргинин (содержит гуанидиновую группу)	2-амино-5- гуанидил- пентановая	Арг Arg

### 5. Аминокислоты, которые содержат в радикале дополнительную карбоксильную или амидную группы:

Строение радикала кислоты -R	Название		Условное обозначение
	Тривиальное	Систематическое	
$-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Аспарагиновая	2-аминобутан- диовая	Асп Asp
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Глутаминовая	2-аминопентан- диовая	Глу Glu
$-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{NH}_2$	Аспарагин	2-амино-3- карбоксамидо- пропановая	Асн Asn
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{NH}_2$	Глутамин	2-амино-4- карбоксамидо- бутановая	Глн Gln

### 6. Ароматические и гетероциклические аминокислоты:

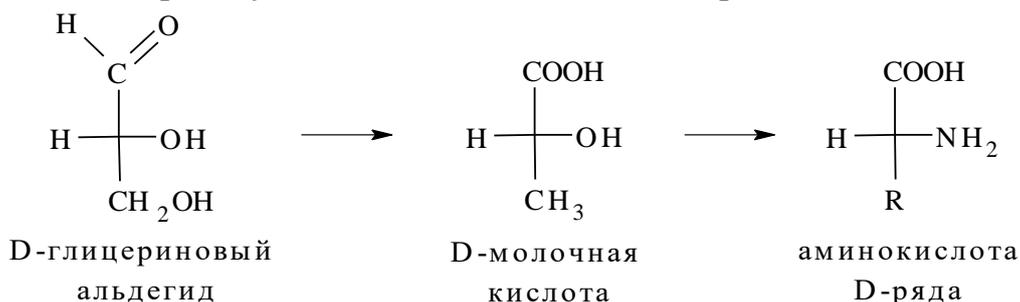
Строение радикала кислоты -R	Название		Условное обозначение
	Тривиальное	Систематическое	
	Фенилаланин	2-амино-3-фенил-пропановая	Фен Phe
	Триптофан	2-амино-3-индол-илпропановая	Три Trp
	Гистидин (иминокислота)	2-амино-3-имида-золилпропановая	Гис His
	Пролин (полная форма)	2-пирролидин-карбоновая	Про Pro

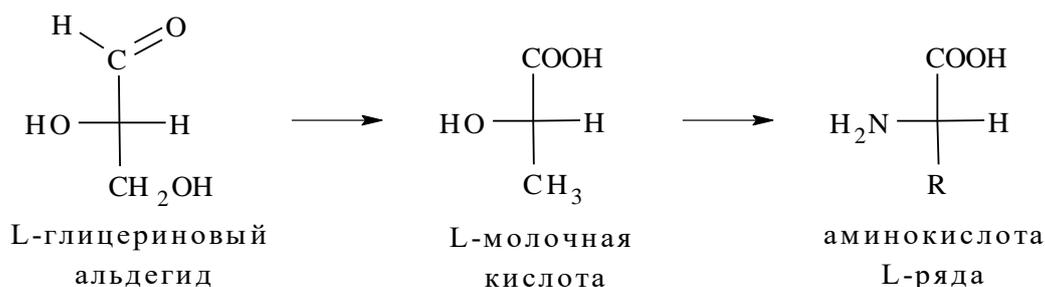
Современная рациональная классификация основана на полярности радикалов. Полярность радикала во многом определяет такое важное свойство аминокислот как растворимость в воде и в других полярных растворителях. Полярные группы радикала ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$  и др.) притягивают воду и тем самым повышают растворимость аминокислот в воде, неполярные радикалы, наоборот, отталкивают воду и снижают растворимость аминокислот в воде.

### Стереизомерия аминокислот

Все природные  $\alpha$ -аминокислоты, кроме глицина ( $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ ), имеют асимметрический атом углерода ( $\alpha$ -углеродный атом), а некоторые из них даже два хиральных центра, например, треонин. Таким образом, все аминокислоты могут существовать в виде пары несовместимых зеркальных антиподов (энантиомеров).

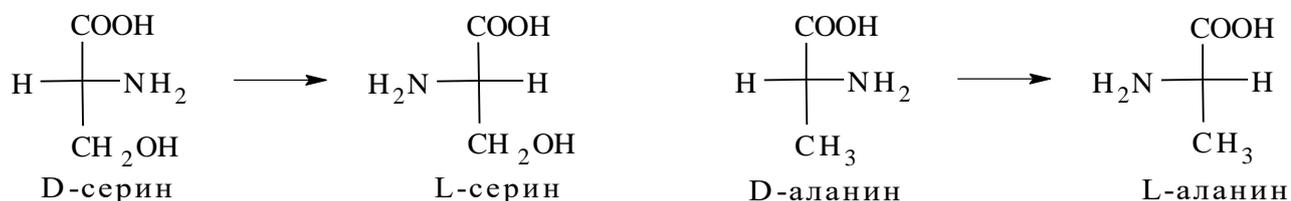
За исходное соединение, с которым принято сравнивать строение  $\alpha$ -аминокислот, условно принимают D- и L-молочные кислоты, конфигурации которых, в свою очередь, установлены по D- и L-глицериновым альдегидам.





Все превращения, которые осуществляются в этих рядах при переходе от глицеринового альдегида к  $\alpha$ -аминокислоте, выполняются в соответствии с главным требованием – они не создают новых и не разрывают старых связей у асимметрического центра.

Для определения конфигурации  $\alpha$ -аминокислоты в качестве эталона часто используют серин (иногда аланин). Конфигурации их так же выведены из D- и L-глицериновых альдегидов:



Природные аминокислоты, входящие в состав белков, относятся к L-ряду. D-формы аминокислот встречаются сравнительно редко, они синтезируются только микроорганизмами и называются «неприродными» аминокислотами. Животными организмами D-аминокислоты не усваиваются. Интересно отметить действие D- и L-аминокислот на вкусовые рецепторы: большинство аминокислот L-ряда имеют сладкий вкус, а аминокислоты D-ряда – горькие или безвкусные.

Без участия ферментов самопроизвольный переход L-изомеров в D-изомеры с образованием эквимолярной смеси (рацемическая смесь) осуществляется в течение достаточно длительного промежутка времени.

Рацемизация каждой L-кислоты при данной температуре идет с определенной скоростью. Это обстоятельство можно использовать для установления возраста людей и животных. Так, например, в твердой эмали зубов имеется белок дентин, в котором L-аспартат переходит в D-изомер при температуре тела человека со скоростью 0,01% в год. В период формирования зубов в дентине содержится только L-изомер, поэтому по содержанию D-аспартата можно рассчитать возраст человека или животного.

### Физические свойства аминокислот

Хотя аминокислоты обычно изображают как соединения, содержащие амино- и карбоксильную группы ( $\text{H}_2\text{N}-\text{CHR}-\text{COOH}$ ), некоторые их свойства, как физические, так и химические, не согласуются с этой структурой. Присутствие в молекуле у одного атома углерода двух функциональных групп приводит к появлению ряда специфических свойств.

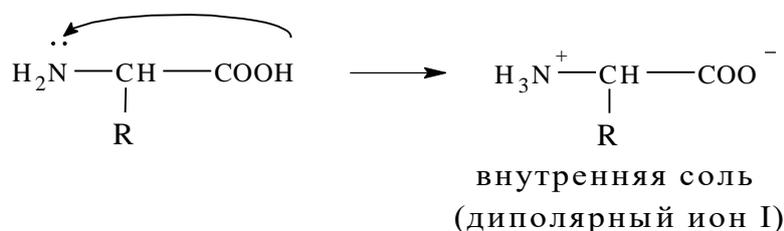
**Во-первых**, в противоположность аминам и карбоновым кислотам аминокислоты представляют собой нелетучие кристаллические вещества,

плавящиеся с разложением при близких и довольно высоких температурах, поэтому идентификации аминокислот по температурам плавления достаточно затруднительна.

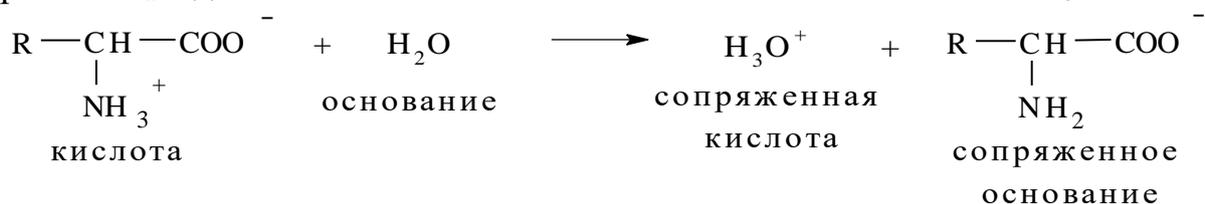
**Во-вторых,** аминокислоты очень плохо растворимы в неполярных растворителях типа петролейного эфира, диэтилового эфира, бензола и хорошо растворимы в воде.

**В-третьих,** в водных растворах аминокислоты имеют высокие дипольные моменты.

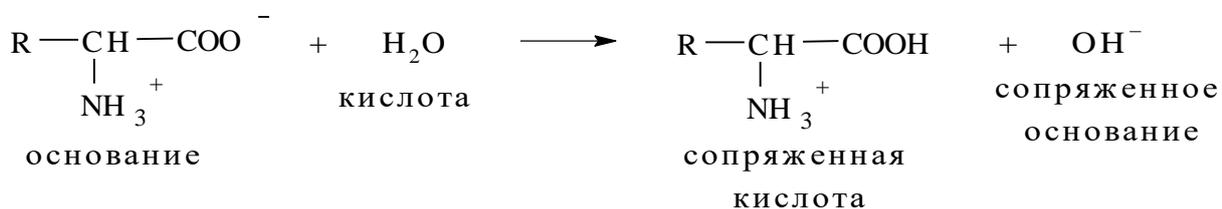
**В-четвертых,** константы кислотности и основности для групп  $\text{COOH}$  и  $\text{NH}_2$  необычайно малы. Так, для глицина константа кислотности  $K_a = 1,6 \cdot 10^{-10}$ , а константа основности  $K_b = 2,5 \cdot 10^{-12}$ ; в то время как для большинства карбоновых кислот  $K_a \approx 10^{-5}$  а для алифатических аминов  $K_b \approx 10^{-4}$ . Все эти свойства вполне объяснимы, если принять во внимание тот факт, что аминокислоты существуют в виде диполярного иона, который образуется за счет отщепления протона от карбоксильной группы и присоединения его к аминогруппе. Диполярный ион часто называют *внутренней солью*.



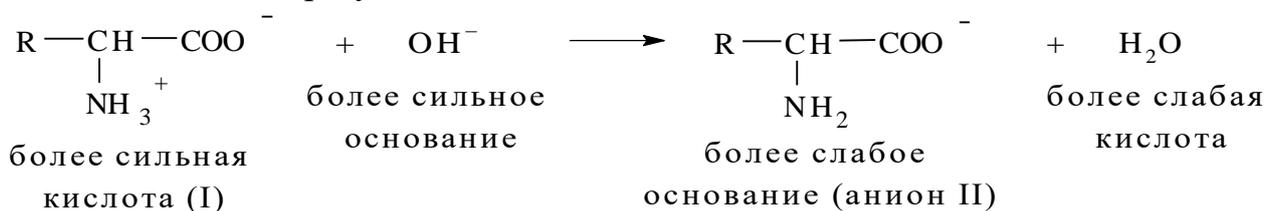
Кислотно-основные свойства также становятся понятными, если учесть, что измеряемая  $K_a$  в действительности относится к кислотности иона  $\text{RNH}_3^+$ :



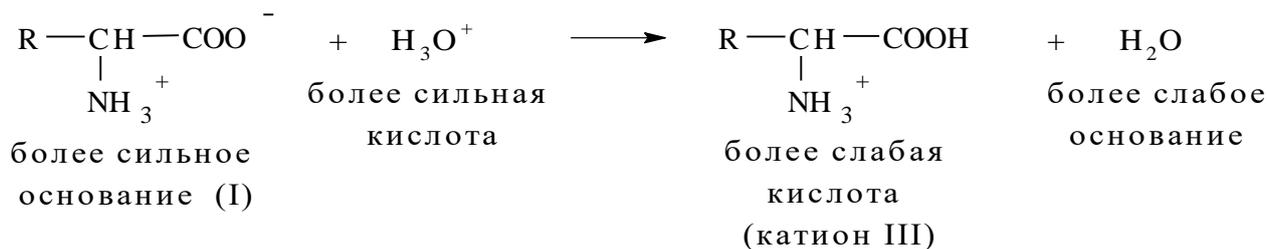
а константа основности ( $K_b$ ) в действительности относится к основности карбоксилат-иона.



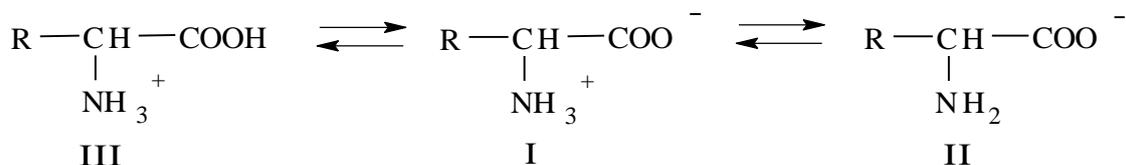
При подщелачивании раствора аминокислоты диполярный ион I превращается в анион II, так как более сильное основание (гидроксильный ион) отрывает протон от иона аммония и образуется более слабое основание – амин.



Если подкислить раствор аминокислоты, ион I превратится в катион III, так как более сильная кислота  $\text{H}_3\text{O}^+$  отдает протон карбоксилат-иону и образуется более слабая кислота:



Необходимо отметить, что ионы II и III, содержащие свободную аминогруппу или свободную карбоксильную группу, находятся в равновесии с диполярным ионом:



Однако следует иметь в виду, что в данном равновесии участвует также определенное (хотя и небольшое) количество незаряженных молекул аминокислот.

### Изоэлектрическая точка аминокислот

Мы рассмотрели превращение в кислой и щелочной средах моноаминомонокарбоновых кислот, в радикалах которых не содержится ионогенных групп (аминокислоты с недиссоциирующими радикалами).

Изменение суммарного заряда аминокислот с анионными и катионными группами в радикале, в зависимости от pH среды, можно представить в следующей таблице. Для сравнения в эту же таблицу поместим аминокислоты, в радикале которых нет диссоциирующих групп.

В сильноокислом растворе имеется значительный избыток катионов, а в сильно щелочном – избыток анионов.

Если раствор аминокислоты поместить в электрическое поле, то в зависимости от активной реакции среды будет наблюдаться следующая картина: в кислой среде ион аминокислоты мигрирует к катоду, а в щелочной – к аноду. Если при определенном pH среды концентрация катионов станет равной концентрации анионов, то никакого движения аминокислоты происходить не будет.

*Концентрация ионов водорода (pH), при которой аминокислота не перемещается в электрическом поле, называется **изоэлектрической точкой** данной аминокислоты (pI).*

Изоэлектрическая точка аминокислоты зависит от кислотности группы  $-\text{NH}_3^+$ , основности карбоксилат-аниона, природы радикала и присутствия в молекуле кислоты любой дополнительной основной или кислотной группы.

При  $\text{pH} \neq \text{pI}$  в растворе присутствует равновесная смесь диполярного иона и катионной или анионной формы, что в некоторых случаях может привести к появлению у растворов аминокислот буферных свойств (подробнее см. учебное

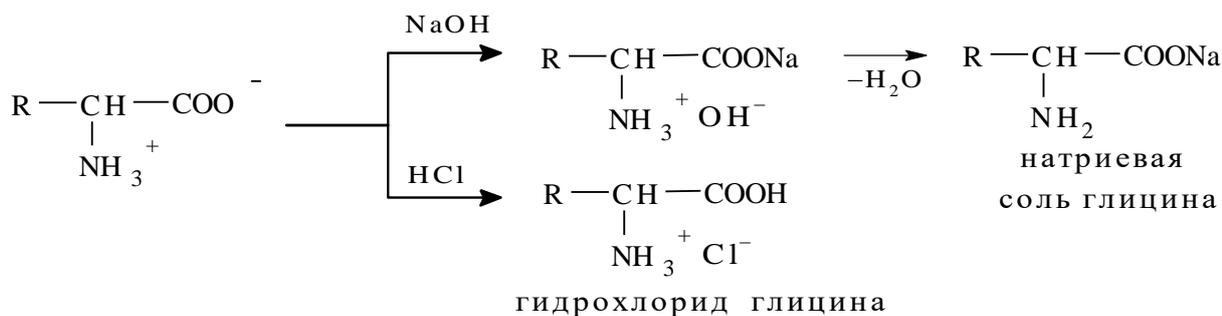
пособие «Общая химия, часть III» под редакцией профессора А.С. Берлянда, глава «Буферные системы»). Значительной буферной ёмкостью в интервале физиологических значений pH, (т.е. в интервале 6-8) обладает только гистидин. Отметим лишь, что при  $pH = pI$  растворы аминокислот буферного действия не проявляют.

При пропускании постоянного тока через раствор, содержащий смесь нескольких аминокислот, каждая из них будет двигаться к катоду или к аноду со скоростью, зависящей от природы этой аминокислоты и от pH среды. Разделение и анализ смесей аминокислот, основанное на этом явлении, называется *электрофорезом*.

## Химические свойства аминокислот

### Амфотерность аминокислот

Наличие в молекуле аминокислоты функциональных групп кислотного и основного характера обуславливает амфотерность аминокислот. Подобно любому амфотерному соединению, аминокислоты образуют соли как при действии кислоты, так и при действии щелочи.

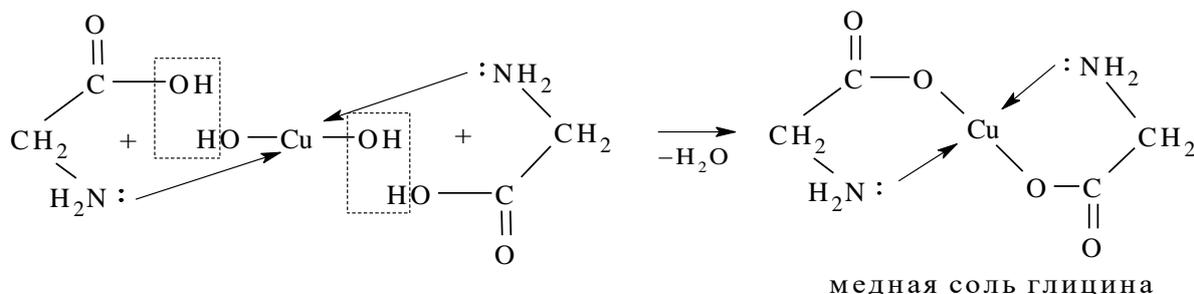


Аминокислоты, будучи гетерофункциональными соединениями, должны проявлять свойства как одной, так и другой функциональной группы.

### Реакции карбоксильной группы

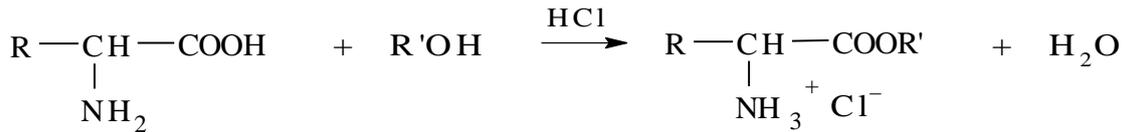
#### 1. Образование внутримолекулярных солей.

С катионами тяжелых металлов  $\alpha$ -аминокислоты образуют внутримолекулярные соли. Так, со свежеприготовленным гидроксидом меди (II)  $\alpha$ -аминокислоты образуют хорошо кристаллизующиеся хелатные соли меди (II), окрашенные в синий цвет:



#### 2. Образование сложных эфиров.

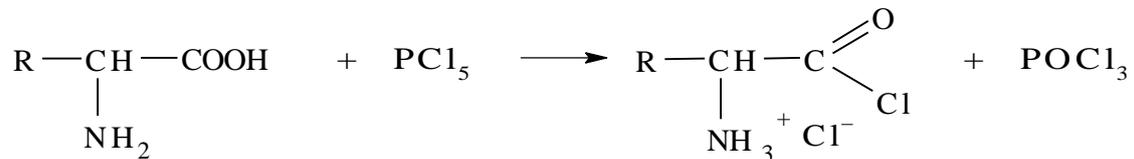
Так как реакция этерификации протекает в кислой среде, сложные эфиры аминокислот образуются в виде солей по аминогруппе:



Образовавшиеся эфиры не могут существовать в виде биполярных ионов, поэтому, в отличие от исходных аминокислот, они растворяются в органических растворителях и имеют более низкие температуры кипения. Это даёт возможность разделить смесь эфиров аминокислот перегонкой.

### 3. Образование хлорангидридов.

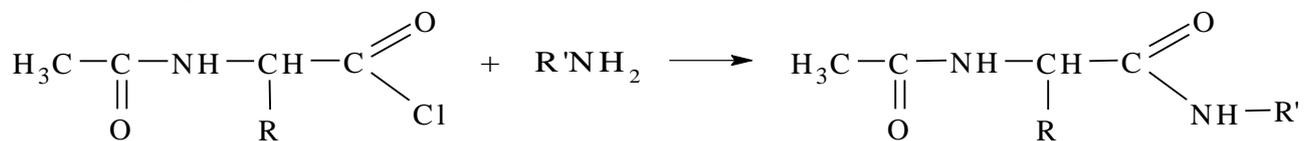
Эту реакцию часто называют реакцией «активации» карбоксильной группы. Хлорангидриды  $\alpha$ -аминокислот получают действием на аминокислоты тионилхлорида ( $\text{SOCl}_2$ ) или хлорида фосфора (V) ( $\text{PCl}_5$ ). Полученные хлорангидриды неустойчивы и существуют только в виде солей:



Поэтому реакцию обычно проводят, предварительно защитив аминогруппу ацилированием.

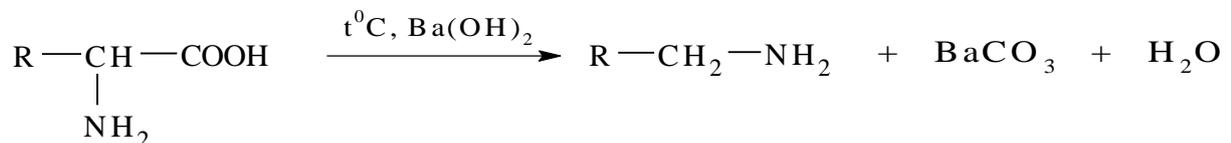
### 4. Образование амидов аминокислот.

Такие амиды получают действием аммиака или первичных аминов на хлорангидриды с защищённой аминогруппой. В случае использования реакции с аминами получают замещённые по азоту амиды аминокислот:

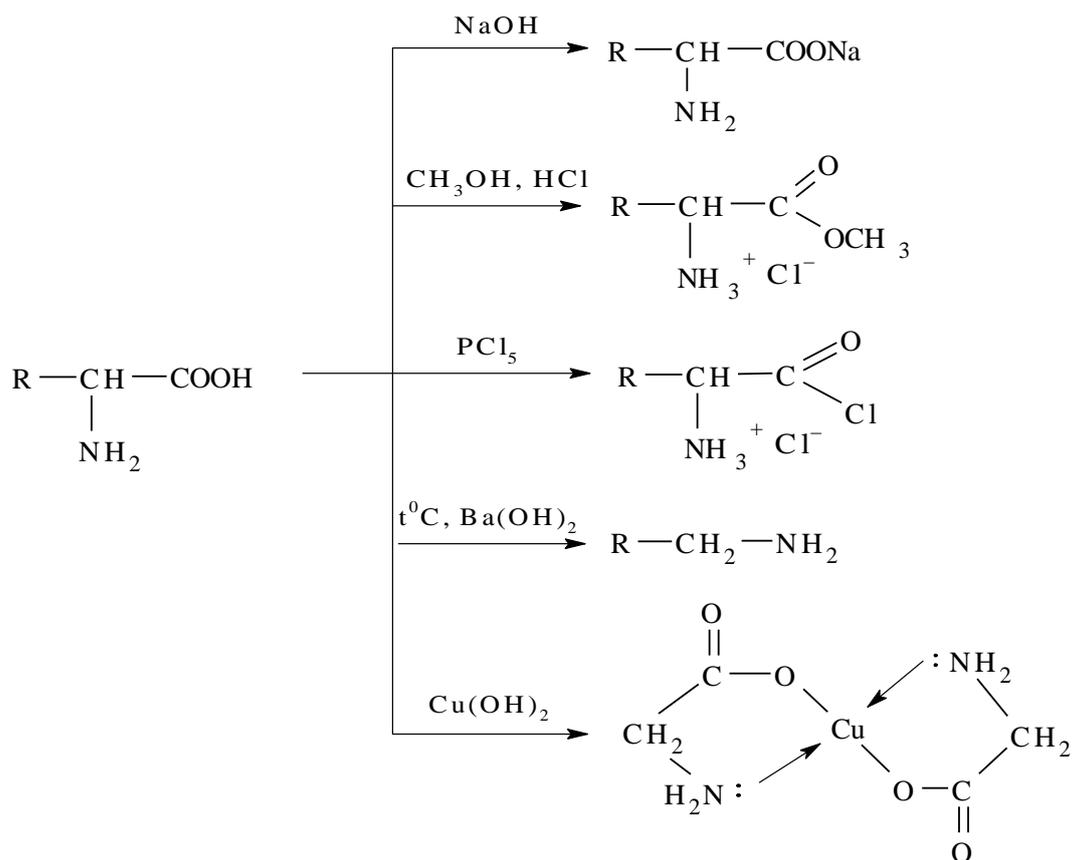


### 5. Декарбоксилирование аминокислот.

В лабораторных условиях эта реакция протекает при нагревании аминокислоты с  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . В результате получается первичный амин:



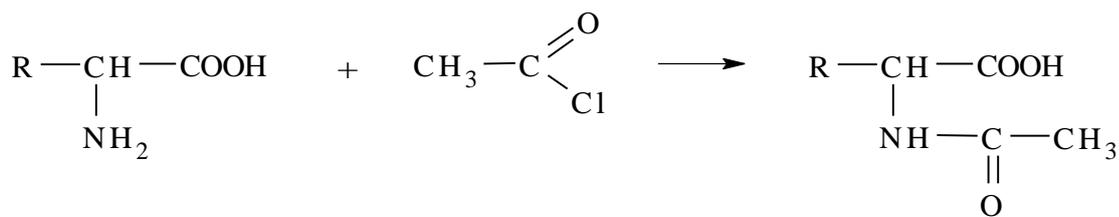
Все реакции карбоксильной группы аминокислот можно представить следующей схемой:



### Реакции аминогруппы

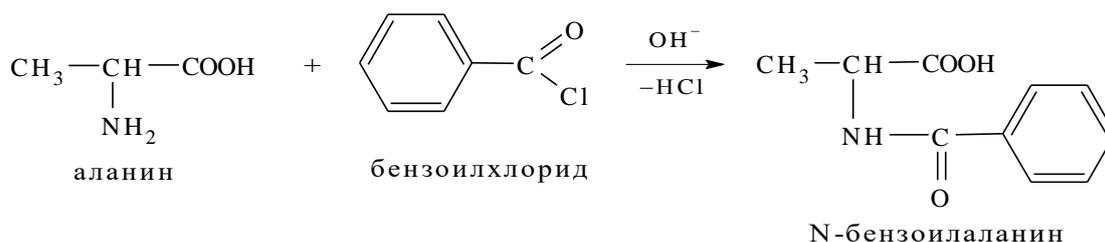
#### 1. Реакция ацилирования. Образование N-замещённых амидов.

N-замещённые амиды часто рассматривают как N-ацильные производные. Эта реакция была отмечена ранее как реакция защиты аминогруппы. Её можно рассматривать как процесс ацилирования аминогруппы хлорангидридами или ангидридами кислот:

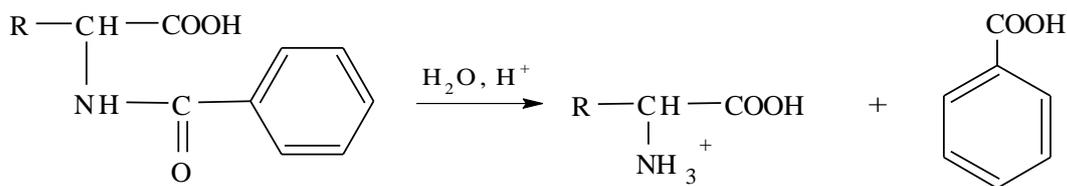


N-ацильное производное

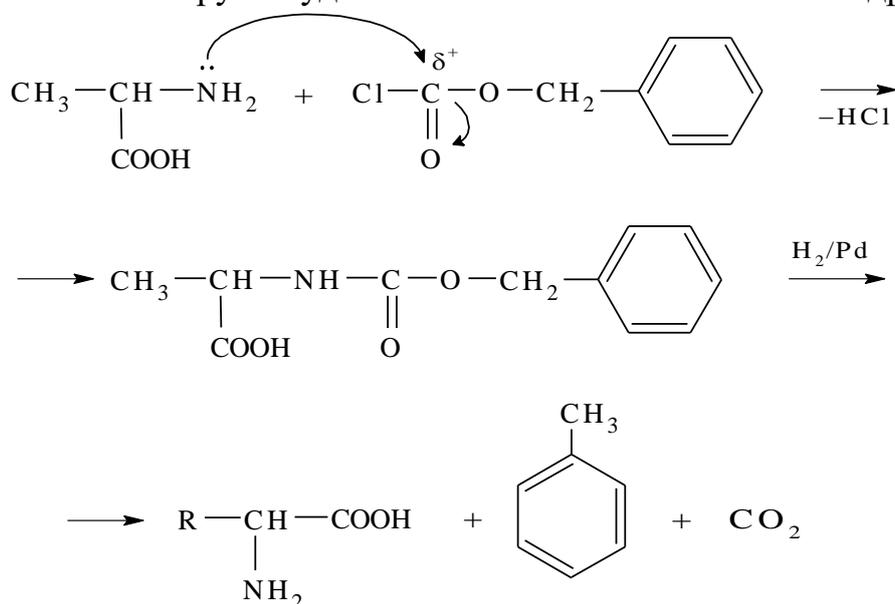
Реакция протекает лучше в щелочной среде. Примером может служить получение N-бензоилаланина в присутствии водного раствора гидроксида натрия. Этот метод получения N-ацильных производных называют ацилированием по Шоттен-Бауману:



Щёлочь необходима для связывания выделяющегося хлороводорода, т.к. в кислой среде N-ацильные производные легко гидролизуются, освобождая исходную аминокислоту:

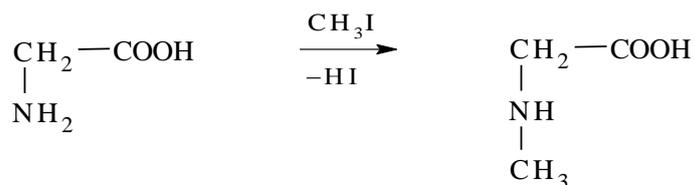


Это общепринятый способ удаления защитной группы. Однако в некоторых случаях невозможно удалять защитную группу гидролизом в кислой среде. Например, при гидролизе пептидов будет разрушаться пептидная связь. В этих случаях защиту проводят такими реагентами, удаление которых можно провести не гидролизом, а каким-либо другим методом. Например, аминокислоту можно защищать реакцией с карбобензоксигруппой (бензиловый эфир хлормуравьиной кислоты). Карбобензоксигруппа удаляется затем каталитическим гидрогенолизом:

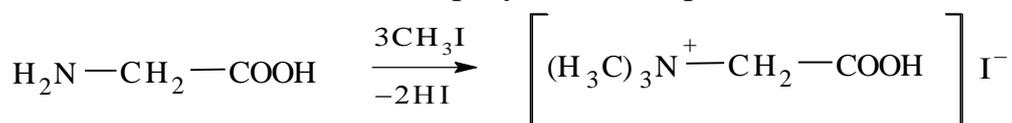


## 2. Алкилирование аминокислот.

Аминокислоты можно алкилировать по аминогруппе галоидными алкилами (обычно иодистыми алкилами). Например, алкилированием глицина можно получить метиламиноуксусную кислоту – саркозин, которая в связанном виде содержится в некоторых белках.

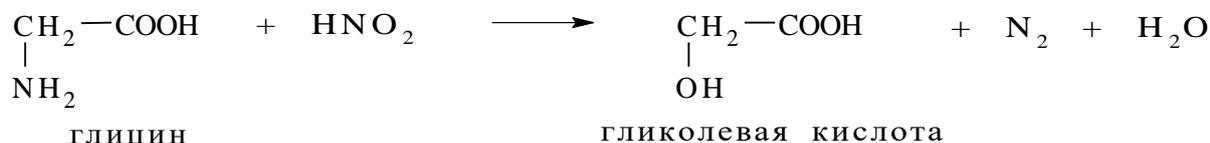


При избытке иодистого метила образуется четвертичная аммонийная соль:



### 3. Действие азотистой кислоты (дезаминирование *in vitro*).

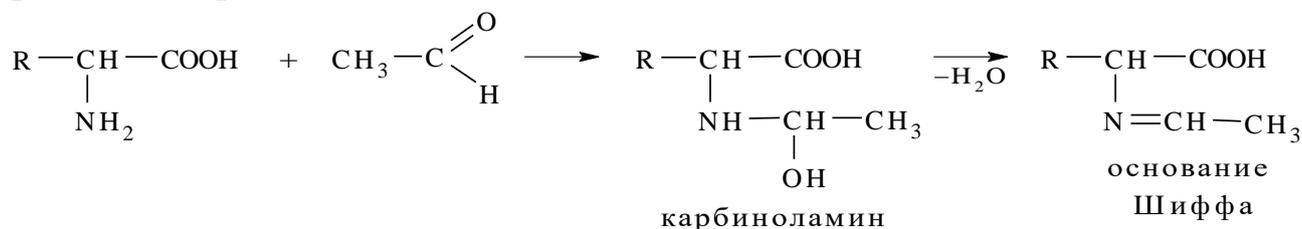
Реакция протекает так же, как и при взаимодействии с азотистой кислотой алифатических первичных аминов – выделяется азот, а аминогруппа замещается на гидроксильную группу:



Таким образом можно установить структурное родство аминокислот с соответствующими оксикислотами. По объёму выделившегося азота определяют количество  $\alpha$ -аминокислоты, вступившей в реакцию (метод Ван-Слайка).

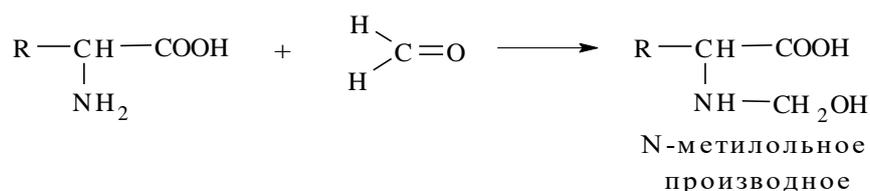
### 4. Взаимодействие с альдегидами.

$\alpha$ -Аминокислоты, подобно первичным аминам, реагируют с альдегидами, образуя замещенные имины (основания Шиффа). Реакция протекает через стадию образования карбиноламинов.



При взаимодействии  $\alpha$ -аминокислот с формальдегидом образуются относительно устойчивые карбиноламины – N-метилольные производные, свободная карбоксильная группа которых может быть оттитрована щелочью.

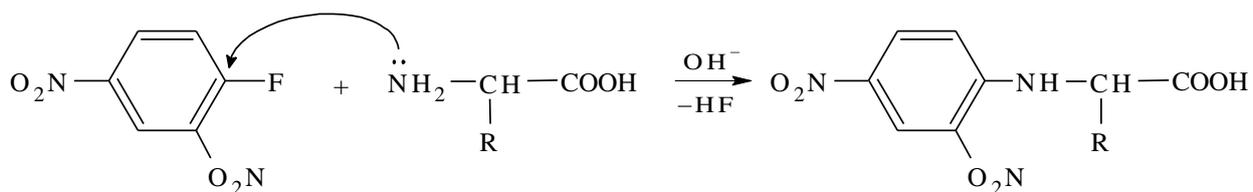
Формальдегид, взятый в избытке, способствует отщеплению протона от  $\text{NH}_3^+$  группы биполярного иона и легко соединяется со свободной (непротонированной) аминогруппой, образуя устойчивое метилольное производное.



Титрование аминокислоты в избытке формальдегида (формольное титрование) представляет собой аналитический метод (метод Серенсена), при помощи которого прослеживается, в частности, образование свободных аминокислот в процессе гидролиза белков.

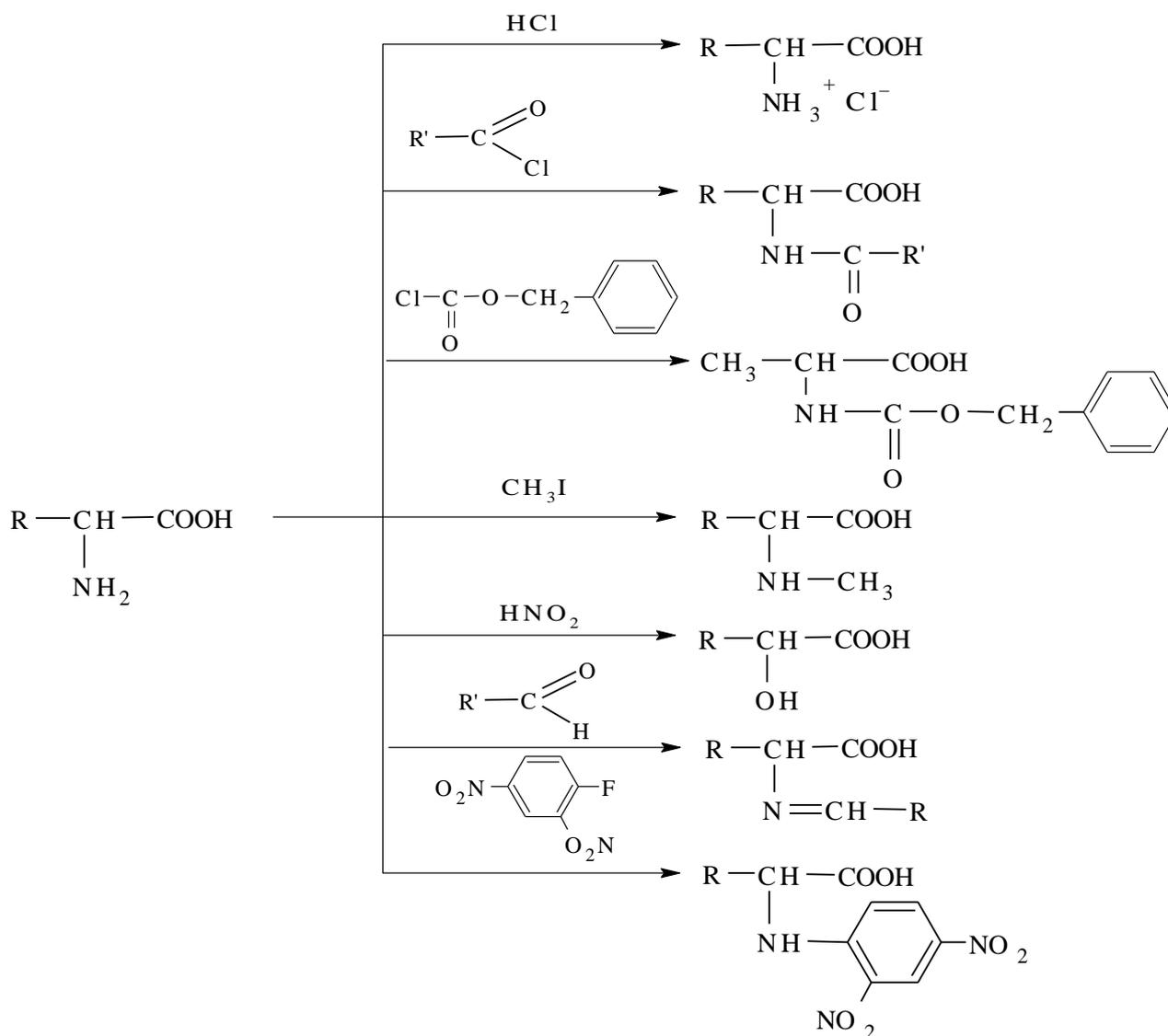
### 5. Взаимодействие с динитрофторбензолом (ДНФБ).

Важной реакцией  $\alpha$ -аминогруппы является её реакция с 2,4-динитрофторбензолом (ДНФБ) в слабощелочном растворе, которую впервые использовал Фредерик Сенгер для количественного введения метки в аминокислоты и пептиды. Эта реакция протекает по механизму нуклеофильного замещения.



Продукт реакции окрашен в интенсивно желтый цвет. Эта реакция представляет исключительную ценность для идентификации N-концевых аминокислот полипептидных цепей.

Все вышеперечисленные реакции аминогруппы аминокислот можно представить следующей схемой:

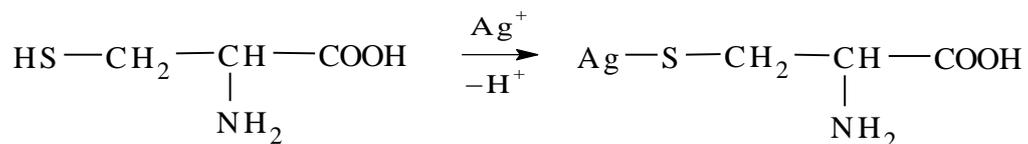


### Реакции функциональных групп, содержащихся в радикалах аминокислот

Аминокислоты вступают также в реакции, типичные для функциональных групп, присутствующих в их радикалах. Например, для SH-групп цистеина, гидроксильной группы тирозина и треонина, гуанидиновой группы аргинина.

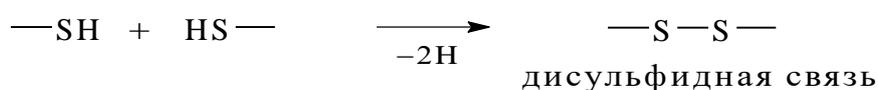
#### 1. Реакции сульфгидрильной (тиоловой) группы.

Для сульфгидрильной группы характерна исключительно высокая реакционная способность. Например, при действии на цистеин незначительных концентраций ионов некоторых тяжелых металлов образуются меркаптиды.



В щелочных растворах цистеин легко теряет атом серы. Так, при нагревании цистеина с ацетатом свинца в щелочном растворе образуется черный осадок сульфида свинца. Эта реакция применяется для обнаружения сульфгидрильной группы в пептидах и белках.

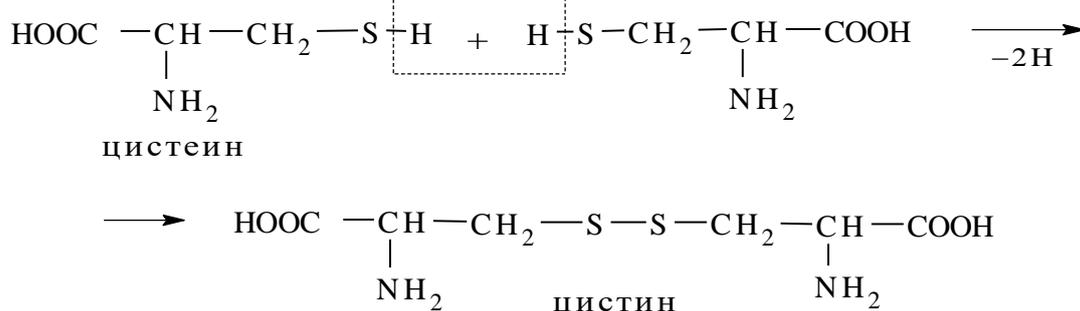
Тиоловая группа цистеина легко подвергается окислению с образованием дисульфида. Этот процесс можно отразить следующей схемой:



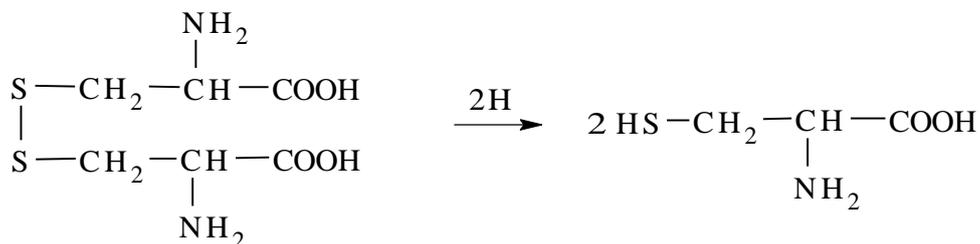
Дисульфидные связи, присоединяя два атома водорода, переходят в сульфгидрильные (тиоловые) группы:



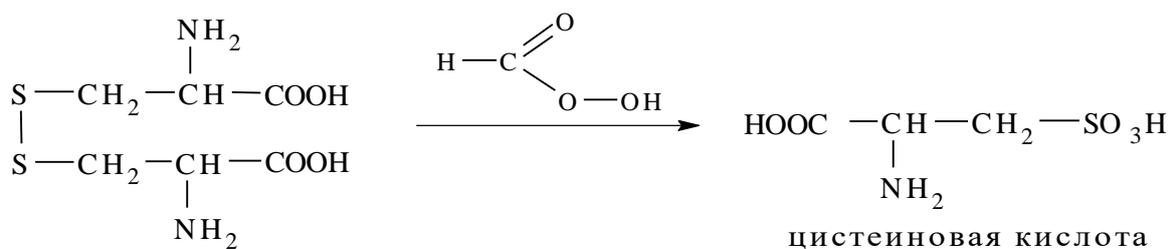
Рассмотрим этот процесс на примере превращения цистеина в цистин:



В цистине при действии восстановителей дисульфидная связь разрывается и образуется две молекулы цистеина:



Дисульфидная связь может также подвергаться окислению под действием таких жестких окислителей, как, например, надмуравьиная кислота. В результате образуется цистеиновая кислота:



## 2. Реакции гидроксильной группы – реакции элиминирования.

Эти реакции характерны для аминокислот, содержащих в радикале гидроксильную группу в  $\beta$ -положении по отношению к карбоксильной группе (серин и треонин).

В результате ряда последовательных реакций аминокислота превращается в кетокислоту. Рассмотрим этот процесс на примере превращения треонина в 2-оксобутановую кислоту.

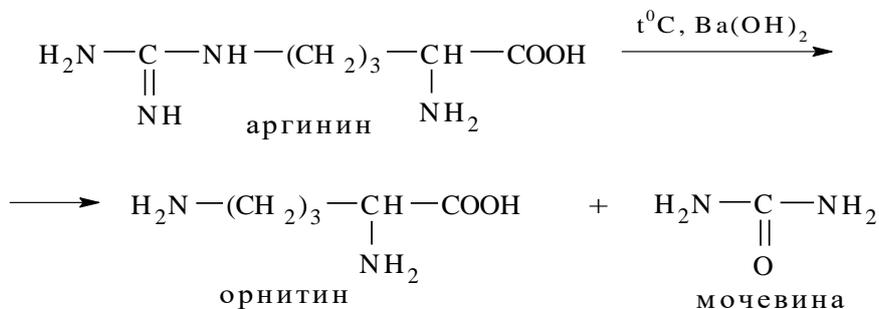


## 3. Реакции гуанидильной группы.

Гуанидильная группа содержится в радикале аргинина:



Гуанидильная группа аргинина легко отщепляется при гидролизе в избытке гидроксида бария при  $100^\circ\text{C}$  с образованием мочевины и орнитина:



Орнитин –  $\alpha$ -аминокислота, содержащая в радикале вторую аминогруппу, в состав белков не входит. Появляется в организме в результате гидролитического расщепления аргинина с участием фермента аргиназы. Аргиназа в значительных

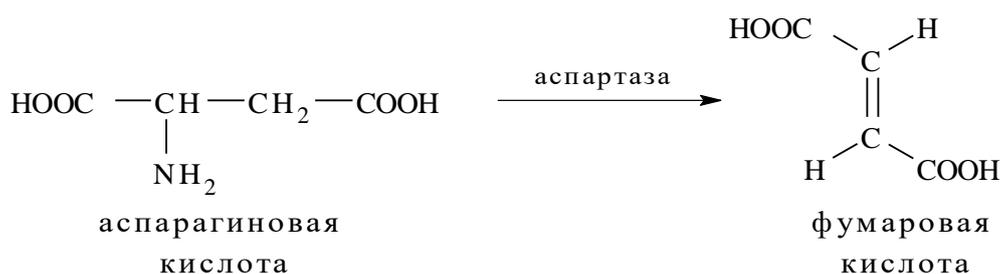


помощи реакций, которые снабжают живую систему энергией. Три основные реакции, катализируемые ферментами, благодаря которым осуществляется превращение аминокислот в клетке, это реакции дезаминирования, переаминирования и декарбоксилирования.

### 1. Дезаминирование аминокислот

В организме дезаминирование может осуществляться как неокислительным, так и окислительным путём.

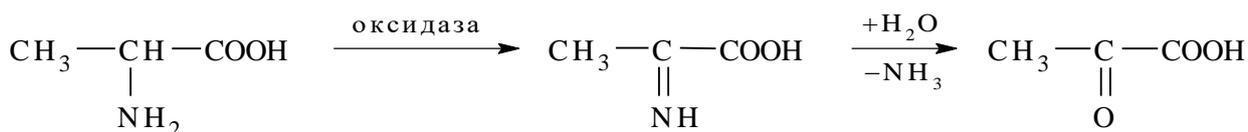
**Неокислительное дезаминирование** встречается, в основном, у бактерий и грибов. Например, превращение аспарагиновой кислоты в fumarовую под действием фермента аспартазы.



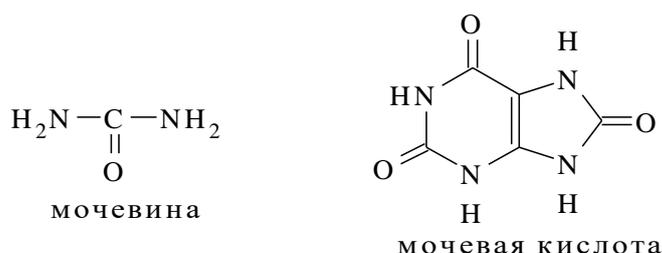
**Окислительное дезаминирование** – протекает при участии фермента оксидазы. Для того чтобы полностью прошла реакция окислительного дезаминирования, фермент, катализирующий эту реакцию, нуждается в окислительном (дегидрирующем) агенте. Обычно акцептором водорода в таких системах служит ФАД (флавинадениндинуклеотид), который затем переходит в восстановленную форму, сокращённо обозначаемую ФАД-Н<sub>2</sub>.

Окислительное дезаминирование осуществляется через стадию образования промежуточного имина.

Рассмотрим процесс превращения аланина в пировиноградную кислоту.



Реакции дезаминирования позволяют организму удалять избыток аминокислот, однако при этом повышается концентрация нежелательных азотистых веществ. Высокие концентрации аммиака и его производных токсичны для организма, который поэтому стремится освободиться от них, выделяя лишний азот в виде мочевины или мочевой кислоты.



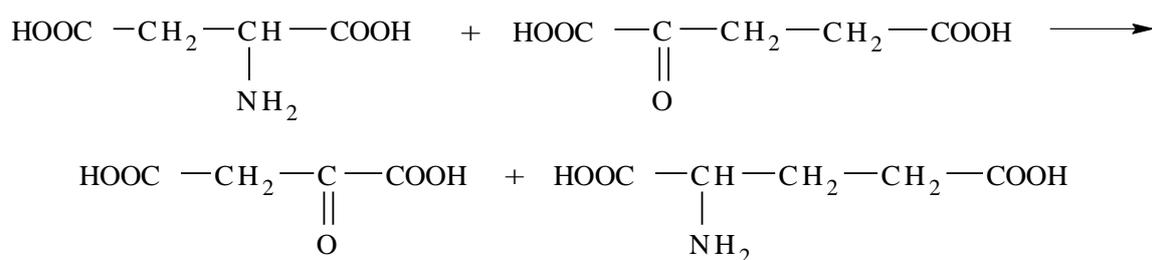
Мочевая кислота образуется в организме взрослого человека в качестве побочного продукта. Высокое содержание мочевой кислоты приводит к мочекаменной болезни. Мочевая кислота в виде кристаллов моноводной соли

образует камни в почках и в мочевом пузыре. Соли мочевой кислоты в суставах вызывают болезненные симптомы подагры – очень широко распространенного заболевания человека. Содержание мочевой кислоты и её солей в организме человека может представлять интерес с точки зрения эволюционной теории, поскольку большинство животных полностью разлагают мочевую кислоту до её выделения из организма. Было высказано предположение о том, что присутствие мочевой кислоты в организме человека предоставляет людям некоторое эволюционное преимущество. Эта гипотеза ещё не доказана, но она может быть интересным связующим звеном между биохимическими свойствами вещества и поведением живых организмов.

## 2. Переаминирование (трансамнирование).

Реакция сводится к взаимопревращению аминогруппы и карбонильной группы под действием ферментов *трансаминаз*.

Эта реакция служит не только для разрушения аминокислот, но и для их биосинтеза. Рассмотрим реакцию взаимопревращения аспарагиновой кислоты и  $\alpha$ -кетоглутаровой в щавелевоуксусную и глутаминовую кислоты:

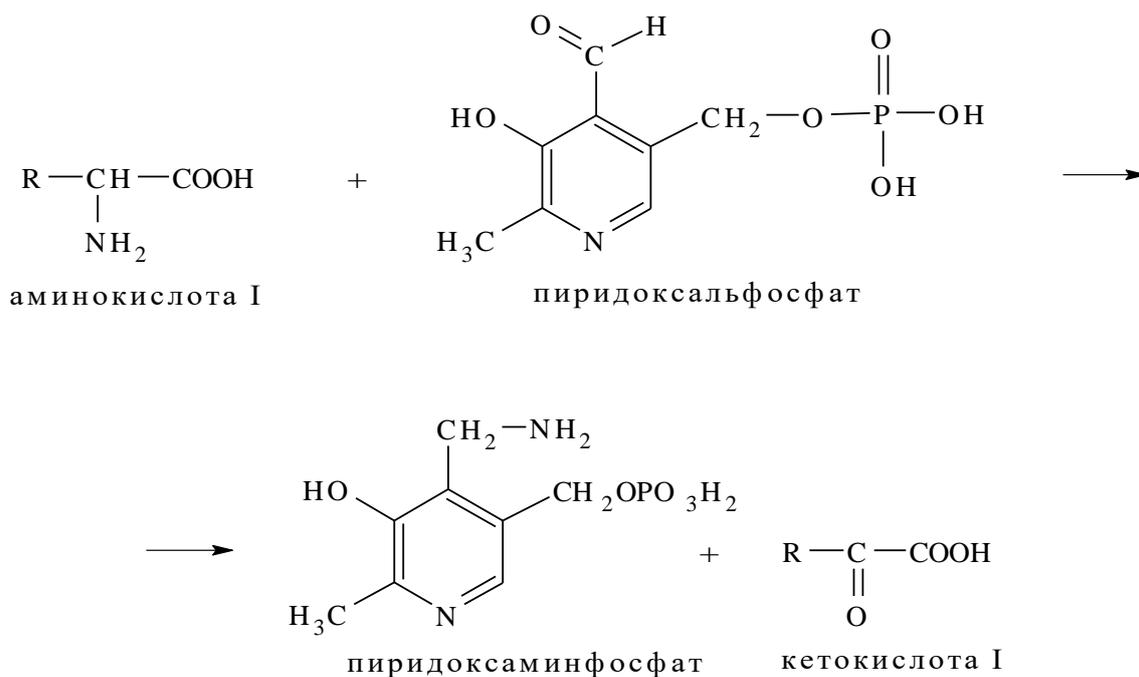


Эта схема не отражает истинного механизма процесса.

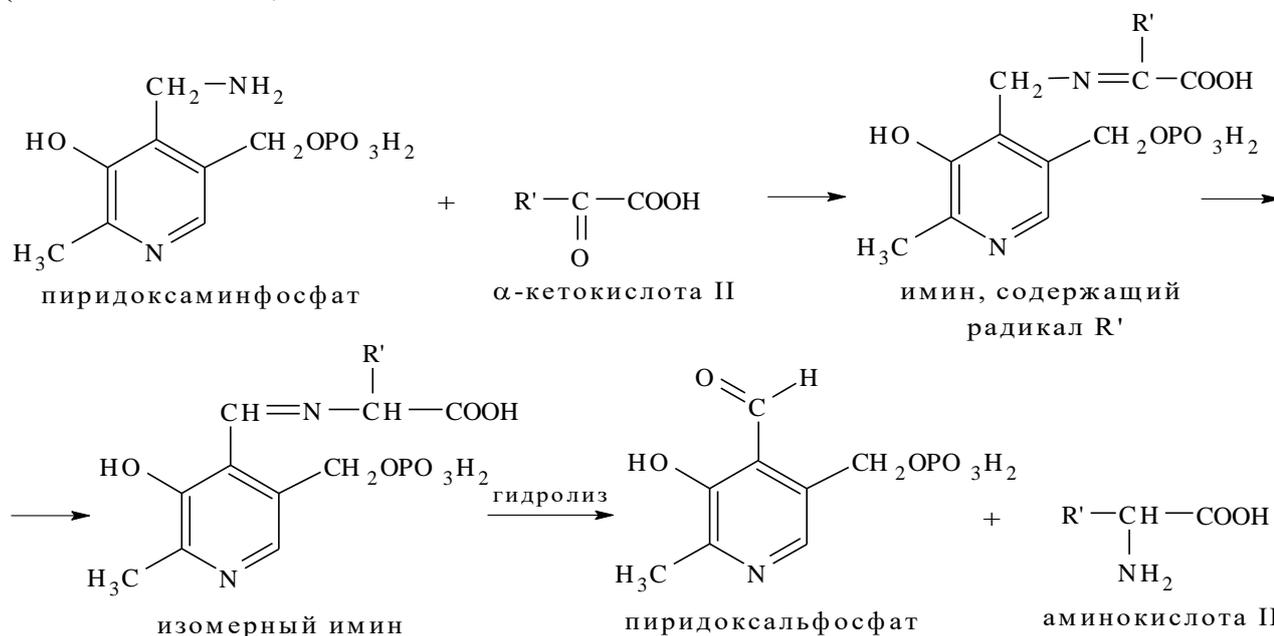
Данное взаимопревращение нуждается в пиридоксальфосфате, который образует имин с исходной аминокислотой, сохраняет аминогруппу при превращении аминокислоты в соответствующую  $\alpha$ -кетокислоту и образует имин с другой  $\alpha$ -кетокислотой.

Рассмотрим процесс превращения аминокислоты I в  $\alpha$ -кетокислоту I и  $\alpha$ -кетокислоты II в аминокислоту II.

Альдегидная группа пиридоксальфосфата образует имин с аминокислотой I, имин далее изомеризуется и после гидролиза выделяет кетокислоту I и пиридоксаминфосфат.



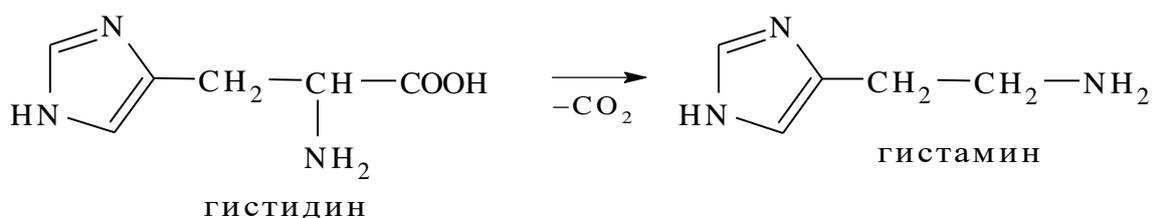
Таким образом, из исходной аминокислоты получилась кетокислота. Образовавшийся пиридоксаминфосфат далее реагирует с другой кетокислотой (кетокислота II), образуя имин, содержащий радикал новой кетокислоты (R'). Имин далее изомеризуется и после гидролиза образует новую аминокислоту (аминокислота II):



По завершении всей сложной последовательности реакций, после гидролиза пиридоксальфосфат регенерируется и способен принять участие в следующих взаимопревращениях аминокислот и  $\alpha$ -кетокислот.

Как своеобразную реакцию взаимопревращения аминокислоты и амидоаминокислоты, сопровождающуюся заменой амидогруппы одной аминокислоты на гидроксильную группу другой, можно рассматривать реакцию взаимодействия L-аспарагиновой кислоты и L-глутамина, катализируемую



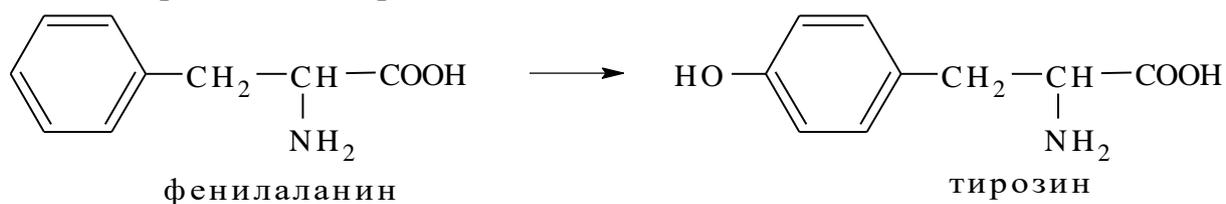


Гистамин является медиатором аллергии: он расширяет все периферические сосуды, что приводит к резкому падению артериального давления, нарушает проницаемость сосудистой стенки, что может быть одной из причин появления отеков, вызывает бронхоспазм и т.д. Группа препаратов, применяемых в медицине для уменьшения проявления аллергических реакций, так или иначе связанных с гистамином, была названа *антигистаминными препаратами*.

#### 4. Реакции гидроксирования и карбоксилирования.

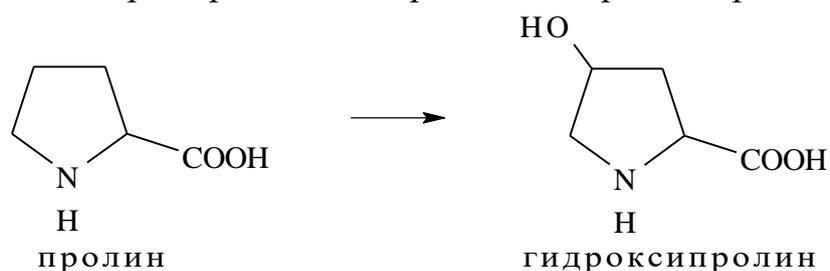
С помощью этих реакций в молекулу органического соединения вводится дополнительная гидроксильная или карбоксильная группы. Реакции протекают при участии соответствующих ферментов и приводят к образованию модифицированных аминокислот. Эти реакции не имеют аналогов в химии *in vitro*.

**Гидроксированием** называют введение в молекулу органического соединения гидроксильной группы. Так, гидроксирование фенилаланина приводит к образованию тирозина:



Отсутствие в организме фермента, катализирующего эту реакцию, приводит к тяжелому заболеванию – фенилкетонурии.

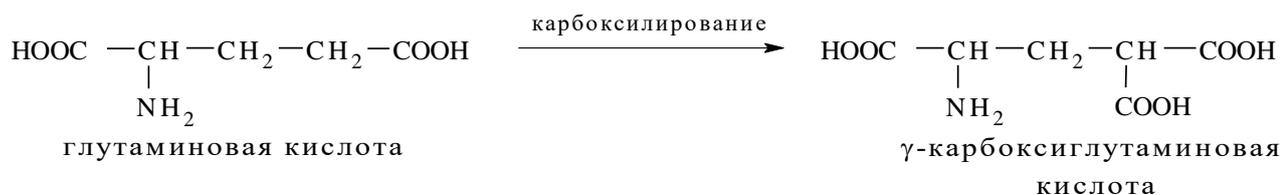
Значительный интерес представляет реакция гидроксирования пролина:



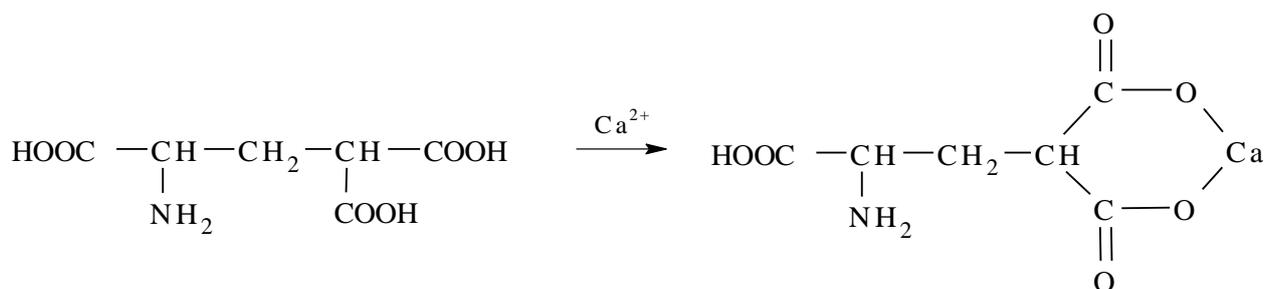
Гидроксирование пролина необходимо для стабилизации тройной спирали коллагена, которая осуществляется за счет образования водородных связей.

При цинге нарушается гидроксирование остатков пролина и лизина. В результате образуются менее прочные коллагеновые волокна, что приводит к хрупкости и ломкости кровеносных сосудов.

**Карбоксилированием** называют введение в молекулу органического соединения карбоксильной группы. Таким образом получают, например,  $\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту:



$\gamma$ -Карбоксиглутаминовая кислота входит в состав белков, участвующих в процессах свертывания крови, так как две близлежащие карбоксильные группы в её структуре способствуют более полному связыванию белковых факторов с ионами кальция:



Нарушение карбоксилирования глутамата приводит к снижению свертываемости крови.

Таким образом, модифицированные аминокислоты, имеющие в своих структурах дополнительные функциональные группы, приобретают свойства, необходимые для выполнения ими специфических функций.

### 5. Восстановительное аминирование.

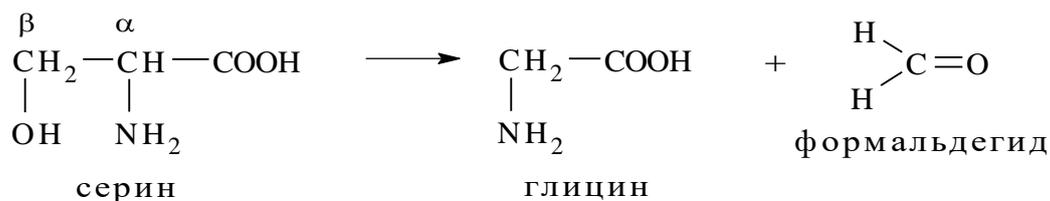
Это реакция превращения  $\alpha$ -кетокислот в  $\alpha$ -аминокислоты осуществляется в организме при участии восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАД $\cdot$ H). Так, продуктом метаболизма углеводов является  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота, которая в результате ряда реакций превращается в глутаминовую кислоту:



### 6. Альдольное расщепление.

Реакция протекает с  $\alpha$ -аминокислотами, содержащими гидроксильную группу в  $\beta$ -положении углеводородного радикала.

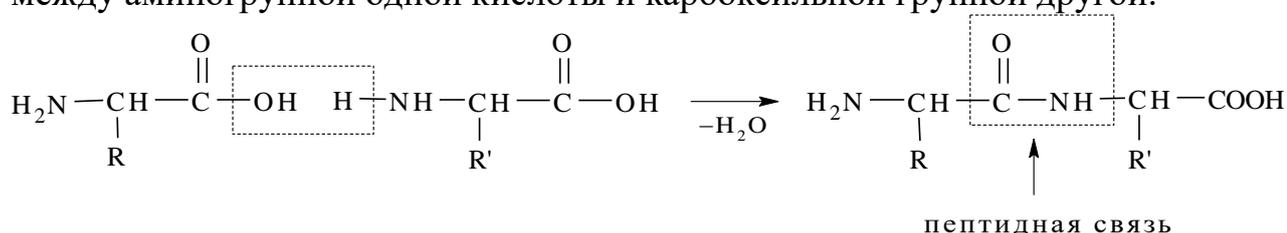
Рассмотрим, например, реакцию расщепления серина, в результате которой образуются глицин и формальдегид.



В результате этой реакции расщепляется С-С связь между  $\alpha$ - и  $\beta$ -углеродными атомами. Образующийся формальдегид не выделяется, а связывается с другим коферментом – тетрагидрофолиевой кислотой и в качестве одноуглеродного фрагмента участвует далее в синтезе многих важных соединений.

## ПЕПТИДЫ

Полипептиды образуются в результате реакции конденсации, протекающей между аминогруппой одной кислоты и карбоксильной группой другой:



Пептид, образованный двумя аминокислотами, называется дипептид, тремя – трипептид и т.д. Количество аминокислот в составе пептидов может сильно варьировать. Пептиды, содержащие до 10 аминокислотных остатков, называют *олигопептидами*. Часто в названии таких молекул указывают число аминокислот, входящих в состав данного олигопептида: дипептид, трипептид, тетрапептид, октапептид и т.д.

Пептиды, содержащие более 10 аминокислот, называют полипептидами. А полипептиды, содержащие более 50 аминокислотных остатков, обычно называют белками. Однако такие градации весьма условны: например, гормон глюкагон, состоящий из 29 аминокислот, называют белковым гормоном. Гормоны окситоцин и вазопрессин содержат всего по 9 аминокислотных остатков.

Поэтому более удачным следует считать различие, проводимое на уровне структуры полимера, более сложном, чем простая аминокислотная последовательность и количественный состав пептида. Полипептиды представляют собой линейные, довольно гибкие молекулы, а длинные цепи белков свернуты в клубок или иную структуру. Многие белки могут иметь в своем составе группы небелкового характера (простетические группы), связанные с полиамидной цепью.

Пептиды различаются по аминокислотному составу, количеству и порядку соединения аминокислот. Например, тетрапептиды сер-гис-про-ала и ала-гис-про-сер – это два разных пептида, несмотря на то, что они имеют одинаковый качественный и количественный состав.

### Строение полипептидной цепи и пептидной связи

Мономеры аминокислот, входящие в состав полипептидов, называют *аминокислотными остатками*. Аминокислотный остаток, имеющий свободную аминогруппу, называют *N-концевым* и записывают слева пептидной цепи, а

имеющий свободную  $\alpha$ -карбоксильную группу – С-концевым, и записывают справа. Цепь повторяющихся атомов  $-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-$  в полипептидной цепи называется пептидным остовом.

Полипептидная цепь имеет следующий общий вид:



где  $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \dots, \text{R}_n$  – радикалы аминокислот, образующие боковую цепь.

### Номенклатура пептидов

При названии полипептида к названию всех аминокислотных остатков, кроме последнего, добавляют суффикс *-ил*, концевая аминокислота имеет окончание *-ин*. Например, пептид мет-асп-вал-про имеет полное название метиониласпарагилваллилпролин.

### Кислотно-основные свойства пептидов

Многие короткие пептиды были получены в чистом кристаллическом виде. Высокие температуры их плавления указывают на то, что из нейтральных растворов пептиды кристаллизуются в виде диполярных ионов. Поскольку ни одна из  $\alpha$ -карбоксильных групп и ни одна из  $\alpha$ -аминогрупп, участвующих в образовании пептидных связей, не может ионизироваться в интервале рН от 0 до 14, кислотно-основные свойства пептидов определяются свободной  $\text{NH}_2$  группой N-концевого остатка и свободной карбоксильной группой С-концевого остатка пептида и теми R-группами, которые способны к ионизации. В длинных пептидных цепях число ионизированных

R-групп обычно велико по сравнению с двумя ионизированными группами концевых остатков пептида. Поэтому для характеристики кислотно-основных свойств пептидов мы будем рассматривать короткие пептиды.

Свободная  $\alpha$ -аминогруппа и свободная концевая карбоксильная группа в пептидах разделены значительно большим расстоянием, чем в простых аминокислотах, и поэтому электростатические взаимодействия между ними ослаблены. Величины рК для концевых карбоксильных групп в пептидах несколько выше, а для концевых  $\alpha$ -аминогрупп несколько ниже, чем в соответствующих свободных аминокислотах. У R-групп в коротких пептидах и в соответствующих свободных аминокислотах величины рК заметно не различаются.

Для определения области рН, в которой может находиться изоэлектрическая точка исследуемого короткого пептида, достаточно сравнить число свободных аминогрупп и число свободных карбоксильных групп, включая N- и С-концевые

группы. Если число аминогрупп превышает число карбоксильных групп, изоэлектрическая точка пептида будет лежать в щелочной области рН, так как для предотвращения протонирования аминогрупп необходима щелочь. Если число карбоксильных групп превышает число аминогрупп, изоэлектрическая точка будет находиться в кислой области рН, так как кислая среда подавляет диссоциацию карбоксильных групп.

### Определение структуры пептидов

Для того чтобы выяснить структуру пептида, необходимо знать следующее:

- какие аминокислоты входят в состав полипептида;
- сколько аминокислот каждого вида содержится в пептиде;
- в какой последовательности эти аминокислоты связаны в цепи.

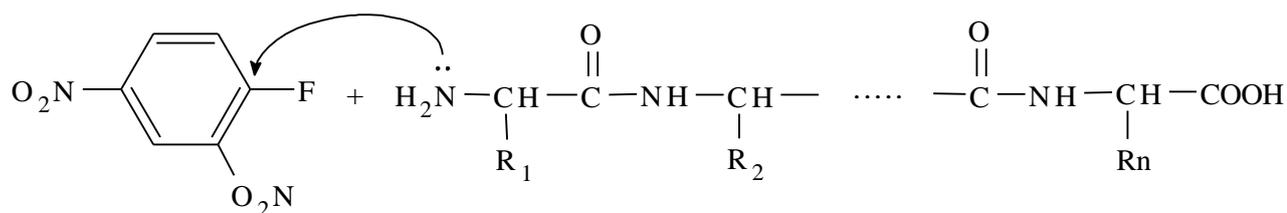
Для определения состава пептида его подвергают гидролизу в горячей соляной кислоте с  $C(HCl) = 6$  моль/л. Полученную смесь аминокислот анализируют на аминокислотном анализаторе и устанавливают качественный и количественный состав пептида. Зная весовое содержание каждой из полученных аминокислот, можно вычислить количество каждой кислоты и тем самым установить «эмпирическую формулу» пептида, т.е. *относительное* содержание остатков различных аминокислот в пептиде.

Для вычисления «молекулярной» формулы пептида, то есть для установления действительного числа каждого из остатков в молекуле пептида, необходимо знать его молярную массу, которую определяют различными химическими или физическими методами.

Наиболее трудная задача – установить, в какой последовательности аминокислотные остатки связаны в пептид. Для решения этого вопроса используют комбинацию двух методов: определение концевых групп и частичный гидролиз.

Идентификацию аминокислотных остатков на концах пептидной цепи проводят, используя их отличие от всех остальных звеньев и друг от друга: N-концевой остаток содержит свободную аминогруппу, а C-концевой остаток содержит свободную карбоксильную группу.

Для идентификации N-концевого остатка используют метод Ф. Сенгера, который основан на реакции свободной аминогруппы пептида с динитрофторбензолом. Реакция протекает по механизму нуклеофильного замещения:



Замещенный пептид подвергают гидролизу, после чего N-концевой остаток, меченный динитрофенильной группой, выделяют и идентифицируют. N-концевая аминокислота с динитрофторбензолом дает

устойчивое, окрашенное в желтый цвет, соединение, которое не разрушается при гидролизе.

Огромный шаг вперед в химии анализа полипептидов был сделан в 1956 году, когда П. Эдман установил, что N-концевую аминокислоту можно удалить при помощи фенилизотиоцианата: ( $C_6H_5 - N = C = S$ ). В результате следующая за ней аминокислота становится N-концевой и её, в свою очередь, также можно удалить, действуя фенилизотиоцианатом. Этот метод определения N-концевых остатков получил название «метод деградации по Эдману».

Наиболее успешным методом определения C-концевых остатков является не химический метод, а ферментативный. Избирательное удаление C-концевого звена осуществляется при помощи фермента карбоксипептидазы, которая расщепляет лишь ту пептидную связь, которая находится в  $\alpha$ -положении к свободной  $\alpha$ -карбоксильной группе в полипептидной цепи. Анализ можно повторить на укороченном пептиде, чтобы определить новую C-концевую кислоту.

Однако на практике невозможно определить последовательность остатков аминокислот в длинной пептидной цепи путем ступенчатого удаления концевых остатков. Вместо этого пептид подвергают частичному гидролизу, при котором образуются фрагменты пептидов с укороченной цепью. Эти фрагменты идентифицируют при помощи метода определения концевых групп.

Структура, приписанная пептиду и определенная вышеописанным методом, окончательно подтверждается синтезом этого пептида.